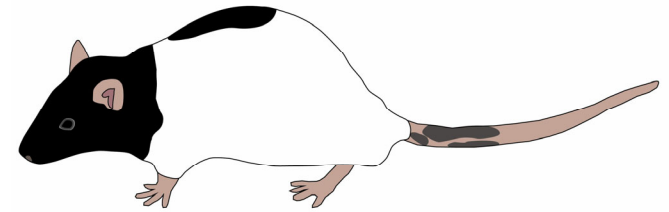


# 豊かな飼育環境は Lister hooded ratにおける ADHD様行動を改善する

宇都宮諒 三神幹汰 土居友美 MEチョードリ 矢野元 田中潤也  
愛媛大学医学研究科分子細胞生理学



利益相反開示

豊かな飼育環境は  
Lister hooded ratにおける  
ADHD様行動を改善する

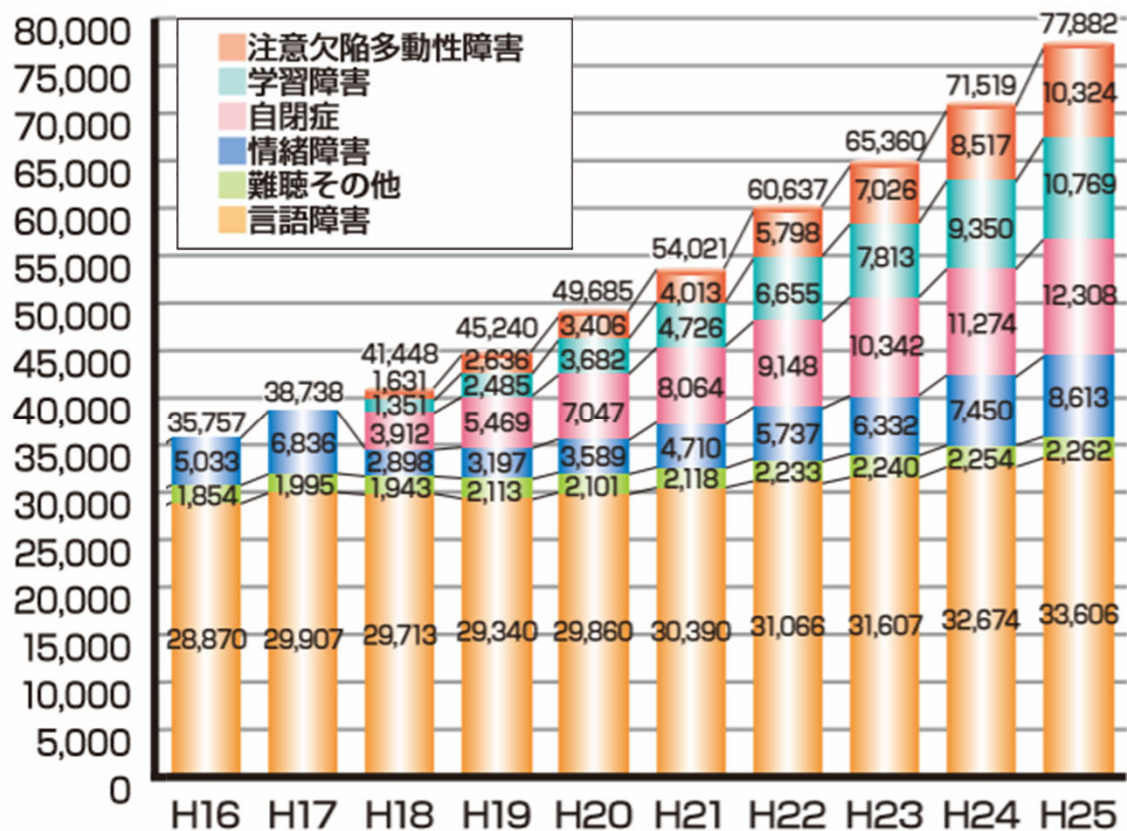
本演題に関して、発表者らに利益相反はありません

# 注意欠如・多動性障害(ADHD)とは？(1/2)

## Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)



## 注意欠如・多動性障害(ADHD)とは？(2/2)



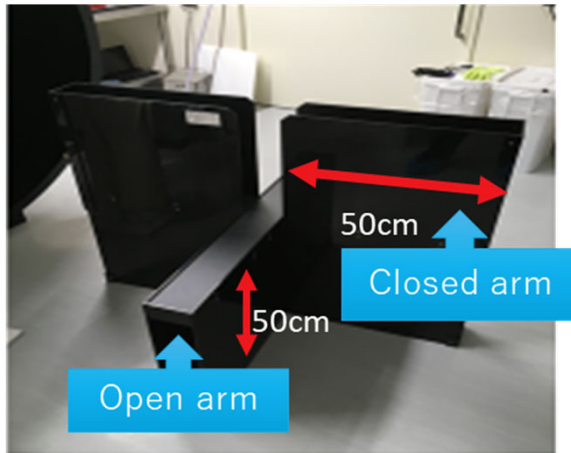
ADHDは人口の数%に及び、  
本人と周囲の人が困る行動障害

しかし、ADHDの発症機序は  
殆ど未解明！



適切なADHDモデル動物の不在

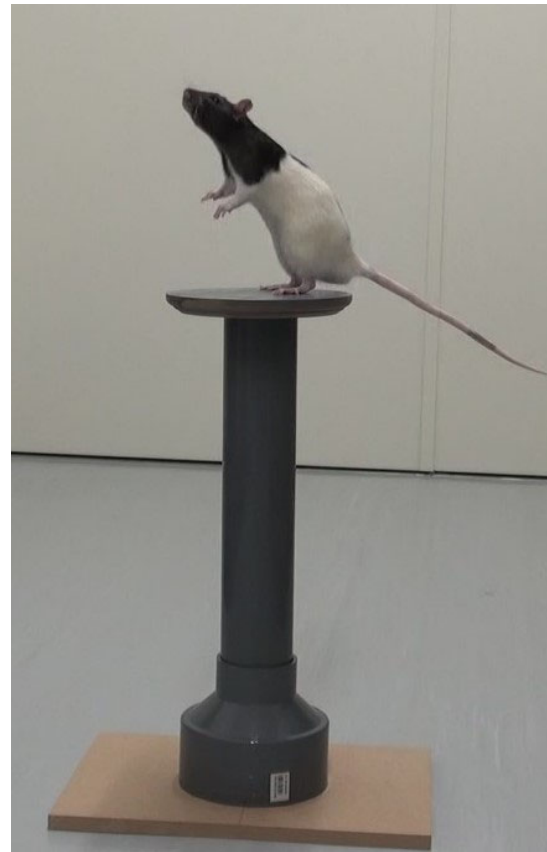
# 新たなADHDモデル動物の発見：Lister Hooded Rat



高架式十字路



明暗箱試験



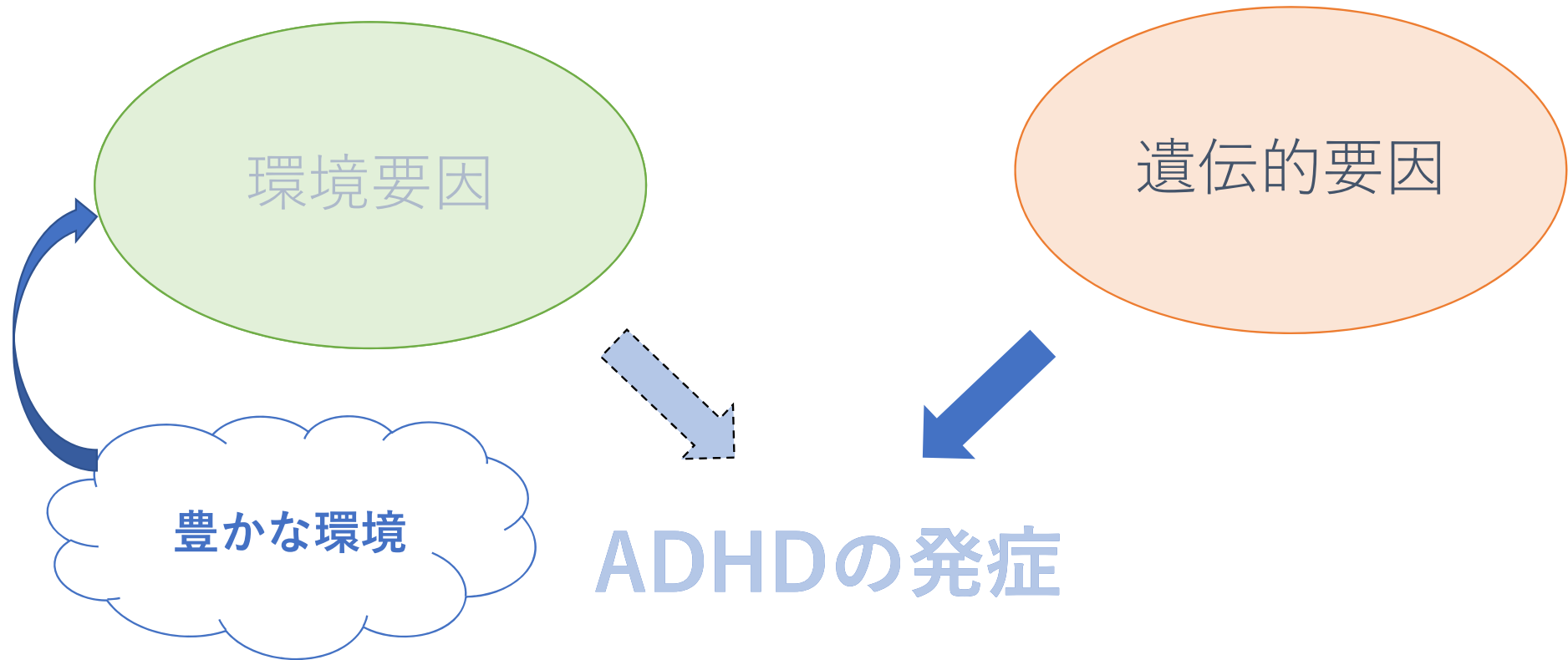
落下試験

これまでの研究から  
Lister Hooded Rat(LHR)が  
**ADHD様行動**を示すと発見

Jogamoto T, Utsunomiya R, et al. Lister hooded rats as a novel animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neurochemistry International*, 2020, 141: 104857.

# ADHDの発症要因

---



**養育環境を改善することで、ADHD様行動も改善できるか？**

# 豊かな飼育環境(Enriched Environment) (1/2)

## 豊かな環境飼育

- 4階立ての立体飼育ケージを使用
- 金網や回し車といった運動器具を配置
- ハンモック・木箱などの寝床を配置
- 餌や水を皿に入れて飼育
- 12匹の多頭飼育



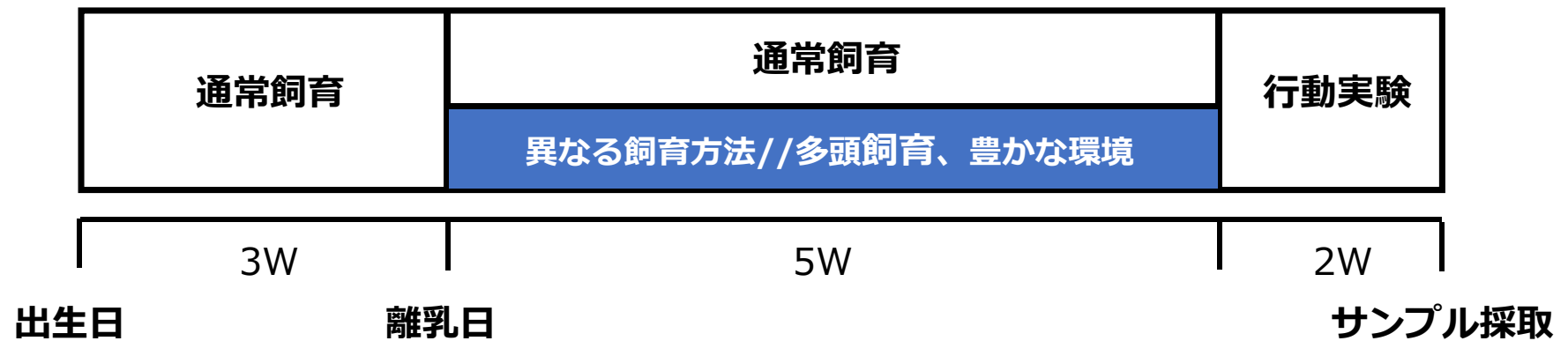
## 通常飼育



- 4匹で飼育

## 豊かな環境飼育(Enriched Environment) (2/2)

---



→行動解析、分子生物学的解析により、治療効果を評価



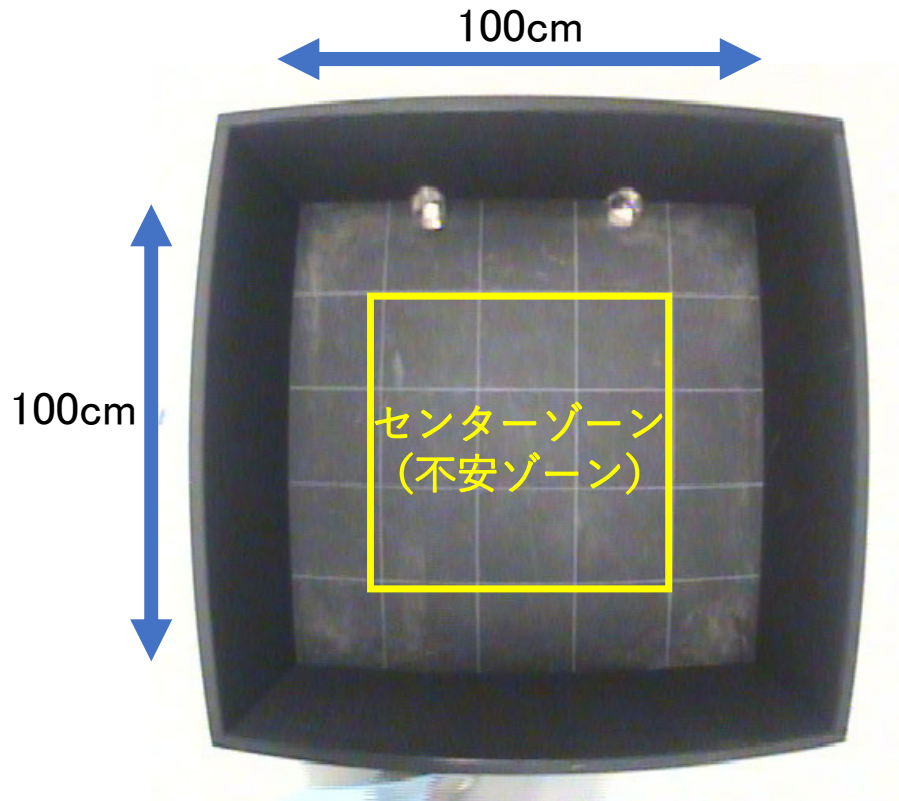
# 豊かな環境飼育の治療効果

---

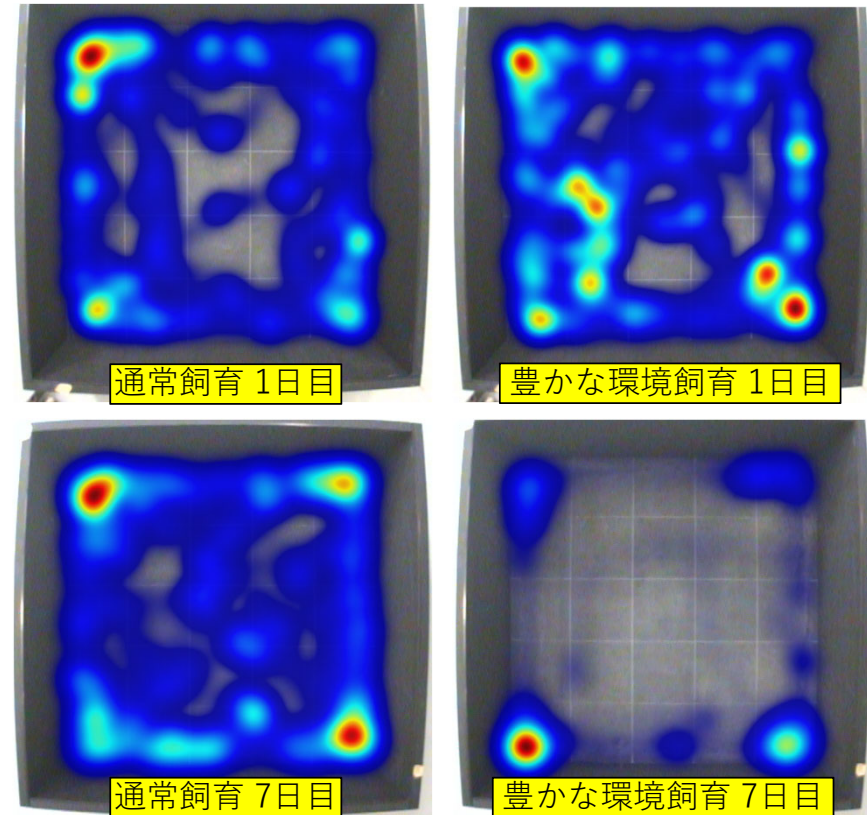
**行動解析**

分子生物学的解析

# 豊かな環境飼育での多動性の比較：連続Open field試験



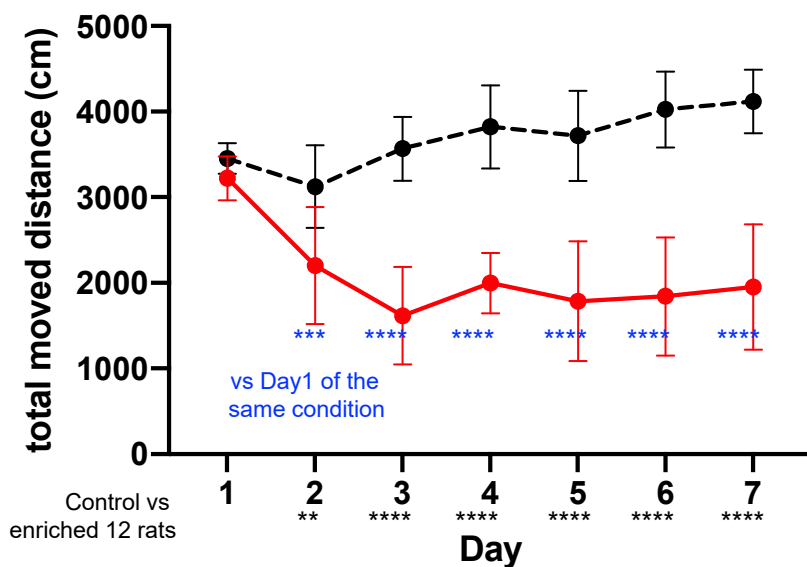
Field内にラットを置き、5分間行動を観察  
7日間連続で実施



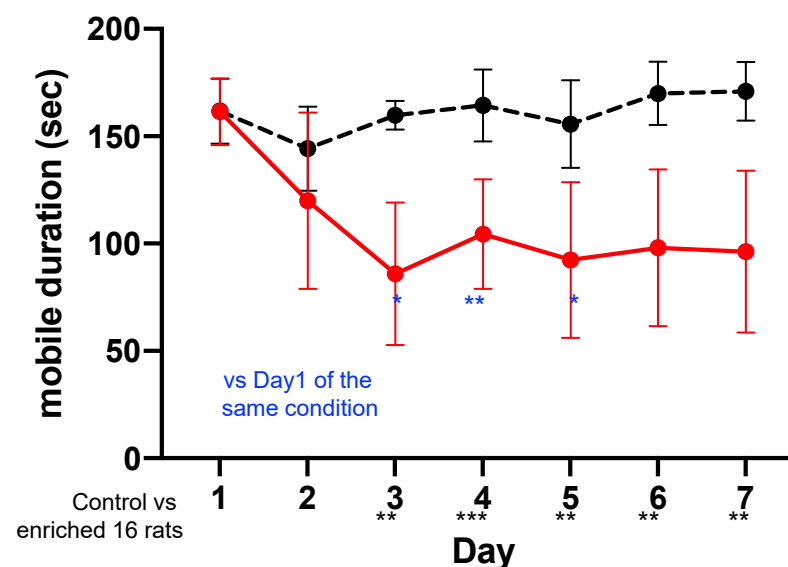
Open Field 7日目のHeat map

# 飼育環境のADHD様行動への影響

## 総移動距離



## 運動時間



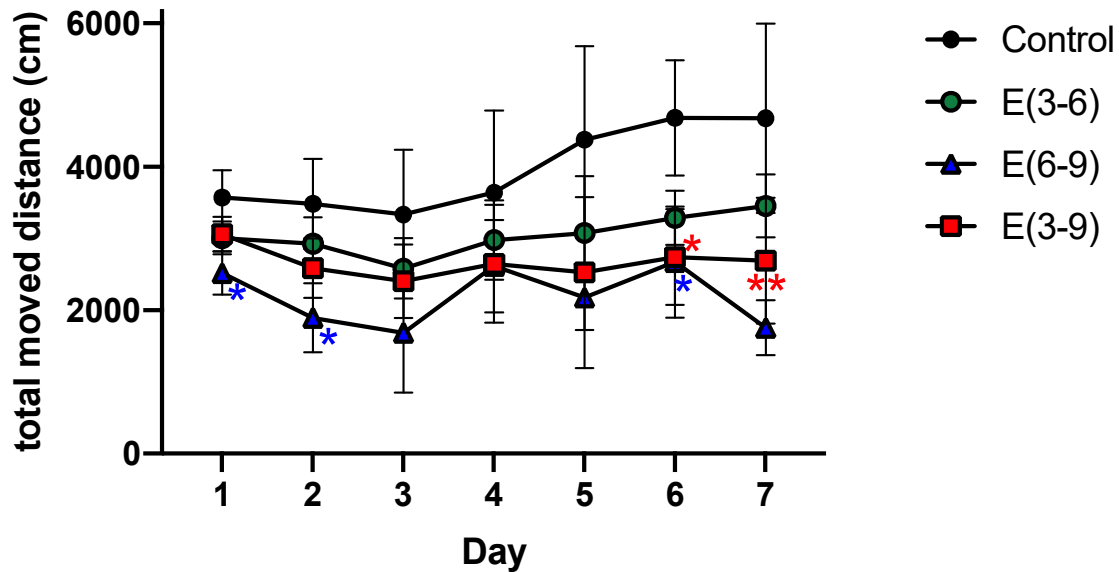
- Control
- Enriched 12 rats

Two-way ANOVA with Tukey' post hoc test

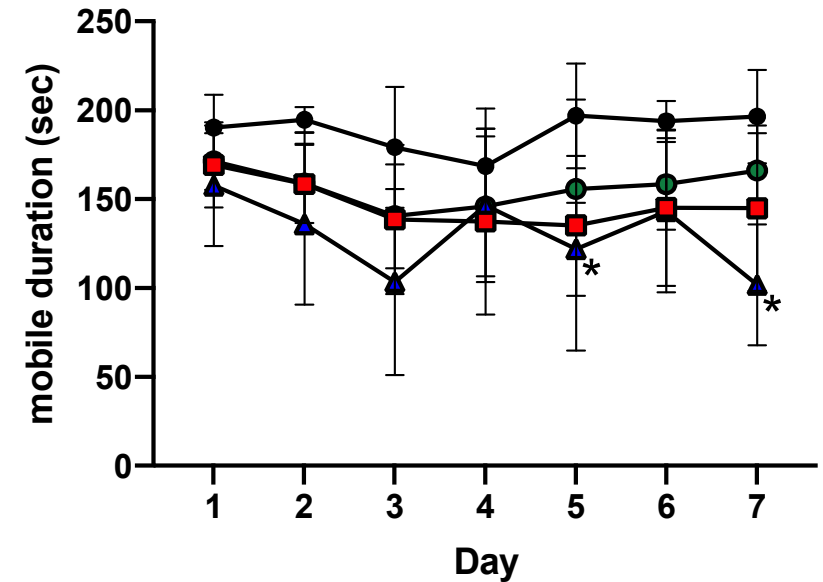
豊かな環境飼育には、多動を有意に改善する

# 思春期以降の飼育環境改善でも、ADHD様行動は改善

## 総移動距離

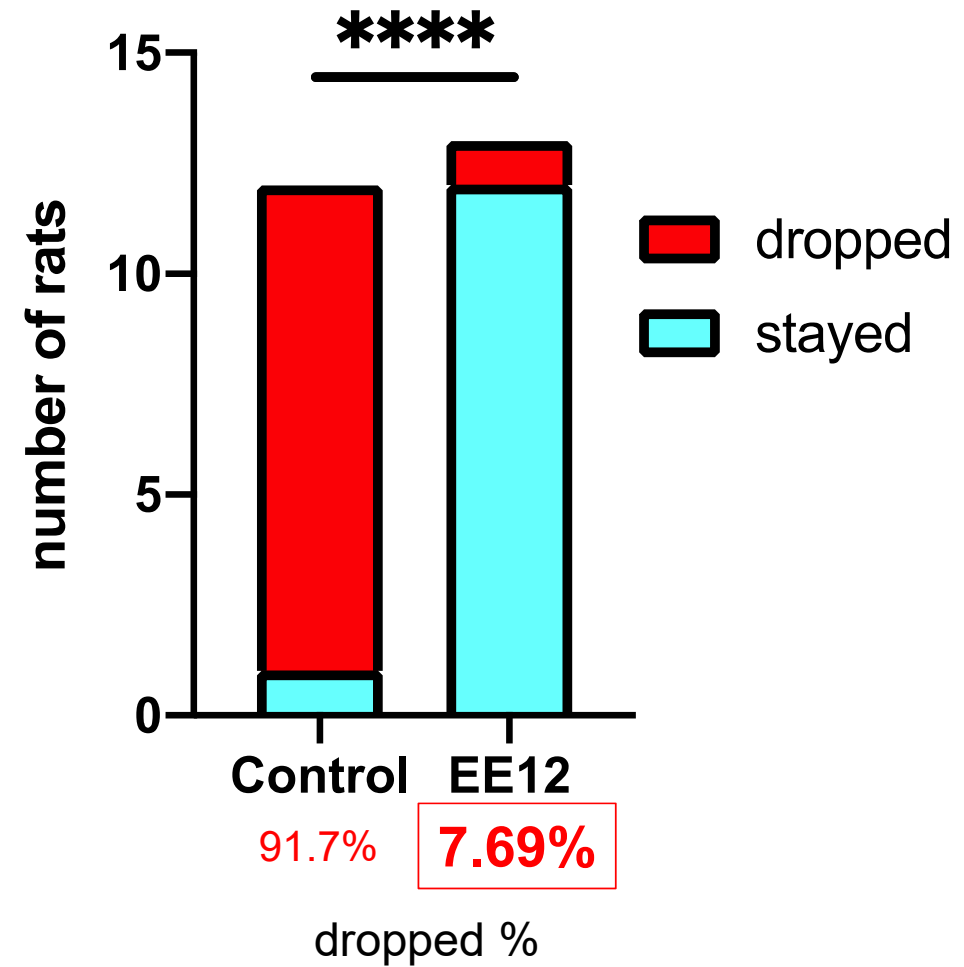
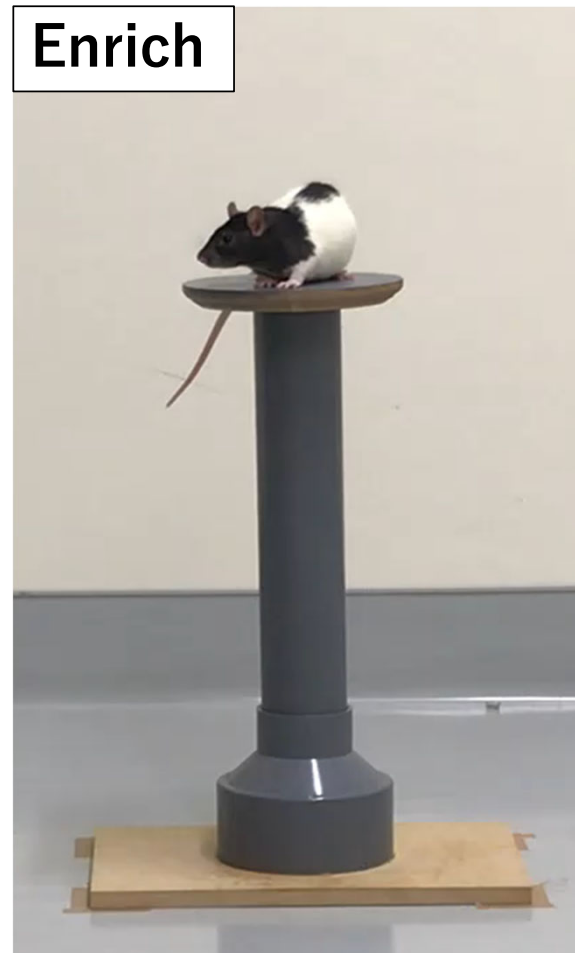


## 運動時間

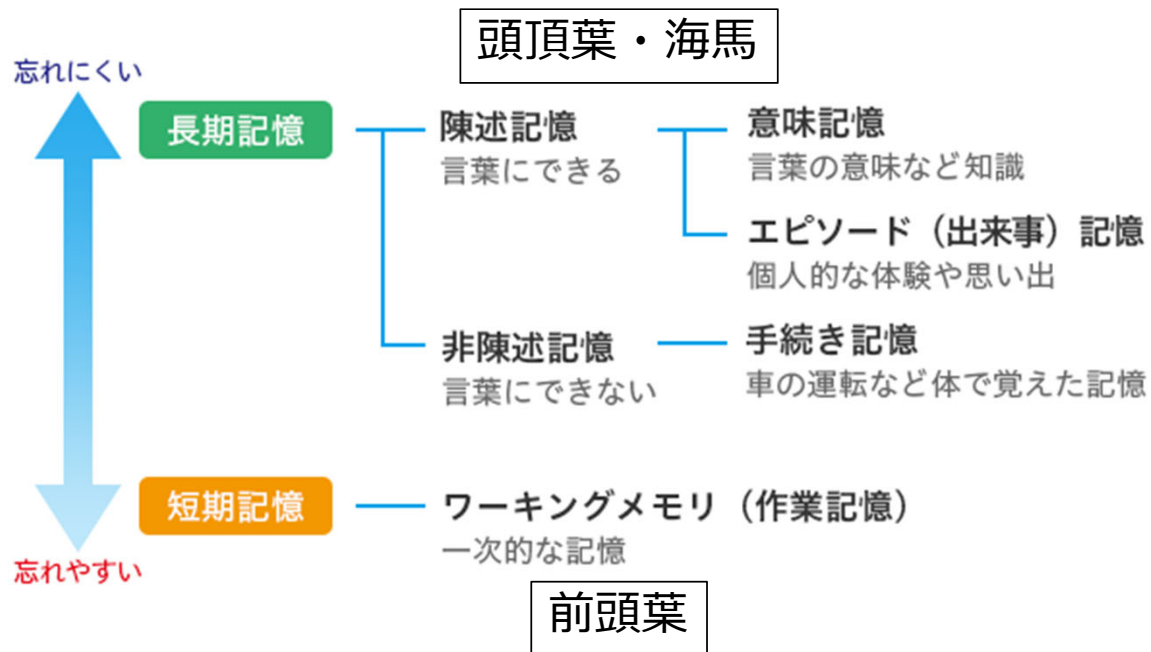


思春期(6週齢)からの治療介入でも、豊かな環境はADHD様行動を改善

# 豊かな環境飼育での不注意の比較：落下試験



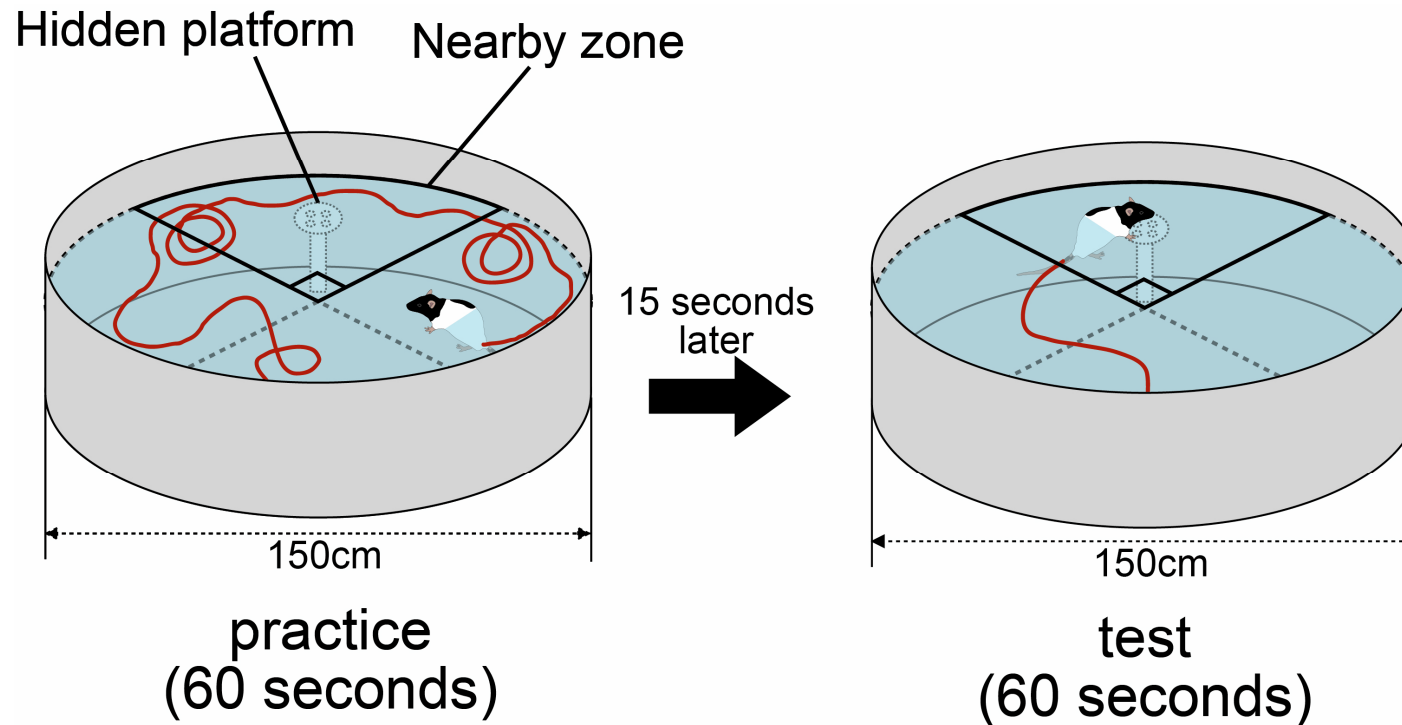
# ADHDと作業記憶(ワーキングメモリ)



言われたことをすぐに忘れる

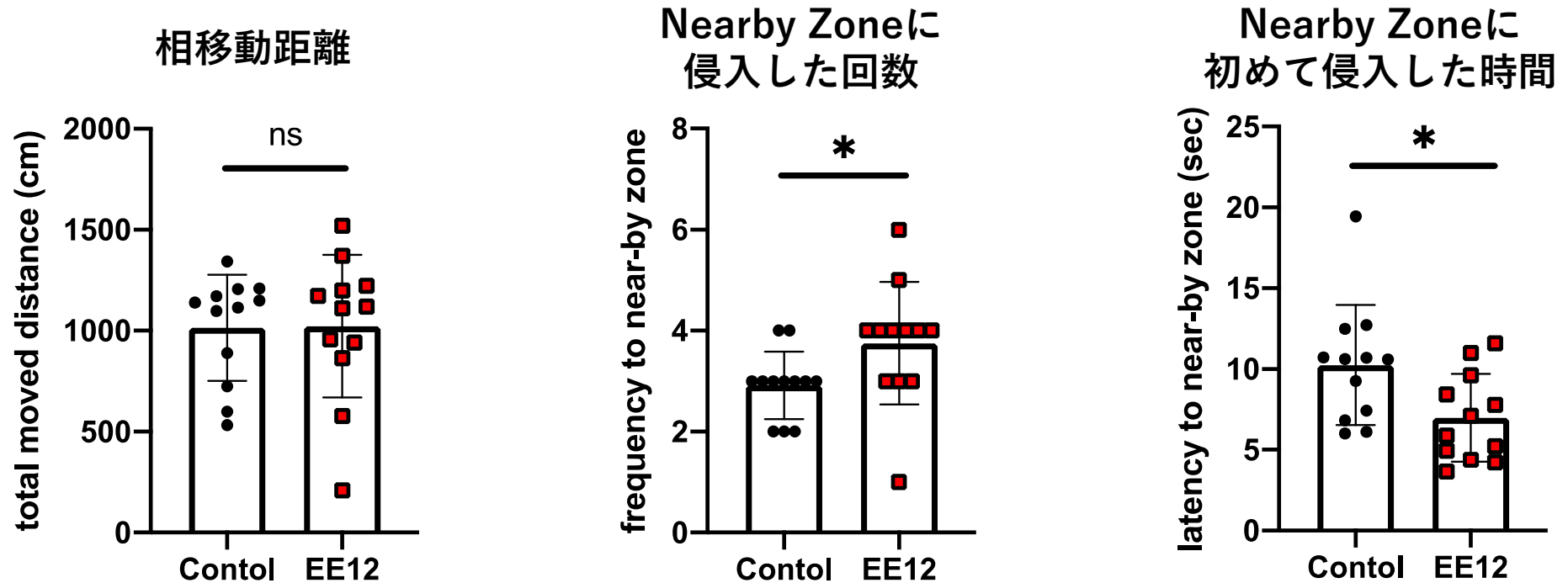
ADHDでは、**ワーキングメモリ(作業記憶)に障害**

## 豊かな環境飼育でのワーキングメモリの比較：水迷路試験 (1/2)



2回続けてプラットフォームを探索させ、  
プラットフォームの大体の位置nearby zoneの位置に入るまでの時間などを測定する

## 豊かな環境飼育でのワーキングメモリの比較：水迷路試験 (2/2)



豊かな環境飼育は **ワーキングメモリ** を有意に改善する



# 豊かな環境飼育の治療効果

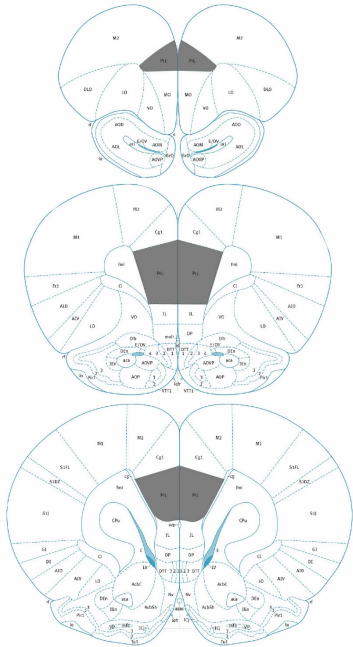
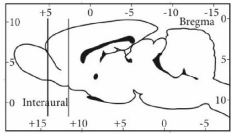
---

行動解析

**分子生物学的解析**

# ADHDに関する脳部位

PrL

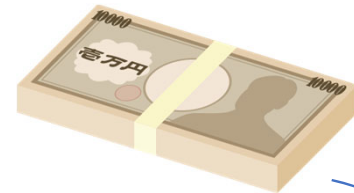


## 前辺縁皮質 (PrL) (Prelimbic cortex)

ブロードマン32野に相当する **mPFC** の一部

**報酬の価値判断**に基づく **意思決定** に関する脳部位として研究

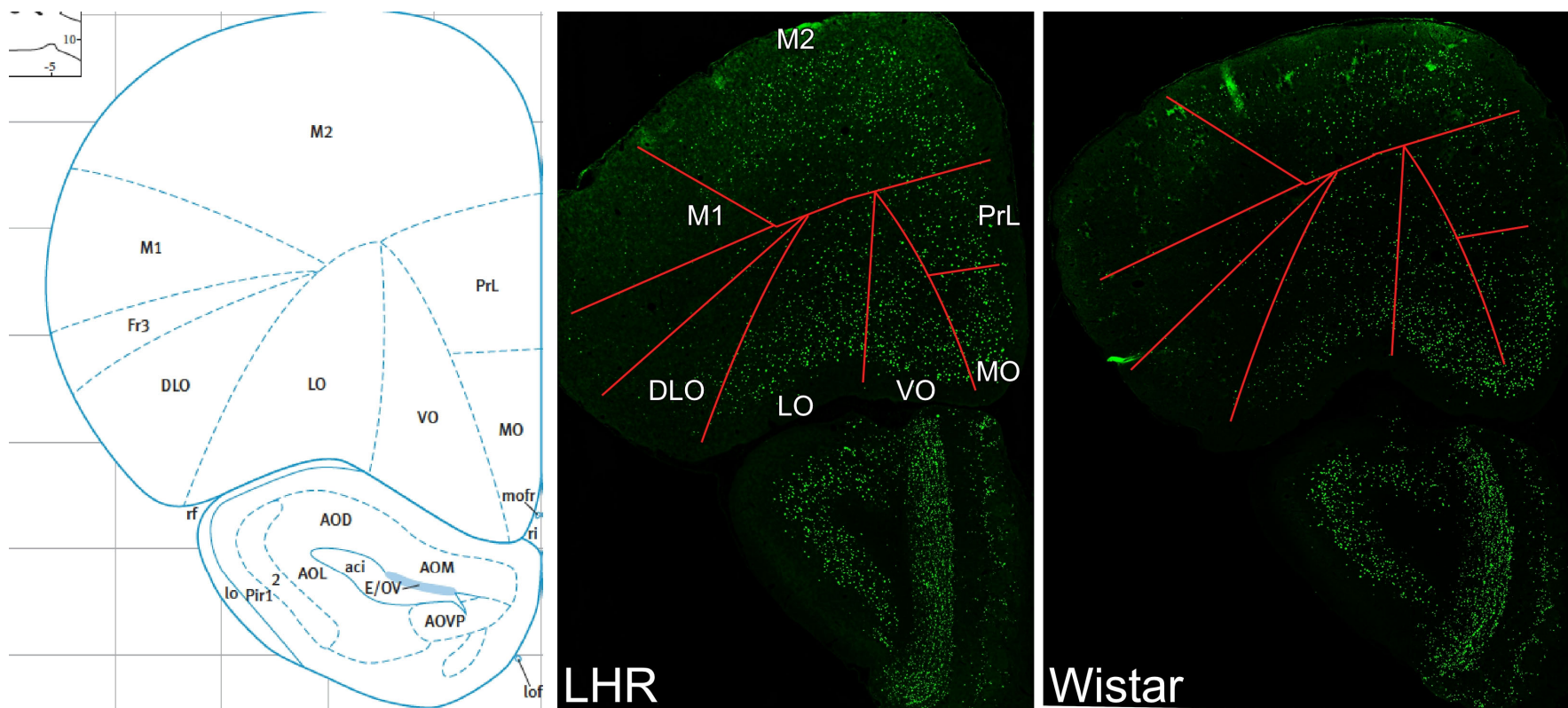
**mPFC** 損傷患者では、**不注意**、**衝動性** がみられる



今すぐに1万円もらえるか、  
1週間後に100万円もらえるか…

# Wistar、LHRでの神経細胞活動性の比較： 前頭葉におけるc-Fosの免疫組織化学染色

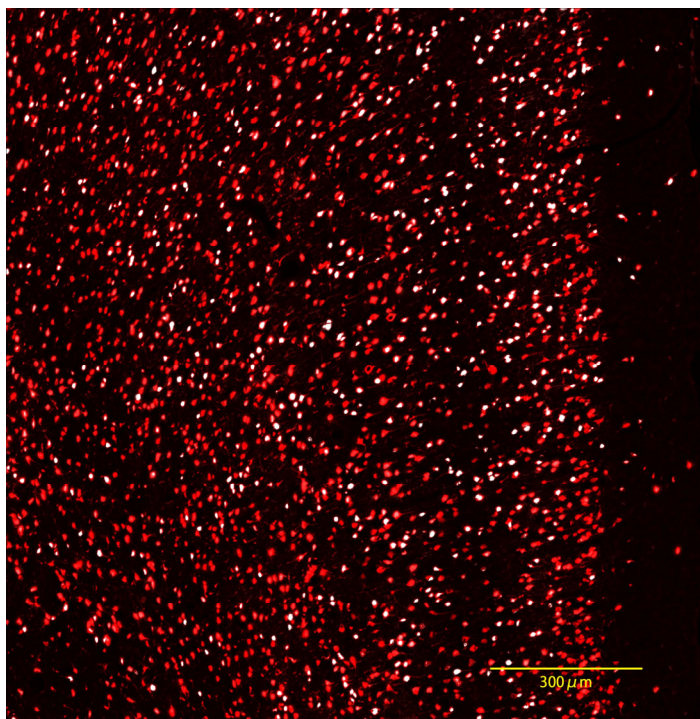
c-Fos…神経細胞の活動性マーカー



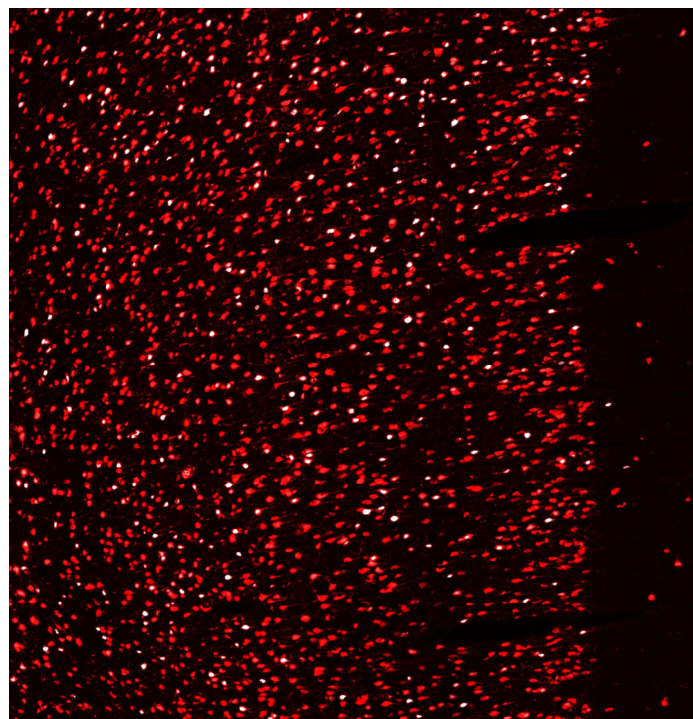
LHRでは、ヒトの前辺縁皮質(PrL)の神経興奮性が上昇

# 豊かな環境飼育での神経興奮性の比較： 前辺縁皮質(PrL)におけるc-Fosの免疫組織化学染色

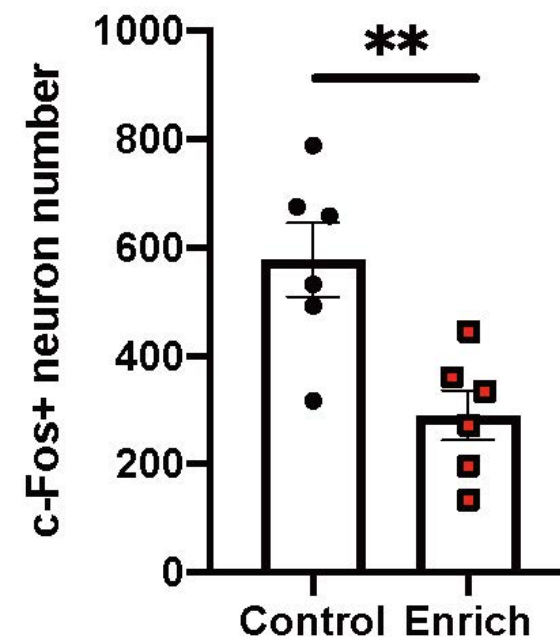
Red : NeuN    White : c-Fos



Control

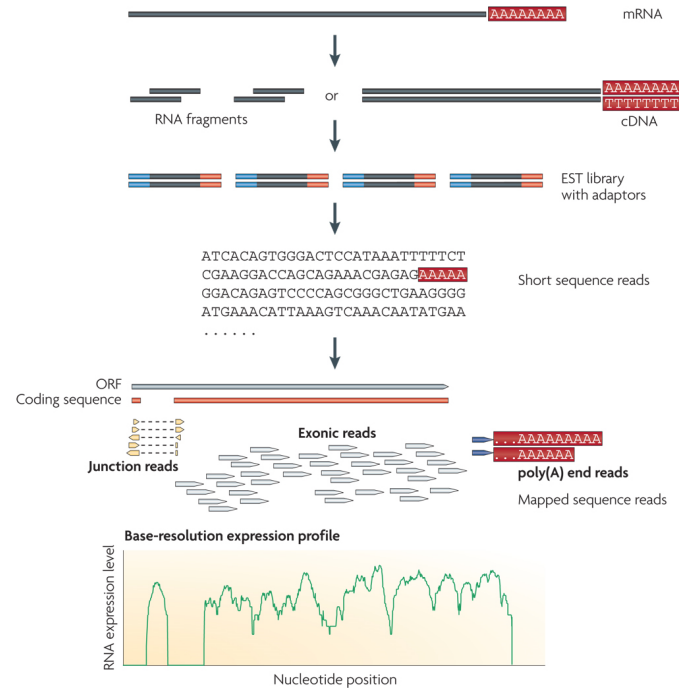


EE



豊かな環境飼育は**PrLの神経興奮性を低下させる**

# NGS(次世代シーケンサー)を用いたRNA-seqについて



- 同時に数百から数千の遺伝子や遺伝子領域の塩基配列を同定
- 発現量の定量など、転写産物を網羅的に解析が可能である

<https://www.thermofisher.com/jp/ja/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ngs-basics.html>

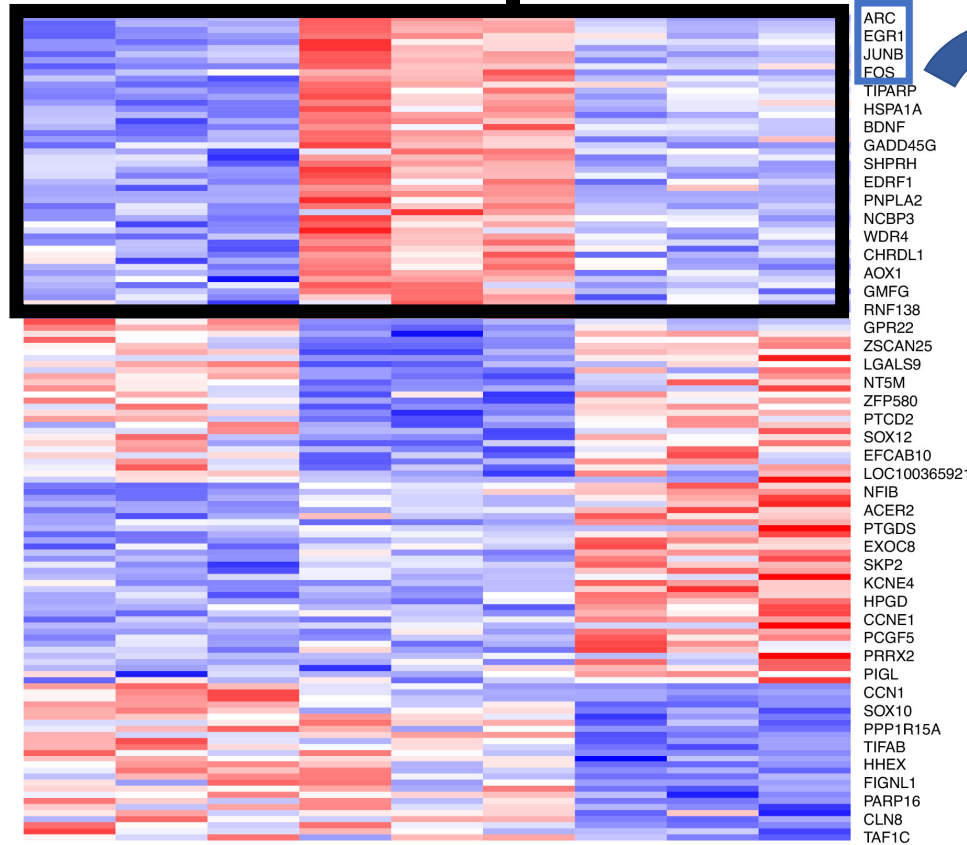
Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet.* 2009;10(1):57-63.

豊かな環境飼育とコントロール群のPrLにおける  
すべてのmRNA発現量を比較した

# 豊かな環境飼育での全mRNAの比較：

LHRで増加、豊かな環境下で減少した遺伝子群

赤：増加  
青：減少

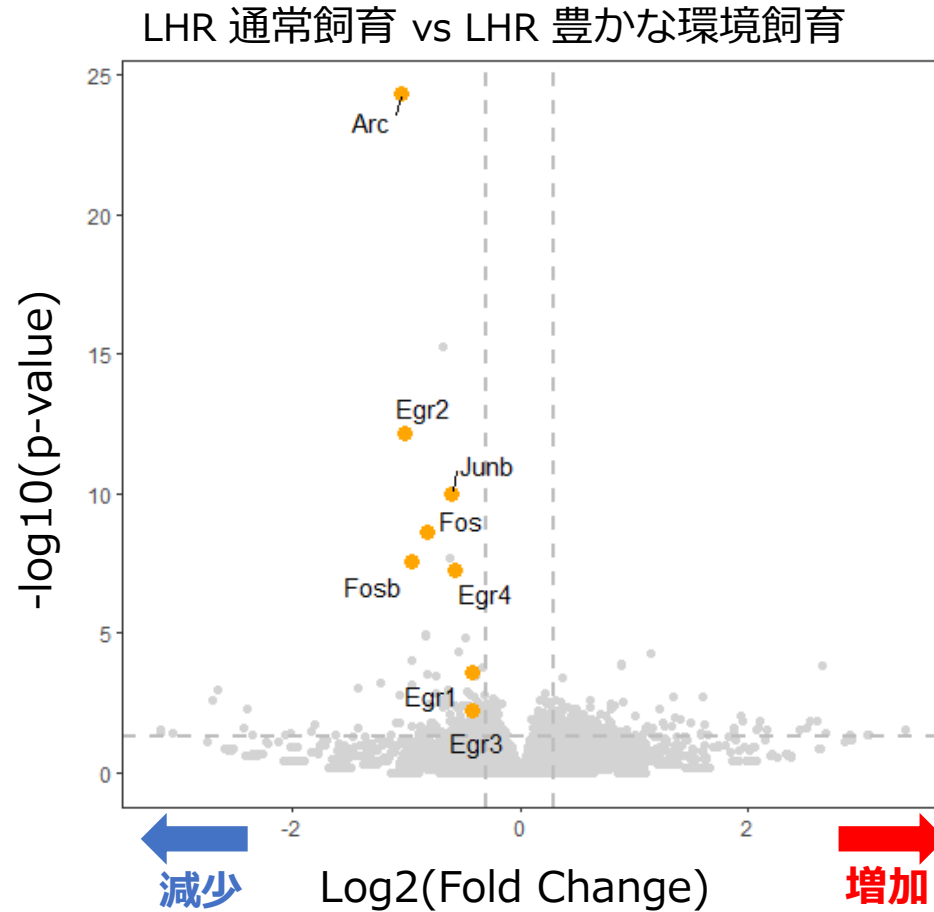


Wistar      LHR 通常飼育      LHR 豊かな飼育環境

## 最初期遺伝子

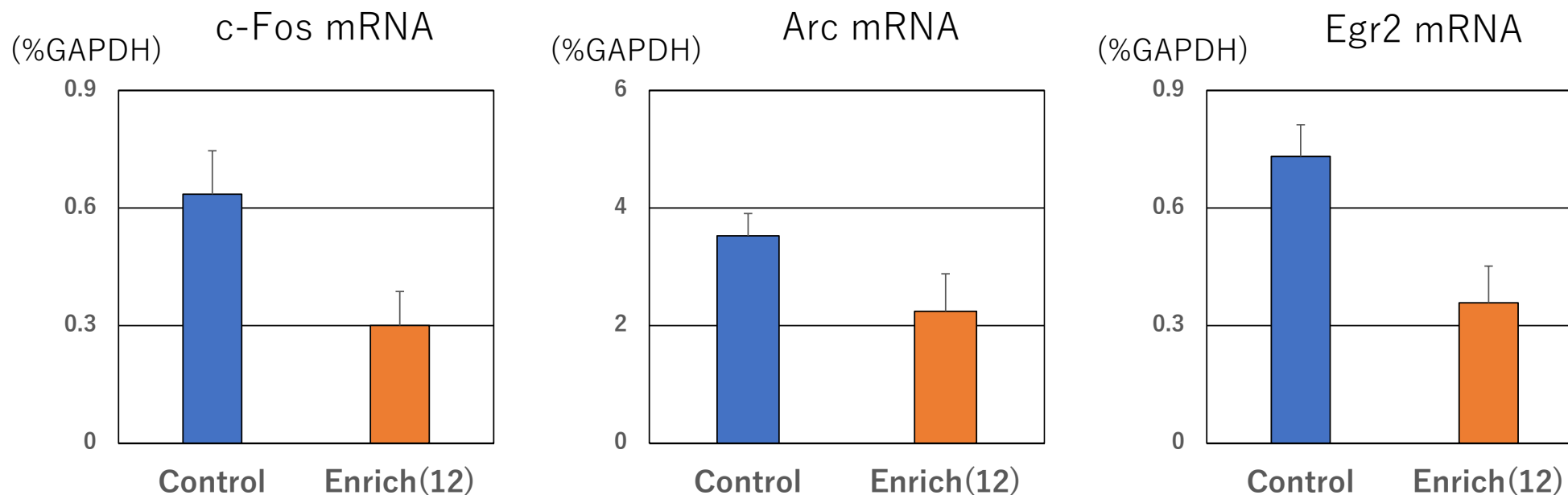
細胞刺激時に、速やかに転写される遺伝子群

## 豊かな環境飼育での全mRNAの比較：



豊かな環境飼育はPrLにおける**IEGs(最初期遺伝子)**の発現を減少させる

## 豊かな環境飼育でのmRNAの比較： 前辺縁皮質(PrL)の最初期遺伝子(IEGs)におけるq-PCR



豊かな環境飼育はPrLにおける神経細胞の最初期遺伝子の発現を低下させる

最初期遺伝子：細胞刺激時に、速やかに転写される遺伝子群



## まとめ

---

- 豊かな環境飼育ではLHRの**ADHD様行動が改善する**
- 豊かな環境飼育はADHDの症状に関与する**前辺縁皮質(PrL)の過剰な興奮を抑える**

今後  
豊かな環境の中で、  
どの要素がADHDを改善しているか研究したい

