

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K13159

研究課題名(和文) オキシトシンによるサルの援助行動の変化に関する実験的研究

研究課題名(英文) An empirical study on the effects of oxytocin for helping behaviors by marmosets.

研究代表者

川合 伸幸 (KAWAI, Nobuyuki)

名古屋大学・情報学研究科・准教授

研究者番号：30335062

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：マーモセットは、自身に餌がなくても他個体のために餌を取る援助行動を示すか、オキシトシンの投与により向社会的行動(援助)が促進されるか、を調べるための予備的検討を試みた。先行研究とは異なり、マーモセットは援助行動を示さず、むしろどちらも餌がもらえない選択肢を多く選んだ。それは不公平忌避といえるので、不公平忌避を示すか調べたところ、従来の研究とは異なり初めて雌雄ともに不公平忌避を示したが、パルプロ酸を投与された自閉症モデル個体は示さなかった。オキシトシン、コルチゾールなどのホルモンを非侵襲的な方法で測定し、日内変動も確実に捉えられる手法を確立した。しかし自閉症モデルは日内変動を示さなかった。

研究成果の概要(英文)：A preliminary study was conducted to investigate whether marmosets will display helping behavior by obtaining food for other members even if they themselves do not have food, or if their prosocial behavior would be promoted through an oxytocin (OT) injection. Unlike the previous study, the marmosets did not display helping behavior. Instead, marmosets frequently selected the choice where both the donor and the receiver wouldn't receive food. As this could constitute as inequality aversion, we investigated whether they display inequality aversion behavior. It was found, for the first time, that both male and female marmosets showed inequality aversion - contrary to conventional studies, while models of autism that were injected with sodium valproate did not show such a behavior. By measuring OT, cortisol, and other hormones in a non-invasive manner, a method for capturing diurnal variation was securely established, while the models of autism did not display a diurnal variation.

研究分野：心理学・実験心理学

キーワード：マーモセット 社会性 オキシトシン モデル動物 向社会行動

## 1. 研究開始当初の背景

Byrne & Whiten (1988)が「Machiavellian intelligence」を出版してからの20年間ほどの間、ヒトの社会的知性の起源を探る研究が盛んに行われた。そのころの中心的な主題は、動物が他個体の視点を取得したり、意図や感情を理解できるか、というものであった。20年以上におよぶ研究によって、ある種の動物は他個体の心の状態をある程度理解できることがあきらかになった。

Brosnan & de Waal (2003)の *Nature*に掲載された「不公平性忌避」の研究では、ある霊長類は、隣にいる他個体がもらったエサよりも、自分のエサの価値が低いと受け取らないことを示し、依然として動物の社会認知は「他個体を出し抜く」ためのものであるという前提で研究が進んだ。

しかしこの数年間は、ヒトの援助的性質の進化的起源を探るために、霊長類の向社会的行動の研究が行われるようになってきた。申請者らによる、マーモセットが自分に関わりのない第三者(ヒト演技者)間のやり取りを理解し、ズルをしない演技者を好むことを示した研究(Kawai et al., 2014)や、自分の利益にならないにもかかわらず、他個体のためにエサを取ったり(Burkart et al., 2007)、エサを取ろうとしている個体に道具を渡してやる(Yamamoto et al., 2012)など、ヒトの援助的な性質と相同あるいは相似な行動を示す報告が増えている。

近年、神経科学のモデル動物として(Burkhart & Finkenwirth, 2014, *Neurosci. Res.*)、南米に生息する霊長類のマーモセットの向社会的行動に注目が集まっている(Burkart et al., *Nature Commu.*; Kawai et al., *Biology Letters*)。霊長類の向社会的行動では、これまでに以下のことが明らかとなっている。

1) チンパンジー、オマキザル、マーモセットは、隣にいる他個体がもらったエサよりも、価値(量・質)の低いエサは受け取らない(Brosnan & de Waal, 2003, *Nature*:不公平性忌避)。

2) それでもマーモセットは、2種類の配分でエサが置いてある2つの板のうちどちらかを選択する状況では、自分が得るエサは0個で隣室にいる他個体も0個の選択肢(0:0)よりも、自分は0個でも他個体に1粒のエサが行きわたる選択肢(0:1)を選択する(Burkhart et al., 2007, *PNAS*)という、超向社会的な性質を示す。

3) 自分の利益にならないにもかかわらず、エサを取ろうとしている他個体のために協力をすること示した霊長類の研究は一例しかない(Yamamoto, Humle, & Tanaka, 2012, *PNAS*)。

4) 申請者らは、マーモセットが自分に関わりのない第三者(ヒト演技者)間のやり取りを理解できることを示した(Kawai et al., 2014)。

5) 申請者らは、自閉症の主要な3つの徴候を示す霊長類初の自閉症モデルを作成中である。

6) ヒト、マカクザル(Parr et al., 2013)、マーモセット(Saito & Nakamura, 2011)へのオキシトシン(OT)投与は、同種他個体への注意を促進し、向社会的行動を増加させる。

## 2. 研究の目的

本研究では以下の3点を検証することを目的とした。

1) マーモセットは自分の利益にならなくても他個体のために援助を行うか(*PNAS*, 2007の追試)。

2) 妊娠中の母体にバルプロ酸を投与することで生まれた自閉症モデルのマーモセット(VPA個体)も、やはり他個体のために援助を行うか。VPA個体は社会性テストで他個体への注意が弱いことをすでに確認しているので、援助行動を示さないか、低頻度になると予想される。

3) オキシトシン(OT)の鼻腔内投与(IN-OT)によって、向社会的行動が促進されるか。また、各種ホルモンがどのように日内変動するかを探索的に調査することが目的であった。

## 3. 研究の方法

これらの目標を達成するために、以下の手続きで研究を実施した。

1) マーモセットの先行研究(Burkhart et al., 2007, *PNAS*)と同様の装置をつくり、基本的に同じ手続きで実施する。

2) 将来的にオキシトシン投与するための準備を整えるために、文献的調査を行い、マーモセットのオキシトシンレベルを測定する。

3) 可能であれば、オキシトシンを鼻腔内投与し、援助行動などの社会的行動が変化するかを検討する。

## 4. 研究成果

(27年度)

本研究では、社会性が高いことで知られるマーモセットとその自閉症モデルであるバルプロ酸暴露個体(VPA個体)が、愛着行動や向社会的性を高める作用があることで知られるオキシトシンを投与することで、社会行動がどのように変化するかを検討する。

平成27年度は文献的な調査を実施し、マーモセットに投与するオキシトシンのアミノ酸配列はヒトのものとはわずかに異なることなど

の情報を収集した。それらに基づき、オキシトシン投与の方法を探索的に決定した。具体的には鼻腔内投与と腹腔内投与のいずれかで、先行研究では鼻腔内に50  $\mu$ lずつ投与していた。まず生理食塩水で鼻腔内に50  $\mu$ lを投与できるかを試した。投与は25単位を1回の投与量とすることとした(0.1 ml : 50  $\mu$ lずつなら2回の投与)。

またマーモセットの尿中のコルチゾールは、ピークが12:00より少し前でオスのほうが値が低いこと、オスは14:00頃以降低地で安定するが、メスは16:00頃まで減少が続くことが判明した(Tessa 6 France, 1997)。マーモセットの性周期は28日で、血中のプロゲステロンは、20-70 ng/ml E2は700-5500 pg/mlで両者はほぼ同調した変動をするが、ヒトやマカクと異なり、黄体期に黄体から分泌されるE2は卵胞の発育を抑制しない。

これらの文献的知見にもとづき、血中オキシトシンやその他ストレスホルモンの測定を開始した。0.2~0.6 mlを採血し、血液0.2 mlを希釈してホルモンが測定できるか検討した。また口腔内に挿入した綿棒から少なくともコルチゾールは、遠心分離を行うことで、測定できることがあきらかとなった。オキシトシンも測定できるかを検討した。

さらに、妊娠が確認されたペアの血漿中オキシトシン濃度を出産前後に測定し、出産後のオキシトシンレベルが低くても子育てを行うことを確認した。

(28年度)

H28年度は、先行研究と同様にマーモセットが他個体を援助するかを研究した。しかし、自身には餌がなく他個体だけ餌が得られる選択肢をひくことはなく、むしろどちらも餌がもらえない選択肢を多く選んだ。このことは、マーモセットは不公平忌避を示すことを示唆しており、これまでマーモセットでは不公平忌避が示されない(あるいはオスしか示さない)との結果と矛盾するものであった。

また、将来オキシトシンを投与することで、社会行動がどのように変化するかを検討するためにホルモンの変動を調べた。

ホルモンは日内変動が大きいので、H28年度はホルモンのなかでも測定しやすいコルチゾールに注目し、安定してホルモンを抽出する方法を確定した。マーモセットは体の大きさに対して副腎の割合が大きく、ストレスに対する感受性が高いとされる。コルチゾールの測定は、血中、尿中などからの測定が用いられることが多いがヒトやイヌでは唾液でも測定できる。測定のストレスを軽減するためにマーモセットでも安定した唾液中のコルチゾールを測定することが望まれるが、そのためには、どのくらいの量の唾液をどのように

採取するかが重要になる。そこで、マーモセットの唾液を採取するために適した綿棒のサイズを特定し、食べ物や液体などを付着させない綿棒を噛ませることによって1回につき40~70 $\mu$ lの唾液を安定して採取する方法を開発した。採取された唾液は40 $\mu$ lを5倍希釈し、EIAにて測定することで安定した測定値を得ることが明らかになった。この方法を用いることによってホームケージにいる状態で、いつでもマーモセットの通常状態(安静時)の唾液を採取することが出来た。血中のコルチゾール値と唾液中のコルチゾール値の変動が同様の傾向を示した。唾液中のコルチゾール値も日内変動があり、午前中が高く夕方は低下したが、VPA個体では日内変動がなかった。これは発達障害を抱える人がしばしばリズム障害を呈するのと対応している。

その後、オキシトシンの測定に着手し、翌年度以降にはオキシトシンの値を測定できる環境を構築し、援助課題遂行中にオキシトシン投与がどのような影響を及ぼすか検討した。

(29年度)

マーモセットの血中オキシトシンレベルを、起床後でかつ食餌前の時間に測定した。オキシトシンレベルはメスに比べてオスの方が高値であった。測定対象個体は全て出産育児を経験していないにもかかわらず、オスは当該飼育室内に生後間もない(生後2週程度)個体がいる時に(直接幼体を見ることが出来る場合もあれば、見ることは出来ないが幼体の声が聴こえる位置にいる場合もあった)オキシトシンレベルが非常に高くなった。メスにはそのような傾向は見られなかった。メス間の比較ではVPA群の方がバルブプロ酸に暴露されていないUE群よりもオキシトシンレベルが低い傾向にあった。オスは近傍の幼体の存在といった外界の要因によってオキシトシンレベルが変化するが、メスでは近くに幼体がいるという外界の要因による変化はないことが示唆された。オキシトシンレベルには性差があり、ストレスに対するオキシトシンの反応に性差があるという報告もあり、オキシトシンの治療効果を見る場合には性差を考慮する必要性があることが示された。

自閉症者は睡眠リズムに問題を抱える人が少なくない。ホルモンは日内変動するが、H28年度は血漿と唾液中のコルチゾール値も日内変動があり、午前中が高く夕方は低下することがわかった。しかし同日の測定でなかったために、H29年度はUE群とVPA群の唾液を同様に採取して比較した。UE群では午前のコルチゾール値が高く午後に低くなったが、VPA群は有意な変動はなかった。またVPA群の9頭中3頭は、むしろ午後の方が高値だ

った。このことから、VPA群では内分泌のサーカディアンリズムがUEとは異なっていることを示す可能性が示唆された。

さらにサーカディアンリズムを深く調べるためにメラトニンの測定・分析をおこなった。現在、解析中である。

また前年度に、通常のマーモセットが援助行動とは拮抗する不公平忌避を示すことが示唆されたので、H29年度はさらに個体数を増やし、かつ自閉症モデルであるVPA個体も同数の個体数として実験を遂行した。その結果、UE個体は目前の他個体が同じ課題でより価値の高い餌を得たときには課題の遂行を拒否する不公平忌避を示した。しかし、VPA個体は目前の個体がより価値の高い餌を得ても遂行レベルは変化しなかった。すなわち、「他個体と自身の餌の価値を比較しなかった」。このことから他個体への弱い関心が示唆された。なお、UE個体は、他個体がいないうつで他個体のいるケージに餌を置く統制条件を実施したところ、遂行のレベルは変化しなかった。すなわち、目の前の餌と自身の餌を比較しているのではなく、「他個体が価値の高い餌を得る」ことが不公平忌避を生じさせていることがあきらかになった。これらの成果は、Behavioural Brain Researchに掲載された。

#### 5. 主な発表論文

(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 2 件)

Yasue, M., Nakagami, A., Nakagaki, K., Ichinohe, N., & Kawai, N. Inequity aversion is observed in common marmosets but not in marmoset models of autism induced by prenatal exposure to valproic acid. *Behavioural Brain Research*, 査読有, Vol. 343, 2018, pp.36-40, DOI: 10.1016/j.bbr.2018.01.013

Yasue, M., Nakagami, A., Banno, T., Nakagaki, K., Ichinohe, N. & Kawai, N. Indifference of marmosets with prenatal valproate exposure to third-party non-reciprocal interactions with otherwise avoided non-reciprocal individuals. *Behavioural Brain Research*, 査読有, Vol.292, 2015, pp.323-326, DOI: 10.1016/j.bbr.2015.06.006

[学会発表](計 13 件)

川合 伸幸 胎児期から乳幼児期の学習と記憶 第5回新胎児学研究会 2017年

Nobuyuki Kawai, Why does snakes draw our attention more strongly than other

animals? Evolution of Brain, Cognition, and Emotion 2017年

中神 明子、安江 みゆき、中垣 慶子、二戸 紀孝、川合 伸幸 マーモセットの cortisol 分泌機能にバルプロ酸が与える影響 日本心理学会第81回大会 2017年

安江 みゆき、中神 明子、中垣 慶子、二戸 紀孝、川合 伸幸 マーモセットにおける胎生期バルプロ酸暴露と不公平忌避 日本心理学会第81回大会 2017年

Nobuyuki Kawai, Autism-like behaviors in common marmosets treated prenatally with valproic acid. New Era of Preclinical Research for Human Diseases using Marmoset (2017 Asia-oceania Regional Meeting for Marmoset Research) 2017年

Nakagami, A., Yasue, M., Nakagaki, K., Ichinohe, N., Kawai, N. A new non-invasive method to measure cortisol levels from marmoset saliva. 日本動物心理学会第76回大会 2016年

Kawai, N., Yasue, M., Nakagami, A., Banno, T., Ichinohe, N. Marmosets with fetal exposure to valproic acid fail to recognize third-party non-reciprocal interactions. The 31st International Congress of Psychology ICP2016 2016年

安江 みゆき、中神 明子、坂野 拓、二戸 紀孝、川合 伸幸 自閉症モデルであるマーモセットは第三者間の互恵的と非互恵的交渉の違いを認識できない 電子情報通信学会ヒューマンコミュニケーション基礎 (HCS) 2016年3月研究会 2016年

川合 伸幸 「社会行動障害の霊長類モデル作成へむけて」大会企画シンポジウム『社会行動障害への多角的アプローチ - 動物からヒト、基礎から臨床 -』 日本心理学会第79回大会 2015年

Nakagami, A., Nakagaki, K., Yasue, M., Ichinohe, N., Kawai, N. Plasma oxytocin level of male marmoset in pre- and postnatal period. 日本動物心理学会第75回大会 2015年

Yasue, M., Nakagami, A., Banno, T., Nakagaki, K., Ichinohe, N., Kawai, N. Marmoset models of autism did not avoid non-reciprocal human individuals. 日本動物心理学会第75回大会 2015年

Yasue, M., Nakagami, A., Banno, T., Nakagaki, K., Ichinohe, N., Kawai, N. . Prenatal exposure to valproic acid (VPA) impairs recognition of third-party social exchanges in marmoset monkeys. 第38回日本神経科学大会 2015年

Yasue, M., Nakagami, A., Banno, T., Nakagaki, K., Ichinohe, N., Kawai, N. . Primate models of autism failed to discriminate third-party reciprocal/non-reciprocal exchange between human actors. Tokyo Lectures in Language Evolution 2015年

〔図書〕(計 1 件)

川合 伸幸、講談社、『科学の知恵 怒りを鎮める うまく謝る』, 2017, 224頁

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cog.human.nagoya-u.ac.jp/~kawai/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川合 伸幸 (KAWAI, Nobuyuki)  
名古屋大学・情報学研究科・准教授  
研究者番号: 30335062

(2) 研究分担者

研究者番号:

(3) 連携研究者

一戸 紀孝 (ICHINOHE, Noritaka)  
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 微細構造研究部・部長  
研究者番号: 00250598

(4) 研究協力者

( )