NMDA 受容体拮抗薬 AP5 がピーク法における 時間知覚に及ぼす影響

尾崎 大輝 (広島大学大学院人間社会科学研究科)

服部 稔 (広島大学大学院医系科学研究科)

坂田 省吾 (広島大学大学院人間社会科学研究科)

Effect of NMDA Receptors Antagonist AP5 on Peak-Interval Procedure in Rats

Daiki OZAKI (*Graduate School of Humanities and Social Sciences, Hiroshima University*)

Minoru HATTORI (*Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University*)

Shogo SAKATA (*Graduate School of Humanities and Social Sciences, Hiroshima University*)

The peak-interval (PI) procedure is a temporal discrimination task used with animals, significantly affected by the hippocampus and the striatum. We focused on *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors because they are found at high concentrations in the hippocampus, and investigated the effects of D, L-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5), an NMDA receptor antagonist, in the PI procedure. Rats were given acute administrations of AP5 into indusium griseum after PI training for 30 s. The result indicated that AP5 induced a rightward response distribution shift suggesting that AP5 produced an overestimation of the criterion time. This finding implies that NMDA receptors surrounding indusium griseum affect the PI procedure's timing behavior, which indicates NMDA receptors' role in time perception.

Key words: interval timing, peak-interval procedure, NMDA receptor antagonist, rat

【要 約】 時間知覚課題の1つであるピーク法は海馬と線条体の働きが大きいと考えられている。本研究は海馬に多く分布する *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体に着目し、その競合拮抗薬である D, L-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5) がピーク法における時間知覚に与える影響を調べることを目的とした。全ての被験体は30秒のピーク法課題で学習基準を達成した後、AP5を灰白層に投与してその影響を観察した。AP5は反応分布の右シフトを引き起こし、時間を過大評価させた。本研究の結果は灰白層周辺のNMDA受容体がピーク法における時間知覚に影響を及ぼしていることを示唆するものであった。したがって、本研究は時間知覚におけるNMDA受容体の役割を示唆するだろう。

2020.5.16受稿, 2020.9.19受理, 2020.10.1 J-STAGE 早期公開, doi: 10.5674/jjppp.2006si

連絡者及び連絡先: 〒739-8521 広島県東広島市鏡山1-7-1 広島大学大学院人間社会科学研究科 坂田省吾

E-mail: ssakata@hiroshima-u.ac.jp

時間知覚は、時間の中で生きているあらゆる動物にとって重要である。時間知覚はその計時する長さによって機構が異なると考えられている (Buhusi & Meck, 2005)。特に秒から分単位のはインターバルタイミングとよばれている。インターバルタイミングは意思決定や採餌行動など、生理学的に重要な行動と関係があるとされている (Buhusi & Meck, 2005)。

インターバルタイミングをはじめとした時間知覚を説明するモデルとして情報処理モデル (Gibbon et al., 1984) が提唱されている。このモデルでは時間知覚に基づく行動が時計部、記憶部、決定部の3つの段階を経て現れていると考えられている。時計部は計時を担っている部分で、一定間隔でパルスを発するペースメーカーを想定している。このモデルにおいて、時間経過とはペースメーカーが発したパルスの蓄積量と考える。記憶部では、時々刻々と変化するパルスの蓄積量が作業記憶に送られ、現在時刻を記憶している。また、記憶部では強化を受ける時間のパルスの蓄積量を参照記憶として保存している。決定部では行動を行うかどうかの判断が下される。作業記憶と参照記憶の比較から、現在時刻が強化を受ける時間に到達したと判断されると行動が現れると考えられている。内的、外的を問わず何らかの要因によって時間知覚に基づく行動が現れるタイミングが変化するとき、このモデルでは3種類の時間知覚の変化を想定している (畑, 2003)。1つ目がclock speedの変化である。clock speedとは、ペースメーカーが発するパルスの間隔である。つまり、物理的に一定な時間におけるパルスの蓄積量が変わることによって行動が現れるタイミングが変化しと考えるものである。2つ目が参照記憶の変化である。参照記憶はこれまで強化を受けてきた時間のパルスの蓄積量を保存している。この蓄積量が変わることによって行動が現れるタイミングが変わると考えるものである。3つ目が反応閾値の変化である。行動の生起はパルスの蓄積量が作業記憶と参照記憶で同一になったと判断したタイミングで起こる。すなわち、パルスの蓄積が閾値を超えたら行動が起こる。この閾値が低下するとより早いタイミングで行動が生起し、より遅いタイミングまで行動が持続することになる。つまり、反応閾値が変化することで行動のタイミングが変わると考えることができる。情報処理モデルでは時間知覚に基づく行動の変化はこの3種類のいずれかが変化し

て起こると考えられている。

インターバルタイミングを検討するための時間知覚課題はいくつかある。その中の1つがピーク法 (peak-interval procedure) である (Roberts, 1981)。ピーク法は試行開始から一定時間 (fixed-interval: FI) が経過した後の初発反応に対して強化を行うFI試行と、いかなる反応に対しても強化を行わないprobe試行がランダムに提示される課題である。被験体にとってはFIが経過するまで、どちらの試行であるかがわからない。横軸に試行開始からの経過時間、縦軸に相対反応率を取ったときのprobe試行の反応分布はFIとして設定された時間付近を頂点とする正規分布が得られることが知られている。ピーク法ではこのprobe試行の反応分布における頂点の時間 (peak time: PT) を時間知覚の指標としている (坂田, 2003)。

現在、ピーク法を遂行する上で線条体と海馬は何らかの役割があると考えられている (藤巻ら, 2015)。その理由として、線条体または海馬を損傷させた時、PTが変化することが知られているからである (Meck, 2006; Meck et al., 1984; Tam & Bonardi, 2012)。グルタミン酸受容体の1つであり、記憶や学習、シナプス可塑性に役割があると考えられている *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体は海馬に多く分布しており (Morris et al., 1986)、その働きを抑制する拮抗薬を投与した時、海馬損傷と類似の変化を示すことが知られている (Morris et al., 1986; Tonkiss et al., 1988)。Miller et al. (2006) はNMDA受容体の非競合拮抗薬であるMK-801 (dizocilpine) を投与した時のピーク法における時間知覚の変化を調べている。彼らはMK-801の腹腔内投与がPTの遅延と最大反応割合の増加をもたらすことを明らかにした。また、McAuley et al. (2006) はMiller et al. (2006) のデータをもとに、MK-801がclock speed、参照記憶、反応閾値に変化を与え、それが時間の過大評価をもたらすことをシミュレーションにより明らかにした。

このように、MK-801の末梢投与がピーク法において時間の過大評価をもたらすことは明らかになっている。しかし、他のNMDA受容体拮抗薬を用いた時の時間知覚の変化を明らかにした研究が我々の知る限りでは見られなかった。末梢投与した薬物は脳全体に機能すると考えられるので、どの部位のNMDA受容体の抑制が時間知覚の変化をもたらしたのかが明確では

ないと考える。

そこで、本研究はNMDA受容体の競合拮抗薬であるD,L-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5)を脳内投与した時のピーク法に与える影響を調べることが目的とした。本研究ではAP5の投与対象として海馬の歯状回や歯状膜につながると考えられる灰白層(indusium griseum)を選択した。灰白層とは、広義の海馬の一部と考えられている領域である(Künzle, 2004)。Laplanche et al. (2013)は灰白層に γ -アミノ酪酸(GABA)系やドーパミン系等のニューロンがあることを明らかにしているが、NMDA受容体があるかは明らかにしていない。しかし、Schmued & Bowyer (1997)は灰白層から続く領域である海馬原基(hippocampal rudiments)にはNMDA受容体や α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate (AMPA)受容体が高密度に分布していることを見出した。それでも灰白層の機能が全て明らかになっているわけではなく、不明の部分が多いとされる(Di Ieva et al., 2015)。

時間知覚と海馬の関連を明らかにした研究は見られるが(Meck et al., 1984; 小野田・坂田, 2002; Tonkiss et al., 1988), 海馬様領域との関連を明らかにした研究は少ない。時間知覚との関連だけではなく、機能自体が不明瞭な部分の多い灰白層に対してAP5の投与を行い、灰白層周辺のNMDA受容体がピーク法の課題成績に及ぼす影響について検討を行うことが必要であると考えて研究を行った。

Miller et al. (2006)の結果が灰白層周辺のNMDA受容体の抑制が要因の一つであるならば、AP5を投与しても同様にPTの増加と最大反応割合の増加が見られるという仮説を立てて、実験を実施した。

方 法

被験体

実験的にナイーブなオスのWistar系ラット12匹を使用した。実験を通して体重を自由摂食時の85%程度になるように制限摂食を行った。水は自由摂取とした。飼育室の明暗は12時間周期であり、8:00—20:00が明期であった。なお、本実験は広島大学動物実験委員会の承認を受けて行った。

装置

格納式1レバーのオペラント箱を2種類使用した。1つは大きさが260×300×250 mmであり、換気扇が取り付けられた減音箱内に配置された。オペラント箱前面の中央に餌皿があり、その左35 mm, 床から30 mmの位置にレバーを設置した。天井部にはハウスライト、ブザー、スピーカーを配置した。もう1つはmed社製の、大きさが330×300×250 mmのもの(ENV-007CT)を使用した。こちらも同様に換気扇が取り付けられた減音箱内に配置された。オペラント箱の前面中央に餌皿があり、その左70 mm, 床から60 mmの位置にレバーを設置した。天井部にはハウスライトを、オペラント箱の外側にスピーカーを配置した。また、聴覚刺激として2,000 Hz, 75 dBの連続音を、強化子として45 mgのペレットを使用した。

手続き

実験は1日1セッションずつ行った。レバー押し行動形成、FIトレーニング、PI (peak-interval) トレーニング、PIテストの順に実施した。

レバー押し行動形成は実験箱馴化、Auto Shaping, CRF (continuous reinforcement schedule) で構成されていた。実験箱馴化は研究初日に20分間実施した。Auto Shapingはレバー押し時に加えて、1分の時間経過によっても強化を行う手続きであった。1セッションは強化が100回行われるか60分経過するかで終了し、2または3セッション実施した。CRFはレバーを1回押すごとに強化を行う連続強化スケジュールであり、1セッションは強化が100回行われるか60分経過するかで終了した。CRFは3セッション行い、すべての被験体においてレバー押し反応が形成された。

FIトレーニングは試行開始からある一定時間経過後の初発反応に対して強化を行う、FI試行を使用した。FI試行は聴覚刺激の提示で開始され、強化が行われるか、FIとして設定した時間の3倍長が経過すると終了し、 30 ± 1 秒の試行間隔(inter-trial interval: ITI)に移行した。1セッションはFI試行が100試行であった。FIとして設定した時間は3.75秒, 7.5秒, 15秒と1セッションずつ段階的に増加させ、FI 30秒は10セッション実施した。

PIトレーニングはFI試行とprobe試行で1セッションが構成されていた。FI試行はFIを30秒に設定し、

FIトレーニングで用いたものと同様であった。probe試行はいかなる反応に対しても強化を行わない試行であった。probe試行は聴覚刺激提示で開始され、90秒が経過すると終了し、ITIに移行した。1セッションはFI試行が40試行とprobe試行が20試行で構成されており、probe試行が3回以上連続で出現しないようにした。被験体によって異なる装置を使用した。後者の装置において後述する学習基準を満たすまで実施した。

PIテストは薬物を投与してPIトレーニングと同様の手続きを行った。薬物は生理食塩水と濃度が異なる2種類のAP5 (20 mM, 40 mM) を各1 μ L使用した。生理食塩水を投与したものを生理食塩水条件、20 mMのAP5を投与したものをAP5低濃度条件、40 mMのAP5を投与したものをAP5高濃度条件と設定した。薬物の投与条件ごとに連続で3セッション行い、計9セッション実施した。薬物は実験の10分前にマイクロインジェクター (Eicom EP-60) を使用し、0.5 μ L/minの流速で2分間投与した。投与後1分間は流入漏れを考慮し、インジェクションカニューレを挿入したままの状態を保持した。投与順序に関してはすべての被験体で生理食塩水条件を最初に行ったが、AP5を投与した2条件は被験体によって前後させた。

手術

PIトレーニングで学習基準を満たした被験体に対し、2.5%チアミールナトリウム (日本薬局方イソゾール) 0.2 mL/kgを腹腔内投与後に脳定位固定装置 (NARISIGE SR-5R) に固定した。AP5投与のためのガイドカニューレをPaxinos & Watson (1997) の脳アトラスに従い、中隔海馬核の背側にある灰白層に、bregmaから、AP 0.2 mm, ML 0.0 mm, DV 4.0 mmの位置に挿入した。このガイドカニューレには22G (村中医療器) の注射針を使用し、頭蓋に打ったネジとデンタルセメントで固定した。

行動分析

行動分析にはprobe試行のみを使用した。試行開始から90秒間の反応より、3秒ごとの反応度を算出した。1セッションごとに最大反応度数が1となるように相対化した後、3セッション分を加算平均した。加算平均によって算出された度数分布に対して、再度、

最大反応度数が1となるように相対化し、相対反応度数分布を導出した。この相対反応度数分布に対して、以下の正規分布の式 (1) を当てはめて回帰曲線を求めた。

$$y = \alpha \times e^{\frac{-(x-x_0)^2}{2b^2}} + y_0 \quad (1)$$

ここで、 x は試行開始からの経過時間、 y は相対反応率、 x_0 は回帰曲線の頂点が現れる時間、 b は回帰曲線の標準偏差、 y_0 は回帰曲線の切片を表す。

また、各条件の反応分布を各個体の3秒ごとの反応度を平均化して、単位時間当たりの反応数に換算を行い、算出した。

行動指標として、PT, start time (T_1), stop time (T_2), 式 (1) の決定係数 (R^2), probe試行1試行あたりの反応数、全区間における最大反応割合を用いた。PTは式 (1) より算出された x_0 とした。 T_1 , T_2 はTam & Bonardi (2012) を参考に式 (1) の y に0.5を代入した時の x の値 ($T_1 < T_2$) とした。

学習基準は、この行動指標から氏田ら (2015) を参考にPTが25秒から35秒に収まること、 R^2 が0.90を超えることとした。

統計分析

統計分析にはPIテストで計測された3条件に、PIトレーニングにおいて学習基準を満たした3セッションの結果をBaselineとして加え、HAD (清水, 2016) を用いて行った。分析対象はPT, T_1 , T_2 , probe試行1試行あたりの反応数、最大反応割合であった。統計的検定における有意水準は全て5%とした。

組織学的検索

ガイドカニューレ挿入部位確認のために、実験終了後に2.5%チアミールナトリウムの腹腔内過剰投与をして深麻酔後にリン酸緩衝生理食塩水、4%パラホルムアルデヒド (PFA) を心臓から灌流して脳を固定した。脳を摘出後数日間のPFAによる後固定の後、スクロース溶液に保存にした。その後、50 μ m厚の切片を作成し、マイヤーヘマトキシリン染色を実施後に挿入部位の確認を行った。

結 果

組織学的確認

Figure 1に代表的な個体の前額断面の脳写真を示した。Paxinos & Watson (1997)の脳アトラスと比較をしたところ、ガイドカニューレは目的の中隔海馬核の背側の灰白層に到達していた。

行動学的結果

Figure 2に各条件における反応分布を示した。条件間で最大反応割合の大きさに差は見られなかった ($F(3, 33) = 2.33, p > .05$) が、反応割合が最大となる点は投与したAP5の濃度が大きくなるにつれて遅くなった。

Figure 3に各条件におけるPTを示した。AP5を投与した2条件 (20 mM, 40 mM) は投与していない条件と比較してPTが増加した。PTについて1要因分散分析を行った結果、条件の主効果が有意であった ($F(3, 33) = 19.35, p < .01$)。Holm法による多重比較の結果、BaselineとAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間で有意差があった ($p_{\text{adj}} < .05$)。また、生理食塩水条件とAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間で有意差があった ($p_{\text{adj}} < .05$)。

Figure 4に各条件における T_1 を示した。 T_1 において条件間で有意な差はみられなかった ($F(3, 33) = 0.65, p > .05$)。

Figure 5に各条件における T_2 を示した。AP5を投与した2条件は投与していない条件と比較して T_2 が増加した。 T_2 において1要因分散分析を行った結果、条件の主効果が有意であった ($F(3, 33) = 23.76, p < .05$)。Holm法による多重比較の結果、BaselineとAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間で有意差があった ($p_{\text{adj}} < .05$)。

Figure 1. A micrograph of typical cannula track in a representative rat.

また、生理食塩水条件とAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間で有意差があった ($p_{\text{adj}} < .05$)。また、Baselineと生理食塩水条件の間でも有意差が見られた ($p_{\text{adj}} < .05$)。

Figure 2. Temporal response distribution for each condition.

Figure 3. Peak time for each condition. Asterisks indicate significant differences ($*p < .05$, $**p < .01$). Bars are expressed as mean. Error bars are expressed as standard deviation.

Figure 4. Start time for each condition. Start time was defined as the point which relative response rate first exceeded 0.5. Bars are expressed as mean. Error bars are expressed as standard deviation.

Figure 5. Stop time for each condition. Stop time was defined as the point which relative response rate first fell below 0.5. Asterisks indicate significant differences (* $p < .05$, ** $p < .01$). Bars are expressed as mean. Error bars are expressed as standard deviation.

Figure 6. Number of responses per trial for each condition. Asterisks indicate significant differences (* $p < .05$, ** $p < .01$). Bars are expressed as mean. Error bars are expressed as standard deviation.

Figure 6に各条件におけるprobe試行1試行あたりの反応数を示した。PTの変化と同様にAP5を投与した2条件は投与していない条件と比較して反応数が増加した。probe試行1試行あたりの反応数について1要因分散分析を行った結果、条件の主効果が有意であった($F(3, 33) = 18.17$, $p < .01$)。Holm法による多重比較の結果、BaselineとAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間で有意差があった($p_{\text{adj}} < .05$)。また、生理食塩水条件とAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間で有意差があった($p_{\text{adj}} < .05$)。さらに、AP5低濃度条件とAP5高濃度条件の間にも有意差があった($p_{\text{adj}} < .05$)。

条件間で最大反応割合に差が見られなかったにも関わらず、probe試行1試行あたりの反応数に差が見られたことから、probe試行をFIとして設定した時間以前

の30秒とFIとして設定した時間以降の60秒に分け、単位時間当たりの反応数を検討した。条件と時間の2要因分散分析を行った結果、条件と時間の交互作用が有意であった($F(3, 33) = 10.83$, $p < .01$)。FI以前の30秒では条件間に差はみられなかった($F(3, 66) = 0.62$, $p > .05$)が、FI以降の60秒では条件の主効果がみられた($F(3, 66) = 15.58$, $p < .01$)。Holm法による多重比較の結果、baselineとAP5高濃度条件、生理食塩水条件とAP5低濃度条件、AP5高濃度条件の間に有意差が見られた($p_{\text{adj}} < .05$)。

考 察

本研究の目的は、NMDA受容体の競合拮抗薬であるAP5の灰白層への投与がピーク法に与える影響を検討することであった。NMDA受容体の非競合拮抗薬であるMK-801の末梢投与がピーク法に及ぼす影響を検討したMiller et al.(2006)を参考にPTの増加と最大反応割合の増加が引き起こされるという仮説を立てて実験を実施した。

本研究では、AP5を投与した20 mMの低濃度と40 mMの高濃度の2条件において反応分布の右シフトが発生した(Figure 2)。それに伴い、PT、 T_2 の有意な増加が見られた(Figures 3, 5)が、 T_1 は条件間で変化が見られなかった(Figure 4)。また、probe試行1試行あたりの反応数もAP5の投与によって濃度依存的に有意に増加し(Figure 6)、特にFIに設定した30秒以降の反応で顕著に見られた。しかしながら、Miller et al.(2006)で見られたような最大反応割合の増加は示されなかった。これにより仮説は一部支持にとどまった。

Miller et al.(2006)においてMK-801がPTの増加等のピーク法の課題成績に影響を与えたのは中枢のNMDA受容体の抑制が関係していると考えられる。最大反応割合の増加に関しては本研究とMiller et al.(2006)で一貫した結果が得られなかったことから、AP5とMK-801のNMDA受容体に対する阻害方法の違いが異なる結果を生み出した可能性、または灰白層周辺のNMDA受容体が最大反応割合の増加には関与しておらず、他領域のNMDA受容体がこの変化に関与していた可能性が示唆された。

AP5の投与によってPTが増加したという結果は2つ

の解釈ができる。1つ目はAP5がFIに設定した30秒以降の反応抑制に障害を起こしたというものである。これはMK-801 (McAuley et al., 2006)とは異なり、AP5の投与が時間知覚に直接影響を与えているのではなく、FIに設定した30秒以降の時間知覚によらない反応の抑制を妨害した結果として見かけ上PTが増加したと考えるものである。今回の結果はPT, T_2 は同方向の変化を示したものの (Figures 3, 5), T_1 は変化を示さなかった (Figure 4)。Taylor et al. (2007) はアンフェタミンの腹腔内投与がピーク法課題に及ぼす影響を検討した。この研究ではPTと T_1 に類する指標が同方向の変化を示したものの、 T_2 に類する指標は変化を示さなかった。そこから、実験結果がclock speed以外の要素が影響を及ぼしている可能性をあげている。本研究の結果もTaylor et al. (2007)と同様にclock speed以外の要素が課題成績に反映されたためにPTが増加したと見ることができる。しかし、この解釈ではAP5投与条件におけるFIに設定した30秒以前の反応数がBaselineや生理食塩水条件の反応数より減少することは起きないと予想される。実際にはAP5投与条件においてFIに設定した30秒以前の反応数が減少する個体が存在したため、PTの増加が一概に反応抑制が妨害された結果と言い切ることはできないと考える。

2つ目はNMDA受容体が時間知覚に何らかの役割を持ち、AP5がその働きに直接影響を与えたというものである。McAuley et al. (2006)はMK-801によってclock speed, 参照記憶, 反応閾値に変化が与えられた可能性があることを明らかにしている。AP5も同様にclock speed, 参照記憶, 反応閾値に影響を与えたことによりPTが増加したと考えることができる。しかし、これはあくまで本研究の結果がMiller et al. (2006)の研究と部分的に類似しているだけであり、必ずしも同じメカニズムが働いていると言い切ることはできない。その1つとしてAP5ではMK-801とは異なり、PTに至るまでの反応 (Figure 2) や T_1 (Figure 4) において条件間で差が見られなかったことがあげられる。これはMK-801とAP5では反応閾値の変化が異なるためだと考える。McAuley et al. (2006)では、反応閾値を1変数としてシミュレーションを行っていた。反応閾値がPTに至る以前と以後で同じ値を取るのならば、PTに至るまでの反応も条件間で差が見られるはずであるが、本研究ではそれが見られなかった。今回の結果を

1変数で捉えるならば、clock speedの減少による反応生起の遅延が反応閾値の低下による反応生起の前進で相殺することによって、FIに設定した時間まで変化が現れないケースを想定する必要がある。しかし、今回の結果からこの論理を展開するには無理があると考ええる。

そこで、反応閾値は反応を開始するまでと反応を終了するまでの、2つに分けられるのではないかと考えられるかもしれない。反応閾値を2変数に分けられる可能性があるとした研究も存在しており (De Corte et al., 2019; Gibbon & Church, 1990), 本研究はそれを支持する結果となった。 T_1 は条件間で差が見られなかった (Figure 4) のに対し、 T_2 は条件間で差が見られたこと (Figure 5) から、AP5は反応を終了させるための反応閾値を低下させるものの、反応を開始させるための閾値には変化を与えていないと考えられる。

最後に、灰白層周辺のNMDA受容体が時間知覚に何らかの役割があり、AP5がその働きに影響を与えたというこの解釈には1つ問題点がある。それは、本研究がMeck (1996) が提示するようなABA実験計画の手続きをとっていないことである。そのため、clock speedや参照記憶が本当に変化したかどうかを断定することは難しいと考える。したがって、AP5がどのようなメカニズムでピーク法課題に影響を与えたのかについてはさらなる研究を必要とする。

本研究では反応数の増加は見られたものの、最大反応割合の増加は示されなかった。これも本研究とMiller et al. (2006)との間で異なる点である。これについては投与薬物と投与部位の観点から解釈できる。

投与薬物の観点からは、PTの変化における解釈の1つ目で述べた、AP5がFIに設定した30秒以降の時間知覚によらない反応の抑制を障害したというものが考えられる。すべての時点において時間知覚によらない反応の抑制が低下したならば、最大反応割合の増加も見られるはずである。しかし、そのような変化は見られなかったことから、AP5はFIに設定した30秒以降の反応抑制だけに関係していると考えられる。

投与部位の観点からは、灰白層周辺のNMDA受容体が反応数の変化には関与しているものの、最大反応割合の変化には関与していないという解釈が考えられる。Miller et al. (2006)は末梢投与であり、脳全体のNMDA受容体が抑制されたと考えられるのに対し、

本研究は局所的な投与であり、灰白層周辺のNMDA受容体のみが抑制されたと考えられる。ここから、灰白層周辺のNMDA受容体がFIに設定した30秒以降の反応抑制に関与しており、他領域のNMDA受容体は最大反応割合に関与していると仮定すると、Miller et al. (2006) と本研究のどちらにも矛盾しないと考えられる。

PTの変化における2つ目の解釈でこの結果を説明すると、反応閾値がPT以前と以後の2変数で定義されていると仮定した場合に説明が可能である。PT以降における反応閾値のみが低下したことにより、反応がより持続したことが反応数の増加につながったと考えられる。レバー押し反応のような目的指向行動 (goal-directed behavior) の維持は腹側海馬の抑制が関係している (Yoshida et al., 2019)。いずれの解釈であっても、NMDA受容体は海馬に多く分布している (Morris et al., 1986) ことから、最大反応割合の変化を伴わない反応数の増加は腹側海馬の影響があった可能性がある。今回は灰白層周辺へのAP5の投与であったが、今後は海馬への直接投与の実験との比較も必要である。

AP5とMK-801はどちらもNMDA受容体拮抗薬ではあるが、作用する部位が異なり、競合と非競合という点も異なる。また、Miller et al. (2006) と本研究では投与方法の違いがあるため、中枢と末梢というNMDA受容体への作用の違いが存在する。この違いが行動の違いとなって現れている可能性がある。しかし、薬理的な神経メカニズムについては未検討であり、今後の課題として検討を行う必要がある。

NMDA受容体の抑制は海馬損傷と類する効果が見られることが知られている (Morris et al., 1986; Tonkiss et al., 1988)。海馬損傷が時間知覚に与える効果を検討した従来の研究では時間の過小評価が示されている (Meck et al., 1984; 畑・岡市, 1998)。一方、NMDA受容体の抑制が時間知覚に与える効果を検討した本研究やMiller et al. (2006) の研究は時間の過大評価を示した。ピーク法に基づく時間知覚がNMDA受容体の抑制と海馬損傷で結果に差が見られたことは、本研究で明らかとなった重要な点と考える。

結論として、NMDA受容体競合拮抗薬AP5の脳内灰白層周辺への投与はピーク法に基づく時間知覚において、PTの増加をもたらすことが明らかになった。ここからAP5が時間の過大評価をもたらすこと、そし

て、灰白層周辺のNMDA受容体がピーク法の課題成績に影響を与えており、これはFIに設定した30秒以降の反応抑制の変化が要因となっていることが示唆された。今回の研究は時間知覚におけるNMDA受容体の役割を解き明かす一助になるかもしれない。

謝 辞

本実験は、実施に当たり木野雄介君にお世話になった。記して感謝の意を表します。本研究の一部は平成16年～19年度日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(B) (課題番号25280051, 研究代表者 坂田省吾), および新学術領域研究 (課題番号16H01510, 研究代表者 坂田省吾) の補助を受けた。

引用文献

- Buhusi, C. V., & Meck, W. H. (2005). What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, 755–765.
- De Corte, B. J., Wagner, L. M., Matell, M. S., & Narayanan, N. S. (2019). Striatal dopamine and the temporal control of behavior. *Behavioural brain research*, 356, 375–379.
- Di Ieva, A., Fathalla, H., Cusimano, M. D., & Tschabitscher, M. (2015). The indusium griseum and the longitudinal striae of the corpus callosum. *Cortex*, 62, 34–40.
- 藤巻 峻・新保 彰大・松井 大・時 暁聰・神前 裕 (2015). 条件づけにおける時間 II——オペラント計時行動, および時間学習の神経機構—— 基礎心理学研究, 34, 78–90.
- Gibbon, J., & Church, R. M. (1990). Representation of time. *Cognition*, 37, 23–54.
- Gibbon, J., Church, R. M., & Meck, W. H. (1984). Scalar timing in memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 423, 52–77.
- 畑 敏道 (2003). ラットの時間弁別行動におけるコリン系とドーパミン系の役割について 生理心理学と精神生理学, 21, 49–58.
- 畑 敏道・岡市 広成 (1998). ラットの時間弁別行動に与える海馬采——脳弓損傷の効果—— 心理学

- 研究, 69, 304-309.
- Künzle, H. (2004). The hippocampal continuation (indusium griseum): Its connectivity in the hedgehog tenrec and its status within the hippocampal formation of higher vertebrates. *Anatomy and Embryology*, 208, 183-213.
- Laplanche, F., Mnie-Filali, O., & Sullivan, R. M. (2013). A neuroanatomical and neurochemical study of the indusium griseum and anterior hippocampal continuation: Comparison with dentate gyrus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 50, 39-47.
- McAuley, J. D., Miller, J. P., & Pang, K. C. H. (2006). Modeling the effects of the NMDA receptor antagonist MK-801 on timing in rats. *Behavioral Neuroscience*, 120, 1163-1168.
- Meck, W. H. (1996). Neuropharmacology of timing and time perception. *Cognitive Brain Research*, 3, 227-242.
- Meck, W. H. (2006). Neuroanatomical localization of an internal clock: A functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Research*, 1109, 93-107.
- Meck, W. H., Church, R. M., & Olton, D. S. (1984). Hippocampus, time, and memory. *Behavioral Neuroscience*, 98, 3-22.
- Miller, J. P., McAuley, J. D., & Pang, K. C. H. (2006). Effects of the NMDA receptor antagonist MK-801 on short-interval timing in rats. *Behavioral Neuroscience*, 120, 162-172.
- Morris, R. G. M., Anderson, E., Lynch, G. S., & Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319, 774-776.
- 小野田 慶一・坂田 省吾 (2002). ラットの時間知覚における海馬の情報処理過程の検討 生理心理学と精神生理学, 20, 225-232.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1997). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (3rd ed.). San Diego, California: Academic Press.
- Roberts, S. (1981). Isolation of an internal clock. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Process*, 7, 242-268.
- 坂田 省吾 (2003). 時間弁別の行動特性と脳の情報処理モデル 生理心理学と精神生理学, 21, 39-48.
- Schmued, L. C., & Bowyer, J. F. (1997). Methamphetamine exposure can produce neuronal degeneration in mouse hippocampal remnants. *Brain Research*, 759, 135-140.
- 清水 裕士 (2016). フリーの統計分析ソフトHAD: 機能の紹介と統計学習・教育, 研究実践における利用方法の提案 メディア・情報・コミュニケーション研究, 1, 59-73.
- Tam, S. K. E., & Bonardi, C. (2012). Dorsal hippocampal involvement in appetitive trace conditioning and interval timing. *Behavioral Neuroscience*, 126, 258-269.
- Taylor, K. M., Horvitz, J. C., & Balsam, P. D. (2007). Amphetamine affects the start of responding in the peak interval timing task. *Behavioral Processes*, 74, 168-175.
- Tonkiss, J., Morris, R. G. M., & Rawlins, J. N. P. (1988). Intra-ventricular infusion of the NMDA antagonist AP5 impairs performance on a non-spatial operant DRL task in the rat. *Experimental Brain Research*, 73, 181-188.
- 氏田 麻美・服部 稔・坂田 省吾 (2015). ラットのピーク法を用いた計時行動のセッション間安定性の検討 基礎心理学研究, 34, 17-26.
- Yoshida, K., Michael, R. D., Mimura, M., & Tanaka, K. F. (2019). Serotonin-mediated inhibition of ventral hippocampus is required for sustained goal-directed behavior. *Nature Neuroscience*, 22, 770-777.