

The effects of acute treatment with tandospirone, diazepam, and placebo on driving performance and cognitive function in healthy volunteers

Masahiro Takahashi¹, Kunihiro Iwamoto^{1*,†}, Yukiko Kawamura², Yukako Nakamura¹, Ryoko Ishihara¹, Yuji Uchiyama³, Kazutoshi Ebe³, Akiko Noda⁴, Yukihiro Noda², Keizo Yoshida⁵, Tetsuya Iidaka¹ and Norio Ozaki¹

¹Department of Psychiatry, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Aichi, Japan

²Division of Clinical Science and Neuropsychopharmacology, Graduate School of Pharmacy, The Meijyo University, Nagoya, Aichi, Japan

³Toyota Central R&D Labs., Inc., Nagakute, Aichi, Japan

⁴Nagoya University School of Health Sciences, The Nagoya University, Nagoya, Aichi, Japan

⁵Health Care Promotion Department, Denso Corporation, Kariya, Aichi, Japan

Objective To assess the effects of two anxiolytics, diazepam and tandospirone, on driving performance from methodological viewpoints taking frequent rear-end collisions into account.

Methods In this double-blinded, three-way crossover trial, 18 healthy males received acute doses of 20 mg tandospirone (TSP), 5 mg diazepam (DZP), and placebo (PCB). The subjects were administered three driving tasks—road tracking, car following, and harsh braking—performed using a driving simulator and three cognitive tasks—Wisconsin Card Sorting Test, Continuous Performance Test, and N-back test—at baseline and at 1 and 4 h post-dosing. The Stanford Sleepiness Scale scores were also assessed.

Results DZP nonsignificantly increased the percent change of brake reaction time (BRT) as compared to PCB at 4 h post-dosing. TSP nonsignificantly decreased the percent change of BRT as compared to PCB. Consequently, there was a significant difference in the percent change of BRT between DZP and TSP at 4 h post-dosing. For the remaining tasks, no statistically significant effects of treatment were observed.

Conclusions Acute doses of DZP significantly impaired the harsh-braking performance as compared to acute doses of TSP. These findings suggest that TSP may be used more safely in patients' driving activities. Copyright © 2010 John Wiley & Sons, Ltd.

KEY WORDS—anxiolytics; tandospirone; diazepam; driving performance; cognitive function

INTRODUCTION

Benzodiazepines are widely prescribed for the treatment of various psychiatric conditions. Pharmacological treatment with benzodiazepines can relieve symptoms of anxiety in patients suffering from both anxiety and depression. However, daytime sedation and impairment of psychomotor and cognitive function are a few of the main problems associated with the use of benzodiazepine anxiolytics. Although acute treatment with benzodiazepines is known to cause sedation, drowsiness, psychomotor slowing, anterograde amnesia, and difficulties in learning new material (Barbee,

1993), even long-term treatment with benzodiazepines has been reported to pose cognitive dysfunction (Stewart, 2005). These harmful effects may cause disadvantages in patients' everyday lives, including the operation of an automobile in a motorized society, and hinder the patients' social and occupational well-being.

Recently, considerable attention has been drawn toward serotonin 1A receptor-related anxiolytics, because unlike benzodiazepines, these drugs have the advantage of producing significantly low adverse effects in terms of drug dependence, drug abuse, sedation, and cognitive impairment (Suzuki *et al.*, 1993; Evans *et al.*, 1994; Chamberlain *et al.*, 2007). Tandospirone (TSP), an anxiolytic agent of the azapirone class, is a serotonin 1A receptor agonist used in Japan and China (Shimizu *et al.*, 1987; Wieland and Lucki, 1990). TSP has been marketed only in Japan and China. However, Japan is one of the most motorized countries, and the traffic

*Correspondence to: K. Iwamoto, Department of Psychiatry, Nagoya University, Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai, Showa, Nagoya, Aichi 466-8550, Japan. Tel: +81 52 744 2282. Fax: +81 52 744 2293
E-mail: iwamoto@med.nagoya-u.ac.jp

[†]Denotes equal first author contribution.

fatalities have reached about 5000 per year. China has been recently motorized by leaps and bounds, and surpassed the United States as the world's biggest car market in 2009. Under these circumstances, it is important to examine the effects of TSP on driving performance even if TSP is available only in Japan and China.

Much knowledge has been accumulated on the treatment efficacy of buspirone, also a serotonin 1A receptor agonist, for anxiety and depression (Feighner *et al.*, 1982; Jacobson *et al.*, 1985; Dimitriou and Dimitriou, 1998). Further, its effects on cognition (Boulenger *et al.*, 1989; Schaffler and Klausnitzer, 1989; Barbee *et al.*, 1991; Hart *et al.*, 1991; Chamberlain *et al.*, 2007), including driving ability, have been reported (Moskowitz and Smiley, 1982; Smiley and Moskowitz, 1986; van Laar *et al.*, 1992). However, little is known about the effects of TSP on cognition, particularly, its effect on driving skills.

Epidemiological studies indicate that benzodiazepines dose-dependently increased the overall traffic accident risk by a factor of 1.5 to about 3 times as compared to the control population, with appreciably higher risks during the first 4 weeks of prescription and with compounds having longer elimination half-lives (Oster *et al.*, 1990; Ray *et al.*, 1992; Neutel, 1995; Barbone *et al.*, 1998; Neutel, 1998). The blood concentration levels of benzodiazepines were also reported to be associated with driving impairment (Bramness *et al.*, 2002). A recent meta-analysis showed that benzodiazepines increased the risk of motor vehicle collisions that may be accounted for by a difficulty in maintaining road position (Rapoport *et al.*, 2009). However, Verster *et al.* (2005) suggested that actual driving tests in most of the previous studies measured only certain aspects of driving performance because of the inherent safety risks and measurement limits. In the real driving world, rear-end collisions account for nearly 30% of all traffic accidents in both Japan (National Police Agency Transportation Authority, 2009) and the United States (National Highway Traffic Safety Administration, U.S. Department of Transportation, 2008). It is imperative that a driver's ability to maintain a contextually appropriate following distance be reviewed to avoid rear-end collisions (Brookhuis *et al.*, 1994). However, the effects of anxiolytics on car-following performance have not been fully investigated. Further, car-following performance in the context of driving at relatively low speeds on crowded urban roads has not been examined thus far and may be difficult to evaluate in actual driving tests.

Car driving is a complex task requiring many cognitive processes, including perception, attention,

learning, memory, decision making, and action control. Therefore, the effects of anxiolytics should be evaluated in terms of not only the driving performance but also each cognitive function. The Wisconsin Card Sorting Test (WCST), Continuous Performance Test (CPT), and N-back test are widely used to assess cognitive functions, and they were also employed in our past study assessing the effects of antidepressants on cognition (Iwamoto *et al.*, 2008). These tasks are the desired complicated tasks and the neural correlates of these tasks involve broad cortical areas, particularly the frontal cortex, which is related to driving skills. However, the effects of anxiolytics on these three tasks have not yet been fully elucidated.

Thus, the aim of the present study was to evaluate the effects of acute treatment with TSP or diazepam (DZP) on driving performance and cognitive function with the use of the methods taking frequent rear-end collisions into account. By using the same driving simulator scenarios and cognitive tasks employed in our past study, we evaluated the effects of anxiolytics on driving performance and cognitive function.

METHODS

Subjects

Eighteen healthy male volunteers, aged 32–44 years (mean \pm SD, 37.1 \pm 3.3 years), were recruited using advertisement for this study. On conducting both health interviews and the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID), all applicants were found to be free from any physical or psychiatric disorders, and they were not under any medication. All applicants had been in possession of a driving license for at least 10 years and had been driving a car daily (minimum 5000 km/year). Finally, all of the applicants were regarded as the appropriate subjects in this study. The study was approved by the ethics committee of Nagoya University School of Medicine, and a written informed consent was obtained from each subject before participation.

Study design

In this study, we used a randomized, double-blind, placebo-controlled, three-way crossover design. Each subject was assigned to receive three treatments in a randomized, counterbalanced order set by laboratory personnel, who did not test subjects and analyze results. The random allocation sequence of each patient was concealed until the study termination. The subjects received acute doses of 20 mg TSP, 5 mg DZP, and matched placebo (PCB) in identical capsules across

three different treatment sessions. There was a washout period of at least 7 days between each treatment session.

Testing procedure

All subjects received substantial training in both driving and cognitive tests 1–2 weeks before the first testing; to minimize the learning effects, the subjects were trained until they reached the plateau level in training. On each test day, the participants were tested at approximately 9:30 AM by using the Stanford Sleepiness Scale (SSS) (Hoddes *et al.*, 1973), driving tests, and cognitive tests. The entire testing session lasted approximately 1 h for each participant. After the baseline assessment, each subject was administered one of the three test drugs. The assessments of driving skills and cognitive function were repeated at 1 and 4 h post-dosing.

Furthermore, the subjects were prohibited from consuming alcohol or caffeinated beverages for a period of 12 h before testing and were directed to sleep adequately on the night before testing. On the test days, the subjects were also prohibited from ingesting caffeine, supplemental drinks, chewing gum, or candies to stay awake since these substances could exert a stimulating effect on their performance. During the intervals between the test batteries, the subjects were given light tasks to prevent them from taking short naps.

Driving performance

We used a driving simulator (Toyota Central R&D Labs, Inc., Nagakute, Japan) to examine three driving skills that appeared to be associated with the traffic accidents including frequent rear-end collisions. This simulator software was run on a personal computer equipped with a steering wheel, accelerator, and brake pedal system. Images were projected onto a $1620 \times 1220 \text{ mm}^2$ screen via an LCD projector. The same simulator was used in previous studies (Uchiyama *et al.*, 2003; Iwamoto *et al.*, 2008), and details of the simulator configuration and driving tasks have been described previously (Iwamoto *et al.*, 2008). The road-tracking test used in the present study was based on previously developed test (O'Hanlon *et al.*, 1982; O'Hanlon, 1984). The gently winding two-lane road with no other traffic continued throughout the test. The subjects were instructed to drive at a constant speed of 100 km/h and stabilize their vehicles at the center of the left lane. The standard deviation of the lateral position (SDLP; in cm), which indicates weaving, was considered

as a performance measure. The car-following test included a straight two-lane road with no other traffic, except for a single preceding car. As the preceding car accelerated (to 60 km/h) or decelerated (to 40 km/h), the subject was required to maintain a constant distance between cars (targeted distance of 5 m) in the context of crowded urban roads driving. This performance was measured as the coefficient of variation (CV) obtained by dividing the standard deviation of the car-following distance (m) between the cars by the mean value (Uchiyama *et al.*, 2003). Therefore, a smaller value of distance CV (DCV) would indicate a better performance. The harsh-braking test included a straight two-lane road with no traffic, but with humanoid models on either side of the left lane. The subject was required to maintain a constant speed of 50 km/h and to avoid crashing into the humanoid models that randomly ran on the road by harsh braking. The test consisted of seven braking trials and the mean brake reaction time (BRT; in ms) was considered as a performance measure. Each test was recorded every 20 ms and lasted for a period of 5 min.

Cognitive function

The three cognitive tests, described in detail previously (Iwamoto *et al.*, 2008), were examined using a computer. Although it is well accepted that benzodiazepines cause cognitive impairments, the nature and magnitude of impairments has not been consistent (Snyder *et al.*, 2005). Previous studies using numerous conventional tasks have been prone to yielding varying results (de Visser *et al.*, 2003); therefore, we have employed more sophisticated and complicated tasks recently used as the mainstream methodologies.

The WCST (Heaton, 1981) was used to measure the executive function, for example, abstract reasoning ability or the ability to shift cognitive strategies in response to changing environmental contingencies. A modified computerized version of the WCST (Kashima *et al.*, 1987) was administered, and the test lasted until such time as 48 cards were sorted. In this test, the performance was measured using the following indices: category achievement (CA), perseverative errors of Nelson (PEN), and difficulty of maintaining set (DMS). The CPT (Cornblatt *et al.*, 1988) was used to measure sustained attention. We used the CPT-Identical Pairs version (CPT-IP). A series of four-digit stimuli were presented for a period of 50 ms, with an interstimulus interval (ISI) of 950 ms. Each complete task consisted of 150 trials of which 30 were target trials requiring a response. In this test the performance was measured by the signal detection index d -prime (d'), which is a measure of discriminability computed

from "hits" and "false alarms." The N-back test (Callicott *et al.*, 2000, 2003) was used to measure working memory. The stimulus duration was 0.4 s, and the ISI was 1.4 s; each test comprised 14 trials. In the present study, a two-back condition was used, and performance was measured as the percentage of correct responses (accuracy, %).

Subjective measurements—Stanford Sleepiness Scale and adverse events

The SSS (1 item) is a 7-point, self-reporting measure with proven sensitivity in several studies (Hoddes *et al.*, 1973) and examines the level of alertness of an individual. The subjects were instructed to evaluate themselves on this scale before the initiation of the test battery at baseline and at 1 and 4 h post-dosing. In addition, the adverse events spontaneously reported by the subjects or elicited by a nonleading question were recorded.

Statistical analyses

A two-way repeated-measure analysis of variance (ANOVA) with time and drug as factors was used to analyze the percentage changes in the outcome variables of driving tests, cognitive tests, and subjective scale during the 4 h post-dosing. In the WCST, differences rather than percent changes were used for calculating PEN and DMS because baseline values of zero can be obtained making it difficult to calculate percent changes. If a significant interaction between factors was observed, contrasts were used to compare the effects between each of the drug conditions. Percent changes in the outcome variables at each evaluation point were examined with the one-way factorial ANOVA followed by Fisher's PLSD test. Statistical analyses was performed using StatView Version 5.0 (SAS Institute, Inc., Cary, NC), except for the two-way repeated-measure ANOVA with contrasts, which was performed using SuperANOVA Version 1.11 (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA). All tests were two-tailed; α was set at 0.05.

RESULTS

Missing data

Because of technical malfunctions, car-following test data were incomplete for one subject, CPT data were incomplete for two subjects, and N-back test data were incomplete for three subjects. Only complete data sets were included in the analysis.

Driving performance

A summary of the results of driving tests is provided in Table 1a. There was no significant difference in baseline outcome variables of the driving tests among each drug condition. The results of the BRT are presented in Figure 1. A two-way repeated-measures ANOVA with all three conditions indicated a significant drug \times time interaction in the harsh-braking test ($F = 2.62$, $df = 4$, $p = 0.039$). Contrast analysis indicated a significant drug \times time interaction between the DZP and TSP condition ($F = 5.18$, $df = 2$, $p = 0.0072$). The BRT of the DZP condition was significantly greater than that observed in the TSP condition at 4 h post-dosing ($p = 0.002$). Contrast analysis indicated no significant drug \times time interaction between the DZP and PCB condition and the TSP and PCB condition. Two-way repeated-measures ANOVA showed no significant drug \times time interaction in both the road-tracking and car-following test. None of the subjects suffered from simulator sickness during the experiment.

Cognitive function

A summary of the results of cognitive tests is provided in Table 1b. Two-way repeated-measures ANOVA showed no significant interaction in cognitive tests among the three conditions.

Subjective measurements

A summary of the SSS results is shown in Table 1c. Two-way repeated-measures ANOVA showed no significant interaction in sleepiness among the three conditions.

A summary of adverse events is provided in Table 2. The adverse event with the highest incidence in the DZP group was somnolence followed by dizziness and a "stuffy head." In the TSP group, the adverse event with the highest incidence was somnolence followed by a "stuffy head." In the PCB group, "stuffy head" was reported once.

DISCUSSION

The results of the present study indicate that DZP significantly impaired the harsh-braking performance compared to TSP in acute dosing. DZP nonsignificantly increased the percent change of BRT compared to PCB at 4 h post-dosing. In contrast, TSP nonsignificantly decreased the percent change of BRT compared to PCB at 4 h post-dosing. Consequently, there was a significant difference in the percent change of BRT between DZP and TSP at 4 h post-dosing. All other driving and cognitive performances were not

Table 1. Summary of the results of driving tests, cognitive tests, and subjective measurements in healthy subjects enrolled in a crossover trial of tandospirone, diazepam, and placebo ($N = 18$)

Measure	Test time	Mean (SD)		
		Placebo	Tandospirone 20 mg	Diazepam 5 mg
(a) Driving test				
SDLP (cm)	Baseline	40.6 (10.21)	39.4 (9.16)	39.9 (8.86)
	1 h	40.1 (10.01)	39.9 (9.52)	44.7 (10.47)
	4 h	38.7 (8.72)	39.8 (8.29)	41.8 (11.02)
DCV ^a	Baseline	25.3 (12.99)	39.6 (45.47)	34.7 (25.09)
	1 h	27.6 (18.00)	72.6 (73.50)	91.5 (116.26)
	4 h	27.2 (13.31)	53.2 (57.87)	92.0 (167.15)
BRT (ms)	Baseline	538.4 (45.22)	544.3 (61.75)	519.3 (64.40)
	1 h	534.7 (64.83)	533.6 (65.46)	525.4 (58.13)
	4 h	540.7 (53.21)	531.5 (69.46)	541.9 (66.95)
(b) Cognitive tests WCST				
CA	Baseline	5.7 (0.49)	5.8 (0.88)	6.0 (0.34)
	1 h	5.7 (0.54)	5.8 (0.55)	5.6 (0.78)
	4 h	5.8 (0.42)	5.9 (0.58)	5.8 (0.51)
PEN	Baseline	0.4 (0.86)	0.6 (1.46)	0.4 (0.85)
	1 h	0.7 (2.14)	0.6 (1.65)	0.5 (0.86)
	4 h	0.5 (1.25)	0.6 (0.92)	0.7 (1.71)
DMS	Baseline	0.1 (0.32)	0.3 (0.77)	0.1 (0.24)
	1 h	0.1 (0.24)	0.3 (0.75)	0.4 (0.62)
	4 h	0.0 (0.0)	0.2 (0.51)	0.2 (0.55)
CPT (d') ^b	Baseline	3.0 (0.81)	3.0 (0.86)	3.1 (0.77)
	1 h	2.9 (0.80)	3.2 (0.82)	3.2 (0.85)
	4 h	3.0 (0.87)	3.2 (0.79)	3.1 (0.85)
N-back test ^c (accuracy, %)	Baseline	87.1 (21.80)	87.2 (15.04)	93.81 (9.30)
	1 h	93.8 (11.09)	87.1 (16.24)	91.43 (15.08)
	4 h	87.6 (16.53)	94.3 (11.83)	94.76 (11.29)
(c) Subjective measurement				
SSS	Baseline	2.1 (0.73)	1.9 (0.32)	1.9 (0.42)
	1 h	2.3 (0.57)	2.2 (0.38)	2.7 (0.89)
	4 h	2.3 (0.57)	2.4 (0.61)	2.8 (0.81)

SDLP, standard deviation of lateral position; DCV, distance coefficient of variation; BRT, brake reaction time; WCST, Wisconsin card sorting test; CA, category achievement; PEN, perseverative errors of Nelson; DMS, difficulty of maintenance setting; CPT, continuous performance test; SSS, Stanford sleepiness scale. ^a $N = 17$; ^b $N = 16$; ^c $N = 15$.

significantly affected by each of the treatment groups. This is the first study to fully examine the effects of TSP on driving performance and cognitive functions.

The present results are roughly consistent with those of previous studies, which have examined the effects of buspirone, also a partial serotonin 1A receptor agonist. The previous studies have shown that buspirone has no detrimental effect on driving performance (Moskowitz and Smiley, 1982; Smiley and Moskowitz, 1986; van Laar *et al.*, 1992) and cognitive functions (Boulenger *et al.*, 1989; Schaffler and Klausnitzer, 1989; Barbee *et al.*, 1991; Hart *et al.*, 1991; Chamberlain *et al.*, 2007). Concerning driving performance, buspirone did not impair road tracking and speed control in actual driving study (Moskowitz and Smiley, 1982; Smiley and Moskowitz, 1986; van Laar *et al.*, 1992). It did not also impair tracking control, speed control, and emergency decision making in simulator studies (Moskowitz and Smiley, 1982; Smiley and Moskowitz, 1986; van Laar *et al.*, 1992). TSP, an anxiolytic agent of the azapirone class as buspirone, had about the same

effect on harsh-braking performance related to daily driving skills as PCB, and had significantly less deleterious effect on harsh-braking performance compared to DZP. In addition, TSP did not yield subjective somnolence in the present study and objective somnolence measured by a multiple sleep latency test in the previous study (Suzuki *et al.*, 1993). Together, the above findings suggest that TSP may be more useful for patients while performing everyday automobile driving activity than DZP.

Benzodiazepines are known to produce unwanted sedation and impaired psychomotor performance, including driving skill. DZP doses more than 10 mg impair driving performance in actual driving tests (O'Hanlon *et al.*, 1982; van Laar *et al.*, 1992; O'Hanlon *et al.*, 1995), whereas lesser doses (i.e., 5 mg) do not (O'Hanlon *et al.*, 1982). The present simulator study elucidated that 5 mg DZP did not significantly impair road-tracking performance. Previous studies have shown that benzodiazepines, equivalent dose of 5 mg DZP or more, also failed to affect harsh-braking

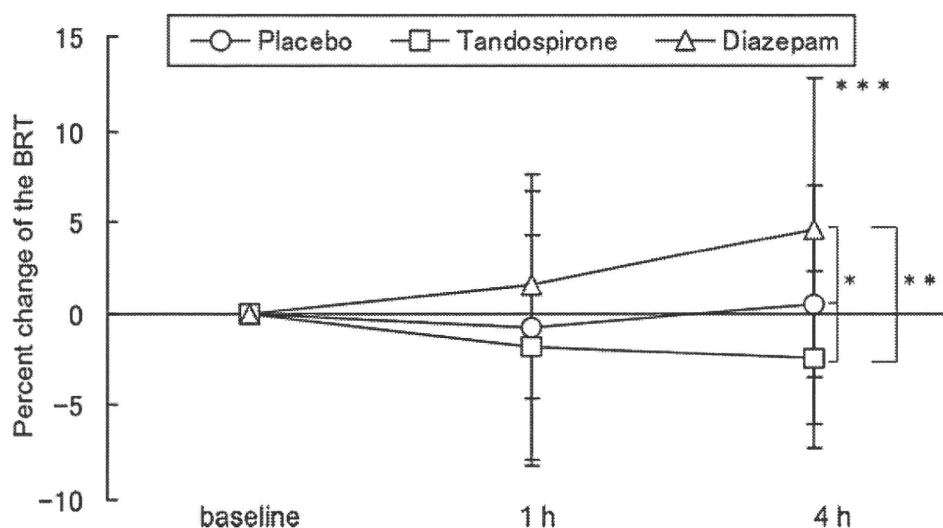


Figure 1. Percent changes of the BRT at baseline, 1 h, and 4 h post-dose of crossover treatment with tandospirone, diazepam, and placebo ($N = 18$). Each point represents the mean percent change \pm SD. Differences in the percent changes of BRT were examined by two-way repeated-measures ANOVA with contrasts. Differences in the percent change of BRT at each evaluation point were examined with a one-way factorial ANOVA followed by Fisher's PLSD test. *Significant drug \times time interaction among the three conditions ($F = 2.62$, $df = 4$, $p = 0.039$). **Significant drug \times time interaction between the diazepam and tandospirone condition ($F = 5.18$, $df = 2$, $p = 0.0072$). ***Significant difference at 4 h post-dose between diazepam and tandospirone ($p = 0.002$).

performance (Rapoport *et al.*, 2009); however, in the present study, 5 mg DZP impaired harsh-braking performance as compared to TSP. Although the effects of DZP on the various driving tasks require further research, the simulator's sensitivity might also influence the outcome. The present findings suggest that even small doses of DZP could lead to traffic accidents related to the braking operation. Small doses of DZP have also been reported to impair various cognitive tasks (Suzuki *et al.*, 1993; Kozena *et al.*, 1995; Coull *et al.*, 1995a, b); however, in the present study showed DZP did not significantly affect cognitive functions. In the present study, DZP also failed to significantly increase subjective sleepiness, but 5 mg DZP has been reported to increase objective sleepiness as measured by the multiple sleep latency test without causing subjective sleepiness (Suzuki *et al.*, 1993). The differences in methodology may account for these different outcomes. Thus, benzodiazepines caused both somnolence and cognitive impairment, which is likely to affect more complex behaviors such as driving (Verster *et al.*, 2005)

Table 2. Adverse events in healthy subjects enrolled in a crossover trial of tandospirone, diazepam, and placebo, N (%) ($N = 18$)

Adverse event	Placebo	Tandospirone 20 mg	Diazepam 5 mg
Somnolence	0 (0)	4 (22.2)	7 (38.9)
Dizziness, lightheadedness	0 (0)	0 (0)	4 (22.2)
Stuffy head	1 (5.6)	1 (5.6)	3 (16.7)

rather than simple cognitive tasks. The present study first revealed that harsh-braking performance can be impaired by a mere 5 mg of DZP. The simulator test used in this study might be considered a sensitive method to detect the medication effect on driving performance.

Antidepressants, especially tricyclics, have been known to cause driving impairment (Ramaekers, 2003), and our previous study also indicated that amitriptyline, unlike paroxetine, impaired road-tracking, and car-following performance in the same simulator, but not harsh-braking performance (Iwamoto *et al.*, 2008). The different effects observed with amitriptyline and DZP could be attributed to the differences in their pharmacological properties. Amitriptyline has strong antagonistic effects on cholinergic, adrenergic ($\alpha 1$), and histaminergic (H1) receptors causing cognitive impairment, balance disturbance, and sedation, respectively. In contrast, DZP maximally enhances the effects of g-aminobutyric acid (GABA) at the GABA-A receptor causing sedation and myorelaxation (Mohler *et al.*, 2002; Whiting, 2006). These effects of DZP may contribute to the harsh-braking performance, which requires quick locomotor behavior.

The present study has some potential limitations. First, participation was restricted to healthy adult volunteers. Neither elderly nor patient populations were included in the study. The elderly are more vulnerable to the side effects of pharmacological treatments. Besides, depression and anxiety in themselves can affect driving ability. Second, the effects

were assessed only after a single dose of TSP and DZP administration, not after chronic administration like clinical settings. Third, the validity and sensitivity of the driving simulator need to be considered; however, our past results using same simulator are roughly consistent with preceding results. Fourth, the baseline nonsignificant mismatches probably due to small sample size might have affected the results.

Finally, TSP did not significantly impair harsh-braking performance as compared to DZP in acute dosing, and may be used more safely in patients' driving activities. However, the anxiolytic effect of DZP appears soon after a single administration, while TSP requires several weeks to obtain the anxiolytic effect. Both benefit and weakness should be taken into consideration in the case of drug selection.

ACKNOWLEDGEMENTS

We sincerely thank the healthy volunteers for participating in our study. This work was supported in part by research grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, and Nagoya University Science Foundation.

REFERENCES

- Barbee JG. 1993. Memory, benzodiazepines, and anxiety: integration of theoretical and clinical perspectives. *J Clin Psychiatry* **54** (Suppl): 86–97.
- Barbee JG, Black FW, Kehoe CE, Todorov AA. 1991. A comparison of the single-dose effects of alprazolam, buspirone, and placebo upon memory function. *J Clin Psychopharmacol* **11**: 351–356.
- Barbone F, McMahon AD, Davey PG, et al. 1998. Association of road-traffic accidents with benzodiazepine use. *Lancet* **352**: 1331–1336.
- Boulenger JP, Squillace K, Simon P, Herrou M, Leymarie P, Zarifian E. 1989. Buspirone and diazepam: comparison of subjective, psychomotor and biological effects. *Neuropsychobiology* **22**: 83–89.
- Bramness JG, Skurtveit S, Morland J. 2002. Clinical impairment of benzodiazepines—relation between benzodiazepine concentrations and impairment in apprehended drivers. *Drug Alcohol Depend* **68**: 131–141.
- Brookhuis K, de Waard D, Mulder B. 1994. Measuring driving performance by car-following in traffic. *Ergonomics* **37**: 427–434.
- Callicott JH, Bertolino A, Mattay VS, et al. 2000. Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex* **10**: 1078–1092.
- Callicott JH, Egan MF, Mattay VS, et al. 2003. Abnormal fMRI response of the dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* **160**: 709–719.
- Chamberlain SR, Muller U, Deakin JB, et al. 2007. Lack of deleterious effects of buspirone on cognition in healthy male volunteers. *J Psychopharmacol* **21**: 210–215.
- Cornblatt BA, Risch NJ, Faris G, Friedman D, Erlenmeyer-Kimling L. 1988. The Continuous Performance Test, identical pairs version (CPT-IP): I. New findings about sustained attention in normal families. *Psychiatry Res* **26**: 223–238.
- Coull JT, Middleton HC, Robbins TW, Sahakian BJ. 1995a. Clonidine and diazepam have differential effects on tests of attention and learning. *Psychopharmacology (Berl)* **120**: 322–332.
- Coull JT, Middleton HC, Robbins TW, Sahakian BJ. 1995b. Contrasting effects of clonidine and diazepam on tests of working memory and planning. *Psychopharmacology (Berl)* **120**: 311–321.
- de Visser SJ, van der Post JP, de Waal PP, Cornet F, Cohen AF, van Gerven JM. 2003. Biomarkers for the effects of benzodiazepines in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* **55**: 39–50.
- Dimitriou EC, Dimitriou CE. 1998. Buspirone augmentation of antidepressant therapy. *J Clin Psychopharmacol* **18**: 465–469.
- Evans SM, Troisi JR, II, Griffiths RR. 1994. Tandospirone and alprazolam: comparison of behavioral effects and abuse liability in humans. *J Pharmacol Exp Ther* **271**: 683–694.
- Feighner JP, Merideth CH, Hendrickson GA. 1982. A double-blind comparison of buspirone and diazepam in outpatients with generalized anxiety disorder. *J Clin Psychiatry* **43**: 103–108.
- Hart RP, Colenda CC, Hamer RM. 1991. Effects of buspirone and alprazolam on the cognitive performance of normal elderly subjects. *Am J Psychiatry* **148**: 73–77.
- Heaton RK. 1981. *The Wisconsin Card Sorting Test (Manual)*. Psychological Assessment Resources: Odessa, FL.
- Hoddes E, Zarcone V, Smythe H, Phillips R, Dement WC. 1973. Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology* **10**: 431–436.
- Iwamoto K, Takahashi M, Nakamura Y, et al. 2008. The effects of acute treatment with paroxetine, amitriptyline, and placebo on driving performance and cognitive function in healthy Japanese subjects: a double-blind crossover trial. *Hum Psychopharmacol* **23**: 399–407.
- Jacobson AF, Dominguez RA, Goldstein BJ, Steinbook RM. 1985. Comparison of buspirone and diazepam in generalized anxiety disorder. *Pharmacotherapy* **5**: 290–296.
- Kashima H, Honda T, Kato M, et al. 1987. Neuropsychological investigation on chronic schizophrenia—aspect of its frontal functions. In Takahashi R, Flor-Henry P, Gruzeliere J, Niwa S (eds). *Cerebral Dynamics, Laterality and Psychopathology*. Elsevier: Amsterdam.
- Kozena L, Frantik E, Horvath M. 1995. Vigilance impairment after a single dose of benzodiazepines. *Psychopharmacology (Berl)* **119**: 39–45.
- Mohler H, Fritschy JM, Rudolph U. 2002. A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* **300**: 2–8.
- Moskowitz H, Smiley A. 1982. Effects of chronically administered buspirone and diazepam on driving-related skills performance. *J Clin Psychiatry* **43**: 45–55.
- Neutel CI. 1995. Risk of traffic accident injury after a prescription for a benzodiazepine. *Ann Epidemiol* **5**: 239–244.
- Neutel I. 1998. Benzodiazepine-related traffic accidents in young and elderly drivers. *Hum Psychopharmacol* **13**: S115–S123.
- National Highway Traffic Safety Administration, U.S. Department of Transportation. 2008. Traffic Safety Facts 2007, Washington, DC.
- National Police Agency Transportation Authority. 2009. Generation status of traffic accidents during the 20 year of the Heisei era. Tokyo.
- O'Hanlon JF. 1984. Driving performance under the influence of drugs: rationale for, and application of, a new test. *Br J Clin Pharmacol* **18** (Suppl 1): 121S–129S.
- O'Hanlon JF, Haak TW, Blaauw GJ, Riemersma JB. 1982. Diazepam impairs lateral position control in highway driving. *Science* **217**: 79–81.
- O'Hanlon JF, Vermeeren A, Uiterwijk MM, van Veggel LM, Swijgman HF. 1995. Anxiolytics' effects on the actual driving performance of patients and healthy volunteers in a standardized test. An integration of three studies. *Neuropsychobiology* **31**: 81–88.
- Oster G, Huse DM, Adams SF, Imbimbo J, Russell MW. 1990. Benzodiazepine tranquilizers and the risk of accidental injury. *Am J Public Health* **80**: 1467–1470.
- Ramaekers JG. 2003. Antidepressants and driver impairment: empirical evidence from a standard on-the-road test. *J Clin Psychiatry* **64**: 20–29.
- Rapport MJ, Lancot KL, Streiner DL, et al. 2009. Benzodiazepine use and driving: a meta-analysis. *J Clin Psychiatry* **70**: 663–673.
- Ray WA, Fought RL, Decker MD. 1992. Psychoactive drugs and the risk of injurious motor vehicle crashes in elderly drivers. *Am J Epidemiol* **136**: 873–883.

- Schaffler K, Klausnitzer W. 1989. Placebo-controlled study on acute and subchronic effects of buspirone vs bromazepam utilizing psychomotor and cognitive assessments in healthy volunteers. *Pharmacopsychiatry* **22**: 26–33.
- Shimizu H, Hirose A, Tatsuno T, Nakamura M, Katsube J. 1987. Pharmacological properties of SM-3997: a new anxiolytic candidate. *Jpn J Pharmacol* **45**: 493–500.
- Smiley A, Moskowitz H. 1986. Effects of long-term administration of buspirone and diazepam on driver steering control. *Am J Med* **80**: 22–29.
- Snyder PJ, Werth J, Giordani B, Caveney AF, Feltner D, Maruff P. 2005. A method for determining the magnitude of change across different cognitive functions in clinical trials: the effects of acute administration of two different doses alprazolam. *Hum Psychopharmacol* **20**: 263–273.
- Stewart SA. 2005. The effects of benzodiazepines on cognition. *J Clin Psychiatry* **66** (Suppl 2): 9–13.
- Suzuki M, Uchiumi M, Murasaki M. 1993. Effects of tandospirone, a 5-HT_{1A} receptor-related anxiolytic, on daytime sleepiness and psychomotor functions: a comparative double-blind study with diazepam. *Yakubutsu Seishin Kodo* **13**: 213–224.
- Uchiyama Y, Ebe K, Kozato A, Okada T, Sadato N. 2003. The neural substrates of driving at a safe distance: a functional MRI study. *Neurosci Lett* **352**: 199–202.
- van Laar MW, Volkerts ER, van Willigenburg AP. 1992. Therapeutic effects and effects on actual driving performance of chronically administered buspirone and diazepam in anxious outpatients. *J Clin Psychopharmacol* **12**: 86–95.
- Verster JC, Veldhuijzen DS, Volkerts ER. 2005. Is it safe to drive a car when treated with anxiolytics? Evidence from on-the-road driving studies during normal traffic. *Curr Psychiatry Rev* **1**: 215–225.
- Whiting PJ. 2006. GABA-A receptors: a viable target for novel anxiolytics? *Curr Opin Pharmacol* **6**: 24–29.
- Wieland S, Lucki I. 1990. Antidepressant-like activity of 5-HT_{1A} agonists measured with the forced swim test. *Psychopharmacology (Berl)* **101**: 497–504.

Copyright of Human Psychopharmacology: Clinical & Experimental is the property of John Wiley & Sons Ltd. 1996 and its content may not be copied or emailed to multiple sites or posted to a listserv without the copyright holder's express written permission. However, users may print, download, or email articles for individual use.

10 統合失調症動物モデルと その評価法

(野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆)

はじめに

統合失調症は、主に思春期以降に発症する慢性・進行性の精神疾患であり、幻覚や妄想、まとまりに欠ける会話や行動、感情の平板化、思考の貧困、意欲低下などを主訴とする (1)。新たな治療戦略を考えるためには臨床研究に加え、適切な病態モデル動物を用いた病態時の神経機能の解明や新規治療薬の有効性の評価を行うための基礎研究が必要である。これまでに集積されてきた臨床および基礎研究における知見から、統合失調症の病態に関して、いくつかの仮説 (ドパミン過剰仮説, グルタミン酸低下仮説, 神経発達障害仮説) が提唱されている (2, 3)。それぞれの仮説に基づき、その病態を反映したモデル動物の作製が試みられている (表 1)。一方、統合失調症の病因には遺伝的要因が関与していることが家系研究, 双生児研究, 養子研究などから示唆されており, 多くの候補遺伝子が見出されている。それらの候補遺伝子を改変させたマウスも統合失調症様モデル動物として注目されているものもある (表 2, 3)。これらのモデル動物を用いて陽性症状様 (図 1), 陰性症状様 (図 2, 3), 行動障害および認知障害 (図 4~8) を指標として行動評価する実験法がそれぞれ提案されている。本章では種々の病態動物モデルおよびこれら動物モデルを用いた評価方法について概説する。

1 モデル動物

(1) ドパミン作動性神経系機能亢進モデル

クロルプロマジンやハロペリドールなどの第一世代抗精神病薬がドパミン D_2 受容体拮抗作用を示し, その拮抗作用と抗精神病薬としての臨床力価がよく相関すること (4), 中脳辺縁系のドパミン作動性神経を興奮させる覚せい剤 [d-アンフェタミン (AMP) やメタンフェタミン (MAP)] は乱用者において統合失調症の陽性症状に類似した症状を引き起こすこと (5) から, 統合失調症の陽性症状はドパミン作動性神経の過活動に起因するという「ドパミン過剰仮説」が提唱された。この仮説に基づいて覚せい剤動物モデルが作製され, 新規治療薬の開発に利用されている (6)。低用量 (1~5 mg) の覚せい剤もしくは直接的ドパミン受容体作動薬 (アポモルヒネ: 1~3 mg など) を動物に急性投与すると, ドパミン作動性神経の過活動によって自発運動量および常同行動の増加がそれぞれ誘発される (7)。この運動量の増加に対してある薬物が抑制作用を示せば統合失調症の陽性症状に対する治療効果を反映していると考えられている。また, 覚せい剤動物モデルではプレバ

ルス・インヒビション (PPI) 試験における情報処理障害 (8), T型迷路試験における作業記憶障害 (9) (急性投与) および新奇物質認識試験における空間認知障害 (10) (連続投与) も示す。

臨床において覚せい剤が主に作用するドパミントランスポーター (DAT) の遺伝子の変異は統合失調症発症との間に相関が認められ (11), DAT 遺伝子欠損マウスにおいては自発運動量の増加および PPI 試験における情報処理障害が認められる (12)。しかし, 覚せい剤依存者は統合失調症様の陰性症状をほとんど示さず, 覚せい剤投与動物や DAT 遺伝子欠損マウスでは陰性症状の指標となる社会性行動の低下や強制水泳試験における意欲の低下などの行動異常を示さないことから (13-15), ドパミン過剰仮説は統合失調症の陰性症状を反映していないという問題がある。このモデルの欠陥は, ドパミン D₂ 受容体拮抗作用を主作用とする第一世代抗精神病薬は陽性症状に有効であるが, 陰性症状には効果が乏しいとされる点によく現れている (16)。「ドパミン過剰仮説」もセロトニン, ノルアドレナリン, グルタミン酸, γ -アミノ酪酸 (GABA) など複数の神経伝達物質の変化を含めた仮説に修正されつつあるように (17), 覚せい剤投与動物モデルも改良が必要であると思われる。

(2) グルタミン酸作動性神経系機能低下モデル

非競合的 *N*-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体拮抗薬であるフェンシクリジン (PCP) は, 1970年代に乱用され, 薬物依存者に精神症状 (PCP 精神病) を惹起することから (18), 統合失調症には NMDA 受容体機能の低下が関係しているという「グルタミン酸低下仮説 (NMDA 受容体機能低下仮説)」が提唱された (19, 20)。臨床知見において, 統合失調症患者の死後脳において NMDA 受容体を構成している NR1 サブユニットの活性 (リン酸化タンパク量) が低下していること (21), 4種類の NR2 サブユニット (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D) の発現の割合が統合失調症と健常者とは異なること (22), NMDA 受容体サブユニットの遺伝子の変異が統合失調症の発症に関連性が高いこと (23-25) などが報告されている。また, NMDA 受容体のグリシン結合部位に作用し, NMDA 受容体機能を亢進させるグリシン, D-セリンおよび D-サイクロセリンは統合失調症の症状に対して治療効果を示すことが報告されている (26-28)。NMDA 受容体機能を低下させるため遺伝子改変技術を利用して NR1 の発現量を正常の 5~10% に減少させた NR1 ノックダウンマウス, NR1 のグリシン結合部位を点変異させたマウスおよび NR2A を欠損させたマウスは自発運動量の増加をはじめとする統合失調症様の精神行動障害を示すことが知られている (29-31)。

PCP は, 他の NMDA 受容体拮抗薬 (ケタミンやジゾシルピン) の中で最も知見が多い薬物である。PCP は単回投与すると自発運動量の増加 (32), 常同行動 (33), 放射状迷路試験における作業記憶障害 (34), PPI 試験における情報処理障害 (35, 36), 水探索試験における潜在学習の障害 (37), 受動回避反応における長期記憶障害 (38) など, 覚せい剤投与動物モデルと同様に陽性症状, 情報処理障害および認知障害の指標となる行動障害を示す。

PCP 依存患者が摂取を中止した後も、その精神症状が数週間持続する様に、動物モデルでも行動変化が持続する。たとえば、PCP を連続投与した実験動物において、休薬後も陽性症状の指標となる行動変化としては、自発運動量の増加が亢進され (32, 39)、陰性症状の指標となる社会的行動試験における社会的行動が障害され (14, 40)、強制水泳試験における無動状態も長期間増強される (13, 41-43)。また、認知障害の指標となる行動変化として、T 型迷路 (図 5A) (44) または 8 方向放射状迷路 (図 5B) (45) における作業記憶障害が認められることが知られている。他にも PCP 連続投与動物モデルでは水探索試験における潜在学習障害 (46)、新奇物体認識試験における空間認知障害 (47)、恐怖条件付け学習試験における連合学習の障害 (48) が知られている。このように PCP 連続投与動物では陰性症状・認知障害の指標となる行動変化が認められることから PCP 連続投与マウスは新規治療薬のスクリーニングに有用であることが示唆されている。

■ 神経発達障害仮説

統合失調症患者では海馬の体積減少、側脳室の拡大が認められること、死後脳においてグリオーシスが認められないこと、さらにほとんどが思春期以降に発症することから、統合失調症の病態および脳内の構造変化は発達過程や成熟時期を規定する因子の異常が関与すると考えられており (49)、「神経発達障害仮説」に基づいたモデル動物の作製がなされている。

(1) 新生仔期腹側海馬損傷動物モデル

新生仔期に腹側海馬を破壊することで成熟期以降に統合失調症様症状を惹起することがラットおよびサルを用いた研究において確認されている (50, 51)。ラットにおける海馬損傷動物モデルは興奮性細胞毒性を持つイボテン酸を生後 7 日目の新生仔の両側腹側海馬に注入し局所的に細胞を障害することで作製される。このモデル動物は統合失調症に類似した行動異常を示し、成熟期以降に顕著となる (52)。このモデル動物では偽手術 (コントロール) 群と比較し、新奇環境下における運動量 (自発運動量) や覚せい剤誘発運動量増加 (50, 53)、社会性行動の低下 (54)、PPI 試験における情報処理障害 (55)、T 型迷路における作業記憶障害 (56) などが生後 56 日目以降に顕著に認められる。これらの行動障害は生後 35 日目では認められず、また成熟ラットの腹側海馬を同様の方法で破壊した場合には、このような行動異常は認められないことから、この行動変化はイボテン酸による腹側海馬の破壊による直接的な影響ではなく神経発達の過程において二次的な結果としておこるものと考えられている。一方、イボテン酸の代わりに特異的ナトリウムチャンネル阻害薬のテトロドトキシンを新生仔期の両側腹側海馬に注入することにより、永久的な組織破壊を起こさず一時的な機能障害を起こし、神経発達障害を誘発した動物モデルでも、生後 56 日目において自発運動量、覚せい剤およびジゾシルピン誘発運動量の増加が認められる (57)。

(2) 周産期感染モデル

統合失調症の発症には、母親が胎生中期にインフルエンザに感染するなどの初期要因が疫学的に関連していることが報告されている (58)。合成二本鎖 RNA である polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (Poly I: C) を妊娠マウスに投与すると、母胎の免疫系が賦活化されこの母体から生まれたマウスは、生理食塩水投与 (コントロール) 群と比較し、成熟期以降、覚せい剤誘発運動量増加 (59)、PPI 試験での情報処理障害 (59)、レイテント・インヒビションでの注意力障害 (60)、モリス水迷路での作業記憶障害 (61)、新奇物体認識試験における認知障害 (59) など統合失調症に類似した行動異常を示す。このモデル動物では、これらの障害は、幼若期には認められない。また、ヒトの妊娠中期に当たるマウスの出生 2 日後から 5 日間に Poly I: C を投与すると、新奇物体認識試験における認知障害、PPI 試験での情報処理障害、社会性行動の低下が認められる (62)。

(3) 新生仔期 PCP 投与モデル

NMDA 受容体は脳の発達において、神経の分化、生存および重複したシナプスの除去などの様々な重要な役割を果たしている (63, 64)。神経発達過程である胎生期および新生児期に PCP を投与し NMDA 受容体機能を低下させた統合失調症動物モデルが提唱されている。ラットの新生児期である 7, 9 および 11 日齢時に PCP (10 mg/kg) を 3 回投与すると成熟期に強制水泳試験における意欲低下 (65)、PPI における情報処理障害 (66)、セットシフティング試験における作業記憶障害 (67)、および低用量の PCP (2 mg/kg) を投与することによって惹起される運動過多は、コントロール群に比べ有意に増強する (68, 69)。

3 統合失調症関連遺伝子および遺伝子改変マウスの行動解析に基づく動物モデル

ヒトゲノムの全塩基配列の解読の成功あるいは一塩基多系 (single nucleotide polymorphism: SNP) などの研究の進展により、統合失調症に関連した多くの候補遺伝子が見出されている。これら候補遺伝子が統合失調症の病態にどのように関与しているかを検討するため、遺伝子改変マウスを作製し、行動学的解析が行われている。たとえば、スコットランドの大家系から染色体の転座と精神疾患の関連性が報告された (70)。その転座により DISC1 の C 末端が欠失されることから (71)、さまざまな DISC1 遺伝子変異マウスが作製され、それらの行動解析が行われている (72-76) (表 2)。また、統合失調症の死後脳では、ニューレグリン-1/Erb-4 シグナルが亢進しており、NMDA 受容体の機能低下に関与していることが示唆されている (77)。アイスランドの統合失調症患者とニューレグリン-1 とのハプロ解析の結果、相関が認められている (78)。ニューレグリン-1 の遺伝子改変マウスとして、EGF 様ドメイン、イムノグロブリン様ドメインおよび膜貫通ドメインをそれぞれ欠失させたものが作製されている。いずれのホモ型改変マウスも致死性であるため、ヘテロ型を用いて行動解析が行われている (78-80)。その他に、COMT (catechol-O-methyl-transferase) (81) や PRODH (proline dehydrogenase) (82, 83) などの遺伝子改変マウ

スが作製されている (表 3)。

一方、染色体からある遺伝子の発現を欠失させ、種々の行動学的解析を行い、ある種の異常を見出すことで、その遺伝子の正常機能を知ることができる。Cre-loxP などの遺伝子組換え技術の進歩により部位特異的あるいは時期特異的な遺伝子発現調節をもたらすことも可能になってきている。このような技術を用いた遺伝子改変マウスの中には、例えば、カルシニューリン (calcineulin) (84) や PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) (85) が、統合失調症様の行動異常を示すため、統合失調症の病態とそのタンパク質の関連性が注目されている (表 3)。

4 評価方法

統合失調症は、陽性症状 (幻覚、妄想、緊張病症状等)、陰性症状 (感情鈍磨、意欲の低下、疎通性障害等) および認知障害を伴う疾患である。以下に PCP 動物モデルを用いた陰性症状、情報処理障害、認知障害の評価方法について述べる。

(1) 陽性症状

1) 運動過多を指標にした行動評価 (運動量測定)

PCP を含めた中枢刺激薬の摂取によって引き起こされる幻覚・妄想などの症状は統合失調症の陽性症状に酷似している。PCP (5 mg/kg) をラットに急性投与すると、前頭皮質および側坐核のドーパミン遊離の増加とともに、運動量の増加を誘発する (86)。運動量の測定には赤外線センサー (図 1A, B) やビデオ画像解析装置を用いて (図 1C)、簡便に定量化することができる。PCP により惹起される運動量の増加は、第一世代および第二世代抗精神病薬によって抑制される (86)。こうした動物実験における結果は、臨床において陽性症状に対して第一世代および第二世代抗精神病薬がともに有効であることと一致していることから、ドーパミン作動性神経の過活動によって惹起される運動量の増加は、陽性症状の指標になり、新規治療薬を評価することができる。

PCP (10 mg/kg) を 14 日間連続投与しておいたマウスに低用量の PCP (3 mg/kg) を再投与すると、単回投与によって惹起される運動過多は増強される (行動感作) (39)。このような行動感作に対して第一世代 (ハロペリドール: 0.1 mg/kg) および第二世代 (リスペリドン: 0.1 mg/kg およびクロザピン: 10 mg/kg) 抗精神病薬は抑制する (図 1D) (39)。統合失調症患者が中枢刺激薬を摂取すると陽性症状が増悪することが知られていることから、この運動過多の増強に対する薬物の拮抗作用も、陽性症状に対する改善効果の指標として利用できる。

(2) 陰性症状

1) 社会的行動障害を指標にした行動評価 (社会性行動試験)

社会的行動試験における抗精神病薬の効果と臨床における効果とが類似していることか

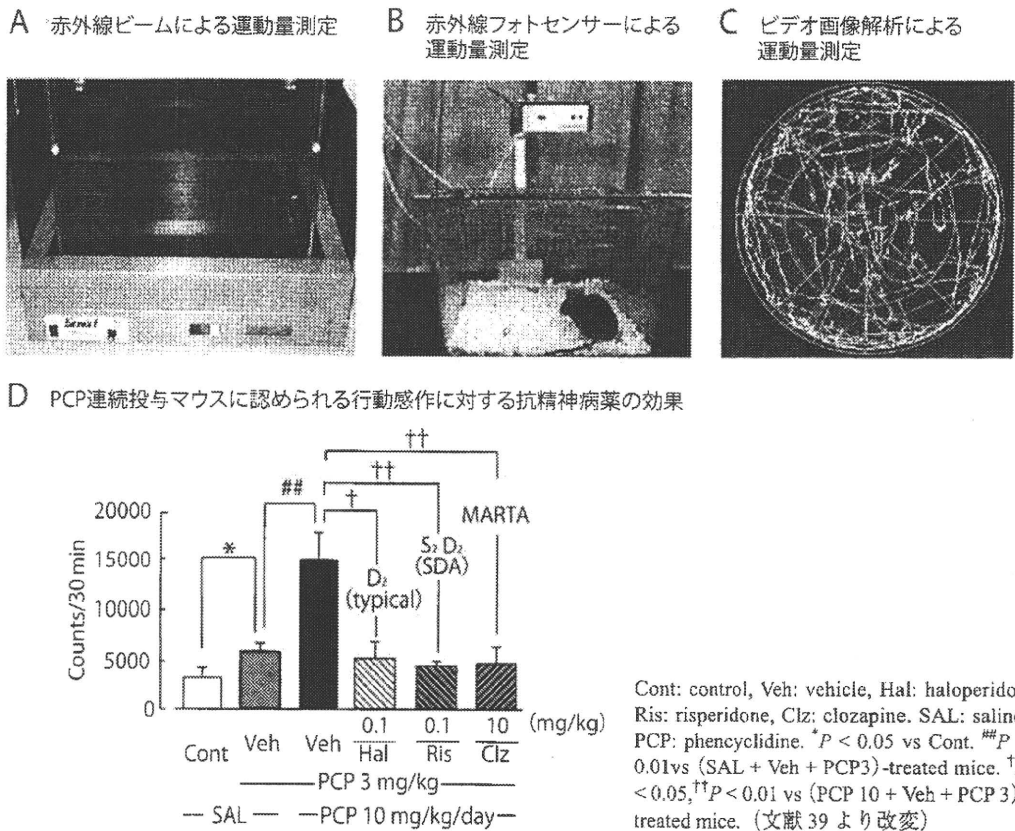


図1 移所行動を指標にした行動評価 (運動量測定)

ら、社会的行動試験は陰性症状の試験として有用であると Sams-Dodd らにより提唱された (87)。当研究室でも PCP を連続投与したマウスを用いて、社会的行動試験を実施している。別々のケージで飼育され、それまで接触する機会の無かった2匹のマウスを同時に観察ケージに入れる。すると、お互いに匂いを嗅ぐ、毛繕いをする、後をついて歩くといった社会的行動を示す。ケージに入れてから10分間のマウスの行動をビデオテープに録画し、社会的行動を示した時間を測定することで定量化を行う。なお、この試験はマウスの行動が活発な夜間、もしくはあらかじめ飼育室の明暗サイクルを逆転しておいて暗期に実施するのが望ましい。PCP (10 mg/kg) を2週間連続投与されたマウスの社会性行動は (図 2B)、生理食塩水を投与されたマウス間のそれと (図 2A) 比較して有意に減少する。この社会的行動障害は PCP 投与を中止した後、4週間を経ても認められる (14)。PCP 休薬後に第二世代抗精神病薬 (クロザピン: 10 mg/kg) を1週間投与すると PCP 誘発社会的行動の障害は緩解されるが、第一世代抗精神病薬 (ハロペリドール: 3 mg/kg) は効果を示さない (図 2C) (14)。一方、覚せい剤 (3 mg/kg) を2週間連続投与されたマウスでは、このような社会的行動の障害は認められない (14)。以上のことは、覚せい剤精神病では陽性症状は顕著だが、陰性症状は認められないという臨床報告と一致している。

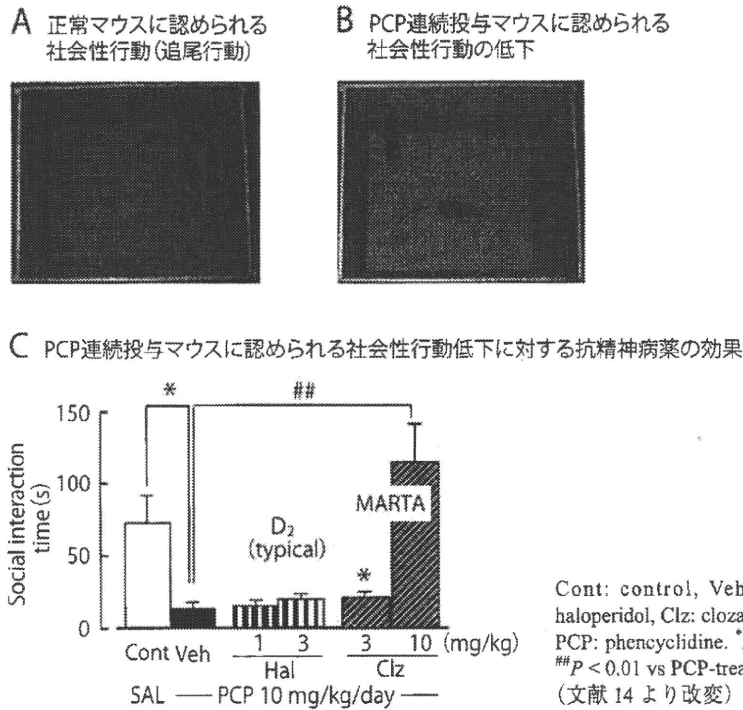


図2 社会性行動を指標にした行動評価 (社会性行動試験)

2) 意欲低下を指標にした行動評価 (強制水泳試験)

陰性症状の評価方法として、当教室では社会的行動試験以外に、強制水泳試験を用いている。水を入れた狭いシリンダーに (図 3A)、マウスやラットを入れると、最初はそこから逃げようと激しくもがくが (図 3B)、やがて逃げる事が出来ないことを認知し、次第に不活発になる。その結果、マウスやラットは水に浮かんで動かない状態 (無動化あるいは絶望状態) になる (図 3C)。赤外線フォトセンサーを備えた自動測定装置を用いれば、自動的にマウスやラットが浮かんで動かない時間 (無動時間) を定量的に測定することができる。自動測定装置がない時は、ストップウォッチを用いて測定すればよい。この無動状態を呈した時間を意欲の低下の指標と捉える。抗うつ薬が正常動物の無動時間を減少させることから、強制水泳試験は抗うつ薬のスクリーニングに従来用いられている。当研究室では PCP を連続投与したマウスでの無動状態の増強は陰性症状 (意欲の低下) の指標になるのではないかと提唱している (13, 41-43)。PCP (10 mg/kg) を 2 週間連続投与し、最終投与の翌日に再び強制水泳試験を行なうと、PCP を連続投与されたマウスでは、生理食塩水を連続投与されたマウスと比較して、無動状態の有意な増強が認められる (図 3D)。この無動状態の増強は PCP 投与を中止した後、3 週間を経ても認められる。一方、覚せい剤 (1 mg/kg) を 2 週間連続投与しても、無動状態に影響はない (13)。この試験系を用いて薬物の評価を行なったところ、第一世代抗精神病薬 (ハロペリドール: 0.3 mg/kg) は何ら作用を示さない (図 3D) が、第二世代抗精神病薬 (リスベリドン: 0.3 mg/kg およびクロザ

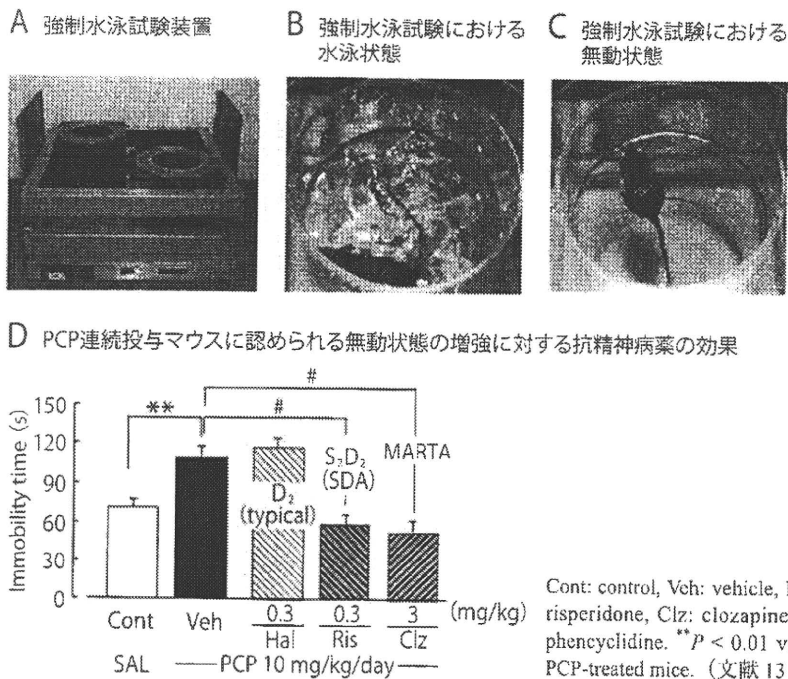


図3 意欲（無動状態）を指標にした行動評価（強制水泳試験）

ピン：3 mg/kg）はPCP誘発の無動状態の増強を改善する（13）。三環系抗うつ薬（イミプラミン）は正常マウスの無動時間を短縮するが、高用量のデシプラミンを除いて、PCP連続投与マウスに認められる無動状態の増強には影響を及ぼさない（42）。以上の様に、PCP動物モデルに対して抗うつ薬、第一世代抗精神病薬は効果を示さず、第二世代抗精神病薬が選択的に効果を示したことから、強制水泳試験は統合失調症の陰性症状に対する治療薬のスクリーニングに利用できる。

(3) 認知障害

1) 情報処理障害を指標にした行動評価（プレパルス・インヒビション）

大きな音を突然聴くと、ヒトは驚愕反応を示す。しかし、その直前にそれよりも小さな音を聴いた後、大きな音を聴いた場合、驚愕反応は抑制される。この現象をプレパルス・インヒビション（prepulse inhibition: PPI）と呼ぶ。統合失調症患者は、このPPIが障害されており、小さい音を聴いた後でも驚愕反応は変化しない（88）。これは脳における情報処理機構の障害によると考えられている。同様に、ラットやマウスにおいてもPPIを調べることができる。ただし、音の大きさ、間隔（ミリ秒単位）を正確に制御する必要があるため、実験を行なうには小動物驚愕反応測定装置が必要である。この装置では高感度センサーを用いて、小さい筒に入れられた動物の驚愕反応を定量化することができる（図4）。PCP、覚せい剤、または直接的ドパミン受容体作動薬を動物に投与すると、PPIの障害を示すことが良く知られている（35, 36, 89）。覚せい剤によって惹起されるPPI障害は、第一世

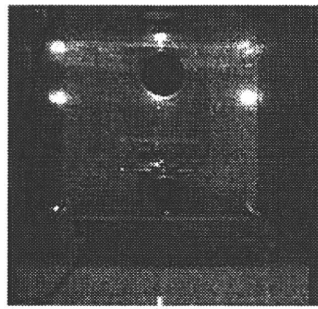


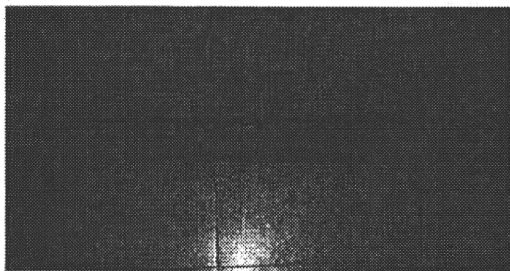
図4 プレパルス・インヒビション試験の測定装置

代、第二世代抗精神病薬のいずれによっても緩解される (89)。一方、PCP 誘発 PPI 障害に対しては第一世代抗精神病薬よりも第二世代抗精神病薬の方が効果は強い (35, 36)。臨床において、第二世代抗精神病薬は PPI の障害を改善するが、第一世代抗精神病薬は無効であるという報告もあるので (88)、薬物のスクリーニングには PCP 動物モデルの方が適当であると思われる。

2) 作業記憶を指標にした行動評価 (T型迷路課題, 8方向放射状迷路課題)

数字や文章等の情報を一時的に記憶 (作業記憶) することは、円滑な会話、文章の理解、暗算等に必要とされる。統合失調症患者ではこの作業記憶が障害していることがよく知られている。実験動物では T 型迷路 (図 5A) または 8 方向放射状迷路 (図 5B) を用いて調べることができる。Jentsch らの報告を紹介する (44)。1 日に与える餌の量を 5g に制限し、ラットを一定の空腹状態にする。そのようなラットを T 型迷路の出発地点におくと、ラットは左右どちらかのアームに入り餌を食べる。その後、すぐにラットを取り出し、間隔 (0~80 秒) をおいて、再び出発地点に置く。次にラットが前回入っていないアームに入った場合を正解とし、餌を与える。前回と同じアームに入った場合を不正解として、餌を与えない。この課題では直前に入ったアームが左右どちらなのかを一時的に記憶している必要がある。作業記憶の評価を行なうことができると考えられる。この試行を繰り返し、それぞれの間隔を置いた場合の正解率を求める。1 日に 20 試行を行ない、3 日間の平均正解率が約 80% を示すようになるまで、ラットを訓練する。このように十分訓練したラット

A T型迷路装置



B 8方向放射状迷路装置

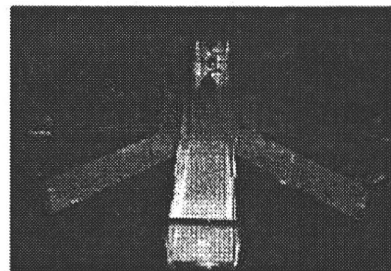
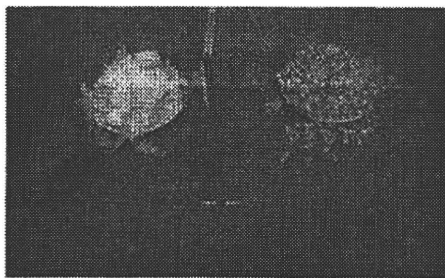


図5 作業記憶を指標にした行動評価 (T型迷路課題, 8方向放射状迷路課題)

に PCP 10 mg/kg を 2 週間連続投与し、最終投与終了の 2~10 日後に T 型迷路試験を実施した。PCP を投与されたラットでは、生理食塩水を投与されたラットと比較して正解率が有意に低下しており、PCP 動物モデルでは作業記憶の障害が認められる。8 方向放射状迷路における作業記憶においても、PCP の急性および慢性投与において障害が認められている (34, 45)。

3) 作業記憶・注意力を指標にした行動評価 (セットシフティング試験)

Wisconsin Card Sorting Test (WCST) は前頭葉機能検査法として知られており、統合失調症患者の認知機能を評価するのにしばしば用いられている (90)。WCST は東からカードを 1 枚引き、並べられた 4 枚のカードの下に分類していく。分類ルールはシンボルの色・形・数の 3 種類のうちのどれかである。例えば数のルールであれば、引いたカードをシンボルの数が同じカードの下に置けば正解である。ただし評価者は分類ルールを説明せずに、結果が正解か間違いかだけを告げる。分類ルールは、しばらくの間は一定だが、正解が続くと切り替わる。正解が続くまでの誤り数、正解できた分類ルール数などにより評価する。この WCST に類似した行動評価としてセットシフティング試験がある (図 6)。本行動試験では動物に餌を獲得するためボウルの匂いや餌が隠してあるチップの種類などで判断させ、2 つのうちの 1 つのボウル内を掘るように訓練させる。この時、判断基準を逆にする反転学習、判断基準を同カテゴリー内で変える内次元的シフト、判断基準のカテゴリーを変える外次元的シフトをそれぞれ行う。たとえば、訓練試行時において 1 つのボウルにはラズベリーの匂いの紙、もう 1 つにはレモンの匂いの木くずを入れておき、判断基準をラズベリーとする。反転学習ではレモン、内次元的シフトではミント、外次元的シフトではプラスチックをそれぞれ判定基準とし、餌を入れておく。各試験において餌の入っているボウルを選択し、正しい判断基準に切り替わるまでの試行数を測定する。こうして作業記憶および注意力を測定することができる。1 日 2 回の PCP (5 mg/kg) の投与を 7 日間連続処置したラットでは外次元シフト試行において基準に達するまでの試行数が増加し、認知障害が認められる (91)。

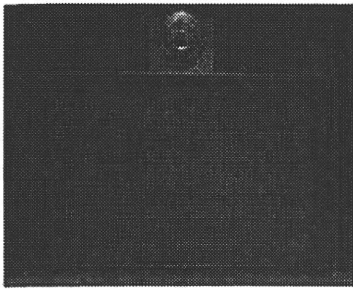


典型例 (下線が判断基準)

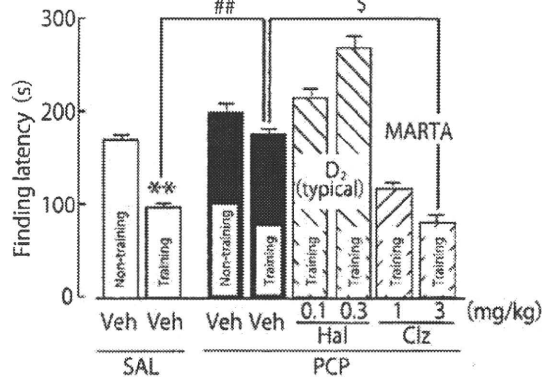
訓練試行		
匂い	<u>ラズベリー</u>	レモン
チップ	紙	木くず
反転学習		
匂い	ラズベリー	<u>レモン</u>
チップ	紙	木くず
内次元的シフト		
匂い	ミント	パプリカ
チップ	紙	綿
外次元的シフト		
匂い	シナモン	タイム
チップ	紙	<u>プラスチック</u>

図 6 セットシフティング試験の測定装置

A 水探索装置



B PCP連続投与マウスに認められる潜在学習障害に対する抗精神病薬の効果



Cont: control, Veh: vehicle, Hal: haloperidol, Clz: clozapine, SAL: saline, PCP: phencyclidine. ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs SAL-treated, non-trained mice. ## $P < 0.01$ vs SAL-treated, trained mice. $^S P < 0.05$ vs PCP-treated, trained mice. (文献46より改変)

図7 潜在学習（注意力）を指標にした行動評価（水探索試験）

4) 潜在学習（注意力）を指標にした行動評価（水探索試験）

統合失調症患者では潜在学習の低下が報告されている(92)。当研究室では潜在学習（注意力）について水探索試験を用いて評価している（図7A）(37, 46)。水を十分に与えたマウスに給水ノズルがついた実験装置内を自由に探索させ（訓練試行）、24時間絶水後に再度装置内に入れ、給水ピンを見つけ出し飲水するまでの時間（finding latency）を測定する（テスト試行）。すなわち、訓練試行時には強化因子を提示することなく、自由に探索行動をさせ、どれだけその環境を認知しているかについて検討しているので、潜在学習（注意力）を評価できると考えられている。PCP（1 mg/kg）を訓練の前に急性的に投与すると成績が低下する(37)。この結果はPCPを投与されたマウスでは潜在学習、注意力が障害されていることを示唆している。PCP（10 mg/kg）を2週間連続投与したマウスでは、最終投与から4日間の休薬後でも潜在学習障害が認められる(46)。PCP連続投与マウスで認められる潜在学習障害は訓練試行前にハロペリドール（0.3 mg/kg）を投与しても緩解されないが、クロザピン（3 mg/kg）を投与することによって緩解される（図7B）。

5) 物体認知記憶を指標とした行動評価（新奇物体認識試験）

新奇物体認識試験は、実験動物の新奇性を好むという特性を利用したもので、餌や水などの強化因子を用いない特徴を有している。1日10分間の実験装置に動物を3日間慣らした後、異なる2つのオブジェクトを置いた装置内で10分間自由に探索させる（図8A：訓練試行）。訓練の一定時間（1時間、24時間など）後、片方を新奇オブジェクトと置換した装置内で5もしくは10分間自由に探索させる（図8B：保持試行）。訓練試行および保持試行では、2つのオブジェクトに対するそれぞれの探索時間ならびに総探索時間を測