

論文内容の要旨

論文提出者氏名 荻 寛志

論文題目

Social behavior is perturbed in mice after exposure to bisphenol A: a novel assessment employing an IntelliCage

論文内容の要旨

ビスフェノール A (BPA) はポリカーボネート製品やエポキシ樹脂の製造に使用される化学物質で、ヒトは日常的に BPA に曝露されている。近年、発達障害を有する児童の増加と環境化学物質曝露との関連が喧伝され、BPA についてもヒトの妊娠期母体尿中の BPA 濃度と、その出生児童の精神・情緒面での問題行動との間に相関がみられたとの疫学調査が報告されている。しかし、その科学的根拠は依然として乏しい。我々は胎生期や授乳期の BPA 曝露が社会行動などにどのような影響を与えるかを明らかにするために、集団生活下での自然な行動表現型を計測できる装置 IntelliCage を用いて、BPA 曝露によるマウスの行動変化を解析した。

C57BL/6J マウスのメス成獣を交配させ、陰栓が確認された朝を胎齢 0.5 日 (E0.5) とした。BPA 曝露群 (BPA 群) の母獣には 0.01% のエタノールに溶かした 500 µg/kg 体重の BPA を、vehicle 投与群 (対照群) の母獣には同量のエタノールを、E0.5 から生後 3 週まで 1 日 1 回栄養チューブを用いて経口的に投与した。なお、500 µg/kg 体重/日という濃度は、報告されている最大無毒性量 (NOAEL) の 100 分の 1 の濃度である。出生仔は生後 3 週で離乳され、生後 11 週 (メス) あるいは生後 13 週 (オス) に、対照群として 2 出生仔集団 (複数の母獣からの雌雄 8 匹ずつを 2 組)、BPA 群として 1 出生仔集団 (複数の母獣からの雌雄 8 匹ずつを 1 組) を対象に行動実験を施行した。

IntelliCage は社会的集団生活下での自発的な認知・学習行動を自動計測するためのシステムである。げっ歯類用の大型ケージと同サイズで、4 箇所計測コーナーを持ち、計測コーナー内には 2 箇所の飲水サイドがある。飲水サイドはノーズポーク (開口部ドアを鼻でつつく動作) を検知する光学センサが付いた開口部と自動制御のドア、その背後の給水ビンで構成される。システムはコンピュータで自動制御されており、各動物のコーナーへの侵入、ノーズポーク動作、飲水行動等が記録される。

行動実験は 1 台の IntelliCage を用いて各集団について雌雄別に逐次実施した。IntelliCage セッションは、3 日間の適応期間とその後 12.5 日間のノーズポークセッション (NP1) で構成した。適応期間はドアは常時開いており、自由に飲水可能である。NP1 ではドアは閉じており、動物は飲水するためにノーズポーク 1 回が必要となる。解析は、活動量、嗜好性、社会性に関連すると考えられる指標を、暗期/明期、飲水あり (報酬あり)

／飲水なし (報酬なし) の区分に分け、主に BPA 群と対照群間で比較評価を行った。

まず基本的な指標として、コーナー訪問回数 (一日あたりのコーナー平均訪問回数) とコーナー滞在時間 (生理的な要因を除外するため飲水自体に要した時間は除く値とした) について評価した。BPA 群メスは対照群動物と比して、明期の非飲水区分および総合 (飲水+非飲水) の訪問回数が有意に少なかった。BPA 群オスは対照群に比して、訪問回数に差異はみられなかったものの、暗期の飲水を伴う訪問以外全ての区分でコーナー滞在時間が有意に長かった。これらの結果から、BPA 曝露による、メスでの非活動期の必須でない活動の抑制、オスでの報酬獲得場所への嗜好性増強が示唆された。

ノーズポークに関連した指標として、暗期の 1) ノーズポーク総数、2) コーナー訪問あたりの平均ノーズポーク数、3) ノーズポーク総数に対する報酬あり訪問時のノーズポーク数割合について評価を行ったが、雌雄ともにいずれの区分においても BPA 群と対照群間での有意な差はみられなかった。

全コーナーの訪問総数に対する各コーナーへの訪問数の比率は、動物ごとの特定コーナーへの嗜好性を表すと考えられる。区分を分けずに全て合算した場合の当該比率についてコーナー間で大きな差はみられなかったが、飲水 (報酬) あり区分の比率についてはコーナー間の偏りを示すことが予測されたため、二つの指標を導入し評価を行った。一つは各個体の嗜好の偏りの強さを表す “Preference Bias” で、4 コーナーの訪問比率の大きなものと小さなもの二つの差で算出される。二つ目は集団内での嗜好の偏りのばらつきを表す “Preference Variance” である。集団内での訪問比率の中央値と各個体の訪問比率のユークリッド距離で算出される。BPA 群オスは対照群に比して、Bias 値は有意に大きく、Variance 値に有意な差は無かった。これは、報酬に関連する行動について大きな偏りを持ち、かつ集団が同じ偏りでまとまっていることを示している。

コーナー嗜好性の評価結果から、BPA 群の集団内の同一性・まとまりが示唆されたため、動物の他個体への追従性を表す指標 “Different-Animal Visit Interval Rate” でさらなる評価を行った。Different-Animal Visit Interval Rate は、直前に訪問した一他個体に追従するようなタイミングで他個体がコーナーを訪問する性状を「コーナー訪問時の追従性」と定義し、2 個体の訪問時間間隔から算出されるものである。結果、BPA 群のオスは、全区分を総合した場合と飲水を伴う訪問について、対照群動物より有意に低い値 (短い訪問間隔) を示した。これは、BPA 群のオスが、特に報酬に関連する行動に関して、より他個体の影響を受けることを示唆するものである。

本実験により、胎生期・授乳期の BPA 曝露が、報酬行動や他個体からの影響など、マウスの社会的場面におけるモチベーション行動に性差をもって影響を与える可能性が示された。BPA 曝露によるげっ歯類の、特殊環境下での報酬系行動や他個体に対する行動変化といった既報告と整合するものであり、集団生活下の自然発生的行動により示された新知見として医学的に価値のあるものと考えられる。