九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Studies on neurobehavioral impact of environmental enrichment in mice

黒木, 海斗

https://hdl.handle.net/2324/7443507

出版情報：Kyushu University, 2025, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

KYUSHU UNIVERSITY

（様式３）

氏　　名　：黒木 海斗

論 文 名　：Studies on neurobehavioral impact of environmental enrichment in mice
（環境エンリッチメントによる神経行動学的な効果についての研究）

区　　分　：甲

論 文 内 容 の 要 旨

ストレスは物理的・心理的・社会的な刺激（ストレッサー）によって身体に生じる生体反応であり、哺乳類の脳機能や生理機能の制御に深く関与している。ストレスが生じると、自律神経系やホルモン分泌、免疫応答を介して体内の恒常性維持機構が作動する。しかし、過剰なストレスや慢性的なストレスは自律神経系やホルモンバランスの異常を引き起こし、不安やうつ、認知機能障害、代謝障害などの疾患を誘発する。近年、ストレスに起因する生体機能の悪化を軽減する方法として、環境エンリッチメント（EE）が注目されている。EE は、飼育動物に適した飼育環境を提供することで、身体的・情動的な健康状態を改善する手法である。EE の概念はヒトにも応用可能であり、発達期の EE による精神疾患動物の行動改善や、中高齢動物および加齢性神経疾患動物の EE による脳機能改善効果などから、ヒトの生活環境改善を通じた健康増進の根拠が提供される。

実験動物では、飼育ケージに逃避場所や玩具、巣材などを提供することで EE 飼育が行われており、神経可塑性亢進やモノアミンなどの神経伝達物質の調節効果、認知機能改善効果、不安・うつ様行動の減少などが報告されている。しかし、EE の効果は飼育期間・ケージサイズ・導入する素材・動物密度・系統・性別によって異なり、組み合わせにより不安・うつ様行動を増加させる場合もある。したがって、情動行動・認知機能改善における脳内の分子メカニズムを同定・調査する上では、適切な EE 環境を用いる必要がある。また、従来の EE は慢性的な処理が多く、EE 環境に対する馴れにより EE の効果が減弱することから、EE の効果を持続させるための新たな方策が必要である。本研究では、マウスを用いて、EE の効果を左右するケージサイズが行動と脳神経調節機構に及ぼす影響を調査するとともに、EE の効果を増強・持続させる新たな EE 方法として「周期的 EE」を導入し、その神経行動学的調節メカニズムを調査した。

まず、EE による行動制御に主要な影響を及ぼす EE 環境を同定するため、大型サイズのケージと巣材等の EE アイテムを組み合わせた EE 飼育にてマウスを飼育した。マウスを標準サイズのケージ、または大型ケージでの EE 条件下で 4 週間飼育し、不安・うつ様行動を評価した。その結果、大型ケージでの EE 群において不安・うつ様行動が増加した。これらの結果より、大型ケージを用いた低い動物密度での飼育が動物の情動を調節する主要因子であると仮説を立て、大型ケージまたは標準サイズのケージでの飼育が不安・うつ様行動、および脳内のモノアミンに及ぼす影響について調査した。大型ケージで飼育したマウスでは、うつ様行動の増加と前頭前野のドーパミン代謝亢進が認められた。さらに、大型ケージによるうつ様行動増加は、ドーパミン再取り込み阻害薬であるブプロピオンの腹腔内投与により減弱した。以上より、EE 環境を構成する要素のうち、特に居住空間的な要素や飼育密度が情動行動変化に影響を及ぼすことが示唆された。

次に、EE の長期飼育による馴れを抑制するため、週サイクルで一定期間の断続を組み入れた周期的 EE の効果解析に取り組んだ。周期的 EE は、週５日間を標準ケージ、週２日間を EE ケージで飼育する週サイクルを繰り返す処理であり、新奇環境に対する馴化抑制と規則的な EE 飼育に対する予期反応を誘導すると考えられる。まず、標準および大型サイズのケージでの周期的 EE 処理を 6 週間行い、マウスの不安・うつ様行動・認知機能変化を調査した。その結果、ケージサイズに関わらず、両群において不安様行動の減少と認知機能の改善が認められた。続いて、海馬および扁桃体における遺伝子発現を網羅的に解析したところ、周期的 EE による海馬エストロゲン受容体 1 (ESR1)経路の活性化が示唆された。さらに、海馬における情動・認知機能調節を担う神経ステロイドホルモンであるアロプレグナノロンが周期的 EE により増加した。この合成増加は、生合成酵素発現変化に基づく反応経路の論理的シミュレーション解析により裏付けられた。さらに、アデノ随伴ウイルスを用いてステロイドホルモン合成律速酵素である Cyp11a1 を海馬特異的にノックダウンしたところ、周期的 EE による抗不安効果の消失が認められた。以上の結果より、周期的 EE による抗不安効果は、海馬の神経ステロイドホルモン合成により制御されることが解明された。さらに、周期的 EE による行動・認知機能改善効果が加齢マウスや神経変性疾患モデルマウスにおいても見られることを確認し、海馬における週齢依存的および非依存的な活性化経路を遺伝子発現網羅解析により同定した。

以上の結果から、EE による抗不安効果や認知機能改善効果を増強するためには、ケージサイズのような質的な要素に加え、EE 環境導入の期間・頻度といった量的な要素が重要であることが示唆された。さらに、独自に確立した周期的 EE 条件において、EE の質に関わらず強力な抗不安効果を見出し、その責任因子として、海馬の神経ステロイドホルモンを同定した。本研究の知見は、強力かつ持続的な情動・認知改善効果を誘導する新奇 EE パラダイムを確立し、ストレスや加齢による精神・神経変性疾患の改善機序を提供するものであり、居住環境調節を介した健康増進および治療法の構築に貢献するものである。