

統合失調症モデル動物における刺激般化

大島果林、高橋宏知、白松（磯口）知世

schizophrenia, social novelty recognition, fear conditioning, auditory evoked response, rat

1. 背景

統合失調症は、幻覚・妄想・社会的引きこもり・認知機能障害などの症状を呈する精神疾患である。統合失調症の発症機序解明や治療法開発のために、統合失調症モデルラットを用いた研究が多く行われてきた。しかし、ラットの認知や脳の情報処理はヒトほど複雑ではないため、統合失調症の重要な症状の一つである妄想がモデルラットにも生じているかを確認することは難しい。

統合失調症において、妄想の一番単純な形は過度な刺激般化であると考えられる。統合失調症患者は脳内のドーパミン量が過剰なため、些細な刺激に対して過剰な価値情報（顕著性, salience）を付与してしまうことで、妄想が生じると言われている [1]。例えば、周囲の皆が悪口を言っているという被害妄想は、誰かに悪口を言われた後、実際は悪口を言っていない人にも不快な価値情報を割り当ててしまうことから生じる [2]。一方、ラットの条件付け学習における刺激般化とは、ある刺激に対し特定の反応を起こすようになった後、類似する他の刺激に対しても同様の反応を起こすことである。ラットにおける過度な刺激般化は、統合失調症患者が刺激に対し過剰に顕著性を付与しているのと同じ状態と言える。実際、統合失調症モデルラットで過度な刺激般化が起きたという報告がされた [3]。しかし、この過度な刺激般化と妄想の類似性を直接調べた研究はない。

本研究は、統合失調症モデルラットが、統合失調症のヒトと類似した、妄想につながる過度な刺激般化を起こすかを調べることを目的とする。具体的には、統合失調症モデルラットの刺激般化について、以下の二つの点を検討する。

特徴1. 他個体への過度な般化により個体間の識別が困難になる

特徴2. 過度な刺激般化は、統合失調症モデルにおける、刺激に対する異常な顕著性 (Aberrant saliency) に由来する

具体的には、まず特徴1について、ラットの社会的特性の週ごとの推移を、3チャンバテストで、8週齢から11週齢にかけて定量

化する。特徴2については、事前曝露により音刺激の顕著性を予め低下させてから、音刺激を条件刺激 (conditioned stimulus; CS+) とした古典的恐怖条件付けをラットに施す。音刺激の周波数の弁別能力を調べるために、条件付けを施した音刺激 (CS+) と、それ以外の音刺激 (CS-) について、行動指標として音刺激に対する硬直行動時間と、神経活動指標として音刺激に対する調整誘発電位 (auditory evoked potential, AEP) の振幅を定量化する。刺激に対する異常な顕著性が、過度な一般化に寄与するのであれば、事前曝露後には弁別学習に成功するはずである。

2. 方法

本研究は、東京大学大学院情報理工学系研究科の動物実験倫理委員会の承認を得た (A23-6)。

2.1 統合失調症モデルラットの作成

ラット仔 (Sprague-Dawley, オス) に、生後2日齢から生後10日齢までの9日間、毎日薬剤を投与し、統合失調症モデルラット10匹、健常ラット10匹を作成した。統合失調症モデルラットにはEGF (ヒト上皮細胞成長因子、ヒゲタ醤油) を生理食塩水に溶解させ0.07 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ としたものを、健常ラットには生理食塩水のみを、体重1gあたり12.5 μl を首の付け根に皮下投与した。

2.2 社会的特性の推移の定量化

EGF投与ラットと生理食塩水投与ラットから、3つの社会的特性、具体的には社会的嗜好性 (Social Preference; SP) と社会的新規嗜好性 (Social Novelty Preference; SNP), 社会的新規認識能力 (Social Novelty Recognition; SNR) の推移を定量化するため、8週齢から11週齢にかけて、Fig. 1 (a) に示すような3種類の3チャンバテストを行った。実験ボックスの両端に設置された檻に、非生物オブジェクトまたは他個体を入れ、被験個体がそれぞれの檻を探索した時間を計測した。ラットが生来、社会的嗜好性と新規嗜好性を持つことから、被験個体が、SPフェーズでは他個体の檻を、SNP・SNRフェー

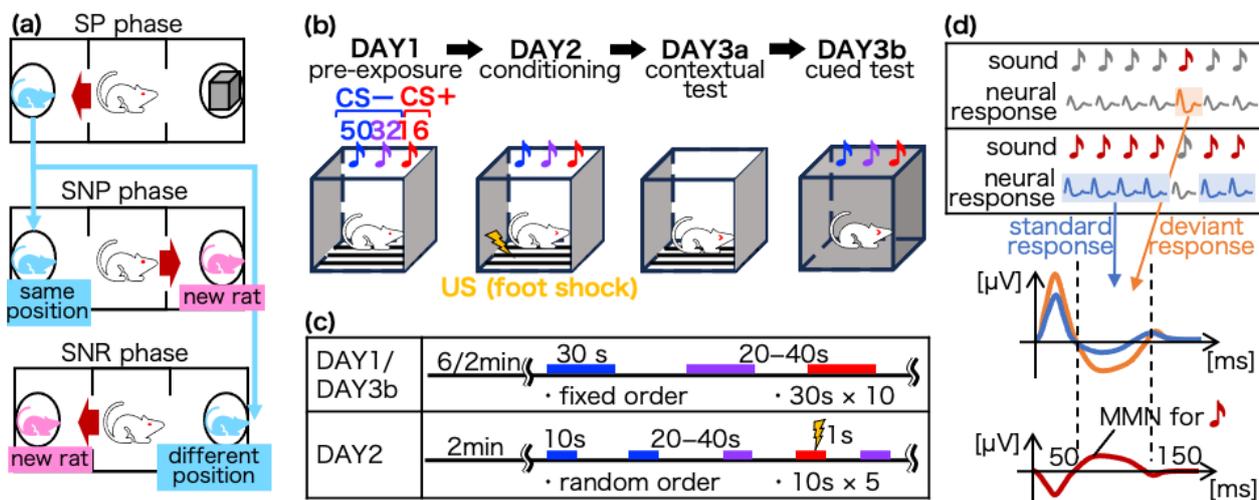


Fig. 1. Protocol of 3-chamber test and fear conditioning. (a) Three types of 3-chamber tests. (b) Protocol of fear conditioning with low salient sound stimuli. (c) Sound stimuli presented in fear conditioning. (d) Quantification of MMN.

Table 1. Frequency pairs in the Oddball task.

standard [kHz]	5.04	16	8	16	32	16	50	16
deviant [kHz]	16	5.04	16	8	16	32	16	50

ズでは新規個体の檻を探索した時間を T1, 逆の檻を探索した時間を T2 とする時, $(T1-T2)/(T1+T2)$ の式で各社会的特性 (relative preference index) を算出した。

2.3 顕著性低下後の弁別学習

EGF 投与ラットと生理食塩水投与ラット 5 匹ずつに, 純音の顕著性低下を施したのち, 純音を条件刺激 (Conditioned Stimulus; CS) として, 下肢への電気ショックと連合させる古典的恐怖条件付けを施し, 純音提示時の硬直行動時間と, 麻酔下での聴覚野の AEP から, 純音の弁別能力を定量化した。

恐怖条件付けの前日に, 16, 32, 50 kHz の 3 種類の純音を各 30 秒, 10 回ずつラットに提示し, 純音の顕著性を下げた (Fig. 1 (b), (c)). 条件付け時は 3 種類の純音を各 10 秒, 5 回ずつランダムな順で提示し, 16 kHz 提示時のみ電気ショックを与えた。翌日, 初日と同じ 3 種類の純音を各 30 秒, 10 回ずつラットに提示し, 硬直行動時間を定量化して, 音刺激の周波数の弁別能力の行動指標とした。

麻酔下でラットの右聴覚野を露出し, 微小表面電極アレイ (NeuroNexus, Ann Arbor, MI, USA) で聴性誘発電位 (AEP) を計測した。第一に, 4.0, 8.0, 16, 32, 50 kHz の 0.1 秒間の純音を, 1 秒間隔で各 180 回ずつ, ランダムな順で提示し (Random task), 音提示後 0–50 ms 後に生じる正のピークである P1 の振幅を算出した。第二に, 電気ショックで条件付けした 16 kHz の純音 (CS+) と, 条件付けしていない周波数 (5.0, 8.0, 32, 50 kHz のいずれか) の純音 (CS-) を, 90%または 10%の発生確率で 700 ms 間隔で提示し (Oddball task), Mismatch Negativity (MMN) の振幅を算出した (Table. 1)。MMN の振幅は, 高発生確率の標準刺激に誘発される標準反応と, 低発生確率の逸脱反応との差分の, 音提示後 50–150 ms での最大値とした (Fig. 1 (d))。また, Random task については, 薬剤を投与していないナイーブ群のラット 3 匹にも同じ計測を行った。Random task での P1 の振幅と, Oddball task での MMN の振幅を, 音刺激の周波数の弁別能力の神経活動指標とした。

3. 結果・考察

2.1 社会的特性の推移の定量化

各週齢における社会的特性の推移を Fig. 2 に示した (EGF 投与群と生理食塩水投与群の比較には Wilcoxon の順位と検定, 他は Wilcoxon の符号順位検定, $*:p<0.05$, $** :p<0.01$)。8, 9 週齢時において, EGF 投与群の SP, SNP は 0 よりも大きかったが, 10, 11 週齢時では減少し, 特に SP は生理食塩水投与群よりも小さかった。一方, EGF 投与群の SNR は 9 週齢以降減少し, 9, 10 週齢では生理食塩水投与群よりも小さかった。これらの結果から, EGF 投与ラットでは他個体の弁別能力の低下, すなわち過剰な社会的般化が, 他の社会的特性の変化よりも早い段階で起きたことが確認された。

2.2 顕著性の低い刺激に対する弁別学習

恐怖条件付け翌日の, 音提示中の硬直行動時間を, 音提示前の硬直時間との相対的な値にして Fig. 3. (a) に示した。EGF 投与群でのみ, 16 kHz 提示中の硬直行動時間の相対値が, 50 kHz 提示中の硬直行動時間の相対値よりも有意に大きかった (Wilcoxon の符号付き順位検定, $*:p<0.05$)。このことから, 行動指標では EGF 投与群が CS+ と CS- の弁別学習に成功したことを確認できた。

Random task での, 純音に対する P1 の振幅を, 5 つの周波数に対する振幅の和が 1 になるよう個体ごとに正規化したものを Fig. 3. (b) に示した。EGF 投与群の P1 は, ナイーブ群と生理食塩水投与群の P1 と比べて, 低周波数の音に対しては大きく, 高周波数の音に対しては小さかった。また, EGF 投与群の 50 kHz に対する反応は, 16 kHz に対する反応よりも有意に大きかった (Wilcoxon の符号付き順位検定, $*:p<0.05$) が, 生理食塩水投与群では有意差がなかった。

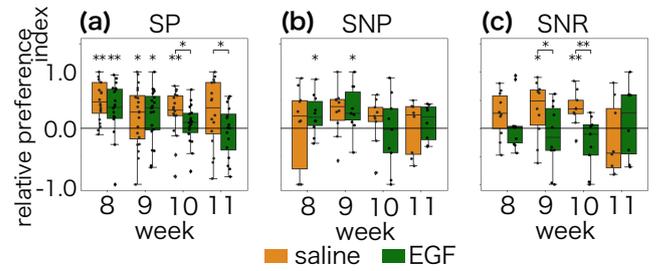


Fig. 2. Change of (a) Social Preference, (b) Social Novelty Preference, (c) Social Novelty Recognition.

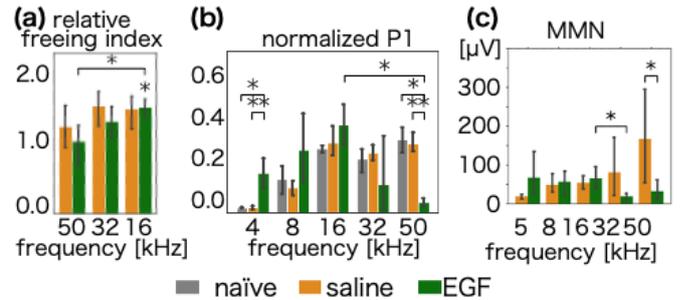


Fig. 3. The ability to discriminate between tone frequencies. (a) Relative freezing time during tone presentations. (b) The normalized amplitude of P1 for tones. (c) MMN amplitude.

Oddball task での MMN の振幅の大きさを, Fig. 3 (c) に示した。EGF 投与群の 16 kHz に対する MMN は, 32 kHz に対する反応よりも有意に大きかった (Wilcoxon の順位と検定, $*:p<0.05$) が, 生理食塩水投与群では有意差がなかった。

これらのことから, 神経活動指標でも, EGF 投与群が CS+ と CS- に対して大きく異なる神経活動を示すことを確認できた。

4. 結論

本研究は, 統合失調症モデルラットが, 統合失調症のヒトと類似した, 妄想につながりうる過度な刺激般化を起こすかを調べることを目的とした。第一に, ラットの社会的特性の週ごとの推移を, 3 チャンバテストで, 8 週齢から 11 週齢にかけて定量化した。その結果, 統合失調症モデルラットの社会的新規認識能力は, 9 週齢以降において健常ラットより低下し, 他個体に対する識別は他の社会的特性よりも早い段階で損なわれる可能性が示された。第二に, 事前曝露により顕著性を下げた音刺激を条件刺激とした古典的恐怖条件付けをラットに施した。その結果, 行動指標と神経活動指標の両方で, 統合失調症モデルが条件刺激とそれ以外の刺激を弁別していることが認められ, 過剰な顕著性が, 過剰な般化に関わる可能性が示された。従って, 統合失調症モデルラットにおける過度な刺激般化は, 統合失調症のヒトと類似した, 妄想につながりうるものだと結論づけられる。

参考文献

- [1] Kapur S., “Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia.”, *Am J Psychiatry*, Vol.160(1), (2003), pp.13-23.
- [2] Iino, Y. et al., “Dopamine D2 receptors in discrimination learning and spine enlargement”, *Nature*, Vol.579 (7800), (2020), pp.555-560.
- [3] Piantadosi, P., Floresco, S., “Prefrontal Cortical GABA Transmission Modulates Discrimination and Latent Inhibition of Conditioned Fear: Relevance for Schizophrenia.”, *Neuropsychopharmacol* Vol.39, (2014), pp.2473–2484.