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

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）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　安尾　しのぶ 副　査　　九州大学　　教授　　保坂　善真 副　査　　九州大学　　准教授　池上　啓介 副　査　　九州大学　　准教授　森　史

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

ストレス反応は様々な外因性・内因性の刺激に応答して身体に生じる生体反応であり、自律神経系やホルモン分泌系などの恒常性制御機構により引き起こされる。生体に悪影響を及ぼすストレスは distress と呼ばれ、不安や抑うつ、認知機能障害などの疾患の原因となる。一方で、適度な運動や笑いなどの刺激は、免疫機能の強化や神経可塑性の増加を誘導する eustress であり、生体機能の強化に繋がる。近年、eustress を誘導する方法として、環境エンリッチメント(EE)が注目されている。EE は飼育動物の生態に適した環境を整備することで健康状態を改善する方法であるとともに、ヒトで各種刺激を通じて感覚統合を促す感覚統合療法のモデル、また発達期や高齢期の住環境改善による健康増進機序を解析するモデルとしても活用されている。しかし、実験動物を用いた研究では、EE の効果がケージサイズや EE の種類によって異なる。また、長期的な EE への馴化により神経可塑性に対する効果が減弱する。これらの点を解決するため、本研究では、マウスを用いて、ケージサイズの違いが情動行動とモノアミン神経系に及ぼす影響を調査するとともに、EE の効果を増強・持続させる新たな手法を導入し、その神経行動学的機序を調査した。

まず、齧歯類を用いた多くの先行研究で EE 処理として用いられる大型ケージでの飼育が不安・うつ様行動に及ぼす影響を解析した。その結果、大型ケージで飼育したマウスでは、尾懸垂試験およびサッカリン嗜好性試験において、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の増加は、ドーパミン・ノルアドレナリ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消失した。以上より、大型ケージでの飼育はドーパミン代謝亢進を介してうつ様行動を増加させることが示唆された。これらの結果は、大型ケージの使用が必ずしも EE 条件にならないことを示すとともに、飼育ケージの変更で簡便にうつ様モデル動物を作製する方法を提唱するものである。

次に、EE の長期飼育による馴化を抑制する手法として、週サイクルで EE 飼育を行う weekly EE(wEE)の効果を解析した。wEE は、一週間のうち 5 日間を標準飼育条件、2 日間を EE 条件で飼育する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。EE の質的な違いにより wEE の効果が異なる可能性を考慮して、標準および大型サイズのケージでの wEE 飼育を週サイクルで実施した。その結果、ケージサイズに関わらず、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 RNA-seq により網羅的に解析したところ、標準・大型ケージ群に共通して、wEE による海馬エストロゲン受容体経路やプロジェステロン経路の活性化が示唆された。次に、脳で局所的に合成され、情動・認知機能調節を担う 17β-エストラジオール(E2)やアロプレグナノロン(ALLO)などの神経ステロイドに着目した。神経ステロイド合成を制御する各種酵素の遺伝子発現を解析し

たところ、律速酵素である *Cyp11a1* の発現増加が wEE 群の海馬で認められた。海馬における E2 および ALLO の組織含量を LC-MS/MS で測定したところ、ALLO が wEE 群で有意に増加することが見出された。ALLO 含量の増加は、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。次に、*Cyp11a1* の発現を抑制する shRNA を導入したアデノ随伴ウイルスを用いて *Cyp11a1* を海馬特異的にノックダウンしたところ、wEE による抗不安効果の消失が認められた。以上の結果より、wEE 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、wEE による行動・認知機能改善効果を中高齢マウスでも確認し、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 RNA-seq により同定した。加えて、wEE により中高齢マウスの活性型ミクログリアマーカーおよび炎症性サイトカインマーカーのタンパク質量の低減が認められた。これらの結果から、wEE による強力な抗加齢効果とその制御機序の一端が示唆された。

以上要するに、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要素に加え、EE 環境導入の頻度や周期性といったパターン的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 wEE 条件において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を同定した。これらの成果は、強力かつ持続的な情動・認知改善効果を誘導する EE パラダイムを確立するものであり、飼育動物の健康増進に向けた環境整備法、ストレスや加齢による精神・神経疾患の改善機序、ならびに強力な感覚統合療法の構築に寄与する価値ある業績と認める。よって、本論文は博士(農学)の学位に値すると認める。