

治療戦略として期待される。

3. グルタミン酸仮説

1. Glutamate hypofunction 仮説

1970年代初頭、米国にて精神異常発現薬である phencyclidine (PCP) が乱用され、統合失調症類似の症状を呈する PCP 精神病の入院患者数が増大した。抗精神病薬に抵抗性であり、DA 仮説の根拠ともなる覚醒剤精神病で認められる幻覚、妄想に加え、陰性症状様の意欲減退、感情鈍麻なども認められることから、統合失調症の広範な臨床症状を反映するモデルとして考えられている¹⁸⁾。PCP は非競合的 NMDA 受容体拮抗薬であり、NMDA 受容体のチャンネル内部に存在する PCP 結合部位に作用してイオンチャンネルを遮断し、グルタミン酸作動性神経系の機能を抑制する。したがって、NMDA 受容体機能の低下が陽性症状、陰性症状および認知機能障害の発現に関与していることが示唆されている。Ketamine や dizocilpine (MK-801) などの NMDA 受容体遮断薬も統合失調症様の精神障害をきたすことから、glutamate hypofunction 仮説が支持されている¹⁸⁾。

2. NMDA 受容体機能促進薬

NMDA 受容体拮抗薬により統合失調症様の陽性症状、陰性症状および認知機能障害が惹起されることから¹⁸⁾、NMDA 受容体機能を亢進させる薬剤の開発により、既存の抗精神病薬に治療抵抗性を示す陰性症状および認知機能障害にも有効性が期待されている¹⁹⁾。NMDA 受容体は複数のサブユニットから構成されており、イオンチャンネルを形成している。興奮性神経伝達物質である glutamate の結合部位のほか、glycine 結合部位、PCP 結合部位、ポリアミン結合部位、亜鉛結合部位、マグネシウム結合部位などが存在し、中でも NMDA 受容体促進系の glycine 結合部位が治療標的として注目されている²⁰⁾。

Glycine は 1988 年の Waziri による報告²¹⁾において、統合失調症の治療薬としての可能性が見出されている。その後、D-serine, D-alanine が開発され、それぞれの臨床試験において、既存の抗精

神病薬と併用した場合に陽性症状、陰性症状および認知機能障害の改善効果が認められている²²⁾。しかし、これら薬剤は脳内移行性が低く、抗精神病作用を発揮するのに高用量を必要とするため経口摂取は現実的ではない。腎障害の惹起、抑制性 glycine 受容体に対する作用などの問題のために臨床への応用は困難である²³⁾。

D-cycloserine は NMDA 受容体 glycine 結合部位に対する部分作動薬であり、従来、細胞壁ペプチドグリカン生合成阻害作用を持つために、抗結核薬として開発された。脳移行性が比較的高いが、作動薬としても拮抗薬としても働く部分作動薬であるために用量の設定が難しいとされている。統合失調症を対象とした臨床試験において、低用量 (50mg/日) を抗精神病薬と併用した場合に陰性症状の改善が認められたという結果が多数報告されているが、clozapine との併用では陰性症状を悪化させ²⁴⁾、高用量 (250mg/日) では症状を悪化させ、期待した効果は得られていない。

3. Glycine transporter type 1 (Gly T1) 阻害薬

Glycine 結合部位の作動薬は脳内移行性が悪く、治療には高用量を要する。これらの問題を克服するため、血液脳関門透過性が高く、シナプス間隙における glycine 濃度を上昇させるための戦略として、glycine transporter 阻害薬の開発が進められている²⁵⁾。N-methyl-glycine (sarcosine) は glycine transporter type 1 (Gly T1) 阻害薬であり、臨床試験において既存の抗精神病薬への付加療法において陽性症状、陰性症状に加え認知機能障害の改善効果が認められており、有害事象も placebo と比較して有意な差はなかった²⁶⁾。SSR-504734 は前臨床試験までの結果が公表されており²⁷⁾、臨床試験の実施が待ち望まれている。JNJ-17305600 は第 I 相試験に着手されているが、有害事象のために開発を中断している。Gly T1 阻害薬は既存薬との付加的併用療法のみならず、単剤による治療効果も十分に期待できると考えられており、多くの Gly T1 阻害薬が合成されている。これら薬剤は NMDA 受容体機能を促進し、DA 神経伝達の是正を図る新規抗精神病薬として注目されており、今後の臨床成果が大いに期待されて

いる。

4. AMPA 受容体作動薬

AMPA 受容体は non-NMDA 受容体の1つであり、glutamate 神経伝達を制御していることから抗精神病薬の治療標的となっている。CX516はAMPA 受容体を賦活する ampakine の1つであり、チャネルの開口を制御して長期増強 (LTP) や学習、記憶などの認知機能の改善効果が期待されている。臨床試験において、clozapine との併用で陰性症状および認知機能の改善が認められている²⁸⁾。しかし、他の非定型抗精神病薬との併用では PANSS, SANS, GAS による評価は placebo と比較して差はなく²⁹⁾、単剤使用においても有効性が確認されていない³⁰⁾。米国ではアルツハイマー病や注意欠陥多動性障害に対する第II相試験が行われているが、統合失調症治療薬としての開発は進展することはないと考えられている。

5. Glutamate hyperfunction 仮説

Glutamate hypofunction 仮説²³⁾に相反して、NMDA 受容体拮抗薬がPFCおよび側坐核における glutamate と DA の遊離量を増加させることが報告された³¹⁾。Glutamate の遊離を抑制する metabotropic glutamate receptor (mGluR) 作動薬がPCP 誘発性精神症状を改善することから、統合失調症では glutamate 作動性神経系の機能亢進が関与しているという glutamate hyperfunction 仮説が提唱された³²⁾。その後の研究で、NMDA 受容体の遮断作用が GABA 作動性神経系を介する glutamate 作動性神経系の抑制機構を解除し、その結果 glutamate の遊離が促進して機能亢進状態に至るとの報告がなされている³³⁾。

6. mGlu2/3R 作動薬

mGluR は8つのサブタイプが存在し³⁴⁾、統合失調症に關与するのは mGluR2/3 と mGluR5 であると考えられており、両受容体を創薬標的として新規抗精神病薬の研究、開発が実施されている。mGlu2/3R は前脳部に多く発現し、シナプス前部の自己受容体として glutamate 遊離を制御している。mGlu2/3R 作動薬は glutamate 作動性神経系

の過活動状態を是正することで抗精神病作用を発揮すると考えられる。

1998年、mGlu2/3R 作動薬である LY354740 は、非臨床試験においてPCPにより惹起される異常行動を改善したことから、glutamate hyperfunction 仮説を推進する立役者となった³¹⁾。米国では抗不安薬として第II相試験が実施されている。その後、脳移行性を改善したプロドラッグである LY404039 の開発を経て³⁵⁾、生体内利用率をさらに向上させた LY2140023 が臨床開発されている。統合失調症を対象とした二重盲検比較試験の結果、4週間にわたる LY2140023 投与により対照薬の olanzapine と同様に陽性症状、陰性症状が placebo と比較して有意に改善された³⁶⁾。プロラクチン濃度の上昇、EPS の発現、体重増加などの副作用は placebo と差は無かった。現在では後期第II相試験が実施されており、今後も大いに注目していきたい。

7. mGlu5R allosteric modulator

mGlu5R は前脳部、中脳部のシナプス後部に存在し、統合失調症をはじめ、パーキンソン病、薬物依存などの精神障害に關与すると考えられている³⁷⁾。mGlu5R 作動薬はNMDA 受容体拮抗薬などにより惹起される異常行動を改善することが見出されており、統合失調症治療薬となる可能性が示唆される。CDPPB は mGlu5R の allosteric modulator であり、非臨床試験の結果が多数報告され³⁸⁾、臨床試験の実施が待ち望まれる。

4. ニコチン性アセチルコリン受容体作動薬

脳内 acetylcholine (ACh) 作動性神経系は認知機能に重要な役割を果たしていること、非定型抗精神病薬が統合失調症における認知機能障害を改善すること、非臨床試験で内側前頭前皮質における ACh の遊離を有意に増大させるという知見から、ACh esterase 阻害薬などのアルツハイマー型認知症治療薬が統合失調症における認知機能障害に臨床応用できるかどうか検討されている³⁹⁾。しかし、世界各国でアルツハイマー型認知症治療薬として発売されている ACh esterase 阻害薬の

donepezilを用いた臨床試験において、明らかな認知機能の改善効果は認められていない³⁹⁾。一方、統合失調症の脳内では、ニコチン性アセチルコリン受容体数が減少しており、認知機能障害との関連が注目されている⁴⁰⁾。

GalantamineはACh esterase阻害作用に加え、nicotinic ACh receptor (nAChR) アロステリック作用も有し、海外では既にdonepezil同様、アルツハイマー型認知症治療薬として承認されており⁴¹⁾、わが国では大規模第Ⅲ相試験が行われている。統合失調症における認知機能障害に対する臨床試験の結果、risperidoneへの上乗せにより、placeboと比較して有意に認知機能が改善された⁴²⁾。これは認知機能に関与しているnAChR(特に $\alpha 7$ サブタイプ)に対してアゴニストとして作用することが統合失調症の認知機能障害に関与していることを示唆している⁴⁰⁾。マウスを用いた非臨床試験において、galantamineの単剤およびrisperidoneとの併用投与は、PCPにより誘発される認知機能障害を改善することが報告されている⁴³⁾。

5. おわりに

統合失調症の病態生理は完全には解明されておらず、これまで様々な病態仮説に基づいて治療薬の開発が行われてきた。DA仮説³⁾、dopamine-serotonin仮説⁶⁾に基づき開発されたFGAやSGAは、少なからず統合失調症の病態には神経伝達系の異常が関与し、それを是正することで症状を改善することを印象付けた。一方で、FGAやSGAでは十分な効果が得られない治療抵抗性の統合失調症が存在し、これら治療抵抗例の克服を実現する治療薬の開発が切に望まれている。これら治療抵抗例は陰性症状や認知機能障害を伴うことが多く、SGAの使用により若干の改善が見られる症例があるが十分とは言えない。認知機能障害は患者の生活の質(QOL)を大きく損なう要因の一つであることから、治療上の大きな課題となっている。したがって、統合失調症の治療薬開発の指標として陽性症状、陰性症状よりもむしろ認知機能障害に焦点が当てられている。例えば、米国で

はMATRICSプロジェクトと呼ばれる臨床評価法と治療法を探索する研究が開始されており⁴⁴⁾、新規治療薬の開発構想や既存の治療法が見直される可能性も十分ある。

新規抗精神病薬の開発動向として、従来の抗精神病薬とは異なる病態仮説に基づいた薬理学的特性を持つ治療薬の開発が手掛りられ、そのうちのいくつかは仮説検証的な創薬において実用化に向けて着実に臨床成果を挙げている²⁴⁾。近い将来、統合失調症の薬物治療は新たな局面を迎えるものと考え、今後の新規治療薬の開発にも大いに注目していきたい。

文 献

- 1) Lang UE, Puls I, Muller DJ, et al (2007) Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*, 20 : 687-702.
- 2) Seeman P (1987) Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse*, 1 : 133-152.
- 3) Kapur S, Remington G (2001) Atypical antipsychotics : new directions and new challenges in the treatment of schizophrenia. *Annu Rev Med*, 52 : 503-517.
- 4) Lieberman JA, Kane JM, Alvir J (1987) Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, 91 : 415-433.
- 5) Kane J, Honigfeld G, Singer J, et al (1988) Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. A double-blind comparison with chlorpromazine. *Arch Gen Psychiatry*, 45 : 789-796.
- 6) Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC (1989) Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pKi values. *J Pharmacol Exp Ther*, 251 : 238-246.
- 7) 采輝昭, 久留宮聡 (2007) Blonanserinの薬理学的特徴. *臨床精神薬理*, 10 : 1263-1272.
- 8) 村崎光邦 (2007) 統合失調症に対するblonanserinの臨床評価 Haloperidolを対照とした二重盲検法による検証的試験. *臨床精神薬理*, 10 : 2059-2079.
- 9) 三浦貞則 (2008) 統合失調症に対するblo-

- nanserinの臨床評価 Risperidoneを対照とした二重盲検比較試験. 臨床精神薬理, 11 : 297-314.
- 10) 樋口輝彦 (2007) 向精神薬の創薬動向 ブレークスルーを求めて. 臨床精神薬理, 10 : 1971-1977.
 - 11) Shahid M, Walker GB, Zorn SH, et al (2008) Asenapine: a novel psychopharmacologic agent with a unique human receptor signature. *J Psychopharmacol*.
 - 12) Potkin SG, Cohen M, Panagides J (2007) Efficacy and tolerability of asenapine in acute schizophrenia : a placebo- and risperidone-controlled trial. *J Clin Psychiatry*, 68 : 1492-1500.
 - 13) Graham JM, Coughenour LL, Barr BM, et al (2008) 1-Aminoindanes as novel motif with potential atypical antipsychotic properties. *Bioorg Med Chem Lett*, 18 : 489-493.
 - 14) Nemeroff CB, Lieberman JA, Weiden PJ, et al (2005) From clinical research to clinical practice : a 4-year review of ziprasidone. *CNS Spectr*, 10 : s1-20.
 - 15) Burris KD, Molski TF, Xu C, et al (2002) Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 302 : 381-389.
 - 16) Goodnick PJ, Jerry JM (2002) Aripiprazole : profile on efficacy and safety. *Expert Opin Pharmacother*, 3 : 1773-1781.
 - 17) Tadori Y, Kitagawa H, Forbes RA, et al (2007) Differences in agonist/antagonist properties at human dopamine D (2) receptors between aripiprazole, bifeprunox and SDZ 208-912. *Eur J Pharmacol*, 574 : 103-111.
 - 18) Allen RM, Young SJ (1978) Phencyclidine-induced psychosis. *Am J Psychiatry*, 135 : 1081-1084.
 - 19) Konradi C, Heckers S (2003) Molecular aspects of glutamate dysregulation : implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacol Ther*, 97 : 153-179.
 - 20) Danysz W, Parsons AC (1998) Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors : physiological significance and possible therapeutic applications. *Pharmacol Rev*, 50 : 597-664.
 - 21) Waziri R (1988) Glycine therapy of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 23 : 210-211.
 - 22) Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck K (2005) Glutamatergic drugs for schizophrenia : a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res*, 72 : 225-234.
 - 23) Javitt DC (2004) Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. *Mol Psychiatry*, 9 : 979, 984-997.
 - 24) Erhart SM, Marder SR, Carpenter WT (2006) Treatment of schizophrenia negative symptoms : future prospects. *Schizophr Bull*, 32 : 234-237.
 - 25) Javitt DC (2008) Glycine transport inhibitors and the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 63 : 6-8.
 - 26) Lane HY, Liu YC, Huang CL, et al (2008) Sarcosine (N-methylglycine) treatment for acute schizophrenia : a randomized, double-blind study. *Biol Psychiatry*, 63 : 9-12.
 - 27) Depoortere R, Dargazanli G, Estenne-Bouhtou G, et al (2005) Neurochemical, electrophysiological and pharmacological profiles of the selective inhibitor of the glycine transporter-1 SSR504734, a potential new type of antipsychotic. *Neuropsychopharmacology*, 30 : 1963-1985.
 - 28) Goff DC, Leahy L, Berman I, et al (2001) A placebo-controlled pilot study of the ampakine CX516 added to clozapine in schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol*, 21 : 484-487.
 - 29) Goff DC, Lamberti JS, Leon AC, et al (2008) A placebo-controlled add-on trial of the Ampakine, CX516, for cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 33 : 465-472.
 - 30) Marenco S, Egan MF, Goldberg TE, et al (2002) Preliminary experience with an ampakine (CX516) as a single agent for the treatment of schizophrenia : a case series. *Schizophr Res*, 57 : 221-226.
 - 31) Moghaddam B, Adams BW (1998) Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science*, 281 : 1349-1352.
 - 32) Deakin JF, Slater P, Simpson MD, et al (1989) Frontal cortical and left temporal glutamatergic dysfunction in schizophrenia. *J Neurochem*, 52 :

- 1781-1786.
- 33) Krystal JH, D'Souza DC, Mathalon D, et al (2003) NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia : toward a paradigm shift in medication development. *Psychopharmacology (Berl)*, 169 : 215-233.
- 34) Moghaddam B (2004) Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, 174 : 39-44.
- 35) Rorick-Kehn LM, Johnson BG, Burkey JL, et al (2007) Pharmacological and pharmacokinetic properties of a structurally novel, potent, and selective metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist : in vitro characterization of agonist (-) - (1R, 4S, 5S, 6S) -4-amino-2-sulfonylbicyclo [3.1.0] -hexane-4, 6-dicarboxylic acid (LY 404039). *J Pharmacol Exp Ther*, 321 : 308-317.
- 36) Patil ST, Zhang L, Martenyi F, et al (2007) Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia : a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med*, 13 : 1102-1107.
- 37) Conn PJ, Pin JP (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 37 : 205-237.
- 38) Lecourtier L, Homayoun H, Tamagnan G, et al (2007) Positive allosteric modulation of metabotropic glutamate 5 (mGlu5) receptors reverses N-Methyl-D-aspartate antagonist-induced alteration of neuronal firing in prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*, 62 : 739-746.
- 39) Friedman JI (2004) Cholinergic targets for cognitive enhancement in schizophrenia : focus on cholinesterase inhibitors and muscarinic agonists. *Psychopharmacology (Berl)*, 174 : 45-53.
- 40) Hashimoto K, Iyo M, Freedman R, et al (2005) Tropisetron improves deficient inhibitory auditory processing in DBA/2 mice : role of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors. *Psychopharmacology (Berl)*, 183 : 13-19.
- 41) Wang D, Noda Y, Zhou Y, et al (2007) The allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors by galantamine ameliorates the cognitive dysfunction in beta amyloid25-35 i.c.v.-injected mice : involvement of dopaminergic systems. *Neuropsychopharmacology*, 32 : 1261-1271.
- 42) Allen TB, McEvoy JP (2002) Galantamine for treatment-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 159 : 1244-1245.
- 43) Wang D, Noda Y, Zhou Y, et al (2007) Synergistic effect of combined treatment with risperidone and galantamine on phencyclidine-induced impairment of latent visuospatial learning and memory : Role of nAChR activation-dependent increase of dopamine D1 receptor-mediated neurotransmission. *Neuropharmacology*, 53 : 379-389.
- 44) Buchanan RW, Davis M, Goff D, et al (2005) A summary of the FDA-NIMH-MATRICES workshop on clinical trial design for neurocognitive drugs for schizophrenia. *Schizophr Bull*, 31 : 5-19.

老年病態モデル編

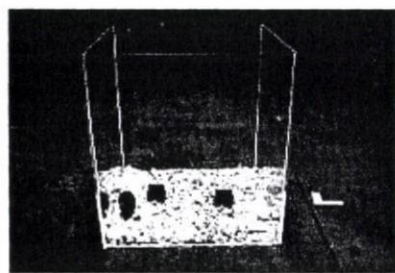
マウスを用いた 学習記憶試験法

名城大学 大学院 薬学研究科 鍋島 俊隆・間宮 隆吉

我が国は超高齢化社会を迎え、アルツハイマー病などの認知症の患者は増加の一途をたどっている。基礎研究領域ではアルツハイマー病発症メカニズムの解明や治療薬の開発のために様々なモデルマウスが生み出され、そうしたモデル動物や新規化合物の有用性を評価するための行動薬理学的手法（学習記憶試験）が数多く開発されてきた。ここでは我々の研究室で使用している方法を中心に、手軽に実施できる方法で多くの論文で採用されている方法について紹介する。

行動薬理学的試験では実験環境は実験結果に直接影響する非常に重要な要因である。我々は室温25℃に設定し5~7畳ほどの半防音性の実験室で、天井の照明用蛍光灯の光を直接マウスや実験装置に当てないように厚紙や黒色ビニールで明るさを調節し、実験装置付近の明るさをおよそ30ルクスに保って実験している。

訓練試行



保持試行

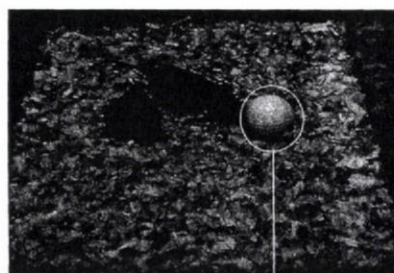


図1. 新奇物体認知試験

3日間の馴化期間中から装置内に軽く床敷を敷いておくとマウスは比較的物体に注目ようになる（見やすくするために透明の装置で撮影した）。

1. 新奇物体認知試験^{1,2)} (図1)

この試験は4～5日からなり、短期および長期記憶能力を評価する方法として利用している。マウスが新奇なものに興味を示すという習性を利用するため強化因子は不要である。

マウスを黒色アクリル製の装置（縦30×横30×高さ35 cm）に慣らすために1匹ずつ3日間（1日15分）装置内を探索させる。4日目に訓練試行として装置内に2つの同じオブジェクトを置き、各オブジェクトに接触する時間および回数を5分間記録し、マウスを静かに飼育ケージに戻す（訓練試行）。保持試行としてその直後（あるいは1時間後、24時間後など）に一方のオブジェクトを新奇オブジェクトと取替え、再びマウスを装置に戻し、各オブジェクトに接触する時間および回数を5分間記録する。

訓練試行においては総探索時間におけるいずれかのオブジェクトへの探索時間の割合を、また保持試行においては総探索時間における新奇オブジェクトへの探索時間の割合を探索嗜好性（%）として算出し、後者を認知機能の指標とする。また、短期および長期記憶の測定のために保持試行は、訓練試行の直後、1時間後あるいは24時間後など研究目的に応じて変える。なお、オブジェクトは一般に積み木、小さい塩ビ性の人形などが用いられるが、我々は高い再現性から、フィルムケースを利用している。また、新奇オブジェクトにはゴルフボールや、単1乾電池などを利用している。訓練試行では探索嗜好性（%）が期待値の50%となるよう実験環境を工夫すべきである。また、保持試行では新奇物体に対して70%ほどであればおおむね良好な実験環境であり再現性は高い。

2. 水探索試験^{3,4)}

この試験は訓練試行および保持試行の2日間からなり、潜在学習能力を評価する方法である。とくに強化因子を必要としないこと、またヒトにも容易に外挿可能な課題として活用している。

装置は図2のような灰色で塩ビあるいは木製のオープンフィールド（縦30×横50×高さ15 cm）と小部屋（縦10×横10×高さ10 cm）からなり、

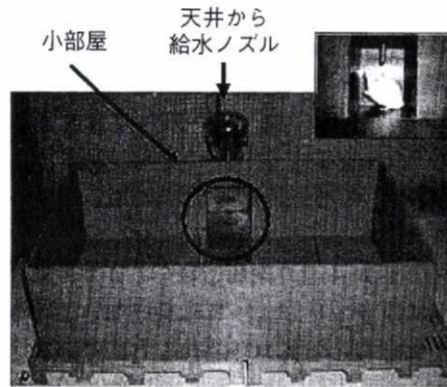


図2. 水探索試験

給水ノズルの長さを変えて見つけやすさを調節する。

給水ピンを逆さにして小部屋の天井から給水ノズルのみが小部屋内に出るように設置する。またオープンフィールドは10 cm四方となるように黒線で区切り、隣の升目に移動したときに行動量を1としてカウントする。訓練試行では実験直前まで給餌給水したマウスを装置に静かに入れ、3分間自由に探索させる。探索行動を始める時間（開始潜時：Starting latency）、給水ピンのある小部屋に入るまでの時間（進入潜時：Entering latency）および給水ノズルを見つけるまでの時間（発見潜時：Finding latency）をストップウォッチで計測する。給水ノズルを見つけてからマウスのオープンフィールド内での行動量と給水ノズルへのアプローチ回数をさらに3分間記録して、マウスの給水ノズルに対するモチベーションを確かめておく。3分以内に給水ノズルに接触しなかったマウスは以後の実験を行わず除外する。

訓練試行終了後、静かにマウスを飼育ケージに戻し24時間の絶水を行う。絶水後体重の減少を確認し、訓練試行と同じように各潜時を測定し、給水ノズルを発見するまで最大5分間観察する。発見潜時が小さいほど潜在学習能力が高いと判断できる。対照実験として訓練試行を行わず絶水したマウスを用いる。

なお、給水ノズルの床からの高さはマウスの系統や週齢など大きさにもよるが、ICRやddY系の6～7週齢（35 g前後）では訓練試行時には5 cm、

保持試行時には7 cmで行い、訓練試行時の発見潜時が100～150秒くらいでまよれば、潜在学習能力を亢進するかあるいは抑制するか比較する薬物の効果や遺伝子の影響について検討することができる。

3. 水迷路試験^{5,6)}

この試験は数日～10日からなり空間情報を手がかりにして、いかに早く水から逃れてゴールのプラットフォームに到達できるかを経時的あるいは経日的に計測し、空間学習記憶能力を調べる方法である。

図3に示したように直径120 cmのプール（動物の毛色が白であれば、プールの色は黒色や青色にし、黒色、灰色、チョコレート色、茶色などの場合はプールの色を白にする）に水を張り、直径約7 cmのゴール用のプラットフォームを水面下1 cmに置く（水温は24～26℃）。目印としてプールの周辺に星型や丸型の絵を張ったりピンを置くが、目印が多くてもかえってマウスが混乱することもある。

水面下のプラットフォームを探索する訓練試行（獲得試行）では4分割

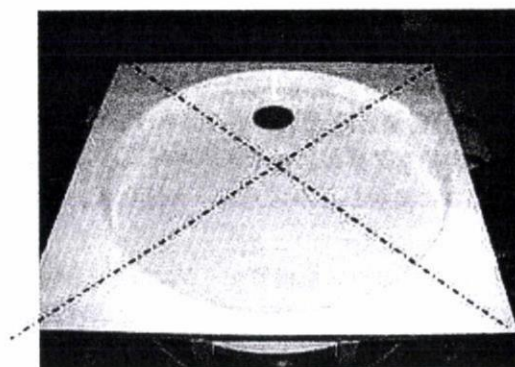


図3. 水迷路試験

黒色や茶色のマウスの測定のための白色のプールである。点線のように4分画に区切り、ランダムに各領域からマウスを入れて遊泳させる。中央の円はプラットフォームの位置を示している。

した任意の1区画の壁面付近からマウスを遊泳させ、60～90秒の観察時間内に、ゴールするのに要した遊泳時間（逃避潜時：Escape latency）を記録する。ゴールしたマウスは20秒間滞在させた後、静かに救い上げタオルで水をよくふき取っておく。ゴールできなかったマウスについてはプラットフォームに誘導し同様に20秒間滞在させてプラットフォームの位置を認識させる。この課題を1日3試行5～10日間行い、1日の平均逃避時間で表記する。逃避潜時が一定（15～30秒）となり、マウスがゴールの位置を記憶したと確認できたら、プローブ試行を行う。この試行はプラットフォームを取り除いた状態でマウスを泳がせたときにどれほどプラットフォームがあった区画を泳ぐか測定することで、記憶が保持されているかを見ることが出来る。

4. 恐怖条件付け学習試験^{7,8)} (図4)

この試験はパプロフ型条件付けを応用した試験で、電気刺激（無条件刺激）と、ブザー音やランプの光などの条件刺激を組み合わせ与え、一定

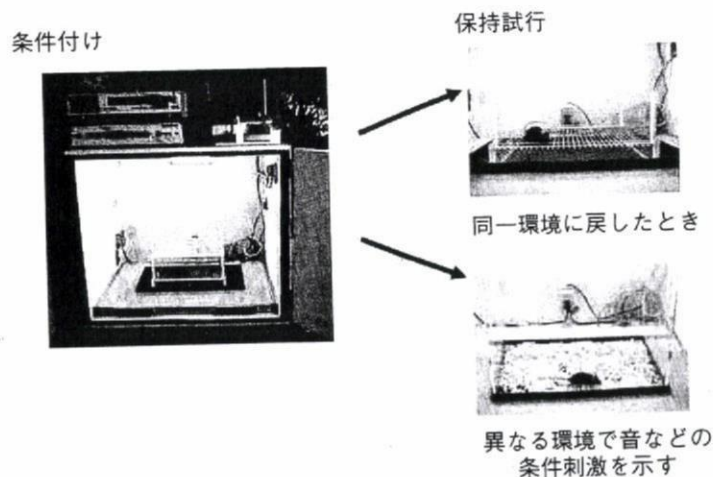


図4. 恐怖条件付け学習試験

条件付け時は半防音箱に入れる（撮影のために扉を開けている）。
保持試行で異なる環境下におく際には照明を調節するのよい。

時間後に恐怖行動（すくみ行動：freezing behavior）を指標としておもに長期記憶能を評価する。すくみ行動は、条件刺激を与えた時と同一環境下に戻し観察する文脈的すくみ行動（contextual freezing）と、異なる環境下で条件刺激を提示し観察する音や光依存性のすくみ行動（tone/light dependent freezing）に分けられている。

実験は、床面に1cm間隔でステンレスグリッドを設置した透明アクリル製のチャンバー（縦30×横50×高さ15cm）内にマウスを入れ、ブザー音（85デシベル、30秒）を鳴らし最後の2秒間だけ電気刺激（0.6 mA）と組み合わせて条件付けを行う。この条件付けを1セットとし15秒間隔で3回繰り返す。電気刺激を与えている際にマウスのすくみ行動の有無を確認し、条件付けが成立しているかどうか確認しておく。保持試行として条件付けの一定時間後（直後、1時間後、24時間後など）に、同じ装置内にマウスを静かに戻し、ブザー音や電気刺激のない環境下で3分間すくみ行動を観察し記録する。また、条件付けを行った環境とは全く異なる環境下で、ケージにマウスを静かに入れ、ブザー音を聞かせた際に起きるすくみ行動を3分間観察記録する。

データはそれぞれ全測定時間に対するすくみ行動時間の割合（%）で示す。我々の実験系でのすくみ行動は薬物未処置のICR系やC57BL系マウスにおいては、条件付けで20～30%前後、保持試行で60～70%である。

5. 最後に

行動実験のプロトコールは唯一ではなく、研究者によって最適な手順で行われており様々である。本項では代表的な行動実験について我々の実験手順を紹介した。紙面の都合上4課題しか紹介できなかったが、他にも評価法はあるので他書^{9,10)}も参考にして欲しい。ここで取り上げた試験法は、マウスの学習記憶機能を評価できると受け入れられているが、検討を行う際には必ず複数の試験を行った上で総合的に学習記憶機能における作用や役割について考察することが肝要である。また、実験者によってデータにばらつきが生じることもあるので十分に訓練した後に本試験を始めることをお勧めする。当然実験データはビデオカメラ等で記録し保存しておくべきである。客観的なデータの集積には各種機器を利用するのもよい。この場

合は、機器による測定では行動の一断面しか計測できないことを認識すべきであり、行動実験の基本は実験者の五感によることを忘れてはいけない。

参考文献

- 1) Nagai T, *et al.* : FASEB J, 17: 50-2, 2003.
- 2) Kamei H, *et al.* : Biol Psychiatry, 59: 75-84, 2006.
- 3) Ichihara K, *et al.* : Eur J Pharmacol, 164: 189-95, 1989.
- 4) Mamiya T, *et al.* : Brain Res, 783: 236-40, 1998.
- 5) Manabe T, *et al.* : Nature, 394: 577-81, 1998.
- 6) Mouri A, *et al.* : FASEB J, 21: 2135-48, 2007.
- 7) Mamiya T, *et al.* : Mol Psychiatry, 8: 752-65, 2003.
- 8) Enomoto T, *et al.* : Mol Pharmacol, 68: 1765-74, 2005.
- 9) 田所作太郎 (監・編) : 行動薬理学の実践 -薬物による行動変化-, 星和書店, 1991.
- 10) 田熊一徹ほか : 日本薬理学雑誌, 130: 112-116, 2007.

平成 20 年度 主任・分担研究者氏名一覧

「化学物質による神経伝達物質受容体を介した精神毒性発現機序の解明
および行動評価方法の開発に関する研究」

区分	氏名		住所	所属	職名	e-mail
主任	鍋島俊隆	〒468-8503	名古屋市天白区 八事山150	名城大学大学院 薬学研究科 薬品作用学教室	教授	tnabeshi@ccmfs.meijo-u.ac.jp
分担	山田清文	〒466-8560	名古屋市昭和区 鶴舞町65	名古屋大学大学院 医学系研究科医療薬 学・附属病院薬剤部	教授	kyamada@med.nagoya-u.ac.jp
分担	野田幸裕	〒468-8503	名古屋市天白区 八事山150	名城大学薬学部 医薬情報学研究室	教授	ynoda@ccmfs.meijo-u.ac.jp
分担	永井 拓	〒466-8560	名古屋市昭和区 鶴舞町65	名古屋大学大学院 医学系研究科医療薬 学・附属病院薬剤部	特任講 師	t-nagai@med.nagoya-u.ac.jp
分担	間宮隆吉	〒468-8503	名古屋市天白区 八事山150	名城大学大学院 薬学研究科 薬品作用学研究室	助教	mamiya@ccmfs.meijo-u.ac.jp