

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 1日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21610019

研究課題名（和文） 母親の精神疾患が子供へ与える影響とその要因

研究課題名（英文） Effect of offspring on dam behavior

研究代表者

只野 武（TADANO TAKESHI）

東北薬科大学・薬学部・名誉教授

研究者番号：80104082

研究成果の概要（和文）：うつ病の動物モデルである嗅球摘出(OBX)動物の母性行動の解析と子への影響を検討した。OBXの母親の出産数は、コントロールと比較し変わらなかったが、生存数は経日的に減少した。その理由としてOBXマウスの報酬機能低下と母性行動障害によるものであることを明らかにした。OBXマウスの母性行動障害には、ドパミン神経系の機能低下が関与している可能性を行動薬理学的に証明したが、このドパミン機能低下は側坐核のドパミン受容体やチロシン水酸化酵素レベルの変化による可能性は少ないことを明らかにした。以上のことから、うつ病を発症した母親による育児放棄や実子殺害に対する薬物療法としてドパミン神経系を賦活ないしコントロールするような薬物の有効性が期待される。

研究成果の概要（英文）：Olfactory bulbectomy (OBX) animals are considered a putative model of depression. In this study, we investigated the change of maternal behavior in OBX mice. The number of OBX mother's pups significantly decreased per day. The causes were suggested that OBX disrupted both the onset of maternal behavior and reward function. Furthermore, the behavioral data demonstrated that the disruption of maternal behavior in OBX mothers is related to depressed dopaminergic function in the central nervous system induced by OBX. However, our findings concerning dopaminergic function suggest that the disruptions in OBX mice are not simply due to changes in tyrosine hydroxylase levels or dopamine receptor number in the nucleus accumbens.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：子ども学（子ども環境学）

科研費の分科・細目：

キーワード：うつ病、育児放棄、母性行動、ドパミン

1. 研究開始当初の背景

近年うつ病患者が増加の一途をたどっており、それによる多大な社会的、経済的損失から大きな社会問題となっている。うつ病の

罹患率には性差が存在しており、女性のほうが男性よりも2倍ほど患者数が多いことが知られている。その一因として女性ホルモンの関与があり、特に妊娠や出産といったホルモ

ンのバランスが激しく崩れるような時期にはうつ病になりやすく、母親の育児放棄や実子殺害などの原因の1つとなっている。実際に、実子殺害に至った母親は高確率で精神疾患を患っていることが明らかとなっており、その中でうつ病が占める割合は2割から3割ほどであることが報告されている。しかしながら、このようにうつ病が原因となって実子殺害が起こっているにもかかわらず、このことに焦点を当てた動物実験は少ない。

嗅球摘出 (olfactory bulbectomy: OBX) を施したげっ歯類は、うつ病患者と類似した内分泌、免疫、神経系における変化を示すことが知られており、うつ病モデル動物として広く用いられている。また、その他にも様々な異常行動が現れることが報告されており、興味深いことに OBX を施された母親マウスは母性行動障害を示す。母性行動には、授乳を指す養育行動や、ケージの中に散らばってしまった子を巣の中へ回収する回収行動、巣作り行動、子の体をなめて排尿を促す licking 行動などがあり、これらの行動には中脳辺縁系のドーパミン (DA) 作動性神経系が深く関与していることが多数報告されている。例えば、中脳辺縁系に DA 作動性神経を投射している腹側被蓋野 (ventral tegmental area: VTA) の高周波や神経毒の局所投与による破壊は母性行動を障害する。さらに、側坐核 (nucleus accumbens: NAc)、特に被殻への DA 受容体アンタゴニストの投与によっても母性行動が障害されることが報告されている。また、出産後の母親ラットが子と触れ合うことにより、母親の NAc における DA の放出量が増加するという報告からも、DA 作動性神経系の関与が強く示唆される。元来、中脳辺縁系の DA 作動性神経系は報酬機能を司っている神経回路であり、うつ病患者においてよく見られる無快感症に関与している。OBX ラットにおいて報酬機能が低下しているという報告があり、OBX マウスにおいても報酬機能が低下している可能性があることから、これが母性行動障害の一因となっていることが考えられる。しかしながら、うつ病の病態モデルである OBX 動物における母性行動の変化および DA 作動性神経系との関連性についてはほとんど報告されていない。さらに、OBX 動物における行動実験はオスを用いて行われたものがほとんどであり、うつ病という疾患が女性に多いことを考慮した場合、メスを用いて行う研究はその病態の解明並びに治療方法の確立に極めて有用であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では OBX がマウスの母性行動に与える影響を調べるために母性行動を詳細に観察し、sucrose preference test によって報

酬機能を評価した。また、母性行動に深く関与している脳内 DA 作動性神経系との関連性を調べる目的で、母性行動に対する DA 受容体アンタゴニストの効果および免疫組織化学的手法を用いた DA 作動性神経機能の評価を行った。

3. 研究の方法

実験には8週齢の ddY 系雌性マウスを使用し、交配には同系統かつ同週齢の雄性マウスを用いた。OBX 法は、麻酔後にマウスを脳定位装置に固定し、吸引によって嗅球

(olfactory bulb: OB) の2/3以上を摘出した後、摘出箇所を spongel を埋め込み実験に供した。OBX 時の手術による影響の有無を検討するために、脳に傷をつけないように穴を開け、OB は摘出せずに spongel で穴を塞いだだけのマウスを対照群 (sham control) とした。Sucrose preference は、手術の2週間後と出産後0日目 (postnatal day 0: PND0) に水道水と1% sucrose 溶液の24時間の消費量を測定し算出した。母性行動は、mother off pups、licking and grooming および arched back posture の3つに分け、PND0 および PND4 に75分間測定した。NAc における DA 受容体の測定にはオートラジオグラフィを、tyrosine hydroxylase (TH) の測定には顕微測光解析装置を用いた。

4. 研究成果

最初に、著者は OBX を施すことによってマウスの母性行動が障害されるかどうかの確認を行った。その結果、全ての sham 群の母親は子が発育するのに十分な母性行動を行っていたが、OBX 群のマウス11匹中2匹が cannibalism (食殺) 行動を示し、4匹が育児放棄をしたために、OBX マウスの子の生存率は経目的に減少していた。次に PND0 および PND4 におけるマウスの母性行動を3つに分けて観察したところ、PND0 において、OBX マウスは mother off pups の累積時間の有意な増加と、licking and grooming および arched back posture の累積時間の有意な低下を示した (図1)。

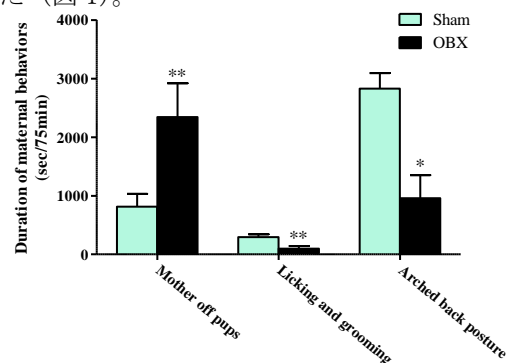


図1. 出産後0日目における嗅球摘出マウスの母性行動変化

一方 PND4 においては、両群間の各母性行動に有意な差は見られなかったが、PND0 のときと同様の傾向を示した。この OBX マウスにおける母性行動の変化から、積極的に授乳や licking を行なって子を育てようとする母親としての本能が OBX により消失ないし減弱してしまったと考えられる。

中脳辺縁系の DA 作動性神経回路は報酬機能を司っていることが知られており、その機能不全は母性行動障害を招くことが知られている。そこで著者は、報酬機能を評価するために sucrose preference test を行った。その結果、手術の 2 週間後および PND0 の両方において OBX マウスにおける sucrose preference が減少していることが観察され、OBX マウスの報酬機能が低下している可能性が示唆された (図 2)。

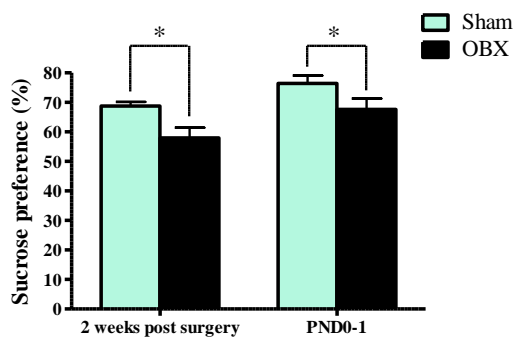


図 2. 嗅球摘出 2 週間後(左)及び出産 24 時間以内(右)の報酬機能変化

OBX による直接的な影響として、嗅覚の中樞である OB を摘出していることから、無嗅覚症あるいは嗅覚閾値の上昇が母性行動障害に関与している可能性がある。しかしながら、臭いを受容する組織である嗅上皮を破壊したラットにおいて見られる母性行動障害は OBX ラットの母性行動障害よりも軽度であることが報告されており、OBX 動物の母性行動障害には、嗅覚の欠如だけでなくそれ以外の因子も関わっていることを示唆している。そこで考えられるのは、OBX による嗅覚障害と、副次的に起こる様々な脳神経系、特に中脳辺縁系 DA 作動性神経回路における変化の両方が複合的に母性行動障害に関与しているということである。そこで著者は、DA 作動性神経系の刺激が OBX マウスの母性行動障害に与える影響を検討するために、非選択的 DA 受容体アゴニストである apomorphine および DA の前駆物質である L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) の効果について検討した。その結果、apomorphine は 0.25 mg/kg、L-DOPA においては 25 mg/kg の用量で、OBX マウスにおける母性行動障害が有意に改善した。これらの結果は、母性行動障害の改善には脳内 DA 作動性

神経系の活性化が重要であることを示しており、DA 作動性神経系の機能低下が OBX マウスの母性行動障害に関与している可能性を示唆している。

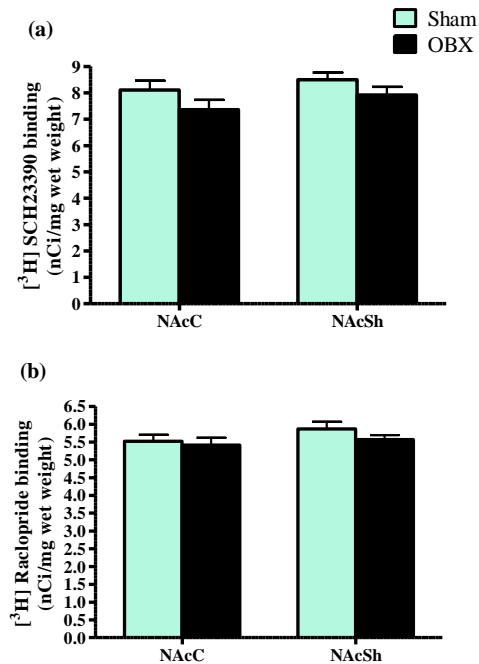


図 3. 出産後の嗅球摘出マウスの側坐核における D₁(a)及び D₂受容体(b)密度変化

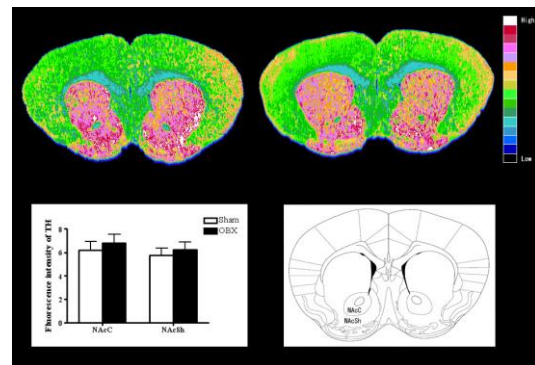


図 4. 嗅球摘出マウスの側坐核におけるチロシン水酸化酵素 (TH) レベルの変化: 上段左; コントロール, 上段右; 出産後の嗅球摘出マウス, 下段左; TH 蛍光強度の数値化, 下段右; 脳地図

次に脳内 DA 作動性神経機能の変化を探るために、NAc における DA 受容体と DA の生合成過程における律速酵素である TH の発現レベルを、それぞれオートラジオグラフィと顕微測光装置を用いて測定した。その結果、NAc における D₁受容体、D₂受容体 (図 3) および TH の発現量(図 4)において有意な変化は見られなかった。これらの結果は、OBX マウスの NAc において DA 受容体と TH が正常なレベルで発現していることを示唆しているが、本研究で用いた手法ではそれぞれの機能や

活性についてまでは明らかにすることができないため、DA 受容体の機能や TH の活性が変化している可能性がある。例えば、DA 受容体の下流の細胞内情報伝達系における変化が考えられる。現在、著者は DA 受容体の下流の情報伝達物質である DARPP-32 (dopamine and cAMP regulated neuronal phosphoprotein of 32 kDa)に着目し、western blotting 法を用いて検討を加えている。TH においては、TH のリン酸化による活性化に関わっている Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II および protein kinase C のリン酸化が、OBX マウスにおいて減少していることが報告されており、TH の活性が低下している可能性を示唆している。また、NAc の DA 作動性神経シナプス間隙への DA の放出量の変化も母性行動に影響を与える重要なファクターであることから、NAc におけるマイクロダイアリシス法による DA の放出量の測定も興味深い実験の1つである。

上記の NAc の DA 作動性神経機能の他に考えられる母性行動障害の原因としては、NAc 以外の脳部位における変化が考えられる。特に著者が注目しているのは母性行動の中核と言われている MPOA である。MPOA はホルモンや子からの刺激によって活性化されることが知られているため、無嗅覚症やホルモン類の変化が発現している OBX マウスの MPOA の活性化は不十分である可能性がある。現在、MPOA における神経細胞の活性の指標とされている Fos の発現量についても検討中である。

以上の結果を要約すると、OBX マウスにおいて母性行動の障害が PND0 に観察され、これは非選択的 DA 受容体アゴニストである apomorphine および DA の前駆物質である L-DOPA の投与によって改善した。また、OBX マウスにおける sucrose preference の値が低下しており、報酬機能障害が確認されたことから、母性行動障害の原因として中脳辺縁系の DA 作動性神経系の機能低下が示唆された。以上のことから、うつ病を発症した母親による育児放棄や実子殺害に対する薬物療法として、DA 作動性神経系を賦活ないしコントロールするような薬物の有効性が今後期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

- ① Atsushi Sato, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No, Hiroshi Onogi, Fukie Nijijima, Takeshi Tadano, Effect of non-selective dopaminergic receptor agonist on disrupted maternal behavior in olfactory bulbectomized mice, *Behav. Brain Res.*, 査読有, 210 巻, 2010, 251-256
- ② Atsushi Sato, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No, Hiroshi Onogi, Fukie

Nijijima, Takeshi Tadano, Influence of olfactory bulbectomy on maternal behavior and dopaminergic function in nucleus accumbens in mice, *Behav. Brain Res.*, 査読有, 215 巻, 2010, 141-145

- ③ Shoko Sato, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No, Fukie Nijijima, Tsuneyuki Suzuki, Takeshi Tadano, Executive functions of postweaning protein malnutrition in mice, *Biol Pharm Bull*, 査読有, 34 巻, 2011, 1413-1417

〔学会発表〕(計9件)

- ① 佐藤 敦, 中川西 修, 小野木 弘志, 新島 富紀枝, 丹野 孝一, 只野 武, 嗅球摘出マウスにおける母性行動障害と報酬機能の変化、第 19 回神経行動薬理若手研究者の集い、平成 22 年 3 月 15 日、岡山
- ② 佐藤 敦, 中川西 修, 小野木 弘志, 中谷 孝太, 望月 成美, 新島 富紀枝, 丹野 孝一, 只野 武, 嗅球摘出マウスの母性行動と報酬機能におけるドパミン神経系の関与、第 14 回神経科学領域における分子モニタリングシンポジウム、平成 22 年 6 月 4 日、静岡
- ③ 中川西 修, 精神神経疾患の発症機序解明の為のモデル動物作製、日本薬学会東北支部第 9 回医療系薬学若手研究者セミナー、平成 22 年 9 月 18 日、仙台
- ④ 中川西 修, 佐藤 敦, 小野木 弘志, 中谷 孝太, 望月 成美, 新島 富紀枝, 丹野 孝一, 只野 武, うつ病が報酬機能や母性行動に与える影響—モデル動物を用いた検討—、第 12 回応用薬理シンポジウム、平成 22 年 9 月 19 日、横浜
- ⑤ 中川西 修, 精神疾患解明を目指した動物モデルの作製、平成 23 年度日本薬学会東北支部総会・学術講演会、平成 23 年 7 月 16 日、仙台
- ⑥ 中川西 修, 佐藤 敦, 小野木 弘志, 八坂 富紀枝, 丹野 孝一, 只野 武, うつ病モデル動物の母性行動について、第 15 回活性化アミンに関するワークショップ、平成 23 年 8 月 11 日、徳島
- ⑦ 只野 武, 中川西 修, 師尾 仁, 金森 正剛, 新島 富紀枝, 丹野 孝一, 記憶・学習障害の発現メカニズムの解明とその予防薬、第 18 回日本未病システム学会、平成 23 年 11 月 19 日、名古屋
- ⑧ Osamu Nakagawasai, Atsushi Sato, Hiroshi Onogi, Yuichiro Arai, Fukie Yaoyita, Tsuneaki Kikuchi, Koichi Tan-No, Takeshi Tadano, Maternal behavior and dopaminergic function in a model of depression, NRF-JSPS Asian Science Seminar 2012, 平成 24 年 2 月 13 日-17 日、韓国
- ⑨ 中川西 修, 精神神経疾患の発症機序解明の為のモデル動物作製、第 190 回つくばブレ

インサイエンス、平成 24 年 2 月 28 日、つくば

[その他]

ホームページ等

<http://www.tohoku-pharm.ac.jp/laboratory/yakuri/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

只野 武 (TADANO TAKESHI)

東北薬科大学・薬学部・名誉教授

研究者番号：80104082

(2) 研究分担者

中川西 修 (NAKAGAWASAI OSAMU)

東北薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：50296018

(3) 連携研究者

荒井 裕一郎 (ARAI YUICHIRO)

東京有明医療大学

研究者番号：50057361