

論文の内容の要旨

論文題目 新規マウス行動解析システムによる社会的飼育
環境における行動解析

氏名 遠藤 のぞみ

[目的]

他者との社会的関係性の問題は精神疾患の主症状のひとつであるだけでなく、家庭内暴力やいじめ、引きこもり、種々のハラスメントなどの諸問題として表出する場合も多い。しかしながら、げっ歯類の社会的関係性に焦点を当てた基礎研究はほとんど行われていない。その理由として、げっ歯類の社会的関係性を適切に評価するための行動学的解析手法の開発が未だ十分ではない点があげられる。

本研究の目的は、1) 社会的飼育環境においてマウス個々の行動を長期的に解析することを可能とする新規マウス行動解析システムを開発する。2) 新システムを用い、社会的飼育環境における長期的な行動解析を行うことで、マウス間の社会的関係性の変化を検証することを目指した。

[方法]

本研究では、社会的飼育環境において個々のマウスを識別し、各々の行動を長期的に解析することを可能とする新規マウス行動解析システム (Multi Animal Positioning System; MAPS)を開発した。MAPS の開発は、有限会社ココズネットと小原医科産業株式会社との共同で行った。MAPS では、マウス各個体にユニークなシンボル (マウス ID) をマーキングし、赤外線撮影したビデオ映像を共同開発したソフトウェアにより解析し、マウス ID を識別、XY 座標を取得する。

MAPS の有用性を検証しつつ、社会的飼育環境における長期的な社会性行動の検証を行う最初のモデルとして、隔離飼育モデルマウスを用いた。C57BL/6J 妊娠マウスを日本クレアから購入し、その雄仔マウスを実験に用いた。生後 4 週齢で離乳の際、その後の飼育環境を 2 つに分けた。仔マウスを 1 匹で飼育する隔離飼育マウス (socially-isolated mice。以下、SI マウスと略す)。異なる母親から仔マウス 4 匹を集めて飼育する集団飼育マウス (group-housed mice。以下、GH マウスと略す)。この飼育条件のまま行動試験まで飼育した。行動試験は 13~25 週齢で行った。行動試験は、互いに未知の (今まで出会ったことがない) 雄マウス 4 匹を実験ケージ内に同居させ、3 日から 4 日間連続で赤外線撮影を行った。MAPS によりマウスの個体識別と位置情報の取得を行った。各マウスの位置情報をもとに、「寄り添い行動」、「アプローチ」、「社会的接触時間」、「活動量」、「活動量の相関」の各行動指標について解析を行った。

[結果]

目的どおりに MAPS が動作しているか確認するため、まず、マウス ID を取り違えることなしに各々の位置情報を取得することができるか検証した。その結果、8 つのマウス ID を取り違えることなく認識し、各マウスの位置情報を取得できることが確認された。また、マウス 4 匹が同居し自由にすれ違うことができる長期的な社会的飼育環境においてもマウス ID を取り違えることなく認識し、各マウスの XY 座標を取得できることが示され、目的どおりに MAPS が動作していることが確認された。

この MAPS を用い、離乳後からの隔離飼育が成熟後のマウスの社会性行動にどのような影響を与えるかを検証した。まず、GH マウスのみ 4 匹を同居させる場合と、SI マウスのみ 4 匹を同居させる場合を比較したところ、SI マウスは GH マウスに比べ、寄り添い行動を初めて示すまでに時間を要することが明らかとなった。

SI マウスの寄り添い行動の示しにくさは、日ごとに回復していき、4 日目には GH マウスと同等レベルの寄り添い行動を示した。この結果から、離乳後の社会的隔離が成熟後、未知マウスとの新たな社会的関係性の構築という社会性行動を示しにくくさせること、その表現型は時間と共に回復する可逆的なものであることが示された。また、GH マウスはケージ内に同居する他マウスと活動量の高い相関を示すのに対し、SI マウスの中には他マウスとの活動量の相関が低い個体が確認され、団体行動に問題がある可能性が示唆された。

次に、性質の異なる GH マウスと SI マウスが混在して同居した場合、それぞれの性質はどう影響しあうのか検証した。GH マウス 2 匹と SI マウス 2 匹を同居させ、行動解析を行った。その結果、寄り添い行動は、まず GH マウス同士で起こり、SI マウス同士は最後となる例が多かった。しかしながら SI マウス同士が寄り添い行動を初めて示すまでの平均時間は 17.4 ± 1.8 hr と、SI マウスのみ 4 匹飼育した場合の 34.6 ± 3.4 hr より短くなった。このことから、GH マウスの存在により、SI マウスの表現型が回復することが示唆された。GH マウスのどのような性質が SI マウスの行動を変化させたのか検証するため、どのマウスからどのマウスへアプローチをしたかを解析した。その結果、SI マウスから GH マウスへのアプローチが逆方向より有意に多かった。実験中のビデオ映像を確認したところ、GH マウスは他のマウスからアプローチを受けた際の応答が少なかった。このことから、SI マウスの行動に影響を与えた GH マウスの性質は、アプローチのような能動的な行動ではなく、アプローチされたときの応答の仕方といった受動的な行動の特徴によるもの、という仮説が立てられた。

この仮説を検証するため、「応答の少ない GH マウス」のモデルとして、SI マウスにウレタン麻酔を施した SI+A マウスを作成した。麻酔処置をしていない SI マウス 2 匹と SI+A マウス 2 匹が混在して同居する条件と麻酔処置をしていない SI マウスのみ 4 匹が同居する条件で、寄り添い行動が初めて起こるまでの時間を比較

した。その結果、SI+A マウスが同居する条件は、SI マウスの方の条件に比べ寄り添い行動を示すまでの時間が有意に短くなり ($p = 0.00049$)、仮説が支持された。

[まとめ]

本研究では、社会的飼育環境においてマウスを個々に識別し、各々の行動解析が可能なマウス行動解析システム **MAPS** の開発に成功した。これにより、従来の社会性行動試験法では検証されることのなかった社会的飼育環境における長期的な行動解析を可能とした。また、**MAPS** を用い、離乳後からの隔離飼育が成熟後、未知マウスとの新たな社会的関係性の構築に影響を与えることを明らかにした。さらに、未知マウスとの新たな社会的関係性の構築には、マウス自身の行動特性のみならず、相手の行動特性にも影響されることを明らかにした。

本研究は、成育環境と社会的飼育環境における社会性行動との関係という重要かつ複雑なテーマが基礎科学的に研究可能なこと、同時にマウスにおいてもヒトでみられるような社会性の問題を再現できる可能性を示した。本研究で確立された **MAPS** は今後、精神疾患研究をはじめ、幅広い分野で有用なツールとなることが期待される。