審査様式２－１

氏名（本籍）	古家　宏樹　（　熊本県　）
学位の種類	博士（　行動科学　）
学位記番号	博甲第 6991 号
学位授与年月	平成２６年　３月２５日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットの薬物誘発性過活動と連合学習

主　査	筑波大学准教授	博士（心理学）	加藤克紀
副　査	筑波大学准教授	博士（医学）	堀　孝文
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	首藤文洋
副　査	筑波大学講師	博士（学術）	望月　聡

論文の内容の要旨

（目的）

新生仔期のグルタミン酸 NMDA 受容体の慢性的遮断は、神経化学的、神経解剖学的、神経生理学的な変化を脳に生じさせ、多様な行動変化を成体期に引き起こすが、その全体像は未だ明らかではない。新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットでは、ドーパミン作用薬や NMDA 受容体拮抗薬などの急性投与によって生じる過活動が亢進していることが知られているが、ムスカリン性アセチルコリン受容体拮抗薬スコポラミンの急性投与による過活動については報告がない。そこで本研究では、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットのスコポラミン誘発性過活動について調べた。

また、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットが空間学習課題において障害を示すという報告は多いが、条件づけパラダイムを用いた研究は非常に少なく、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットが単純な刺激と刺激の連合を獲得できるかはわかっていない。そこで本研究では、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットにおいて、報酬性の連合を要する条件性場所選好と嫌悪性の連合を要する恐怖条件づけについて検討した。

（対象と方法）

被験体として Wistar-Imamichi 系雄ラットを用いた。新生仔期に NMDA 受容体を慢性的に遮断するため、生後 7～20 日齢の 14 日間、1 日 2 回、8 時間以上の間隔を空けて NMDA 受容体拮抗薬 MK-801（0.4 mg/kg）を頸部皮下に反復投与した。統制群には生理食塩水を同様に投与した。行動

テストはすべて成体期に行った。

スコポラミン誘発性過活動実験では、スコポラミン（0.4 あるいは 2.0 mg/kg）を腹腔内投与直後から 40 分間、オープンフィールド（90×90×45 cm）において移動活動量を測定した。条件性場所選好実験では、メタンフェタミン（1mg/kg）あるいは生理食塩水を腹腔内投与後、白色あるいは黒色の部屋に 30 分間留置した。この手続きを 1 日 1 回 2 日間ずつ 4 日間にわたって行った翌日、その 2 つの部屋を 15 分間自由に探索させ、メタンフェタミンと対提示された部屋への選好を調べた。報酬感受性の評価実験では、スクロース溶液と水道水を 2 瓶法で提示し飲水量を比較した。恐怖条件づけ実験には 2 種類の手法を用いた。1 つは文脈恐怖条件づけであり、特定の装置内で電気ショックを与え、装置自体がフリージング反応をどの程度誘発するか、翌日から 7 日間消去訓練を行って調べた。もう 1 つは手がかり恐怖条件づけであり、音刺激提示中に電気ショックを与え、音刺激がフリージング反応をどの程度誘発するか、翌日から別の装置で 7 日間消去訓練を行って調べた。痛み感度についても、強さの異なる電気ショックに対する反応を分析して検討した。

（結果）

新生仔期に MK-801 を慢性投与されたラットにおいてのみ、スコポラミン急性投与による移動活動の有意な増加が認められ、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断がスコポラミン誘発性過活動を亢進させることがわかった。また、新生仔期 MK-801 慢性投与ラットではメタンフェタミンと対提示された部屋への選好が生じず、条件性場所選好が障害された。スクロース溶液に対しては高い選好が示されたため、報酬性への感受性低下の可能性は低く、条件性場所選好の障害は、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断によって報酬と場所（文脈）との連合が障害された結果と推測された。さらに、新生仔期 MK-801 慢性投与ラットは、文脈恐怖条件づけにおいては統制群と同等の成績を示したが、音刺激を用いた手がかり条件づけにおいては音刺激に対するフリージング率が統制群より有意に低く、手がかり恐怖条件づけの障害を示した。電気ショックに対する痛み反応に新生仔期の処置の影響は認められなかった。

（考察）

新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断がスコポラミン誘発性過活動も亢進させることが本研究において初めて明らかとなった。この結果は新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断によってムスカリン受容体の感受性が亢進したことを示唆する。新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断が前頭前皮質と海馬におけるムスカリン受容体発現を変化させることは報告されていたが、本研究の結果は移動活動量の調節に関与する脚橋被蓋核や背外側被蓋核などにおいてもムスカリン受容体の機能的変化が生じている可能性を示した。

メタンフェタミンによる条件性場所選好が新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットにおいて生じなかったことは、新生仔期の NMDA 受容体慢性遮断が報酬性の連合学習を阻害することを示した。また、嫌悪性の連合学習については、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断は嫌悪刺激と文脈の連合には影響しないものの、嫌悪刺激と明確な手がかり刺激の連合を阻害することが示唆された。連合学習には多くの脳部位が関与するが、今後、皮質、海馬、扁桃体などを介した影響を詳細に検討する必要があるだろう。

以上、本研究より、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断は、成体期において、①ムスカリン受容体の感受性を高めること、②報酬と文脈の連合を阻害すること、そして③嫌悪刺激と明確な手がかり刺激の連合を阻害することが明らかとなった。こうした障害は、人における精神疾患や発達障害との類縁性を示し、周産期の NMDA 受容体遮断がそれらの原因となる可能性を示唆した。

審査の結果の要旨

（批評）

古家宏樹氏の学位論文にまとめられた研究は、以下の 3 点において大いに評価できる。新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断ラットにおいて、①ムスカリン受容体拮抗薬のスコポラミンによる過活動が亢進していることを示し、前頭前皮質や海馬に留まらず、移動活動の調節に関与する脚橋被蓋核や背外側被蓋核などにおいてもムスカリン受容体の機能的変化が生じている可能性を示したこと。②メタンフェタミン誘発性条件性場所選好が成立しないことを示し、空間記憶や空間学習の障害に報酬性の連合障害が関与する可能性を示したこと。③恐怖条件づけ課題において、文脈と嫌悪刺激の連合は阻害されないが、明確な手がかり刺激と嫌悪刺激の連合は阻害されることを示し、新生仔期 NMDA 受容体慢性遮断の影響を受ける脳部位に関して示唆を与えたこと。以上 3 点とも本研究において初めて明らかにされた事実であり、今後の研究の発展において大きな価値がある。

平成 26 年 1 月 20 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（行動科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。