

# Effects of postnatal brief maternal separation on the development of brain and behavior in the BALB/c mice

著者	李 海燕
内容記述	この博士論文は内容の要約のみの公開（または一部非公開）になっています
year	2018
その他のタイトル	生後発達期の短時間の母仔分離がBALB/cマウスの脳と行動の発達に与える影響
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2018
報告番号	12102甲第8789号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/00153826">http://hdl.handle.net/2241/00153826</a>

[博士論文要約]

Effects of postnatal brief maternal separation on the  
development of brain and behavior in the BALB/c mice

生後発達期の短時間の母仔分離が BALB/c マウスの  
脳と行動の発達に与える影響

平成 30 年度

李 海燕

筑波大学大学院 人間総合科学研究科

感性認知脳科学専攻

## 論文概要

ヒトを含めて哺乳類の脳と行動の発達には遺伝的要因と環境要因の相互作用の影響を受ける。生後発達期の環境要因の一つに母子関係があり、子供の脳の構造と機能の発達に様々な影響を及ぼすことが報告されている。生後発達期の母子関係の役割を調べる動物モデルとして母仔分離があり、そのうち短時間の母仔分離はハンドリング (handling) と呼ばれる。ハンドリングを受けた仔は、成長後に学習・記憶能力が向上したり、不安レベルが低下することなどが報告されている。しかしながら、ハンドリングによる各種行動への影響は動物種 (マウス、ラット)、系統 (C57BL/6J、BALB/c など) や実験パラダイムによって一致せず、統一した見解は得られていない。さらに仔の行動の発達に及ぼす影響の基盤となる脳内機構の解明は遅れている。本研究では、セロトニン (5-hydroxytryptamine、5-HT) 神経系、脳由来神経栄養因子 (BDNF)、および GABA-A 受容体に注目した。5-HT はモノアミンの 1 種で、発達期には神経栄養因子活性を持ち、脳の発達を調節する一方で、成体期では神経伝達物質として作用し、不安やうつ、学習・記憶などの行動の発達に様々な影響を及ぼすことが報告されている。5-HT の作用を仲介する 5-HT 受容体は 14 種類存在するが、その中でも 5-HT<sub>1A</sub> 受容体は発達早期から脳に発現し、樹状突起発達やシナプス形成を調節する他、成体期の行動に影響を及ぼす。これまでの研究により、生後発達期の 5-HT<sub>1A</sub> 受容体が成長後の不安に及ぼす影響の解析が進んでおり、生後発達期の 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の成長後のうつ、学習・記憶との関連も報告されている。一方、BDNF は、5-HT<sub>1A</sub> 受容体との相互作用が示唆されており、神経回路形成の制御、および不安・うつといった情動や学習・記憶への関連が報告されている。また、GABA-A 受容体は、抗不安薬であるベンゾジアゼピンの標的となっており、19 種類存在する GABA-A 受容体サブユニットのうち特に  $\alpha 2$  サブユニットは不安への関連

が示唆されている。

本研究では、BALB/c マウスを用いた。BALB/c マウスは脳内 5-HT 合成酵素である tryptophan hydroxylase 2 (Tph2) の一塩基置換と大脳皮質や線条体での 5-HT 量の減少が報告されている。また、C57BL/6 マウスなどに比べて学習・記憶能力が劣り、不安レベルが高いため、うつ病モデルマウスとして用いられることがある。したがって、ハンドリングによる効果や 5-HT の作用がより顕著に現れることが予想される。そこでまず、BALB/c マウスに生後 1 日目から 2 週間、ハンドリングを行い、生後発達期のハンドリングが行動の発達に与える影響を調べた。具体的には、生後 1 日目から 14 日目まで、1 日 1 回 15 分間(11:00-11:15)、仔マウスを仕切りが入った別のケージに一匹ずつ移動させて母親と兄弟から分離した。また、ハンドリングの作用機序として、母親の養育行動の増加が報告されている。そこで生後 1 日目、3 日目、7 日目に母仔分離後に仔を戻してから 2 時間 (11:45-13:45)、母親の授乳姿勢や仔舐め、巣作り行動を計測した。その結果、ハンドリングは母親の養育行動に影響を及ぼさなかった。次に、仔の行動へのハンドリングの影響を調べるため、成体期である生後 9 週目から 10 週目に不安やうつ様行動、空間学習・記憶への影響をそれぞれ高架式十字迷路と強制水泳試験、モリス水迷路を用いて解析した。その結果、生後発達期のハンドリングより、成長後の仔の不安レベルが低下、空間学習・記憶能力が向上した。しかし、うつ様行動への影響は見られなかった。これらの実験から、生後発達期のハンドリングにより成長後の仔の不安様行動が減少し、空間学習・記憶能力が向上することが示され、ハンドリングの仔の行動への効果が母親の養育行動の影響を受けないことが示唆された。

次に、行動解析で変化がみられた不安と学習・記憶について、行動の変化を担う脳内機構を解明するために、不安や学習・記憶への関連が報告されている脳部

位と遺伝子に注目してリアルタイム PCR 法を用いて各種遺伝子の mRNA 発現量を調べた。行動解析と同様に、生後 2 週間のハンドリングを行った後、ハンドリング終了直後の生後 15 日目、または行動解析と同時期である生後 71 日目に脳を剖出した。脳部位として、内側前頭前皮質、扁桃体、背側・腹側海馬および背側縫線核をブレインスライサーとマイクロパンチを用いてパンチアウト、またはノエス剪刀を用いて切り出した。遺伝子発現は、5-HT1A 受容体、BDNF、GABA-A 受容体  $\alpha 2$  サブユニットを定量した。その結果、ハンドリングによって生後 15 日目で 5-HT1A 受容体の mRNA 発現量が背側縫線核で増加する一方、扁桃体で減少した。一方、生後 71 日目には、BDNF mRNA が背側海馬と扁桃体で増加し、GABA-A 受容体  $\alpha 2$  サブユニット mRNA が扁桃体で減少した。これらのことから、生後発達期のハンドリングが発達期の背側縫線核と扁桃体の 5-HT1A 受容体、成体期の背側海馬と扁桃体の BDNF と扁桃体の GABA-A 受容体  $\alpha 2$  サブユニットの変化を介して、成長後の仔の不安様行動を減少させたり、空間学習・記憶能力を向上させた可能性が示唆された。