

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16029

研究課題名（和文）マウスをモデルとした遺伝的ストレス脆弱性に関する橋渡し研究

研究課題名（英文）Translational research on genetic stress vulnerability using a mouse model

研究代表者

今井 早希（Imai, Saki）

東海大学・農学部・講師

研究者番号：50722279

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：生後から離乳まで、産みの親以外のメスマウス間を毎日移動しながら育った仔マウスの身体的発達、および、不安やうつ様行動など行動特性を調べたところ、いずれの項目においても影響は認められなかった。しかし、毎日の里親交換に加え、尾へ外傷を受けたマウスは、体重増加の遅延を示した。特に、メスにおいて顕著であった。また、これらのマウスは、成熟後の社会性行動が変化し、血中コルチコステロン値は高い値を示す傾向にあった。以上の結果から、特定の親が不在である環境そのものは、仔の発達へ影響しないが、仔のストレス脆弱性を構成する環境要因となり得る可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ほ乳類における養育者との安定した関係の構築は、子の精神的発達においても重要である。しかし、その生物学的意義を研究した例は少ない。本研究では、一貫した養育者との安定した関係が、子のストレスの影響に対する緩衝要因となる可能性が示された。養育者との関係はほ乳類に広く認められるため、本研究結果はほ乳類の子のストレス脆弱性、または、耐性を構築する環境要因の解明へ向けた基礎的知見として位置付けられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the physical and behavior characteristic in mice experienced the repeated cross-fostering (RCF), which is aimed at interfering with specific mother-infant bonding in rodents. No effect of postnatal repeated cross-fostering on body weight and the mice showed normal behavior in anxiety and depression-like behavior tests. However, pups that underwent a series of repetitive tattooing and RCF displayed growth retardation with significant reduction of body weight, especially female mice. Repetitive tattooing and RCF mice increased social investigation time in 3 chamber test and the serum corticosterone level. Therefore, although early life environment without specific caregiver did not affect the offspring, we found the possibility that it could be an environmental factor that constitutes the stress vulnerability of offspring in mice.

研究分野：行動神経科学

キーワード：幼少期ストレス 愛着形成 モデル動物 幼少期環境 ストレス脆弱性 行動解析 繰り返し里親交換モデル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ほ乳類において、親をはじめとする養育者と子の関係は、子の身体的、及び、精神的発達において重要である。養育者と子の関係が破綻すると、将来に渡り、持続的な影響をもたらすことが知られている。近年、実験動物においても、母子分離や早期離乳を施したマウスにおいて、行動や内分泌系への影響が盛んに研究報告されており、養育者が示す養育行動は、仔の発達の基盤を構築することが示されている。臨床医学や発達心理学の分野においては、特定または少数の養育者と子の安定した関係の重要性が示されてきたが、その生物学的意義について踏み込んだ研究例は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、繰り返しの里親交換モデルを用い、マウスにおける「特定の」養育者の重要性を生物学的観点から明らかにすることを目的とした。申請者らは、これまでに、近交系マウスを用い、行動を制御する遺伝子の同定、及び、機能解析を行ってきた。同定した *Usp46* 遺伝子に突然変異を有するマウスは、養育行動の低下を示す。しかし、里親交換により、通常マウスに育てられた場合、成熟後、妊娠出産の際に示す養育行動は回復する。したがって、この遺伝子突然変異マウスは、遺伝的ストレス脆弱性を有する。この特性は、幼少期の環境ストレスを調べる上で、有用なモデル動物となる可能性がある。本研究では、通常のマウス、及び、ストレス脆弱性モデル動物として *Usp46* 突然変異マウスを活用し、ほ乳類における特定の養育者との安定した関係を明らかにする。

3. 研究の方法

通常マウスとして、C57BL/6Jc1 マウスを用いた。3-4 匹の妊娠マウスを用意し、ほぼ同時期に出産させた。仔は、産みの親に育てられる群と、産みの親以外のメスマウス間を毎日移動し、特定の養育者を持たない群の 2 群に分けられた。仔の移動開始時期は、出産日のズレを考慮し、生後 0-5 日齢の期間内に実施することとした。毎日 12-13 時に仔の移動、マーキング操作、及び、体重測定を行なった。マーキング方法はマジック、または、マジックと入れ墨 (カミソリと墨汁による切れ込み操作) の両方を尾に施した。マジックのみが施された群は、実母に育てられる通常飼育群 (CON 群) と、毎日の里親交換群 (RCF 群) とした。マジックと入れ墨の両方を尾に施された群は、実母に育てられる (CON+IN 群) と、毎日の里親交換群 (RCF+IN 群) として区別した。生後 25 日齢で離乳し、雌雄を分けて群飼した。8-12 週齢で行動試験、及び、ELIS により血中コルチコステロン値を測定した。行動試験は、不安様行動を評価するためにオープンフィールド試験と高架十字迷路試験を、うつ様行動を評価するために強制水泳試験を、社会性を評価するために 3 チャンバー試験を実施した。

4. 研究成果

- ① 毎日の繰り返しの里親交換と外傷による体重の変化
 毎日繰り返しの里親交換を受けた RCF 群における体重は、通常飼育の CON 群と比較し、有意な差は認められなかった。しかし、毎日の里親交換に加え、入れ墨を施された RCF+IN 群は、実母に育てられ入れ墨を施された CON+IN 群と比較して、生後 6 日目より有意な体重低下が認められた。体重の低下は、離乳時の生後 25 日以降まで持続した (図 1-A)。離乳後、雌雄を分けて体重測定を行なったところ、特にメスの体重低下が顕著であった (図 1-B, C)。

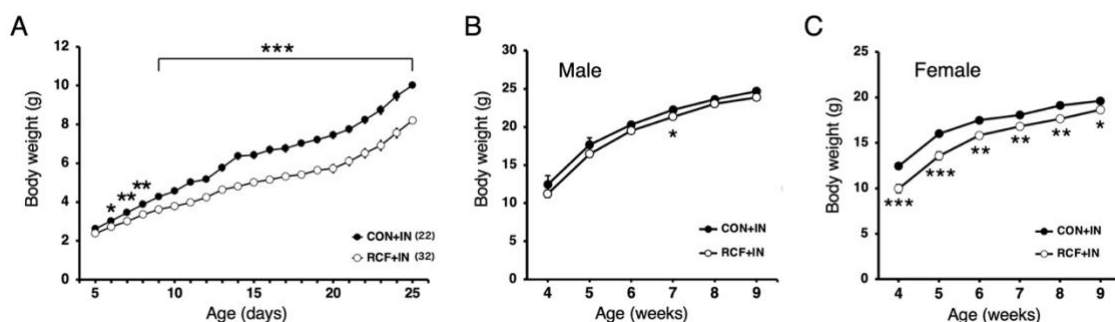


図 1. 毎日の繰り返しの里親交換と外傷操作が体重へ及ぼす影響

Mean ± SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

(A) 生後 25 日齢までの体重, (B) 離乳後オスの体重, (C) 離乳後メスの体重の変化

② 社会性行動への影響

毎日繰り返しの里親交換を受けた RCF 群の社会性行動には変化が認められなかった。しかし、毎日の里親交換に加え、入れ墨を施された RCF+IN 群においては、3 チャンバー試験における社会性行動へ影響が認められた。3 チャンバー試験では、片方の部屋は空のカゴが設置されており、もう片方の部屋には、対峙したことのない同性マウスが入ったカゴが設置されている。中央の部屋にテストマウスが置かれ、各部屋における滞在時間、及び、カゴへのアプローチ時間を計測した。オスでは、相手がいるチャンパー内の滞在時間に有意な差は認められなかったものの、相手が入っているカゴの匂いを嗅ぐ時間においては、RCF+IN 群は有意な増加を示した(図 2-A, B)。メスでは、RCF+IN 群は、相手がいるチャンパーにおける滞在時間が有意に増加し、相手が入っているカゴの匂いを嗅ぐ時間は増加する傾向にあった(図 2-C, D)。

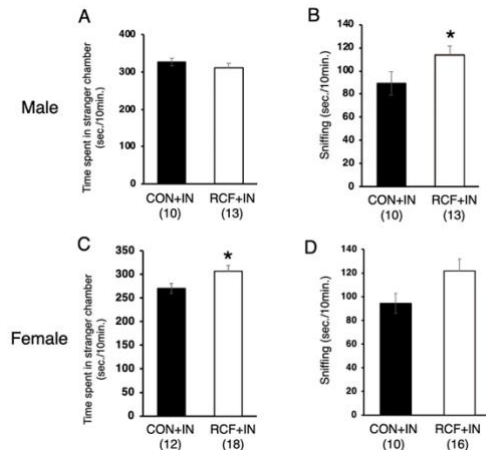


図 2. 繰り返し毎日の繰り返し里親交換と外傷操作が社会性行動へ及ぼす影響
相手がいるチャンパーでの滞在時間 (A) オスマウス, (C) メスマウスの値を示す。相手が入ったカゴを嗅いだ時間 (B) オスマウス, (D) メスマウスの値を示す。Mean±SEM, * $p < 0.05$.

③ 血中コルチコステロン値への影響

行動試験後、血中コルチコステロン値のベースラインを測定した。その結果、オス、メス共に有意さは認められなかったが、毎日の里親交換に加え入れ墨を受けた RCF+IN 群において、増加する傾向が認められた(図 3)。

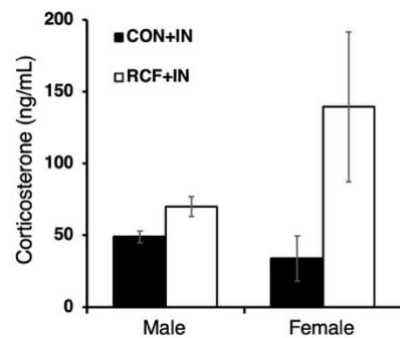


図 3. 繰り返し毎日の繰り返し里親交換と外傷操作が血中コルチコステロン値へ及ぼす影響

通常飼育の CON 群と、毎日繰り返しの里親交換を受けた RCF 群を比較すると、発達、及び、行動への影響は認められなかった。しかし、毎日の繰り返しの里親交換に加え、入れ墨が施されたマウスの RCF+IN 群では、体重増加の遅延、社会性行動の変化、コルチコステロン値の増加傾向が認められた。特に、発達においてメスマウスにおいて顕著であり、その影響には性差があることが示された。また、里親交換を行なった期間の前半(生後~14 日齢)における里親の養育行動を解析したが、RCF 群、及び、RCF+IN 群の子が受ける養育時間には、CON 群、及び、CON+IN 群と比較して、有意な差が認められなかった。従って、①~③で認められた結果は、親から受ける養育行動の時間や質に起因するものではないと考えられる。

以上の結果から、実母以外の複数の養育者による養育環境そのものは仔の発達、及び、行動へ影響を及ぼさない。入れ墨は、カミソリで尾に切れ込みを入れる操作であり、仔は毎日外傷を負うこととなる。毎日の繰り返し里親交換に加え、この外傷操作が加わることで、表現型が異なる結果が得られた。つまり、特定の親を持たず、かつ、ストレスが負荷される養育環境は、仔のストレス脆弱性を構築する環境要因となり得る。本研究により、特定の養育者による安定した養育は、仔のストレス耐性に関与する可能性が示された。

ストレス脆弱性を示す *Usp46* 遺伝子突然変異マウスにおける同処置は、仔が十分に取れなかったため実施することが出来なかった。しかし、交配の過程において、遺伝子突然変異マウスは繁殖成績が低下する傾向にあることが示された。妊娠する個体数の割合を調べたところ、C57BL/6J マウスが 100% に対し、遺伝子突然変異マウスは 65% と低下を示した。また、メスの発情周期を把握するためスミア試験を実施した結果、C57BL/6J の発情周期は平均 4~5 日に対し、遺伝子突然変異マウスは 6 日と長い周期を示した。発情ステージの中でも、特に、休止期の割合が長い傾向にあった。以上の結果から、*Usp46* 遺伝子は養育行動だけでなく、繁殖システムへも関与する可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Saki IMAI, Mako Ushiyachi, Yoshihiko Kawakami
2. 発表標題 The absence of a specific caregiver is not essential for the development of maternal behavior in mice.
3. 学会等名 NEUR02022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Saki IMAI, Mako Ushiyachi, Yoshihiro Kawakami, Yoshiaki Koga, Maiko Akagi, Yusuke Waki
2. 発表標題 The absence of the specific mother effects development and social behavior in mice.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------