

立教大学学術推進特別重点資金 (立教 S F R)
 大学院生研究
 2013年度研究成果報告書

研究科名	立教大学大学院 コミュニティ福祉学 研究科 コミュニティ福祉学 専攻		
研究代表者	在籍研究科・専攻・学年	氏名	
	コミュニティ福祉学研究科 博士前期課程 2年	鈴木 航太	印
指導教員	所属・職名	氏名	
	コミュニティ福祉学部 スポーツウエルネス学科 准教授	石渡 貴之	印
自然・人文・社会の別	自然 ・ <input type="checkbox"/> 人文 <input checked="" type="checkbox"/> ・ 社会	個人・共同の別	<input type="checkbox"/> 個人 <input checked="" type="checkbox"/> ・ 共同 名
研究課題名	隔離飼育・集団飼育環境下におけるラットのモノアミン作動性神経伝達物質の比較		
研究組織	在籍研究科・専攻・学年	氏名	
研究期間	2013 年度		
研究経費	(支出金額) 161 千円 / (採択金額) 200 千円		

研究の概要 (200~300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

ラット(6週齢)を用い、それらの生理指標、行動、脳内神経伝達物質が飼育環境(隔離・集団)によってどのように変化するか研究を行った。また追加実験としてより若い3週齢ラットを用い、脳内神経伝達物質(DA・NA・5-HT)の比較検討を行った。

隔離環境下で育ったラットは体温の振幅が低く、さらに行動量も少ないことがわかった。また、行動テストでは隔離ラットで攻撃性が高まった。

脳内神経伝達物質は隔離6週齢ラットで5-HTがFC, CPU, PO, CA1, DAがFC, Amy, NAがCPUの部位で有意に高く、隔離3週齢ラットではDAがCPU, PO, PVN, CA1, NAがPO, PVNの主に本能行動に関与する部位で成人モデルラットよりも顕著に有意に高かった。これらより、隔離飼育環境は脳内神経伝達物質の変動をもたらし、攻撃性を強めるなど脳内に悪影響を与える可能性が示唆された。

キーワード (研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

{ 脳内神経伝達物質 } { 環境生理 } { 隔離 }

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)**【研究背景】**

幼い頃の生活環境が、その後の身体的発達や知的発達に大きく影響を与えるということがわかっている (Rutter M, 1998)。特に乳幼児期は、脳の働きが経験や学習によって変わり易い時期であり、発達環境に対して非常にセンシティブである。動物実験において、集団飼育環境での実験モデルラットは知能が高いことが知られているが、反対に4週間隔離飼育されたラットを新しい環境下におくと、過剰活動や不安行動、攻撃性が増加するといった報告がある (O.Meng et al., 2010)。また、学習能力の低下といったことも報告されている。しかしながら、隔離及び集団飼育による生理指標や行動の違い、更には様々な部位での脳内神経伝達物質の検討はなされていない。

【研究目的】

ラットを隔離・集団飼育に分け、深部体温・心拍数・活動量がどのように変化するか観察し、さらにそれらがどのように行動に関与しているのか明らかにする。また、脳内の様々な調節に関与する主要な脳内神経伝達物質であるセロトニン (5-HT)、ドーパミン (DA)、ノルアドレナリン (NA) にどのような違いがあるのかを明らかにする。

【研究方法】

深部体温、心拍数、活動量の測定には、雄 Wistar ラット (6週齢) を4匹用い、無線式小型体温計による連続測定を行った。無線式小型体温計は、麻酔後に腹腔内に埋め込んだ。その後隔離・集団飼育に分け、12h:12hの明暗サイクル、環境温 23℃で1ヵ月間飼育した。水・餌の摂取は自由とした。1ヵ月後にオープンフィールドテスト、ソーシャルインタラクションテストを行った。脳内神経伝達物質の分析には雄 Wistar ラット (成人期6週齢) を20匹用い、隔離・集団飼育に分け、前述したものと同一環境で1ヵ月間飼育した。1ヵ月後に脳を摘出、マイクロスライサーにて 300 μ m の切片を作成し、直径 1mm の大きさで各脳内部位を取り出し、ホモジナイザーにて磨り潰した。部位は大脳新皮質 (FC)、線条体 (CPU)、視索前野 (PO)、室房核 (PVN)、視床下部腹内側核 (VMH)、視床下部背内側核 (DMH)、後視床下部 (PH)、海馬 (CA1)、扁桃体 (Amy) であった。5-HT、DA、NA は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて分析した。

【結果・考察】

深部体温は集団飼育で高く、さらに一日のリズムの振幅が大きいことが観察された。活動量は集団飼育で多いことが観察された。集団飼育ラットは動くときは動く、休むときは休むといった生活リズムが出来ていることが分かる。

オープンフィールドテストで、隔離飼育ラットは立ち上がり回数が多く、不安感が高まっていることが分かった。オープンフィールドにラットを移動させると、ラットは習性からボックスの端の方や、角にいることが多い。我々の予想では隔離飼育環境で育ったラットは経験したことのない新奇環境に置かれると警戒心から動かなかったり、中央になかなか出てこないと考えていたが、隔離飼育環境ラットの方がより出てくるような結果となった。また、ソーシャルインタラクションテストでは隔離飼育ラットで攻撃性が増加した。攻撃行為、相手に乗り上がる行為がともに隔離飼育環境ラットで高い値を示した。隔離飼育環境で育ったラットから集団飼育ラットに攻撃を仕掛けることが大半であった。また、集団飼育ラットはあまり相手のことを気にしていないようにビデオカメラから観察されたが、隔離飼育ラットは常に相手が気になるように見受けられ、相手の後ろをずっとつきまとって匂いを嗅いだり、行動を監視しているようにも見えた。隔離飼育により、攻撃性が上がるということは先行研究と一致する (Xiao et al., 2011)。本研究は6週齢の成人モデルラットを使用した。若齢期ラットでも行動テストを行い、攻撃性の変化を見るとどうなるのか非常に気になる場所である。今後の研究課題としたい。

研究成果の概要 つづき

脳内神経伝達物質 (6 週齢) は, 5-HT が FC, CPU, PO, CA1 の計 4 部位で隔離飼育環境ラットは集団飼育環境ラットよりも有意に高い値を示した. さらに DA が FC, Amy の部位, NA が CPU の部位で隔離ラットで有意に高い値を示した. 5-HT に関して, 隔離飼育ラットでは 5-HT が減少するのではないかという仮説とは異なり, 興味深い結果を得ることができた. この 6 週齢ラット (成人モデル) を用いたでは認知や情動, 活動に関与する部位で 5-HT, DA, NA が過剰に分泌した. 近年の研究では 5-HT が攻撃性に促進的に働く場合があることが報告されている (Kiser D et al., 2012). 隔離飼育による 5-HT の過剰分泌が, 躁のような精神状態をもたらし, さらに DA, NA によって攻撃的になった可能性が示唆される

さらに柳田ら (日本体力医学会大会 2013) によると, 日常の移動運動量が少ない低活動群で視床下部や前頭前野における 5-HT レベルが高活動群よりも有意に高い値を示したという. 本研究でも活動量を計測したが, 活動量の少ない隔離飼育ラットでは 5-HT 量が有意に高く, 同じような結果となった. 今後, 各部位での他の神経伝達物質とのバランスや役割の解明を行っていきたい.

さらに追加実験として 3 週齢ラット (幼少期モデル) を用い, 脳内神経伝達物質の比較検討を行った.

3 週齢ラット (幼少期モデル) では, DA が CPU, PO, PVN の計 4 部位で, 隔離飼育ラットは集団飼育ラットよりも有意に高い値を示した. さらに, NA は, PO, PVN の 2 部位で, 隔離飼育ラットは集団飼育ラットと比較して有意に高い値を示した. 3 週齢ラットを用いた本実験では HPLC の不具合により 5-HT を検出することが出来なかった.

本実験で, 幼少期モデルでは隔離飼育の場合, 本能行動に関与する部位で成人モデルラットよりもより顕著に有意に高かった. 若齢期の場合, 成人期よりもより周りの環境に対して敏感であり, 身体が闘争体勢に入っているのではないかと考えられる. 総合すると, 隔離飼育のような社会的交流が少ない環境で育つとストレスになり, それによって脳内のアンバランスが起き, モノアミンシステムに異常をきたしているのではないだろうか. またさらに, 離乳後 49 日目 (7 週齢) から 77 日目 (11 週齢) など, 隔離飼育の開始を本実験より少し遅らせても, 大脳新皮質や側坐核での DA 量に違いは見られないという (Brenes & Fornaguera, 2009) 先行研究と本実験結果を合わせると, モノアミンシステムの確立には生後 21 日目当たりの飼育環境が重要な役割を担っていると考えられる. ラットの生後 21 日目というのは人間の年齢でいうと 2~4 歳であり, このような時期の生活環境が大切だと言える.

本研究で, 隔離飼育によって体温振幅の低下・攻撃性の増加・脳内神経伝達物質の乱れが引き起こされるということがわかった. 5-HT, DA, NA の増加によって急性のストレスに敏感な状態になり, それが行動テストで明らかとなった攻撃性につながったのではないかと考えられる.

今後の研究課題として, 同じ 1 ヶ月間の隔離飼育の開始時期をさらに早く, 本実験の 3 週齢よりもより若い週齢の時期に行ったり, より高齢のラットを用いたりすることで, 脳内神経の発達段階における重要な時期を見つけ出すことが出来るかもしれない.

孤独は時には必要であり, 社会や周りの人間との煩わしい関係から解放される時間かも知れない. しかし我々人間は支え合って生きていくもので, 触れ合ったり, 分かち合ったり, 話し合える相手を持つことが『ウエルネス』という, 人生を豊かにしてくれる一つの喜びにつながるのではないかと私は考える.

研究発表 (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

○第67回日本体力医学会大会 (2012年9月14・15・16日), 長良川国際会議場・岐阜都ホテル

・「飼育環境によるラットの脳内神経伝達物質の比較」

鈴木航太, 二宮千紗, 満石寿, 柳田信也, 長谷川博, 石渡貴之

○第90回日本生理学会大会 (2013年3月27・28・29日), タワーホール船堀

・「様々な環境条件におけるラットの視床下部領域のモノアミン作動性神経伝達物質の比較」

石渡貴之, 鈴木航太, 二宮千紗, 柳田信也, 長谷川博

○第68回日本体力医学会大会 (2013年9月21・22・23日), 日本教育会館・共立講堂

・「若齢期の飼育環境が脳内神経伝達物質に与える影響」

鈴木航太, 松村健, 二宮千紗, 中川晃, 柳田信也, 長谷川博, 石渡貴之

・「暑熱順化に伴う視床下部領域の脳内神経伝達物質の変動」

石渡貴之, 鈴木航太, 二宮千紗, 松村健, 中川晃, 柳田信也, 長谷川博

・「照明環境が脳内神経伝達物質に及ぼす影響」

松村健, 鈴木航太, 二宮千紗, 松村健, 中川晃, 柳田信也, 長谷川博, 石渡貴之

・「ラットにおける移動運動量の個体差と脳内モノアミンレベルの関係性」

○柳田信也, 久保田夏子, 落合紘子, 高野由莉香, 鈴木航太, 石渡貴之, 武田健

・「暑熱順化に伴う脳内運動関連領域の神経伝達物質の変動」

中川晃, 鈴木航太, 二宮千紗, 中川晃, 柳田信也, 長谷川博, 石渡貴之

○Neuroscience2013 (2013年11月9日), 米国 San Diego Convention Center

・「Comparison of monoaminergic neurotransmitters in rats in isolation or group breeding environments」

Kota Suzuki, Takeru Matsumura, Hikaru Nakagawa, Chisa Ninomiya, Shinya Yanagita, Hiroshi Hasegawa, Takayuki Ishiwata