

幼若期の社会的隔離ストレスが引き起こす雄マウスの行動の劣位性 —社会的に隔離された雄マウスは競争心が弱い—

1. 発表者：

- ベナー聖子（東京大学大学院医学系研究科 博士課程）
遠藤 俊裕（東京大学大学院医学系研究科博士課程（研究当時））
遠藤 のぞみ（東京大学大学院医学系研究科博士課程（研究当時））
掛山 正心（東京大学大学院医学系研究科 客員研究員）
遠山 千春（東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 健康環境医工学部門 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆幼若期の雄マウスに社会的隔離ストレスを与えると、成長後の競争的環境下で行動の劣位性が引き起こされ、前頭前皮質、海馬、扁桃体の遺伝子発現レベルに異常が現れました。
- ◆ダイオキシンの発達期曝露が競争的環境下における行動の劣位性を引き起こすというこれまでの報告と類似した影響を引き起こす幼若期ストレスの同定に成功しました。
- ◆本成果は、将来の人格形成に大きな影響を及ぼす幼少期の虐待や育児放棄などのストレスに関する治療法や介入法の開発を加速させるものと期待されます。

3. 発表概要

東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 健康環境医工学部門のベナー聖子大学院生と遠山千春教授らの研究グループは、幼若期のストレスが脳発達に与える影響を、動物を用いた実験により明らかにしました。幼若期の虐待やネグレクト（育児放棄）が人格形成に大きな影響を及ぼすことは知られており、さらには自閉スペクトラム症（ASD）や注意欠如・多動症（ADHD）でもみられる社会性の障害の要因となっている可能性が指摘されています。動物実験でも、幼若期のマウスに社会的隔離ストレスを与えると将来の脳機能に異常が生じることがわかっており、その分子メカニズムについて解析が進められています。

今回研究グループは、独自に開発した行動の評価手法を用いて、マウスにおける社会的隔離ストレスの影響について調べました。その結果、幼若期に社会的隔離ストレスを受けた雄マウスは、他のマウスと集団で飼育されている時に生じた競争の状態において、行動の劣位性を示すようになることが明らかになりました。またそれらの雄マウスの前頭前皮質、海馬、扁桃体において神経活動やストレス応答に関する遺伝子発現レベルに異常が現れていたことも確認しました。このことは、幼若期ストレスによって生じる将来の社会性の障害は、今まで私たちが思っていた以上に、マウスでも再現できる可能性を示すものです。

今後、このマウスモデルの分子メカニズムの解析が一層加速し、また今回用いた行動解析により、社会性の障害の治療薬や介入法の開発が加速することが期待されます。以上の研究は、文部科学省脳科学研究戦略推進プログラムの一環として行われました。この成果は

「Physiology & Behavior」2014年8月18日オンライン版に掲載されました。

4. 発表内容

【研究の背景】

幼若期の生育環境は人格形成に大きな影響を及ぼすことが知られています。動物実験でも、幼若期のマウスを母親や兄弟たちと引き離すなどして、ストレスを負荷すると将来の脳機能に異常が生じることが観察されており、生育環境ストレスが神経系や内分泌系の発達形成に障害をきたす分子メカニズムを紐解くために有用なモデルとして、これまで広く用いられてきました。認知課題や情動機能の評価試験における単独個体の行動に関する報告が山積する一方で、集団のなかでの他個体との関係性といった社会性の行動がどうなるのかは明らかにされてきませんでした。ヒトにおいては、虐待やネグレクト（育児放棄）などの幼若期ストレスと社会性の障害との関連性が懸念されているため、実験動物モデルにおける社会性評価は大きな意義を持ちます。

【研究成果の概要】

東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 健康環境医工学部門のベナー聖子大学院生、遠藤俊裕大学院生（研究当時）、遠藤のぞみ大学院生（研究当時）、掛山正心客員研究員、遠山千春教授は、幼若期における社会的隔離経験が、成熟後の集団生活内での行動様式に及ぼす影響を、独自開発のマウス集団行動解析手法（注1）を用いて調べました。生後2週間の間、一日あたり数時間だけ仔を母親と兄弟から引き離し、社会的隔離ストレスを与えたマウスを作出しました。生後3週目以降は社会的隔離ストレスを与えていない普通のマウス（対照群）と全く同様に飼育し、成熟後に行動試験装置1台あたり14匹の同性マウスを集団生活させ、ヒトの高次脳機能に相当する認知機能と社会性行動を調べることができる独自開発のマウス集団行動解析手法を行いました。

まず、新奇な状況に置かれたときのマウスの探索行動を検討したところ、社会的隔離経験がある雄マウスで探索行動が増加していました。通常状態の活動量は対照群マウスと変わらないため、新奇環境においてのみ誘発された適応行動の異常であることが確認されました。一方、社会的隔離経験がある雌マウスでは新奇環境における探索行動は減少傾向に留まったのみでした。また、目的達成のための適切な手段を選び適切な行動をとるといった、高次脳機能の一つである実行機能（注2）を評価しました。実行機能の成績については、若干の難があるものの、総合的には対照群マウスと同等の成績であったことから、本研究で用いられた幼若期ストレスが実行機能の発達に与える影響は微々たるものであると結論づけられました。

留意すべきことに、社会性行動の評価指標において、幼若期の社会的隔離ストレスの影響が雄の集団で顕著にみとめられました。実験では、集団で飼育している飼育装置の中で、水の飲める時間帯を制限しました。このような制限を加えることによって、水が飲める時間帯になると、マウスが試験装置の中にある四つの水飲み場に殺到し大勢で奪い合うといった、椅子取りゲームのような「社会的競争状態」を一時的に発生させることができます。この時の個々のマウスの行動パターンを解析してみると、社会的隔離経験がある雄マウスは、このような競争状態の最も激しい初めの数分間においてのみ水飲み場の占有率が大きく低下することがわかりました。そこで水飲み場の占有率が高い、社会的行動が優位な対照群マウスを装置から取り除き競争倍率を下げると、社会的隔離経験マウスの占有率は通常レベルに回復したことから、先にみられた占有率の低下は、社会的な競争状態が強い時にだけ表出する社会性の行動の変化であることが確認されました。すなわち、幼若期における社会的隔離は、そのマウスの成長後に、「競争環境下における劣位性」を引き起こすことがわかりました。一方、社会的隔離経験

がある雌マウスではこのような影響はみとめられず、雄のほうが、幼若期における社会的隔離ストレスの影響を受けやすいことが改めて示されました。

次に、影響の確認された雄マウスの脳組織の解析を行いました。社会性やストレス応答に関連のある脳領域である前頭前皮質、海馬、扁桃体をそれぞれLMD法（注3）により切り出し、神経活動の指標となる遺伝子やストレス応答に関わる遺伝子の発現量を群間で比較しました。神経活動の指標遺伝子である*cFos*は、幼若期社会的隔離経験マウスの海馬において減少し、扁桃体では増加していました。すなわち、幼若期社会的隔離経験によって海馬の神経活動の低下と扁桃体の神経活動が増加していることが示されました。更に、水飲み場での占有率に基づいてマウスの競争優位性の順位づけを行ったところ、これら脳内分子の発現量と、競争優位性の順位との間に相関がみとめられることが判明しました。前頭前皮質では、神経形態制御に関わるとされる*Map2*が低下しており、競争優位性順位との相関がみとめられました。また、前頭前皮質においてはストレス情報伝達に関わる酵素である*HSD11β2*の発現低下がみとめられました。海馬や前頭前皮質はストレス応答の制御に関わり、扁桃体は恐怖や不安といった情動反応をつかさどる脳領域として知られています。以上の結果から、競争環境下における劣位性という行動は、報酬に対する欲求よりも他者との接触に伴うストレスを避けたがるために生じていると示唆されます。社会性の障害の中でも、ASDや不安症を有する人の一部にみられるような、他者との接触を避けたがることに類似している可能性が推察されます。

今回明らかになった知見は、幼若期の一時的な生育環境上のストレスが、将来の社会性を変容させることを示す初めての科学的根拠であり、生育環境が社会性障害の発症や重症化の要因となる可能性を強く示唆するものです。

【社会的意義と今後の展望など】

- ・ **幼若期生育環境の影響に関して**：マウスを用いた実験研究において、これまで評価対象とされてこなかった集団内での行動や社会性への影響に関する報告であること、および分子レベルにおける脳と行動への影響に関する知見は、子どもの生育環境が及ぼす精神の健康リスク評価や対策において、国際的に役立つ成果です。このマウスモデルの分子メカニズムの解析が一層加速し、また今回用いた行動解析により、社会性の障害の治療薬や介入法の開発が加速することが期待されます。
- ・ **社会性行動指標に関して**：本研究グループが開発したマウスの行動試験による社会性行動指標は、環境要因による発達障害・精神疾患モデルマウスを用いた疾患研究の検証に有効であることが、改めて示されたといえます。

5. 発表雑誌

雑誌名： 「Physiology and Behavior」（8月18日オンライン版）

論文タイトル： Early deprivation induces competitive subordination in C57BL/6 male mice

著者： ベナー聖子、遠藤俊裕、遠藤のぞみ、掛山正心、遠山千春

【アブストラクト URL】

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938414003552>

6. 問い合わせ先

<研究内容に関するお問い合わせ>

東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 健康環境医工学部門

教授 遠山 千春 (とおやま ちはる)

電話 : 03-5841-1431 FAX : 03-5841-1434

E-mail : mtohyama@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

客員研究員 掛山 正心 (かけやま まさき)

E-mail : kake@m.u-tokyo.ac.jp

<文部科学省 脳科学研究戦略推進プログラムに関するお問い合わせ>

脳科学研究戦略推進プログラム 事務局 担当 : 矢口 邦雄

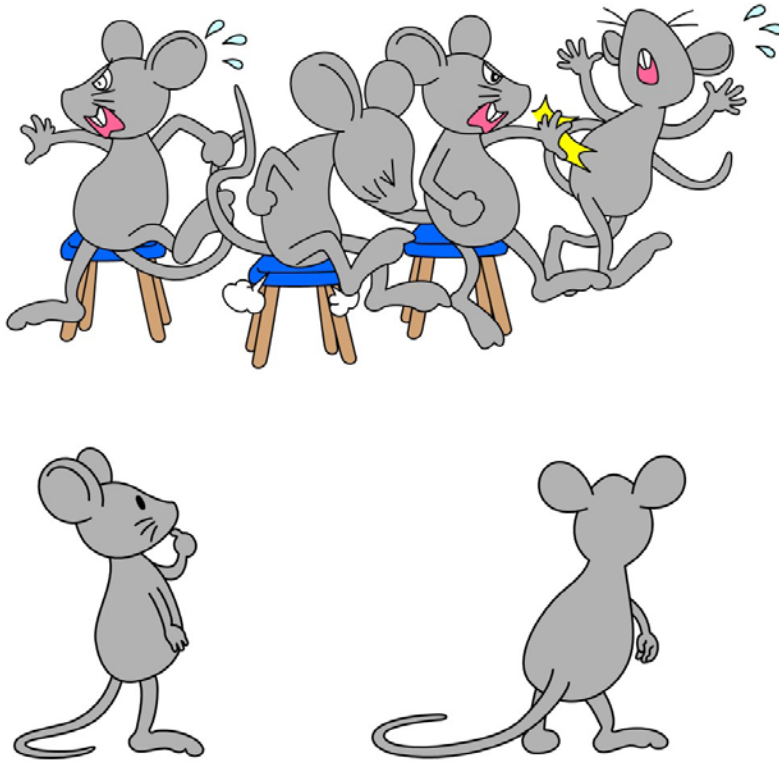
TEL : 03-5282-5145 / FAX : 03-5282-5146

E-mail : srpbs@nips.ac.jp

7. 用語解説

- 注1) 独自開発のマウス集団行動解析手法** : 本研究チームは、モデル動物を使ってヒトの「こころの健康」の問題に直結するような脳機能を評価する技術の開発を行ってきた。今回用いた認知機能と社会性機能を調べる行動解析手法は、遠藤らにより 2012 年に報告済。 (<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0050741>)
- 注2) 実行機能** : 実行機能とは、状況の変化に対して、目的に即した適切な行動を素早く再構成する機能。たとえば日ごろ使用している電車が不慮の運休となり目的地へたどり着くことができないことがわかった場合、すばやく別の路線やバスを利用してどのように目的地へたどり着けばよいかを判断する、など。研究グループのマウス試験では、まず試験装置の四つの水飲み場のうち二か所を正解とし、ここを往復する行動習慣をマウスに習得させる。そのうえで正解の場所を突如変更する逆転課題を課す。自身の行動習慣を維持した上で状況変化に適応できるかを評価する。
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432811001537>)
- 注3) LMD 法 (レーザーマイクロディセクション法)** : 生体の組織切片から任意の細胞組織をレーザーで切り出す顕微鏡技術。本研究グループは、この技術を用いた遺伝子発現定量法について過去に報告している。
(<http://www.nature.com/srep/2012/121030/srep00783/full/srep00783.html>)

8. 参照図



図： 椅子取りゲームのような「社会的競争状態」をマウス実験で再現するため、マウスが飼育装置の中にある四つの水飲み場に殺到し大勢で奪い合う状況を作り出した。幼若期において社会隔離ストレスを受けた雄マウスは、この「椅子取りゲーム」に参加したことがわかった。