

氏名(本籍)	堀 美代 (茨城県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	博甲第6521号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Positive Affective State Alters Behaviors and Gene Expression in Post-Weaning Isolated Rats (陽性感情は離乳後に隔離飼育されたラットの行動や遺伝子発現に作用する)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学講師 博士(学術) 加香孝一郎
副査	筑波大学准教授 博士(獣医学) 杉山文博
副査	筑波大学教授 博士(医学) 一谷幸男
副査	筑波大学教授 博士(農学) 谷本啓司

論文の内容の要旨

ラットにおいては、離乳後から成体期への移行期は、脳内システムがその発達段階に応じて動的に形成される重要な時期である。刺激への感受性が高いこの時期の仔ラットは、ストレスへの暴露によって、学習、記憶や情動障害が引き起こされ、社会隔離飼育のような環境要因もストレス脆弱性の形成に関与する。一方、この時期には、遊びなど他個体との相互作用も、脳内システムや社会性の発達、学習能力の獲得に深く関与することが報告されている。著者は仔ラットどうしの「遊び」(rough and tumble play)をモデルにした tickling 刺激を用いて、社会隔離飼育により引き起こされるストレス脆弱性に対する快情動の作用を解明することを目的とし、行動学および分子生物学的手法を用いて解析に取り組んだ。

中脳ドーパミン神経系は、脳内報酬系において重要な役割を担っている。アンフェタミンなどのドーパミン作動薬が側坐核のドーパミン受容体に作用し、快情動(50kHz 音声)を誘発することがこれまでの研究で明らかになっていたが、tickling 刺激によるドーパミン分泌と音声表出の関係性は不明であった。著者の研究では、側坐核のドーパミン分泌量をマイクロダイアリシス法により測定し、tickling 刺激が50kHz 音声の表出とともにドーパミンの分泌を促し、その分泌や音声表出は、側坐核へのドーパミン受容体遮断薬の前投与により阻害されることを実証した。

次に、幼若期の社会隔離飼育により生じるストレス脆弱性に対する tickling の効果を検証した。音刺激と foot-shock を対提示した恐怖条件づけにおいて、Fischer 雄ラットは個別飼育期間中に継続的な tickling 刺激を与えられることにより、個別飼育ストレスで阻害された消去過程を促進される可能性が示唆された。更に、条件づけ時のストレス応答性を解析し、tickling 群のラットでは foot-shock の感受性の低下は認められないものの、恐怖条件づけ20分後の血中アドレナリン・ノルアドレナリン濃度が低く、自律神経反応に対して強い抑制を示すことを見出した。また、個別飼育で増加した心筋の α アドレナリン受容体の遺伝子発現は、tickling 刺激によって集団飼育群と同程度まで減少した。更に、成体時(生後95日)に実施したモリス水迷路学習課題において、個別飼育群は場所学習訓練における3日目の平均逃避潜時が長く、場所学習の障害が

示唆されたが、tickling 刺激はこの遅延を抑制した。これらのことから、離乳後の社会隔離飼育ストレスにより引き起こされる脆弱性（変化）に対して、tickling 処理が有効に作用することが確認された。

最後に、快刺激がストレスの受容器官にどのように作用するかを解明する手がかりとして、Wistar 雄ラットの視床下部と顎下腺の遺伝子発現を解析した。視床下部では、tickling 刺激が摂食調節関連遺伝子（Galp、Pomc、Pmch、Agrp、Hcrt、Npy、Cart）や快情動関連の遺伝子（Slc6a3、Hdc、Th）を発現増加させることを見出した。また、顎下腺では、18 種類のカリクレイン（Klk）ファミリー中 7 種類の遺伝子の発現増加と α アミラーゼ遺伝子の発現減少が見られた。特に、Klk7 は蛋白質レベルにおいても導管細胞で増加することを確認した。

以上の研究結果は、仔ラットにおける tickling 刺激が、脳内ネットワークに作用し行動や分子基盤の変容に関わることや、この時期における遊びのような快刺激が、社会隔離飼育によって引き起こされるストレス脆弱性（変化）の軽減に有効に作用する可能性を示唆した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において第二章で見出した知見は、tickling 刺激が脳内報酬系に作用し、50kHz 音声の表出とともに側坐核のドーパミンの放出を促進する事実を示しただけでなく、その放出がドーパミン受容体遮断薬によって確実に阻害することも確認している。この結果は、ドーパミン作動薬などの薬理学的手法で検証されていた仮説を、正常状態での成体の応答として初めて捉え、快情動の音声表出と側坐核ドーパミン分泌の関連性を実証したものである。また、第三、四章においては、幼若期を通して快情動を惹起されることにより、恐怖条件づけの恐怖反応や自律神経系の応答を抑制する事実や消去やモリス水迷路課題の学習にも有効に作用することを示した。第四、五章では、快刺激によりストレス応答に関わる中枢や末梢の器官が応答し、遺伝子や蛋白発現が変化する事実を示している。これまでの研究で、離乳後の隔離飼育によって、脳神経系や社会性の発達に対する弊害が生じることが報告されているが、本研究を発展させるとことにより、幼若期のストレス応答機序の解明や、有効なストレス対処法の開発の手段となりうる可能性が示唆され、今後の研究の更なる発展が期待される。

平成 25 年 1 月 22 日、学位論文審査委員会において、審査員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。