

令和 2 年 7 月 4 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19891

研究課題名（和文）加齢に伴う社会的関わりの変容がこころの健康に及ぼす影響についての萌芽研究

研究課題名（英文）Innovative Study on Quality of Social Interaction and Mental Health in Aging

研究代表者

小川 園子（OGAWA, Sonoko）

筑波大学・人間系・教授

研究者番号：50396610

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、他個体との関わりが多寡が、社会性の維持や、認知、不安・抑うつ傾向に及ぼす影響について明らかにすることであった。4匹のマウスを1匹ずつ通常環境で生活させつつ、一定時間のみ他のマウスとの対面接触を経験をさせることのできる行動実験装置、「4+1ドミトリー型行動測定装置」を新たに開発した。この装置で飼育し、異なるレベルの社会的経験をさせた高齢雌マウスの行動特性の解析を行った。その結果、社会的隔離された個体は、社会的経験の豊富な個体と比べて、多動で広い空間を避ける傾向があること、初めて出会う同性のマウスに対して長時間、しつこく探索を繰り返すことなどの行動特性を示すことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々人間は、常に他者との関わりの中に生きており、超高齢化の進行する状況下においては、社会性の維持こそが、QOLの向上に繋がることは明白である。Social Interactionが高齢者における認知機能の減弱を抑制あるいは改善する可能性を示唆する知見は、数多く報告されている。しかし、これらを実証的に示し、その脳内基盤を解明するために必要な解析法、動物行動実験モデルは存在していない。本研究では、他個体との関わりが多寡が、他個体との間に築く社会性の維持や、個体の認知、不安・抑うつ傾向に及ぼす影響の解析を可能にする「4+1ドミトリーテスト装置」を新たに開発し、信頼性の高い行動解析法を確立できた。

研究成果の概要（英文）：The main purpose of this study was to determine the effects of levels of social interaction on the maintenance of normal social relationship, cognitive function, as well as anxiety and depressive tendency. We have newly developed the “4+1 dormitory-style behavioral testing apparatus”, in which four mice are housed individually in each home cage and allowed to interact with other mice based on the schedule set by the experimenter. We analyzed behavioral characteristic of aged female mice, which were experienced different levels of social interaction while housed in this apparatus. We found that socially isolated mice tended to be more active but avoid fearful open area, and show persistent investigation against a stranger mouse, compared to mice given rich social experience.

研究分野：行動神経内分泌学

キーワード：社会的探索行動 個体識別 社会的認知 不安・抑うつ傾向 社会的環境条件

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究室ではこれまで一貫して、個体の一生を通して各発達段階に応じて変動するホルモンレベルとそれに呼応する脳内ホルモン受容体の発現に着目し、様々な機能・表現型を持つ社会行動の発現を制御する脳内機構の解析を実験室マウス用いて進めてきた。その中心は、社会行動発現の基盤となる脳組織の構築を決定づける周生期や思春期での性ステロイドホルモンの働き(形成作用)や、成熟後に社会行動神経回路の活動レベルを制御するホルモン作用(活性作用)の分子機構の解析にあった。しかしながら、個体の一生を通して働くホルモンの作用を考えれば、程度の差こそあれ、雌雄の両性においてホルモンのレベル、特に性ステロイドホルモンの働きに大きな変化が生じる更年期、老年期を無視することはできない。すなわち、加齢によるホルモンレベルの変化やそれに伴う様々な神経化学的、神経組織学的な変化が、社会行動の発現に影響を及ぼし、社会的関わり(Social Interaction)が量的・質的に変容していることが考えられる。我々人間は、常に他者との関係性の中に生きており、現代社会における「こころ」の健康の問題の多くは、まさにその関係性の問題であると言える。特に、超高齢化の進行する状況下においては、社会性の維持こそが、QOLの向上に繋がることは明白である。Social Interactionが、高齢者における認知機能の減弱を抑制あるいは改善する可能性を示唆する知見は、これまでに数多く報告されている。しかし、social enrichmentやsocial isolationが、加齢に伴う認知機能、不安や抑うつ傾向などの変化に及ぼす影響についての分析的研究や、その脳内機構に関する行動神経科学研究はその端緒にすぎたばかりである。その背景には、これらの課題を実証的に解析する具体的な方法、特に、動物行動実験モデルが存在していないことが挙げられる。そこで本研究では、更年期、老年期において高いレベルのSocial Interactionを維持することが、精神的機能の促進に繋がることを示す基礎データの蓄積に寄与する信頼性の高い社会行動解析法を確立することを目指した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、他個体との関わりのレベルと認知、不安・抑うつ傾向との関係を明らかにする動物実験モデルを新たに開発し、加齢に伴う行動変容とその改善の脳内分子機構を解析する研究領域の基盤を開拓・確立することであった。具体的には、(目的1)通常の飼育環境に近い状況下で、複数個体間での社会性行動を測定することのできる行動テスト装置を新たに開発すること、(目的2)各個体の社会的環境条件(他個体との接触時間)を実験者が自由に操作した上で、接触時間の多寡と個体の行動との関係を明らかにする行動テストプロトコルを確立すること、に沿って研究を進めた。

3. 研究の方法

(目的1)4+1ドミトリー型行動測定装置の開発と妥当性の検証

● **装置の構造**: 研究代表者小川の研究室で開発した長期的 Social Interaction 測定装置 (Tsuda & Ogawa, PLoS One, 2012) を改良し、通常の飼育環境に近い状況下で、4匹のマウスの個体間での社会性行動を測定する装置 (Fig. 1; 4+1ドミトリー型行動測定装置) を作製した。中央エリア(40cm x 40cm)の4隅にトンネル状の通路で4つの小ケージ A, B, C, D (各 15cm x 8cm) を繋ぎ、各々、マウス A, B, C, D のホームケージとした。各ホームケージには、餌箱、水瓶を設置し、餌・水を自由に摂取できるようにした。また、各ホームケージと中央エ

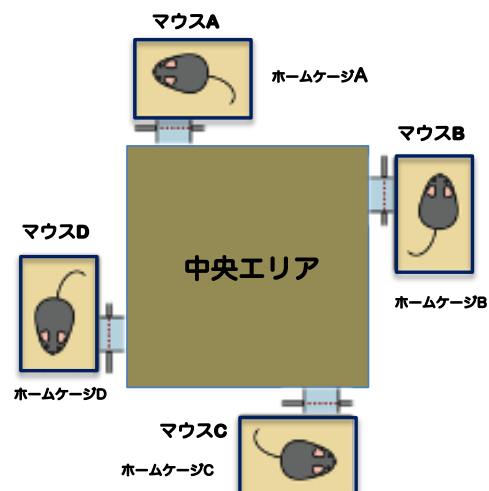


Fig. 1 4+1ドミトリー型社会行動測定装置

リアとを繋ぐ通路には、スライド式の不透明なドアをはめ込むことにより、マウスの通行を実験者がコントロールできる構造とした。また、中央エリアの壁は不透明な白色プラスチック、各ホームケージの周囲は、黒色のカードボードで囲むことにより、中央エリアでの対面接触時間(下記参照)以外は、他個体からの視覚情報を完全に遮断した。ケージの底面から約 50cm 上方にパネル型 LED 照明を取り付け、On-Off タイマーにより、明暗サイクルをコントロールした。装置全体を周囲に暗幕を張ったラック内に設置した。

- 装置の有効性の検討: 上記の装置を用いて、実験者が自由に社会的経験条件を操作できるかを検証した。各ホームケージと中央エリアとを繋ぐ通路にはめ込んだステンレス製のドアを開いてマウスを中央区画に移動させた後、ドアを閉めることにより、中央エリア内で一定時間、他個体との対面接触 (free social interaction) 経験をさせた。対面接触時間終了後には、各々のマウスを自身のホームケージに誘導し通路のドアを閉じた。実験期間中の対面接触経験の頻度、1 日あたりの時間、同時に中央エリアに滞在させる個体の匹数(4 匹すべて、あるいは特定の 2 匹など)や組み合わせなどのパラメーターを目的に応じて設定の上、予備実験を行った。対面接触時間中は、中央区画の床に白色プラスチックシートを置いた上に床敷を撒き、終了後に全て取り除き、シート及び中央区画の内側の壁は 70%エタノールで洗浄した。
- 中央エリア内での個体間、個体内行動の分析法の確立: ケージの底面から約 50cm 上方に設置した高感度 CCD カメラで撮影した中央エリアの映像を PC に取り込み、off-line で行動解析を行った。実験者がデジタルイベントレコーダーを用いて記録を行う方法に加え、自動解析プログラムを使用した解析法を試みた。

(目的2)4⁺1ドミトリー型行動測定装置を用いた行動実験: 他個体との接触時間の多寡が社会性不安や情動性に及ぼす影響の検討

- 対面接触時間の操作: 実験開始時に 42-47 週齢の C57BL/6J の雌マウスを用い、4 匹ずつを1グループとして実験を行った。各ホームケージでの飼育を開始し、10-20 日後から、2 週間にわたり対角のホームケージのマウス 2 匹(A と C または B と D)は、暗期(夜行性動物であるマウスの活動期)に毎日 2 時間ずつ、計 9 回、中央区画での対面接触を経験させた(enrichment 群)。一方、残りのホームケージのマウス(B と D または A と C)は、この期間中、常時、ホームケージで飼育し、22-30 日後に 1 回のみ中央区画で 2 時間の対面接触を経験させた(isolation 群)。
- 行動解析: 記録映像を基に、対面接触時間中の 2 匹のマウスの行動軌跡の解析を行った。
- 情動性および社会性不安についての行動テスト: 対面接触経験期間終了後、3 日目に、オープンフィールドテスト(OFT)を、その 4 日及び 8 日後に 2 回、未知の他個体に対する社会的探索行動テスト(SIT)を行った。すべての行動テストは、暗期開始後から 2-5 時間に行った。OFT は低照明下で 30 分の測定を行い、装置内での移動軌跡、総移動距離、中央区画での累積移動距離と累積滞在時間などを記録した。SIT では、一匹ずつ、別々に、中央エリア内で行うことにより、飼育環境に近い状況下での情動性や社会性不安の測定を試みた。中央エリアに透明アクリル製の筒(下部 1/3 に直径 7mm の穴多数)を空のまま提示した状態で、当該のテストマウスのケージが繋がったスライド式ドアを開けて、5 分間のベースライン記録ののち、同性(卵巣を除去した雌)の刺激個体を入れた筒に入れ替えてさらに 10 分間の行動測定を行った。社会的探索行動 (social sniffing の潜時、頻度や持続時間)と社会的不安行動(stretched approach, freezing at the corner の潜時、頻度や持続時間)を記録した。

4. 研究成果

(目的1) 4⁺ドミトリー型行動測定装置の有効性

- いくつかの予備観察の結果、新たに開発・作製した 4⁺ドミトリー型行動測定装置を用いることにより、ホームケージでの飼育環境を乱すことなく、長期間にわたりマウスの社会的経験条件を操作することが可能であることが確かめられた。本研究では、加齢マウスを用いた解析を行ったが、他個体との接触時間の多寡が、思春期から成体期にかけての行動発達や、妊娠・出産後期のマウスの行動変化に及ぼす影響の分析などへの、適用範囲の拡大が期待される結果が得られたと言える。
- 中央エリア対面接触時の個体間、個体内行動の自動解析、特に、個体識別については、さらに完成度を高める必要があると判断された。また、本研究では、各ホームケージ内のマウスの活動性やその日内変化などについては、分析の対象としなかったが、今後は、これらについても、自動解析を行うシステムを導入することが必要であると言える。

(目的2) 他個体との接触時間の多寡が社会性不安や情動性に及ぼす影響

- オープンフィールドテスト(OFT)の結果、統計的に有意な差はなかったものの、enrichment 群に比べて、isolation 群のマウスは、総移動距離は長い、中央区画での移動距離や滞在時間は短いこと傾向があることがわかった。この結果から、他個体との対面接触の時間が制限されることにより、多動性と情動性が高まる可能性が示唆される。
- 社会的探索行動テスト(SIT)の結果、我々の予測とは逆に、enrichment 群に比べ、isolation 群では、社会的探索行動の指標である social sniffing の潜時が短く、持続時間が長いことがわかった。さらに、社会的不安の指標である stretched approach の持続時間は、isolation 群の方が短いこともわかった。これらの結果は、加齢雌マウスでは、同一の同性他個体との対面接触経験を重ねることにより、未知の他個体への社会的関心が抑制され、社会性不安が高まることを示唆する。一方、isolation 群では、SIT の3日前に1回のみ経験した他個体との対面接触の影響が SIT 時にも持続し、中央エリア内で提示される社会的刺激に対して高レベルの関心を示した可能性がある。
- 本研究では、42-47 週齢で 4⁺ドミトリー型行動測定装置のホームケージでの飼育が開始されるまで、長期間、通常のケージで集団飼育されていたマウスを用いた。加齢マウスを対象とした解析において、このような集団飼育経験が混交要因となっている可能性もあり、今後の検討が必要であると言える。

		Enrichment Group (N=8)	Isolation Group (N=8)
Social Investigation Latency (sec)	Test 1	23.61± 7.43	14.08± 4.07
	Test 2	15.65± 6.31	12.27± 2.91
Social Investigation Duration (sec)	Test 1	11.76± 2.33	50.76±11.99*
	Test 2	33.56±16.46	56.29±19.76
Stretched Approach Duration (sec)	Test 1	6.16± 1.28	3.70± 1.20
	Test 2	3.11± 0.77	1.75± 0.55

*: p<0.01 vs Social Enrichment

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Le Moene O, Stavarache M, Ogawa S, Musatov S, Agmo A.	4. 巻 367
2. 論文標題 strogen receptors a and b in the central amygdala and the ventromedial nucleus of the hypothalamus: Sociosexual behaviors, fear and arousal in female rats during emotionally challenging events.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 128-142
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbr.2019.03.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ogawa, S., Tsukahara, S., Choleris, E., and Vasudevan, N.	4. 巻 Oct 27
2. 論文標題 Estrogenic regulation of social behavior and sexually dimorphic brain formation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience and Biobehavioral Reviews	6. 最初と最後の頁 pii: S0149-7634
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neubiorev.2018.10.012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 小川園子	4. 巻 60
2. 論文標題 社会性の行動神経内分泌基盤	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tsuda MC, Nagata K, Sagoshi S, Ogawa S.	4. 巻 13
2. 論文標題 Estrogen and oxytocin involvement in social preference in male mice: A study using a novel long-term social preference paradigm with aromatase, estrogen receptor-alpha and beta;, oxytocin, and oxytocin receptor knockout male mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Integrative Zoology	6. 最初と最後の頁 698-710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1749-4877.12343	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Ogawa, S.
2. 発表標題 Neuroendocrine Regulation of Neural Networks for Social Behavior.
3. 学会等名 The 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ogawa S.
2. 発表標題 Mechanisms of Steroid Hormone Action on the Neural Network for Social Behavior
3. 学会等名 The 9th International Symposium of Integrative Zoology, Symposium on "Neurobiology of Motivated Behaviours" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ogawa S, Sano K, Tsukahara S.
2. 発表標題 Life-long hormonal and experiential influences on social brain
3. 学会等名 The International Behavioral Neuroscience Society 2017, Symposium on "Advances in Behavioral Neuroscience in Japan and Diversity of DAergic Regulation" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ogawa S.
2. 発表標題 Life-long action of steroid hormones on the neural networks for the regulation of sex-typical social behavior.
3. 学会等名 IBRO(International Brain Research Organization) 2019. Symposium on Hypothalamic Control of Social Behavior. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ogawa S.
2. 発表標題 Life-long action of steroid hormones and social experience on the neural networks of social behavior.
3. 学会等名 The 3rd Sino-Japan Symposium on the Frontier of Behavioral Neuroendocrinology. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ogawa S.
2. 発表標題 Estrogen action on neural network of social behavior in mice.
3. 学会等名 The International Behavioral Neuroscience Society 2017, Symposium on "Advances in Behavioral Neuroscience in Japan and Diversity of DAergic Regulation" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

筑波大学人間系行動神経内分泌学研究室 http://www.kansei.tsukuba.ac.jp/~ogawalab/ Laboratory for Behavioral Neuroendocrinology http://www.kansei.tsukuba.ac.jp/~ogawalab/?lang=en

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