

令和元年6月16日現在

機関番号：24601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07032

研究課題名（和文）新規行動解析システムによる母子分離の集団内行動様式への影響と関連脳領域の検討

研究課題名（英文）Effects of maternal separation on behaviors under group-housed conditions by a novel behavior analysis system and investigation of related brain regions

研究代表者

遠藤 のぞみ（ENDO, Nozomi）

奈良県立医科大学・医学部・研究助教

研究者番号：90802819

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では幼少期の成育環境が成長後の社会的集団内における行動にどのような影響を与えるかを検証し、その神経基盤の解明を目指した。集団飼育下で長期間の行動試験が可能な独自の試験法により、授乳期の母子分離や離乳後の隔離飼育が集団内における活動量や社会性に影響を与えることを明らかにした。加えて、自閉症モデルマウスの集団内における行動表現型を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では独自の試験法により、幼少期の成育環境が成長後の集団内における行動様式に影響を与えることを明らかにした。また、自閉症モデルマウスの集団内における行動表現型を明らかにした。今後、これら行動学的異常の関係およびその神経基盤を解明することで、予防・治療法の開発など臨床応用につながる基礎的知見となる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated what influence the early life growth environment had on the behavior in the social group after growth, and aimed to elucidate its neural basis. Using a unique test method that enables long-term behavioral testing in group housing condition, we clarified that maternal separation during lactation and isolation rearing after weaning affect the activity and social behavior in the group housing. In addition, we identified behavioral phenotypes in model mice for autism.

研究分野：行動神経科学

キーワード：マウスモデル 集団飼育 社会性 社会行動 母子分離 環境要因 自閉症 行動神経科学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

虐待やネグレクトなど幼少期の劣悪な養育環境は、成長後の様々な精神疾患へのリスク要因となることが知られている。さらに、疾患とは診断されないものの、適切な対人関係を築けず、家庭内暴力やいじめ、ひきこもり、種々のハラスメントなどの諸問題として表出する場合も多い。幼少期の養育環境と行動学的異常の関係およびその神経基盤を解明し、予防・治療法の開発につながる基礎研究の遂行が急務となっている。しかしながら、動物モデルの行動解析は基本的に新奇環境において数分から数十分程度で行われる短期的な試験であり、いじめやひきこもりなど社会的集団においてはじめて観察されるもの、日常生活でのみ観察されるものなどは解析対象とされてこなかった。従来新奇環境における短期的な行動試験のみでは動物モデルの結果とヒトでみられる臨床症状とを結びつけるのは難しく、動物モデルにおいても社会的集団の中でみられる行動について検証されるべきである。これまで社会的集団の中で暮らす実験動物の行動解析を可能とする試験法が確立・普及されていない点がボトルネックとなっていたが、我々は新しいマウス行動解析システム (Multi Animal Positioning System; MAPS) を開発することでこの技術的問題を解決した。また、研究代表者が所属する奈良県立医科大学・第一解剖学では 幼少期の母子分離ストレスによる影響について多角的に研究を進めている[Nishi et al., 2014]。MS により視床下部 下垂体 副腎皮質系(HPA-axis)に影響を与えること、種々の脳領域において神経活動レベルが変化すること、場所嗜好性試験(CPP)における成績低下などを明らかにしてきた[Horii-Hayashi et al., 2013; Sasagawa et al., 2017]。

これまでの成果を踏まえ、本研究では「幼少期の劣悪な成育環境により扁桃体および海馬の神経活動に変化が生じ、HPA-axis へ影響を及ぼし、様々な社会的行動異常を引き起こす」との仮説を立てた。我々独自の行動解析システムである MAPS を用い、幼少期の環境が成長後の集団内の行動においてどのような影響を与えるかを明らかにし、その後 HPA-axis で重要な役割を持つ扁桃体および海馬がその行動異常をどのように関係をしているかを検討する。

2. 研究の目的

本研究では我々が独自に開発した集団内行動解析システム MAPS を用いることで、「幼少期の成育環境」「社会的集団での行動表現型」「責任脳領域」の関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 動物

隔離飼育モデル:

C57BL/6 マウスを交配し、出生後 4 週齢で離乳した。その際に隔離飼育群(個別飼育)と集団飼育群の 2 群に分け、成獣の雄マウスを用いて異なる成育環境が行動に与える影響を検討した。

自閉症モデル:

成育環境を操作したモデルマウスとの表現型を比較するため、自閉スペクトラム症モデルの一つである BTBR $T^+ Itpr3^{fl/J}$ (以下 BTBR) マウスを用いた。対照群としては C57BL/6 マウスを用いた。3 週齢で離乳し、集団飼育環境で生育させ、成獣の雄マウスを行動試験に使用した。

母子分離モデル:

C57BL/6 マウスを交配し、出生後 1 日目から 14 日目まで 1 日 3 時間、仔マウスを母マウスから隔離することで作製した。対照群は母子分離を経験していない C57BL/6 マウスを用いた。3 週齢で離乳し、集団飼育環境で生育させ、成獣の雄マウスを行動試験に使用した。

(2) MAPS による集団飼育環境における長期行動解析

行動試験前に個体識別用のマウス ID を装着し、ID への馴化期間後に MAPS 試験を行った。初

顔合わせのマウス4匹をMAPSの実験ケージに導入し、3-5日同居させた。この間、MAPSにより各マウスの位置情報を常時取得し、オフライン解析にて各マウスの活動量や寄り添い行動など複数の行動指標の解析を行った。

4. 研究成果

我々はまず、独自の集団飼育下長期行動解析システムであるMAPSを用いて離乳後の成育環境が成長後の社会的集団における行動に与える影響を検証した。その結果、隔離飼育で育ったマウス同士では寄り添い行動が減少する

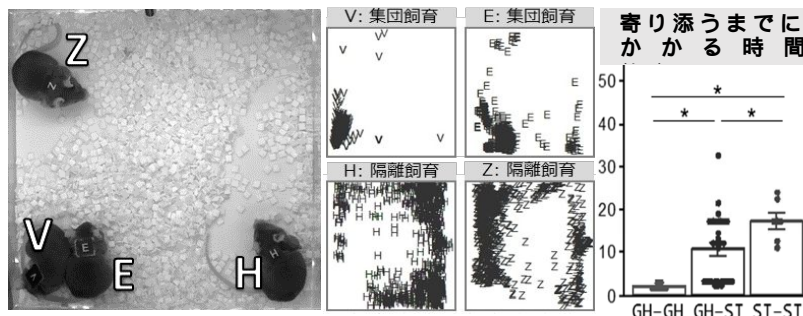


図1 独自の行動解析システムMAPSによる集団飼育下行動試験。マウスの背中につけたIDをもとに個体識別を行い、各個体のXY座標を体系的に取得する(左)。滞在分布中央やマウス同士が寄り添って寝る社会行動(右)。GH:集団飼育マウスSI:隔離飼育マウスなど集団下で見られる様々な指標を定量的に解析できる。

こと、また、隔離飼育マウスと集団飼育マウスを同居させることにより、隔離飼育マウスの表現型が回復することなどを明らかにした(図1)。これらの成果はCommunications Biology誌にて発表した[Endo et al., 2018]。

次に、自閉スペクトラム症モデルマウスの一つであるBTBRマウスを用い同様の解析を行った結果、BTBRマウスは対照マウスに比べ暗期において顕著な低活動性を示すことを見出した。

しかしながら、BTBRマウスは従来のオープンフィールドによる行動試験では、先行研究の報告と一致し、活動量の亢進を示した。この結果から、BTBRマウスは新奇環境と十分に慣れた社会的集団環境では異なる行動表現型を示すと考えられ、MAPSが精神疾患モデルマウスの本来持つ表現型を同定するのに有効であることを示した。また、BTBRマウスとB6マウスを同時に実験ケージに入れた場合、BTBRマウスはB6マウスよりもBTBRマウス同士で一緒にいる時間が長い傾向にあり、自身と同系統のマウスを好む傾向があった(図2)。これらの結果は、Experimental Animals誌に受理された[Endo et al., in press]。

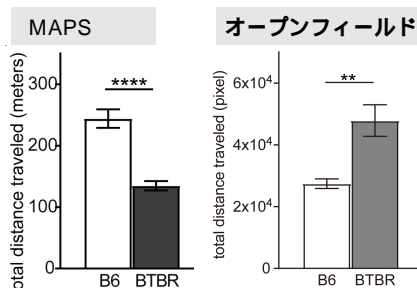


図2 BTBRマウスの活動量。MAPSによる長期観察の結果、BTBRマウスは暗期に低活動性を示した。しかしながら、従来のオープンフィールドによる短時間の試験ではBTBRマウスは高活動性を示す。

さらに、母子分離マウスについて社会的環境における長期的な行動解析を実施し、1匹で行動する時間が減る、指向性の高い場所の占有時間が減るといった行動表現型を見出した(図3)。

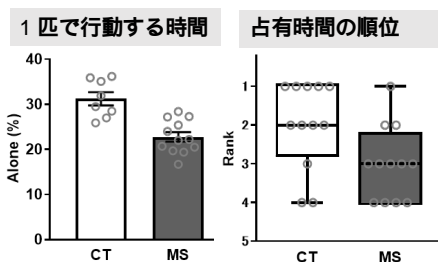


図3 母子分離マウスの行動表現型。CT:対照マウスMS:母子分離マウス

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

Endo N, Makinodan M, Somayama N, Komori T, Kishimoto T, Nishi M. Characterization of social behaviors in BTBR $T^+ Itp3^{fl/J}$ mouse model of Autism Spectrum Disorders under social-housing conditions by the Multiple Animals Positioning System. *Experimental Animals*. (in press) doi: 10.1538/expanim.18-0177

Aida-Yasuoka K, Nishimura N, Fujisawa N, Endo N, Narumiya S, Tohyama C. The role of prostaglandin E2 receptor EP1 in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced neonatal hydronephrosis in mice. *Toxicology* 415: 10-17. 2019. doi: 10.1016/j.tox.2019.01.006.

Endo N, Ujita W, Fujiwara M, Miyauchi H, Mishima H, Makino Y, Hashimoto L, Oyama H,

Makinodan M, Nishi M, Tohyama C, Kakeyama M. Multiple animal positioning system shows that socially-reared mice influence the social proximity of isolation-reared cagemates. *Communications Biology* 1(1) 225. 2018. doi: 10.1038/s42003-018-0213-5

Benner S, Aoki Y, Watanabe T, Endo N, Abe O, Kuroda M, Kuwabara H, Kawakubo Y, Takao H, Kunimatsu A, Kasai K, Bito H, Kakeyama M, Yamasue H. Neurochemical evidence for differential effects of acute and repeated oxytocin administration. *Molecular psychiatry*. 2018. doi: 10.1038/s41380-018-0249-4

Ujita W, Kohyama-Koganeya A, Endo N, Saito T, Oyama H. Mice lacking a functional NMDA receptor exhibit social subordination in a group-housed environment. *The FEBS journal* 285(1): 188-196. 2018. doi:10.1111/febs.14334

〔学会発表〕(計 11 件)

Sasagawa T, Horii-Hayashi N, Endo N, Nishi M. Effects of early life adverse experiences on the brain: implications from maternal separation in mice. The 3rd Sino-Japan Symposium on the frontier of Behavioral Neuroendocrinology. 2019

Somayama N, Endo N, Komori T, Okuda M, Nozu H, Nishi M. The effects of repeated-social defeat stress on social behavior and decision-making related to reward acquisition in mice. The 3rd Sino-Japan Symposium on the frontier of Behavioral Neuroendocrinology. 2019

杣山奈実、遠藤のぞみ、小森崇史、西真弓. ハイコストハイリターン/ローコストローリターンの選択. 第 124 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 2019

Nishi M, Endo N, Mannari T. Effects of early life stress on reward seeking behaviors. 8th Asia Pacific International Congress of Anatomists and 68th Korean Associating of Anatomists. 2018

西真弓、遠藤のぞみ、堀井謹子. 妊娠中の受動喫煙が子供の摂食行動・嗜好性行動に及ぼす影響の分子基盤の解明. 公益財団法人 喫煙科学研究財団第 33 回平成 29 年度助成研究発表会. 2018

Endo N, Makinodan M, Horii N, Somayama N, Komori T, Kishimoto T, Nishi M. Characterization on of usual behaviors under group-housing conditions by the Multiple Animals Positioning System in the BTBR T+ /J mouse model of autism. 第 41 回日本神経科学大会. 2018

杣山奈実、遠藤のぞみ、小森崇史、西真弓. うつ病モデルマウスにおける“意欲”の多角的評価. 第 29 回日本行動神経内分泌研究会 2018

堀井謹子、遠藤のぞみ、笹川誉世、西真弓. マウス脳におけるペリニューロナルネットの時空間特異的の形成：WFA 染色による解析. 第 59 回日本組織細胞化学会総会・学術集会. 2018

蜂谷奈都子、笹川誉世、堀井謹子、遠藤のぞみ、西真弓. マウスにおける胎児期受動喫煙が摂食、情動行動に及ぼす影響. 第 123 回 日本解剖学会総会・全国学術集会. 2018

遠藤のぞみ、牧之段学、堀井謹子、杣山奈実、小森崇史、岸本年史、西真弓. 集団飼育環境における自閉症モデルマウスの行動解析. 第 123 回 日本解剖学会総会・全国学術集会. 2018

遠藤のぞみ、牧之段学、堀井謹子、杣山奈実、小森崇史、岸本年史、西真弓. 新規行動解析システムによる社会的集団における自閉症モデルマウスの行動表現型解析. 第 93 回 日本解剖学会学術集会・近畿支部 2017

〔その他〕

ホームページ: <http://www.naramed-u.ac.jp/~1ana/>

6 . 研究組織

研究代表者: 遠藤 のぞみ (ENDO, Nozomi)、

奈良県立医科大学 医学部 研究助教、

研究者番号: 90802819