

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19530647

研究課題名（和文）社会的経験が実験室マウスの社会行動発達に影響を及ぼす機序に関する研究

研究課題名（英文）Study on the mechanisms underlying the effect of social experience on the development of social behavior in laboratory mice

研究代表者

加藤 克紀 (KATO KATSUNORI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号：50261764

研究成果の概要（和文）：若齢期に雄マウスを単独で飼育すると、攻撃や臆病反応（他個体の接近・接触への回避・すくみ）が増加する。単独飼育された雄同士で飼育ケージを交換した場合、攻撃、臆病反応ともに変化しなかったが、雄集団が使用したケージに単独雄を入れると攻撃のみ減少した。一方、雌マウスを単独飼育した場合は臆病反応の増加のみ認められた。両性に共通の社会的経験剥奪の影響は臆病反応亢進であり、集団飼育された雄の排泄物に含まれる物質が攻撃抑制に関わる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Individually housing after weaning in male mice increases aggressive behavior and/or timid responses (withdrawal and freezing to the approach/contact of the opponent male) when tested in adulthood. Individually housed males exposed to the cage used by other individually housed males did not show any change in aggressive behavior or timid responses, but the exposure to the cage used by grouped males reduced aggressive behavior. In female mice, individual housing after weaning increased only timid responses when tested in adulthood. These results suggest that such an enhanced timid response is the fundamental trait of individually housed mice, and that substances contained in the excrement of grouped males are involved in the control of aggression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：比較心理学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：社会的隔離，マウス，ニオイ，コミュニケーション，攻撃行動，臆病反応  
免疫組織化学

## 1. 研究開始当初の背景

フロイトによる、パーソナリティ形成における心的外傷経験の重要性の指摘を契機と

して、心理学者は、幼若期の経験の影響を実験的に調べ始めた。いわゆる初期経験研究である。マウスの隔離飼育研究もこの文脈で始

まった。

隔離飼育のもっとも顕著な影響は攻撃の増加であったが、マウスにおける隔離飼育の影響はそれのみに留まらなかった。1970年代に入り、その影響が生理から認知まで広範囲に及ぶことが明らかとなり、「隔離飼育症候群」(isolation syndrome)という概念が提出された。また、隔離飼育によって攻撃が増える雄がいる反面、相手の接近・接触に対して驚愕、回避、すくみ(freezing)といった反応を強める「臆病な」雄も見つかった。選択交配実験の結果、そのような個体差には遺伝的基盤があることが確認された。

攻撃の増大という特徴は、隔離飼育を攻撃研究の有力な手法とした。隔離飼育誘発性攻撃に関する研究は盛んに行われ、神経伝達物質やホルモンの変化が調べられたが、その結果は、隔離飼育による多面的な影響を説明できるほど一貫していない。

発達の観点からは、隔離飼育はストレスラーであると考えられていた。しかし、隔離雄にストレス・ホルモン上昇は認められず、自然界ではマウスは常態として単独生活するため、集団生活が中心のラットのように、隔離をストレスラーと見ることはできない。

攻撃研究では、隔離雄を「劣位雄がいない優位雄」とする見方がある。この見解では、隔離雄は適応的であるが、隔離飼育によってむしろ臆病になる雄がいること、しかもこの個体差が遺伝的基盤をもつという事実をうまく説明できない。また隔離雄が優位になる過程が明らかではないし、隔離飼育によって血中テストステロン濃度が高まらないという報告もある。

隔離飼育による攻撃増加の心理学的説明としては、2つの説が提唱された。1つは「反応過敏-エスカレーション説」であり、他の雄との接触剥奪が接触への感受性を高め、それが社会的相互作用を闘争までエスカレートさせるとする。実際、隔離雄は接触刺激に対して過敏になり、他の雄に対しても過敏に振舞う。ところが、雌と同居させた場合も攻撃が増加することから、単純な接触の問題ではないという反論がなされた。しかし、雌と同居した雄と隔離雄では他の雄との社会的相互作用が異なるという報告もあり、雌との同居による攻撃増加は反論となっていない。

もう1つの説明は社会学習説である。他の雄と同居させると大多数の雄は攻撃しなくなる。また、他の雄との同居は隔離飼育の影響を打ち消すことができるという報告もある。学習説では、他の雄との敵対的相互作用が攻撃を抑制するという立場をとる。実際、他の雄からの攻撃が罰として機能するという報告もある。しかし、学習説では、成体期以降の隔離飼育の影響を十分に説明できない。他の雄からの攻撃がたとえ罰であったと

しても、それまで集団飼育され攻撃を示さなかった雄が隔離飼育によってなぜ攻撃を示すようになるのか。学習説に従えば、攻撃の「脱抑制」が必要である。

この点で注目されるのが、他の雄のニオイや身体接触である。それは広義の学習に含まれるかもしれない。一般的な隔離飼育では、視覚および聴覚刺激が剥奪されることはなく、それでも隔離飼育効果は生じる。また他の雄のニオイが攻撃に影響するという報告は多いし、マウスの涙には性フェロモンが含まれるという報告もある。1つのシナリオは、雄同士の集団生活において身体接触を介して伝達される情報に反応性をもつ仕組みが存在し、その機能的変化が隔離飼育の多面的影響をもたらすと考えることである。

## 2. 研究の目的

隔離飼育の影響に関する研究は、実験室マウスに限っても数多く行われてきたが、その影響を媒介している仕組みについて結論が出ているとはいえない。この事情は哺乳動物全般について当てはまる。隔離という飼育条件が大きな影響を及ぼすことは、代表的な実験動物であるラットやサル類、またヒツジやイヌなど、マウス以外の比較的広範な哺乳類で観察されている。それらの結果は発達における雌親や仲間との社会的相互作用の重要性を示しているが、その媒介機構に関してはほとんどわかっていないのが現状である。

本研究では、実験室マウスにおける隔離飼育効果の媒介機構に焦点を合わせ、社会行動発達の観点から、他の雄から発せられるニオイ、他の雄との身体接触や行動的相互作用といったマウスの社会的経験を構成する諸要素の影響をもう一度系統的に調べ直すことを第1の目的とした。「隔離飼育」=「社会的経験の剥奪」という図式的記述が一般的であるが、隔離飼育研究の50年近い歴史の中でも社会的経験の中身を問題とした研究は数例しかない。マウスにとっての「社会的経験」がある種のニオイ物質の受容に還元されるものなのか、それとも行動的なやり取りが重要な位置を占めるのか、検討したい。さらに第2の目的として、IEG蛋白の1つであるc-Fosの発現を神経細胞興奮の指標として、隔離雄が他の雄と遭遇した際の神経応答を免疫組織化学的に解析し、社会的経験と社会行動発達を結びつけている脳の機構に迫りたい。

## 3. 研究の方法

(1) 被験体：日本クレアから購入あるいは筑波大学心理学系動物実験棟にて自家繁殖したICR/Jcl系マウスを用いた。実験によって雄あるいは雌を使用した。3週齢で離乳後、ステンレス製の蓋のついた透明ポリカーボ

ネット製ケージにおいて同性の同腹仔同士で集団飼育した。ケージ内には木くずを敷き、餌と水は備えつけの餌入れおよび水瓶から自由に摂取させた。飼育室は12時間明暗周期(8時点灯)で照明され、室温は $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ に保った。

(2) 飼育条件：実験目的に応じて所定の飼育条件に分けた。隔離飼育では、小型の透明ポリカーボネート製ケージ(14×21×12 cm)で単独飼育した。集団飼育では、中型の透明ポリカーボネート製ケージ(18×26×13 cm)において同性の同腹仔同士3, 4匹で飼育した。出会うテスト用個体は、中型または大型のポリカーボネート製ケージ(23×34×14 cm)において同性の同腹仔同士3~6匹で飼育した。ケージ交換は、隔離飼育では2週に1回、集団飼育では週に1回行った。飼育ケージは飼育室の同じ棚に並んでいたため、隔離個体はケージ越しに他個体を見ることができ、他個体がたてる音を聞くこともできた。また、揮発性の高いニオイ物質であれば十分受容可能であった。したがって、本研究では、他個体との直接的な身体接触を伴う相互作用のみを剥奪した。

(3) 出会うテスト：所定の飼育後、出会うテストを実施し社会行動を評価した。テストは明期後半に行った。ラット用のポリカーボネート製ケージ(28×45×20 cm)を黒色アクリル製の仕切り板によって2つに分け、一方に実験個体を、もう一方にテスト用の集団飼育個体(実験個体と同性・同週齢)を入れた。15分後に仕切りを除去し、2個体を出会う、その後10分間をビデオに記録した。出会うテスト用ケージには透明アクリル板の蓋を設け、床には木くずを敷き、1回のテストが終わるたびに新しい木くずを敷き直した。

(4) データ解析：出会うテストのビデオを再生して行動を記録した。15秒ごとに以下の行動項目の出現をチェックし、その総数を生起頻度とした。行動項目は、敵対成分として *wrestling, attack, chasing, aggressive grooming, tail-rattling, defense, escape*、群居成分として *nosing/sniffing, licking, social grooming, following*、相手の接近/接触に対する反応として *no response, retreat, evading, freezing, kicking, jerking, facing/nosing* を用いた。

#### 4. 研究成果

(1) 他雄のニオイ受容の影響Ⅰ：若齢期における隔離雄同士のニオイ暴露(実験1)

雄マウスを4週齢から5週間、以下の3条件で飼育した。①ニオイ暴露条件：単独飼育だが、週3回、別の隔離雄のケージに移し、汚れたケージや床敷きを介して他雄のニオイに暴露した。②ニオイ非暴露条件：ニオ

イ暴露条件の隔離雄が別の隔離雄のケージに移される際、同時にハンドリングだけを受けた。③集団飼育条件。出会うテストの結果、隔離雄同士でニオイを暴露しても隔離雄の特徴である攻撃行動や臆病反応の増加は全く抑制されなかった。

(2) 他雄のニオイ受容の影響Ⅱ：成体期における隔離雄同士のニオイ暴露(実験2)

4~9週齢の若齢期ではニオイ暴露の効果が検出されなかったため、10ないし11週齢から5週間、実験1と同じ3条件で実験を行った。15ないし16週齢で出会うテストを実施した結果、成体期においても隔離雄同士のニオイ暴露は隔離雄の攻撃増大や臆病反応亢進を抑制しなかった。

(3) 実験1と2のまとめ

実験1と2の結果は2つの可能性を示唆した。①他雄のニオイへの暴露は週3回程度のケージ移動では量的に不十分である。②汚れたケージや床敷きを介して提示された隔離雄のニオイと集団雄のニオイは質的に異なっており、隔離効果の抑制には集団雄のニオイが関与している。

(4) 他雄のニオイ受容の影響Ⅲ：若齢期における集団雄のニオイへの暴露(実験3)

隔離雄同士で飼育ケージを交換したところ、若齢期、成体期ともに隔離効果に影響しなかったため、本実験では、集団飼育された雄が使用したケージに隔離雄を暴露し、隔離効果の変化を調べた。雄マウスを4週齢から5週間、次の3条件で飼育した。①ニオイ暴露条件：単独飼育だが、週に2回、集団雄が使用したケージに移した。②ニオイ非暴露条件：単独飼育だが、ニオイ暴露条件の隔離雄のケージ移動に合わせてハンドリングだけを受けた。③集団飼育条件。9週齢で出会うテストを行ったところ、ニオイ暴露条件で攻撃行動が低下した。しかし、他個体の接近・接触に対する臆病反応は変化しなかった。

(5) 実験1~3のまとめ

実験1~3の結果から2つの可能性が示唆された。①週2回の暴露であっても、同居する雄3匹に由来するニオイ物質の量は多く、ニオイが強められた結果、効果が現れた。②集団雄と隔離雄では排泄物や分泌物に含まれる物質に違いがあり、集団雄由来の物質が隔離効果に関わる。また、他雄由来のニオイは攻撃行動にのみ影響し、臆病反応には効果がなかったことから、隔離効果には他雄との身体接触などニオイ以外の関与が推測された。

(6) 集団飼育による隔離効果の変容(実験4)

マウスにおける隔離効果の可逆性は、オープンフィールド行動については報告されているが、社会行動についてはわかっていない。そこで、本実験では隔離雄を別の雄集団に入れ、隔離効果の変化を調べた。雄マウスを3

週齢から5週間、単独あるいは3匹1群で飼育した後、出合わせテストを行い、社会行動を評価した。その結果に基づき、①単独飼育を継続、②単独飼育から集団飼育に変更、③集団飼育から単独飼育に変更、④集団飼育を継続の4条件でさらに5週間飼育した。しかし、条件②において隔離雄による攻撃がひどい事例が多数出現したため、実験を中止した。金網越しに同居させるなど方法的に改良の余地があるが、若齢期における隔離飼育が社会行動に及ぼす効果は、性成熟以降、容易に変容されない可能性が示唆された。

(7) 若齢期の社会行動発達に及ぼす社会的隔離の効果：横断的観察（実験5）

隔離効果の発達的变化は基礎データとして重要であるが、マウスではほとんど報告されていない。そこで本実験では、3週齢で単独飼育を開始し、1, 3, 5週間後に出合わせテストを行う3群を設け、隔離効果の発達的变化を横断的に検討した。雄マウスを3週齢から単独あるいは3匹1群で集団飼育し、それぞれ4, 6, 8週齢で出合わせテストを行う群に分けた。集団雄における社会行動発達と比較・検討したところ、3週間隔離した6週齢の雄においてすでに攻撃増加が認められ、それに伴ってニオイ嗅ぎなどの群居行動が減少していた。

(8) 若齢期の社会行動発達変容に伴う脳内変化（実験6）

実験5の結果を受けて、隔離による社会行動発達の変容に伴う神経活動の変化をc-Fos発現を指標に調べた。雄マウスを3週齢から単独あるいは3匹1群で集団飼育し、それぞれ、4, 6, 8週齢で同週齢の集団雄と出合わせテストを行う群に分けた。実験5とは異なり、攻撃などが実際に生じることがないように、相手雄を金網製の小箱に入れ、身体的相互作用が直接できない状態で1時間出合わせた。出合わせテスト終了直後に、脳を灌流固定後摘出した。連続冠状切片を作成し、扁桃体を中心に、出合わせテスト時のc-Fos発現パターンについて、その発達的变化を解析中である。まだ未確定の結果ではあるが、週齢が進み、隔離飼育期間が長くなるにつれて、他の雄と出会った際に神経活動が高まる脳部位が変化することが示唆されつつある。

(9) 雌における社会的隔離の影響（実験7）

雌における社会的隔離の影響はこれまでほとんど報告されていない。雌では攻撃がほとんど生起しないことから、隔離飼育の影響を攻撃増大を中心にして考える限り、雌の出番はなかったといえる。しかし、これまでの研究から、攻撃以上に臆病反応が隔離飼育された個体の特徴である可能性が高まった。そこで、本実験では、若齢期の雌における5週間の隔離飼育の効果について、特に臆病反応に注目して検討した。

雌マウスを4週齢から単独または3匹1群で集団飼育し、5週間後に出合わせテストを行った。その結果、攻撃は予想通り増加しなかったが、臆病反応は増加した。隔離飼育による攻撃増大には雄固有の仕組みが必要であるが、臆病反応亢進には雌雄共通の仕組みが関与することが示唆された。これは、集団雄由来のニオイへの暴露によって、隔離による攻撃増大は抑制されたが、臆病反応亢進は影響されなかったことと一貫している。

(10) 本研究のまとめ

以上の実験結果から次の2点が示唆された。①隔離雄における攻撃増大が集団雄由来のニオイ提示によって抑制されたという結果が、攻撃増大が集団飼育中の他の雄由来のニオイ剥奪によってもたらされる可能性を示唆する。ただし、隔離雄同士のニオイ暴露に効果がなかった理由については、隔離雄と集団雄ではニオイが異なるせいなのか、それとも単に集団雄由来のニオイの方が強かったせいなのか、今後の検討課題として残された。飼育条件によって排泄物や分泌物が変化し、集団飼育においてのみ攻撃抑制物質が生成されていることが明らかとなれば、それは新しい発見である。②選択交配実験から、攻撃と臆病反応は別個の遺伝的基盤をもつことが示唆されてきたが、本研究における他の雄由来のニオイの影響および雌における隔離効果から、攻撃増大には雄固有の仕組みが必要であり、それはニオイ受容が関わるが、臆病反応は両性に共通の仕組みによってもたらされ、ニオイ受容経験は関わらないことが示唆された。おそらく臆病反応亢進には群居行動に伴う身体接触が関わっているものと推測される。

従来の隔離飼育研究では、社会行動発達に対する隔離の影響は一元的であり、攻撃増大も臆病反応亢進も同じ次元で捉えられていた。それに対して、本研究の結果は、攻撃と臆病反応では関与する経路が異なり、別個の仕組みによって媒介されている可能性を示した。もちろん今後さらに検討が必要であるが、これは隔離飼育研究の新しい方向を示唆するといえるだろう。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計4件）

- ①Nakayasu T., and Kato, K. 2011 Is full physical contact necessary for buffering effects of pair housing on social stress in rats? Behavioural Processes, 86, 230-235. 査読あり
- ②Izumi, R., Oishi, H., Higashibata, A., Yoshizaki, R., Ito, I., Murase, H.,

Inoue, M., Kato, K., Kawashima, H., Soya, H., and Ishioka, N. 2009 Development of basic technologies for drop-tower experiments on vertebrates. *Biological Science in Space*, 23, 85-97. 査読あり

- ③Shoji, H., and Kato, K. 2009 Maternal care affects the development of maternal behavior in inbred mice. *Developmental Psychobiology*, 51, 345-357. 査読あり
- ④中川直美・加藤克紀 2009 高・低活動系マウスのオープンフィールド行動に対する apomorphine の効果 動物心理学研究, 59, 161-168. 査読あり

[学会発表] (計 17 件)

- ①中易知大・加藤克紀 2010 ラットの社会的ストレスの緩和効果における既知個体のニオイの役割 日本心理学会, 2010 年 9 月 21 日, 大阪大学.
- ②加藤克紀・中川直美 2010 高・低活動系マウスのオープンフィールド活動性に対するセロトニン取込阻害剤の効果 日本動物心理学会, 2010 年 8 月 29 日, 帝京大学.
- ③中易知大・加藤克紀 2010 ラットにおける既知個体との同居は敗北後の不安亢進を抑制する 日本動物心理学会, 2010 年 8 月 28 日, 帝京大学.
- ④ Nakayasu T., and Kato, K. 2010 Pair-housing prevents the progressive increase in the anxiety-related behavior caused by social defeat in rats. *The 19th World Meeting of International Society for Research on Aggression*, 30 July 2010, Storrs, Connecticut, U.S.A.
- ⑤Nakayasu T., and Kato, K. 2010 Is full physical direct interaction necessary for the buffering effects of pair-housing on social stress in rats? *The 15th Biennial Scientific Meeting of the International Society for Comparative Psychology*, 21 May 2010, Awaji Island, Hyogo, Japan.
- ⑥中易知大・加藤克紀 2009 ラットにおける既知個体との飼育による社会的ストレスの緩衝効果 日本心理学会, 2009 年 8 月 27 日, 立命館大学.
- ⑦加藤克紀 2009 マウスの移動活動に対する空間構造の影響 (3): オープンフィールド内の隔壁の位置の影響 日本動物心理学会, 2009 年 9 月 27 日, 岐阜大学.
- ⑧中易知大・加藤克紀 2009 敗北後の既知個体との飼育が雄マウスの不安関連行動に及ぼす影響 日本動物心理学会, 2009 年 9 月 27 日, 岐阜大学.
- ⑨Nakayasu T., and Kato, K. 2009 Direct

physical interaction is necessary for buffering effects of pair-housing on social stress in rats. *The 31st International Ethological Conference*, 23 Aug 2009, Rennes, France.

- ⑩中易知大・石井澄・加藤克紀 2008 敗北経験後のペア飼育が雄ラットの不安・恐怖関連行動に及ぼす影響 日本動物心理学会, 2008 年 9 月 13 日, 常磐大学.
- ⑪別役透・加藤克紀 2008 近交系マウスにおける水迷路を用いた視覚弁別の検討 日本動物心理学会, 2008 年 9 月 14 日, 常磐大学.
- ⑫加藤克紀・村川由美子 2008 若齢期の社会的経験とマウスの社会性発達: 他の雄の臭い暴露の影響 日本動物心理学会, 2008 年 9 月 14 日, 常磐大学.
- ⑬Kato, K., Betsuyaku, T., and Hanazato, T. 2008 Spontaneous activity of mice in various structures of space: from an open field to complex mazes. *International The XXIX International Congress of Psychology*, 21 July 2008, ICC Berlin, Germany.
- ⑭中川直美・加藤克紀 2007 高・低活動系マウスのオープンフィールド行動に対する間接的ドーパミンアゴニストの効果 日本動物心理学会, 2007 年 10 月 7 日, 早稲田大学.
- ⑮昌子浩孝・加藤克紀 2007 マウスの養育行動発達に及ぼす雄親の影響: 実父と継父の比較 日本動物心理学会, 2007 年 10 月 8 日, 早稲田大学.
- ⑯加藤克紀・別役透・大江悠樹・花里俊廣 2007 マウスの移動活動に対する空間構造の影響 (2): オープンフィールドと迷路の比較 日本動物心理学会, 2007 年 10 月 8 日, 早稲田大学.
- ⑰内海奈緒子・一谷幸男・加藤克紀 2007 雄マウスにおける若齢期の社会的経験剥夺が他個体遭遇時の脳内神経応答に及ぼす影響 日本神経精神薬理学会, 2007 年 7 月 11 日, 札幌コンベンションセンター.

[図書] (計 1 件)

- ①加藤克紀 2007 発達の行動遺伝学 南徹弘(編) 発達心理学(海保博之(監)朝倉心理学講座 3 巻) 朝倉書店 Pp.12-27.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

加藤 克紀 (KATO KATSUNORI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号: 50261764