

## 学位論文題名

注意欠陥／多動性障害モデルの確立と認知機能障害における  
ニコチン性アセチルコリン受容体メカニズム

## 学位論文内容の要旨

近年、幼児期から学齢期にかけて「落ち着きのない子どもたち」あるいは「集中できない子どもたち」等と称される注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder; AD/HD) と考えられる児童の増加が指摘されている。不注意、多動性および衝動性を中核症状とする AD/HD は学級崩壊の要因にもあげられており、社会問題の一つとして注目されている。AD/HD は軽度発達障害として認識される精神疾患である。しかしながら、AD/HD の発症原因は明らかではなく、治療法は確立されていない。現在、AD/HD の治療としてはアンフェタミン、メチルフェニデートおよびペモリンなどの中枢神経刺激薬が用いられている。わが国では「覚せい剤取締法」による規制から、メチルフェニデートが AD/HD 治療の第一選択薬として繁用されているが、AD/HD 治療薬としての保険適応が未承認である。また、メチルフェニデートには不眠や食欲不振などの副作用があり、習慣性や依存性の問題からも、これら中枢神経刺激薬に代わる AD/HD 治療薬の開発に期待が寄せられている。その意味においても、AD/HD の治療法の確立ならびに治療薬の開発に向けて、妥当性の高い動物モデルが求められている。そこで、不注意、多動性および衝動性といった AD/HD の症状に類似した行動に着目し、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (stroke-prone spontaneously hypertensive rats; SHRSP) の AD/HD モデルとしての妥当性を行動薬理的に検討した。また、AD/HD の中核症状のうち、多動症状は年齢とともに寛解するが、問題視されるのは不注意を背景とする認知機能障害である。そこで、認知機能に深く関係しているコリン作動性神経系に着目し、AD/HD モデルにおける認知機能障害とニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) という観点から、SHRSP の注意力の低下を背景とする短期記憶障害に焦点を当て、ニコチンによる改善効果ならびに各種 nAChR 拮抗薬を用いて、その責任受容体としての nAChR サブタイプを特定した。

AD/HD モデルの検討には、高血圧発症前の幼若期 (6 週齢) の SHRSP ならびに遺伝的対照動物であるウィスター京都ラット (Wistar-Kyoto rats; WKY) を用いた。SHRSP が示す行動学的変化を、自発行動、情動行動および学習・記憶能から多角的に評価した。すなわち、自発運動量を指標として多動性を、不安関連行動を指標として衝動性を、自発的交替行動を指標として注意力の側面を包含する短期記憶を評価した。また、学習・記憶の電気生理学的基盤と考えられている長期増強現象 (long-term potentiation; LTP) を海馬歯状回領域で記録し、シナプス可塑性を評価した。また、SHRSP の行動学的変化に対するメチルフェニデートの影響を検討することにより、薬理的側面からも評価を行った。

SHRSP はオープンフィールド環境において自発運動量の有意な増加を示した。高架式十字迷路試験における SHRSP の不安関連行動、すなわちオープンアームへの進入回数ならびにオ

オープンアーム上での滞在時間は、WKY と比較して有意に増加していた。Y字迷路における自発的交替行動率は、雄性 SHRSP においてのみ有意に低下しており、雌性 SHRSP では認められなかった。また、SHRSP は海馬歯状回領域における、LTP 形成の障害を示さなかったことから、自発的交替行動率の低下は海馬シナプス可塑性の障害によるものではないことが推察された。SHRSP のオープンフィールドにおける自発運動量の亢進（多動性）ならびにY字迷路における自発的交替行動率の低下（不注意）は、メチルフェニデートによって改善された。このように、幼若雄性 SHRSP はAD/HDに観察される不注意、多動性および衝動性に類似した行動学的変化を示し、AD/HD治療の第一選択薬による反応性からもAD/HDモデルとしての妥当性が示唆された。

AD/HDモデル、SHRSPの不注意に基づいた認知機能障害、すなわち自発的交替行動率の低下はニコチンによって改善された。このニコチンによる改善作用は中枢作用型非選択的nAChR拮抗薬のmecamylamineにより阻害され、末梢作用型nAChR拮抗薬のhexamethoniumでは阻害作用が認められなかったことから、中枢nAChRを介した作用であることが示唆された。また、ニコチンによる改善作用は選択的 $\alpha 4\beta 2$  nAChR拮抗薬のdihydro- $\beta$ -erythroidineにより阻害され、選択的 $\alpha 7$  nAChR拮抗薬のmethyllycaconitineでは阻害されなかった。さらに、選択的 $\alpha 4\beta 2$  nAChR作動薬のRJR-2403がSHRSPの自発的交替行動率の低下を改善した。加えて、 $\alpha 4\beta 2$  nAChRを介したアセチルコリン電流の増強作用を有するピロリドン誘導体のnafiracetamもSHRSPの自発的交替行動率の低下を改善した。これらのことから、AD/HDモデル、SHRSPの不注意に基づく認知機能障害には、 $\alpha 4\beta 2$  nAChRメカニズムの関与が示唆された。

幼若SHRSPが示す行動学的変化を多角的に評価し、AD/HDモデルとしての妥当性を検証した。さらに、SHRSPの不注意に基づく認知機能障害はニコチンにより改善され、その作用には $\alpha 4\beta 2$  nAChRの活性化を介する機序が関与していることを示し、新たなAD/HD治療薬の可能性を示した。また、選択的 $\alpha 4\beta 2$  nAChR作動薬ならびにピロリドン誘導体nafiracetamに新たなAD/HD治療薬としての可能性が示唆された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 岡 充 弘  
副 査 教 授 本 間 研 一  
副 査 教 授 小 山 司

## 学位論文題名

### 注意欠陥／多動性障害モデルの確立と認知機能障害における ニコチン性アセチルコリン受容体メカニズム

注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder; AD/HD) は不注意、多動性および衝動性を中核症状とする学童期児童に認められる精神疾患である。AD/HD の発症原因は明らかではなく、治療法は確立されていない。中枢神経刺激薬メチルフェニデートが AD/HD 治療の第一選択薬として繁用されているが、習慣性や依存性の問題があり、新たな AD/HD 治療薬が求められている。本研究は、AD/HD の治療法の確立ならびに治療薬の開発に向けて、妥当性の高い動物モデルの確立を目的とした。すなわち AD/HD の症状に類似した行動を示す脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (stroke-prone spontaneously hypertensive rats; SHRSP) の AD/HD モデルとしての妥当性を行動薬理的に検証した。さらに AD/HD の中核症状のうち、不注意を背景とする認知機能障害に焦点をあて、認知機能に深く関係しているコリン作動性神経系と AD/HD モデルの認知機能障害という観点から、ニコチンによる改善効果ならびにその責任受容体としてのニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) サブタイプを特定した。幼若期 (6 週齢) の SHRSP が示す行動学的変化を、自発行動、情動行動および学習・記憶能から多角的に評価した。すなわち、自発運動量を指標として多動性を、不安関連行動を指標として衝動性を、自発的交替行動を指標として注意力の側面を包含する短期記憶を評価した。また、メチルフェニデートの影響を検討することにより薬理的側面からもモデルの妥当性を評価した。SHRSP はオープンフィールド環境において自発運動量の増加を示した。SHRSP は高架式十字迷路において不安関連行動、すなわちオープンアームへの進入回数ならびにオープンアーム上での滞在時間の増加を示した。Y 字迷路における自発的交替行動は、雄性 SHRSP においてのみ障害が認められた。SHRSP の自発運動量の亢進 (多動性) ならびに自発的交替行動障害 (不注意) は、メチルフェニデートによって改善された。このように、幼若雄性 SHRSP は AD/HD に観察される不注意、多動性および衝動性に類似した行動学的変化を示し、AD/HD 治療の第一選択薬による反応性からも AD/HD モデルとしての妥当性が示唆された。雄性 SHRSP の不注意に基づく認知機

能障害、すなわち自発的交替行動障害はニコチンにより改善された。このニコチンの作用は中枢作用型 nAChR 拮抗薬メカミラミンにより阻害されたことから、中枢 nAChR を介した作用であることが示唆された。また、ニコチンの作用が選択的  $\alpha 7$  nAChR 拮抗薬 methyllycaconitine では阻害されず、選択的  $\alpha 4 \beta 2$  nAChR 拮抗薬 dihydro- $\beta$ -erythroidine により阻害された。さらに、選択的  $\alpha 4 \beta 2$  nAChR 作動薬 RJR-2403 ならびに  $\alpha 4 \beta 2$  nAChR を介したアセチルコリン電流の増強作用を有するピロリドン誘導体 nefiracetam が SHRSF の自発的交替行動障害を改善したことから、SHRSF の不注意に基づく認知機能障害に  $\alpha 4 \beta 2$  nAChR メカニズムの関与が示唆された。

本研究結果から、幼若 SHRSF の AD/HD モデルとしての妥当性が明らかになった。また、ニコチンが SHRSF の不注意を改善し、その作用に  $\alpha 4 \beta 2$  nAChR メカニズムが関与することから、選択的  $\alpha 4 \beta 2$  nAChR 作動薬ならびにピロリドン誘導体 nefiracetam の新規 AD/HD 治療薬としての可能性が示された。

公開発表に際し、副査本間教授から、観察した AD/HD モデルラットの行動に対する明暗サイクル、行動リズム、母親の保育行動などの飼育および実験条件の影響ならびに他のモデルとの比較について、副査小山教授から、加齢に伴う行動変化、衝動性の評価法、メチルフェニデートの臨床用量との差、ニコチンおよび nAChR 作動薬の多動性および衝動性に対する効果ならびに AD/HD 治療薬としての使用状況について質問がなされた。また主査吉岡教授からは、用いた注意力ならびに衝動性の評価法、多動性における加齢の影響、Y字迷路課題における性ホルモンの関与について質問がなされた。これらに対し申請者は、実験成績と過去の文献を引用し、概ね適切に回答した。

本研究の AD/HD モデルの確立とその評価は、AD/HD 治療薬の開発に貢献すると考えられ、今後の研究成果にさらなる期待が寄せられる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。