

脳を行動で語る

福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室 岩崎克典

はじめに

脳は、人間が生きていくためのすべての働きをコントロールする、コンピューターで言えば CPU（集積回路）に相当する臓器である。脳の働きは数億の神経細胞が複雑に関与し合っただけでなく記憶や感情など高次の機能も司っている。もしこの働きをコンピューターで再現しようとするビル1棟分の大きさが必要と言われている。しかし、このような緻密な脳の神経細胞も所詮は生体の一部であり寿命には勝てず加齢によりいつかはその機能を失う。もちろん神経細胞のネットワークは代償機能という万が一に備えた万全のシステムを持っているが、それさえもバランスを崩すような事態になれば、行動や感情に変容が生じてくる。加齢による痴呆症などの老人性疾患がこれにあたる代表的な疾患であろう。

疾患を薬で治そうとする場合、それがどのような疾患であろうとも、新薬を直接患者に投与して効果を試すわけにはいかない。必ず動物実験などの前臨床試験が不可欠である。ゲノム創薬の時代に突入し、疾患の原因遺伝子が突き止められてもこのことは例外ではない。では、脳の高次機能の疾患である痴呆症に効果のある薬物をどのようにして動物実験で見つけ出せばよいのであろうか。痴呆症の主たる症状は記憶障害である。それならば、ネズミに記憶障害を発現させればよいということになるが、ここに1つの問題がある。すなわち、何をもってネズミの記憶とするかである。言葉を話さず、感情を表現しないネズミなどに、今どのようなことを記憶しているかを問うことは不可能である。しかし、ネズミ（ここからはラットやマウス）の行動を詳細に観察したり、できるだけヒトの記憶に外挿できそうな仕事をさせると、観察者からみて記憶を反映する行動変化をとらえることができる。反対にあらかじめ獲得した記憶を人為的に障害する操作を行えば、記憶障害の動物モデル作成が可能となる。

ヒトの記憶と動物の記憶

記憶とは簡単に言えば「経験を如何に再現するかの機能」である。これを実践するには、脳の中で、記銘、保持、想起の3つの過程が連携する必要がある。このような基本的なメカニズム自体はヒトも動物もほぼ同じと考えてよいだろう。図1にヒトの記憶に関する Loftus らの二貯蔵庫説を示す。これを動物に置き換えて考えてみると、まず視覚や聴覚からの刺激に動物はいち早く反応して、これを一旦、感覚の貯蔵庫に格納する。これは一瞬のことであるが、これが遅れると次の全てのステップに支障が

である。すなわち注意力の善し悪しが、記憶の善し悪しを決めるのである。次に情報は短期記憶の貯蔵庫に伝えられる。この容量には限りがあり長期間、多くの情報を貯蔵できない。それ故、情報をいわゆる上書きすることにより記憶と忘却を繰り返す。短期記憶は、ヒトでも論理的判断、言語理解、学習など知的作業の際に必要であるとされている。最後は長期記憶の貯蔵庫に伝えられるが、短期記憶を繰り返しリハーサルすることによっても同様に伝わる。動物に、この二貯蔵庫モデルを実践させるには、人間が訓練を行い課題を学習させることが必要になる。選択反応時間課題や迷路課題を用いた実験がその代表的なものであり、これについて紹介する。

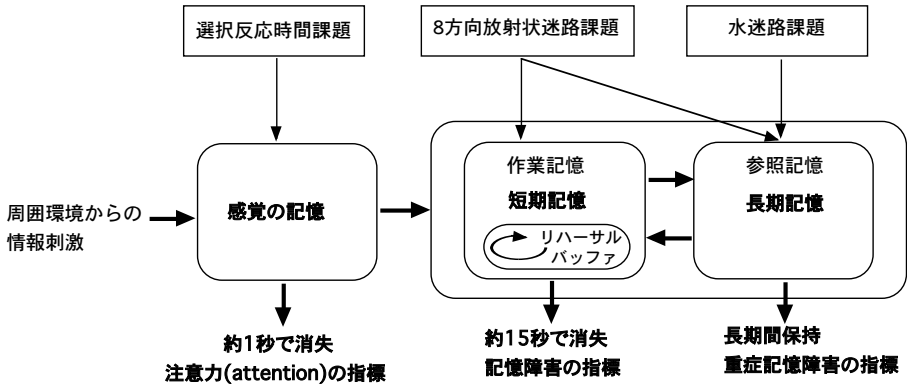


図1 Loftusらの記憶の二貯蔵庫モデルと動物実験の課題

一般行動を見る

記憶を動物の行動で評価しようとする場合、その実験結果に運動機能による影響があっては正確に記憶を評価することはできない。我々の研究室では、自発運動量の日内変化を運動量センサーやオープンフィールド法、協調運動の評価としてロタロッド法やポールクラミング（棒登り）法、筋力テストとしてトラクションメーター法を用いて、まず運動機能を測定する。また、動物にある一定の周波数の音を聞かせると驚いて飛び上がる（驚愕反応）が、音を聞かせる直前に一度異なる周波数の音を聞かせておくと驚愕反応が弱められる（プレパルスインヒビション）。この反応が正常になされるかどうかを調べる。

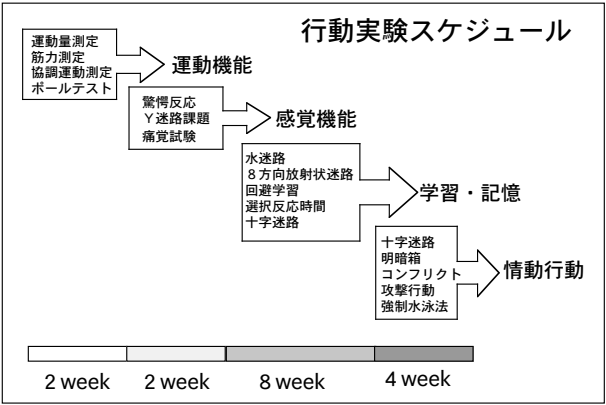


図2 行動実験の流れ

感覚機能も記憶の第一歩

試行を繰り返して行って（学習）、課題を短期記憶から長期記憶へと誘導させる場合、

取りかかりの善し悪しによって記憶の形成に差がでてくる。すなわち、最初に注意散漫だと課題を獲得するためのチャンスレベルも低くなるというわけである。この観点から、餌が出てくるディスペンサーと、手がかり刺激用のランプとレバーが左右に設置されたスキナー箱を用いて、ランプが点灯している側のレバーを押すと餌がもらえ、点灯していない側のレバーを押すと餌がもらえない条件設定を行う。ランプが点灯してから正しいレバーを押すまでの時間を自動測定することにより、ラットの注意力を定量化しようとする試みである。この時間を選択反応時間と呼び、これが長くなれば注意力が低下したことになり、記憶の形成も遅れる。

罰を与えて記憶を見る

受動的回避学習課題では明暗箱の明室にラットを入れると、夜行性故に速やかに暗室に移動する。暗室に移動したら床グリッドから電気ショックが負荷され、あわてて明室に戻る。この痛み（罰）を翌日まで覚えておれば、二度目以降は明室に留まるという行動をとる。これを記憶の指標とすることで多くの実験が行われてきた。しかしヒトの記憶を動物の留まるか逃げるかの二者択一の記憶で論ずるには無理がある。そこで、彼らにとって二者択一よりは難しい課題を学習させようということになる。我々の実験室では、直径 120cm のプールに水面より少し深いところに直径 10cm のアクリル板製の足場（プラットフォーム）を置く。水面に顔を出して泳ぐラットからは透明で水面下のプラットフォームは見えない。このプールにラットを入れると、最初のうちは、足がとどかない恐怖から逃れようとプールの壁面をグルグルと泳ぎ回るが、毎日これを繰り返すと、どこから入れても容易にプラットフォームにたどり着くようになる（図3）。これは、試行を重ねるうちに、泳ぎながらプールの外、すなわち実験室にある机や棚や観察者をランドマークにしてプラットフォームの位置を探っていることが分かった。このことは、住み慣れた家で真夜中に真っ暗で前が見えなくてもトイレの場所が想像できたりすることに似ている。痴呆症による夜間徘徊などはこの認知地図が障害されたことによるので、ラットを用いた水迷路試験は、一歩臨床に近づいた病態モデルと考えてもよいだろう。

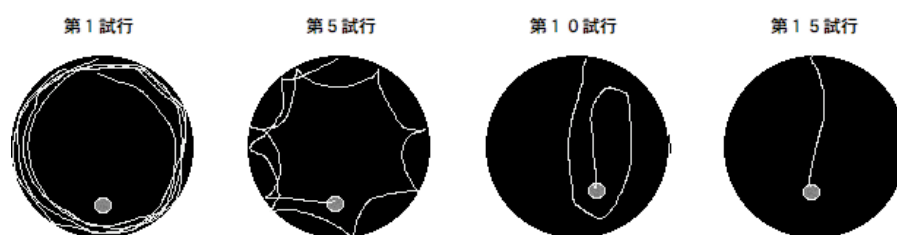


図3 水迷路課題の獲得課程

報酬を与えて記憶を見る

課題を遂行し正解すれば餌などの報酬を与えることにより記憶が形成される。水族館のイルカショーや猿回しなどがそのよい例で、上手にできれば褒美がもらえるという課題である。我々は図4のような8方向放射状迷路装置を用いて、前日に餌を制限して空腹にしたラットをプラットフォームに入れた。空腹のラットはアームの先端に隠した小さな餌ペレットを探して、各アームを出たり入ったりする。一度入って餌を取り終えたアームに入ると誤選択とするのだが、この試行を繰り返すと、ラットは一度進入して餌を食べ終えたアームには二度と入ることなく、8個の餌を食べ終わると中央のプラットフォームに留まり、それ以上はアーム選択を行わなくなる。これは、前述した水迷路課題の場合と同様にラットは、移動しながら迷路の周辺の物象をランドマークにして自分の現在の位置を把握し、要領よく餌を獲得していると考えられる。我々は、罰系の水迷路では比較的方向感覚の関与が深いが、報酬系の8方向放射状迷路では進入路が多い分、空間の地図がしっかりしていないと課題を遂行できないと考えられ、水迷路より高次の記憶が必要ではないかと考えている。

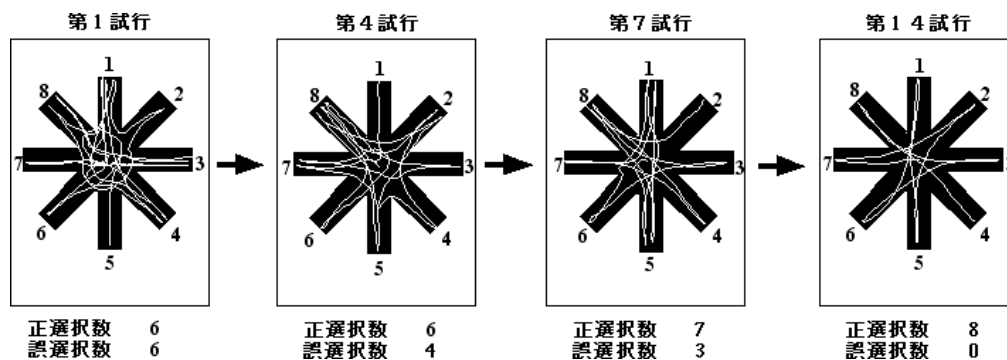


図4 8方向放射状迷路課題の獲得

記憶障害を行動で見る（病態モデルの作成）

記憶を行動で見ることができるようになれば、薬理学の領域では、薬が記憶形成の過程や記憶障害に及ぼす影響も行動で評価しよう（行動薬理学）ということになる。薬物の効果を評価する場合、普通のラットやマウスを用いて前述した方法論で実験をしてもほとんど意味がない。疾患に特徴的な症状を動物に再現し、これを改善できるかどうかを調べてはじめて治療薬と言える。従って、できるだけ疾患の臨床像に近い病態モデルを作成することが新薬開発のキーポイントになる。ここでは我々の教室で作成したいくつかの痴呆症の病態モデルを紹介する。

（1）脳血管性痴呆症の動物モデル：脳梗塞や脳出血後に痴呆症状を呈する 경우가多くある。動脈硬化や高血圧などの生活習慣病が背景にある場合は特に発症率が高い。これは脳の動脈が切れるか詰まることによるので、動物に人為的に同様の負荷を与え

てモデルを作ることができる。ラットの脳の血液循環は椎骨動脈と総頸動脈で養われているので、これらを手術によって結紮する方法である。両側椎骨動脈をあらかじめ電気凝固させておき、残りの2本の総頸動脈を実験時に一時的に結紮することにより全脳虚血が得られる。我々は片麻痺などの運動障害を出さないために、10分間という短い虚血を一定時間をおいて数回繰り返す方法で、8方向放射状迷路課題の獲得および再生に障害が出る動物モデルを作成した。さらにこのモデルでは記憶の座でもある海馬の部位のアセチルコリン遊離が低下し、錐体細胞領域にアポトーシスがみられるなど、脳血管性痴呆症患者によく似た病理所見を呈した。これらの変化を改善するかどうかをターゲットにして新薬の探究を行っている。

(2) アルツハイマー病の動物モデル：アルツハイマー病は、最近の分子生物学的研究の成果により、 β -アミロイド蛋白の蓄積による老人斑形成、タウ蛋白の過剰リン酸化に由来する神経原線維変化やアポトーシスによる神経脱落がみられること、また、マイネルト基底核から大脳皮質へ投射するアセチルコリン神経系が機能低下を生じていること、さらにはアミロイド前駆体蛋白(APP)、タウ蛋白や新規にプレセニリンなどの遺伝子上に点変異が生じていることなど、その本病の成因に関わる多くの事実が明らかになってきた。これらのどれか1つでも動物モデルに利用できれば創薬に応用できると考えられる。

①アセチルコリン神経系の機能低下モデル：8方向放射状迷路課題と水迷路課題を用いて課題を学習させたラットに抗コリン薬のスコポラミンを投与して、もう一度試行を行ってみると（再生試行）、覚えているはずの課題が遂行できず、誤選択数が著明に増加した。この記憶障害に対して如何なる薬物が改善効果を示すかを調べることでよりアルツハイマー病による痴呆症状に有効な薬物を探索することができる。しかし、この方法はアルツハイマー病患者の脳ではアセチルコリン神経系が機能低下を生じていることだけを利用したもので、ほとんどの組織病変を反映していないので、最近ではあまり活用されていない。

② β -アミロイドを用いたモデル：老人斑の構成成分である β -アミロイドが本病の原因であるという仮説に基づき、それ自体をラットの脳室内に直接注入するというモデルである。さらに我々は、アルツハイマー病の疫学調査から脳循環障害の既往歴がある方が痴呆への重症化が早いという臨床報告に着目して、8方向放射状迷路課題を学習したラットに軽度の脳虚血処置を施し、引き続き β -アミロイドを1週間にわたり脳室内に持続注入する方法を試したところ、強い記憶障害が発現した。これに対して現在臨床で使われているドネペジルが改善効果を現し、他にもいくつかの候補薬物を見いだした。

③遺伝子改変マウス：ゲノム創薬が唱えられる時代、また疾患の病因遺伝子が解明されるに至り、これを利用することも重要である。家族性アルツハイマー病患者の病因遺伝子に移入したトランスジェニックマウスを用いて、8方向放射状迷路課題や水迷路課題を遂行させ、その獲得課程が薬物によって改善されるかどうかを調べることができる。我々は患者のアミロイド前駆体蛋白(APP)の変異遺伝子に移入し脳内に不溶性で沈着し易い β -アミロイド 1-42 フラグメントを切り出して老人斑を形成するトランスジェニックマウス(Tg2576)やタウ蛋白を過剰にリン酸化して神経原線維変化を呈するトランスジェニックマウス(R406W および P301L)を用いて実験を行っている。しかし現在のところ、トランスジェニックマウスを用いて新薬の開発を行うには、雌雄や週齢の揃った膨大な数が必要になり、現実的には不可能である。したがって、安価で、できるだけ臨床像に近い非トランスジェニック動物モデルの作成は、しばらくの間は薬効評価の主流になることは否めない。

(3) その他の動物モデル：痴呆症を呈するその他の疾患に老人性の正常圧水頭症やパーキンソン病やピック病などの神経変性疾患がある。それぞれの病因を反映する形でモデルが作られる。例えば、カオリンを用いて中脳水道の脳脊髄液の流通を阻害することにより脳室の拡大を伴う水頭症ラットを作ることが可能で、加齢の影響を加えると臨床像によく似たモデルができる。またパーキンソン病やピック病は α -シヌクレインなど病因蛋白の変異遺伝子でトランスジェニックマウスを作ることができる。

最後に、記憶というヒトのヒトたる高次の脳機能の障害である痴呆症を実験動物で再現するには、行動薬理学的手法以外の方法ではほぼ不可能と言っても過言ではない。これから痴呆症の原因が明らかになればなるほど、それを反映する新しい動物モデルが考案され、薬理学が疾患を克服する日が来ることを願っている。

参考文献

岩崎克典, 松本禎明, 藤原道弘. ラットの空間認知獲得に関する基礎検討. 栗原 久, 平手謙二編: 動物の学習・行動試験—その実際と問題点—. 群馬大学医学部附属行動医学研究施設出版会, 1990.

Loftus GR, Loftus EF: Human memory. In: The Processing of Information. Lawrence Erlbaum Associates, Inc., 1976. 大村彰道訳: 人間の記憶—認知心理学入門. 東京大学出版会, 1980.

Katsunori Iwasaki, Kenichimishima, Michihiro Fujiwara. Behavioral and histochemical studies in repeated cerebral ischemia in rats. Advances in Behavioral Biology, 53: 265-268, 2002