

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19530659

研究課題名(和文) 母性発現に及ぼす妊娠・授乳期内分泌かく乱物質曝露の影響

研究課題名(英文) Effects of exposure to endocrine disruptor during gestation and lactation period on motherhood in female mice.

研究代表者

富原 一哉 (TOMIHARA KAZUYA)

鹿児島大学・法文学部・教授

研究者番号：00272146

研究成果の概要(和文)：妊娠期の内分泌かく乱が母性発現へ及ぼす影響を検討するため、妊娠11～17日および産後2～6日のC57BL/6系雌マウスに対し、合成エストロゲンであるdiethylstilbestrol (DES) を経口投与し、出産後の養育行動や離乳後の情動性、社会性、学習・認知等について検討を行った。その結果、妊娠期における内分泌かく乱物質への曝露は、雌親の養育行動の低減や学習の阻害など、様々な影響を及ぼすが、その方向性は必ずしも一様ではないことが示された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to demonstrate effects of endocrine disruption during gestation and lactation period on motherhood. We orally administered diethylstilbestrol (DES), a synthetic nonsteroidal estrogen, to pregnant female mice of C57BL/6j strain from their gestation day 11 to 17, or to postpartum day 6, and then investigated their maternal, emotional, social, and learning behavior. As the results, the endocrine disruption during gestation period influenced many behavioral aspects of mother, such as decreased maternal behavior and prevention of learning, although all of the effects may not give the mother a disadvantage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度			
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：比較心理学、行動神経科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：エストロゲン、行動神経内分泌、母性行動、ジエチルスチルベストロール、情動性、認知・学習、育児放棄、マウス

1. 研究開始当初の背景

近年内分泌かく乱物質の問題のひとつとして、これらの物質の持つ発達神経毒性が指摘され、特に「キレやすい子供の増加」やア

スペルガー症候群に見られるような「子供の社会性の低下」などと絡めて取り上げられることが多くなってきた。しかしながら、「情動性」や「社会性」に影響を与える要因は複

雑多岐にわたるため、これらの物質の持つ発達神経毒性を正確に評価することは大変難しい。たとえば、情動性や社会性の発達には母親の養育行動が大きな影響を与える (Calatayud et al. 2004; Romeo et al. 2003) が、発達神経毒性研究においてはその点が軽視されている。ラット・マウスなどのげっ歯類を用いた多くの実験的研究では、内分泌かく乱物質を投与した雌親にそのまま子供を育てさせ、統制群の子と比較している (例えば、Tanaka et al. 2004; Kubo et al. 2003; Palanza et al. 1999; 2001; Honma, et al. 2002)。例外的に養母交換法を用いた研究 (Aloisi et al. 2002) も、胎児期と授乳期の化学物質曝露の影響の分離を目的としており、曝露自体が雌親の養育行動に及ぼす影響そのものは全く考慮されていない。内分泌かく乱物質の多くはエストロゲン様作用を持ち、エストロゲンが雌親の養育行動に与える影響 (Ogawa et al. 1998) を考えると、内分泌かく乱物質への曝露は雌親自身の養育行動へ大きな影響を与えるものと考えられる。実際、エストロゲン作用を持つ内分泌かく乱物質である bisphenolA (BPA) の妊娠期投与によって、雌親の仔に対する授乳行動のレベルが低下するという報告もある (Palanza et al. 2002)。さらに我々は、養母交換法を用いた研究において、合成エストロゲンであり、内分泌かく乱作用を持つ diethylstilbestrol (DES) 曝露が仔の情動性に及ぼす影響の一部は、仔自身の胎児期における曝露そのものではなく、妊娠中に DES 曝露を受けた養育親によって媒介されたものであることを発見した (unpublished data)。したがって、前述のように雌親の養育行動が DES 曝露によって変化している可能性は高いといえる。

さらに、近年、妊娠や出産、授乳中の劇的なホルモン変化は、周生仔期のホルモンと同様に雌親の中樞神経系に長期的な構造的変化を引き起こし、学習能力の向上や情動性の安定をもたらす、そのような変化が仔の養育において重要な役割を果たすことが指摘されている (Kinsley et al. 1999; 2006)。したがって、妊娠・養育期間中の内分泌かく乱物質への曝露は、直接の養育行動のみならず、より多面的に雌親の適応的变化を阻害している可能性もある。一方、近年我々の社会においては、親の養育に関わる問題として「虐待」や「育児放棄」が大きく取り上げられている。先述のように適応的な母性変化には妊娠・養育期間中の内分泌が重要な役割を果たすので、これらの親の側の問題についても内分泌かく乱物質との関連が見いだされる可能性がある。もちろん、「虐待」や「育児放棄」は社会的要因や個人の成育史などが主たる要因であり、それが神経内分泌機構だけで説

明できるとは全く考えられない。しかしながら、特定の神経内分泌機構が、この問題を生じやすくなるような背景的要因を構成している可能性は充分ある。内分泌かく乱物質が母親に与える影響とその作用機序が明らかになれば、子どもに対する胎児期の内分泌かく乱の影響を正しく評価することができるようになるだけでなく、親の側に対しても、「育児放棄」や「虐待」などの背景的要因を排除し、問題発生の低減に寄与することは十分に期待できるものと考えられる。以上のような背景により、本研究を発想するに至った。

2. 研究の目的

妊娠・養育期における内分泌かく乱物質への曝露が、個体の情動性、社会性、学習・認知など、様々な心理機能に与える影響を評定するため、C57BL/6j 系マウスを被験体として、ethotoxicological 法を用いて検討することを目的とした。ethotoxicological 法とは、端的に言えば、反応潜時や活動量といった単一の指標によって動物の「心理」状態を測定しようとするのではなく、その場面で行われている行動全体を測定し、多面的・多変量解析的に分析することによって、生態学的に妥当性のある評定を行おうとするものである。

3. 研究の方法

妊娠 11~17 日の間、あるいは妊娠 11 日~産後 6 日の間、DES 0.1 μ g/30 μ l/day (DES 処置群)、あるいは溶媒のコーン油 30 μ l/day (OIL 処置群) を経口投与し、離乳までの養育行動を観察するとともに、離乳後の雌親の情動性 (open-field テスト、高架式十字迷路テスト、明暗箱移動テスト)、社会行動 (性的におい選好テスト、性行動テスト、攻撃行動テスト)、学習・認知 (遅延非見本合わせテスト、空間記憶テスト、受動的回避学習テスト) の諸側面を測定した。また、離乳後の行動テストに関しては、非出産の統制条件として、同日齢の処女雌に対しても DES 処置あるいは OIL 処置を行い、同様の行動テストを行った。

4. 研究成果

(1) 養育行動

出産翌日から 10 日間のホームケージ内での養育行動を比較したところ、妊娠後期に DES 0.1 μ g/30 μ l/day を経口投与された雌親マウスは、溶媒投与群の雌親よりも、授乳姿勢を生起が少なく、仔から離れて休んでいる時間が長いことが示された (図 1)。したがって、妊娠期の内分泌かく乱は、雌親マウスの養育行動を阻害するものと考えられる。

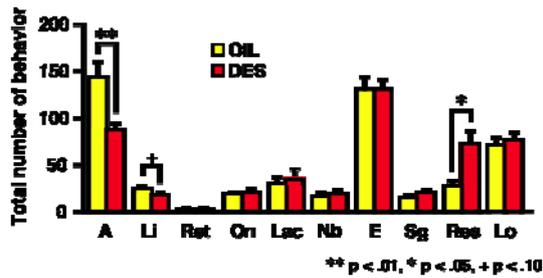


図1 養育行動の総生起頻度 (A: 授乳姿勢、i: 仔なめ、Ret: 仔運び、On: 巣内での養育以外の行動、Lac: 授乳姿勢以外での授乳、Nb: 巣作り、E: 摂食・摂水、Sg: グルーミング、Res: 巣外での休息、Lo: 移動活動)

(2) 情動性

仔の離乳後、雌親に対し1日おきに open-field テスト、高架式十字迷路テスト、明暗箱移動テストの3つの情動関連行動テストを行った。その結果、妊娠期のDES曝露が雌親の情動関連行動に及ぼす効果は、必ずしも一貫したものではなかった。出産・養育経験はむしろ雌親の情動性を亢進させ、出産群における open-field テスト装置内の移動時間・総移動距離、明暗箱移動テストの明室滞在時間の短縮をもたらした。さらに、卵巣切除条件では、出産群においてのみDES曝露によって明暗箱移動テストの明室滞在時間が大きく短縮され(図2)、妊娠期の内分泌かく乱によって雌親の情動性が顕著に亢進することが示唆された。しかしながら、他のテストや卵巣 intact の条件では、むしろ非出産の統制群においてDES処置による情動亢進が顕著に示唆される場合もあり、妊娠期DES曝露が雌親の情動性に及ぼす効果は、雌親のホルモン条件やテスト条件によって大きく変化する可能性が示唆された。

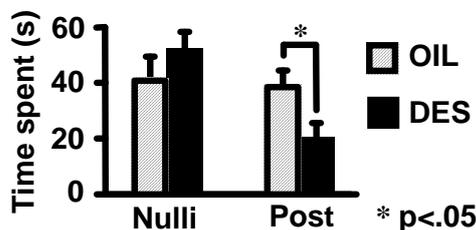


図2 卵巣切除条件における非出産群 (Nulli) と出産群 (Post) のLDTテスト装置明室滞在時間

(3) 社会行動

出産群の離乳5日後にすべての被験体の卵巣を摘出し、ホルモン投与による発情統制を行った上で、手術10日後から性的におい選好テスト、性行動テスト、社会認知テストの

3つの社会行動テストを実施した。その結果、出産経験は、におい選好テストにおいて正常オスに対するにおい選好性を上昇させ、性行動テストにおいてロードシスを促進したが、DES曝露の効果は示されなかった。一方、社会認知テストでは、DES曝露は非出産群でのみ社会的慣れを促進することが示された。したがって、DES曝露は出産群と非出産群に対して異なる効果を及ぼすと言える。

(4) 学習・認知

仔の離乳後、T字迷路を用いた遅延非見本合わせテスト、バーンズ迷路を用いた空間記憶テスト、および受動的回避学習テストを実施した。その結果、出産経験の有無によらず、DES投与はこれらのテストの成績を低下させることが示された。しかしながら、遅延非見本合わせテストでは、むしろ非出産群において遅延試行における記憶保持時間の短縮が認められ(図3)、出産経験はDESの学習阻害効果を緩和する可能性が示された。

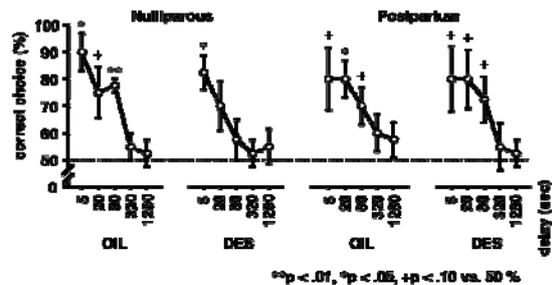


図3 非出産群 (Nulliparous) と出産群 (Postpartum) の雌親の各遅延時間における平均正選択率

(5) 結論

以上の結果を総合すると、妊娠期における内分泌かく乱物質への曝露は、雌親の様々な行動に影響を及ぼすが、その方向性は必ずしも一様ではないと言える。妊娠期DES曝露は、雌親マウスの養育行動を低減させ、また仔の離乳後においても、情動性の亢進や学習・認知の障害をもたらした。したがって、妊娠期の内分泌かく乱は、妊娠に伴う雌親の適応的变化を阻害するものと考えられる。しかしながら、これらのDESの及ぼす阻害効果のいくつかは妊娠期に限定したのではなく、また妊娠期曝露ではむしろその効果が緩和される場合もあった。これは、妊娠・出産経験によってエストロゲンへの感受性が変化する (Byrnes & Bridges, 2006) ためかもしれない。

今後の課題としては、これらの変化を引き起こす神経内分泌メカニズムの解明があげられる。本研究においても、いくつかの試みが行われたが、そもそも情動性や学習・認知などに、エストロゲンがどのように関わるの

か、まだ不明な点が多いため、明確な結論を得るまでに至らなかった。今後は、それらの基礎メカニズムの解明と平行して、雌親の適応的行動変化とその阻害要因である内分泌かく乱の関係を検討する必要があるだろう。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① 富原一哉 2010 母親の適応的行動変化をもたらす妊娠・授乳期の神経内分泌機構 鹿児島大学法文学部紀要「人文学科論集」72巻, in press. 査読無。
- ② Kazuya Tomihara, Tomoko Soga, Masayoshi Nomura, Kenneth S. Korach, Jan-Åke Gustafsson, Donald W. Pfaff, and Sonoko Ogawa 2009 Effect of ER- β gene disruption on estrogenic regulation of anxiety in female mice. *Physiology & Behavior*, 96, 300-306. 査読有。

[学会発表] (計11件)

- ① 富原一哉・新保めぐみ 妊娠期 diethylstilbestrol 曝露が雌親マウスの受動的回避学習に及ぼす効果 日本動物心理学会第70回大会 2010年8月28日 帝京大学(東京都八王子市)
- ② 井ノ上 聡・富原一哉 胎児期 diethylstilbestrol (DES)曝露が雌雄マウスの open field 行動に及ぼす影響 日本動物心理学会第69回大会 2009年9月27日 岐阜大学(岐阜市)
- ③ 富原一哉・石橋佐和子 妊娠期の内分泌かく乱がメス親マウスの空間学習に及ぼす効果 日本動物心理学会第69回大会 2009年9月27日 岐阜大学(岐阜市)
- ④ 富原一哉 妊娠・授乳期の内分泌かく乱が母性発達に及ぼす効果 日本動物心理学会第69回大会 自由集会 2009年9月25日 岐阜大学(岐阜市)
- ⑤ 富原一哉・五十川 鮎子 妊娠期 diethylstilbestrol 曝露がメス親マウスのエストロゲン依存性情動行動調節に及ぼす効果 日本心理学会第73回大会 2009年8月26日 立命館大学(京都府)
- ⑥ Tsuda, M. C., Xiao, K., Ogawa, S. Effect of neonatal estrogen administration on sexually dimorphic behaviors in estrogen receptor β knockout female mice. The 38th Annual Meeting of the Society for Neuroscience 2008年11月17日 Washington DC, USA

- ⑦ 富原一哉・松元沙 周産期 diethylstilbestrol 曝露がメス親マウスの遅延非見本合わせ課題遂行に及ぼす効果 日本心理学会第72回大会 2008年9月20日 北海道大学(札幌市)
- ⑧ 富原一哉・田中歩 周産期 diethylstilbestrol 曝露がメス親マウスの社会行動に及ぼす効果 日本動物心理学会第68回大会 2008年9月13日 常磐大学(水戸市)
- ⑨ 富原一哉・中村加奈子 妊娠期 diethylstilbestrol (DES) 投与がメスマウスの出産後の行動に及ぼす影響 日本心理学会第71回大会 2007年9月20日 東洋大学(東京都)
- ⑩ Xiao, K., Tsuda, M. C., and Ogawa, S. Role of estrogen receptor β (ER β) and sexual experience in female reproductive behavior in mice. 日本神経科学学会第30回大会 2007年9月10日 パシフィコ横浜(横浜市)
- ⑪ Ogawa S. Neural basis of parent-infant relationship 日本神経科学学会第30回大会シンポジウム 2007年9月10日 パシフィコ横浜(横浜市)

[図書] (計1件)

- ① 近藤保彦・小川園子・菊水健史・山田一夫・富原一哉編 脳とホルモンの行動学 — 行動神経内分泌学への招待 — 西村書店 2010, 96-111.

[その他]

ホームページ等

<http://mstudio2.leh.kagoshima-u.ac.jp/seeds/seeds01.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富原 一哉 (TOMIHARA KAZUYA)
鹿児島大学・法文学部・教授
研究者番号：00272146

(2) 研究分担者

小川 園子 (OGAWA SONOKO)
筑波大学・人間総合科学研究科・教授
研究者番号：50396610