

# 胎生期ストレス暴露が出生仔の空間学習能力に与える影響

栗脇 淳一・西村 知美

美作大学・美作大学短期大学部紀要（通巻第59号抜刷）

## 胎生期ストレス暴露が出生仔の空間学習能力に与える影響

Effects of fetal stress on spatial learning function of rats in adulthood

栗脇 淳一<sup>1</sup>・西村 知美<sup>2</sup>

キーワード：胎生期ストレス、空間学習機能

### 緒言

近年、胎生期のストレス暴露が出生後の記憶・学習機能や精神機能、情動機能へ影響を与えることが報告されている。例えば、胎生期ストレス暴露により成長後の学習戦略が変化すること<sup>1)</sup>、胎生期および幼若期にストレスを暴露されることにより脳の神経細胞の形態変化を引き起こすこと<sup>2)</sup>、胎生期ストレスにより不安に対する情動反応が低下すること<sup>3)</sup>などが明らかとなっている。また、出生直後の幼若期においても慢性拘束ストレス暴露により、成熟後のマウスの学習・記憶や情動行動に障害が生じることが報告されている<sup>4)</sup>。しかしながら、胎生期ストレス暴露が出生後の空間認知能力に与える影響について調べた研究は少ない。

そこで、本研究では、脳の形成にとって重要な時期であり、ライフサイクルにおいて最も脆弱な時期である胎生期にストレスを暴露された仔に空間認知学習課題であるモリスの水迷路試験を行い、胎生期ストレスが与える空間認知能力への影響について検討する。

### 方法

#### 1. 動物

実験には10週齢の雌ラット (Wistar) 4匹 (273.3 ± 16.7g、対照群2匹、ストレス群2匹) を用いた。動物は個別のケージで飼育し、室温24℃、湿度60%、

<sup>1</sup>美作大学短期大学部栄養学科

<sup>2</sup>美作大学生活科学部食物学科学

明期8時～20時・暗期20時～8時の条件で飼育し、飼育期間中の飼料および水は、自由摂取とした。また、飼育および実験は美作大学・美作大学短期大学部動物実験に関する指針に基づいて行った。

#### 1-1. 妊娠ラット

ラットは、動物飼育室へ搬入後、1週間の馴化期間をおき実験を開始した。馴化期間後、スメア検査を行い性周期を把握し、同種・同週齢の雄ラットと24時間同一ケージで飼育し、翌日スメアプラグを確認し交配が行われたことを確認した。また、交配を確認した日を妊娠0日 (Gestation Day 0; G.D.0) として、仔の離乳まで個別に飼育した。

交配後、G.D.10～19の10日間ストレス群の妊娠ラット (n=2) には、塩化ビニール管 (直径50mm、長さ200mm) 内に60分間/日入れ、拘束ストレスを与えた。

#### 1-2. 仔ラット

出生後、仔ラットは離乳までの3週間、母ラットと同一のケージで飼育した。また、出生した日を生後1日 (Postnatal Day 1; P.D.1) とした。対照群妊娠ラットの仔を対照群 (n=4)、ストレス群妊娠ラットの仔をストレス群 (n=4) とした。仔ラットはP.D.54～P.D.58にモリスの水迷路試験を行った。

#### 2. モリスの水迷路試験<sup>5)</sup>

実験には円形プール (直径152cm、高さ90cm) を用い、プールの内壁4か所に目印となる文字 (N、W、E、

S;図1 a)を設置した。プール内の水位は30cmとし、水面下5cmとなるように直径9.5cmの円柱状プラットフォームをプール中心に設置した。プール内の水は、遊泳時にプラットフォームが見えないよう墨汁で混濁させた。ラットは1匹ずつ飼育室から実験室に運び、プールへの入水位置は乱数表を用いて決定した場所(N、W、E、Sのうちの1か所;図1 a)から入水させ、プラットフォームに到達するまでの時間を測定し、対照群とストレス群との間で比較・検討した。

試験は、連続した5日間かつ明期に行った。実験期間5日間のうち1日目は順応期間とした。最大測定時間120秒、1日2回試行。また、試行間隔は30分～1

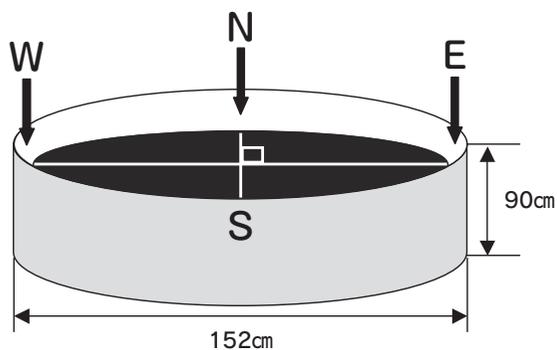


図1 a プール



図1 b プラットフォーム到達時の仔ラット

a) 実験に用いたプール。円形プールの4隅に入水ポイントを設置し同じ位置にN、W、E、Sの4つのランドマークをプール内壁に掲示した。b)プラットフォーム到達までの時間の測定は、120秒を最大とし、ラットを入水してから、プラットフォームに到達するまでの時間を計測した。120秒経過してもプラットフォームに到達しない場合は、120秒として記録した。

時間で行った。

## 結果

### 1. 実験期間中の体重増加(図2)

実験期間中1回目の試行前に行った各ラットの体重のデータから、対照群及びストレス群の間で体重の増加量について比較・検討した。しかしながら、対照群及びストレス群の間で有意な差は見られなかった。

### 2. モリスの水迷路試験

入水からプラットフォーム到達までの時間について、以下の①～④の比較を行った。①1回目試行の探索時間の群間での比較、②2回目試行の探索時間の群間での比較、③1回目試行と2回目試行の探索時間の群間での比較、④1回目試行の探索時間と2回目試行の探索時間の差の群間での比較。

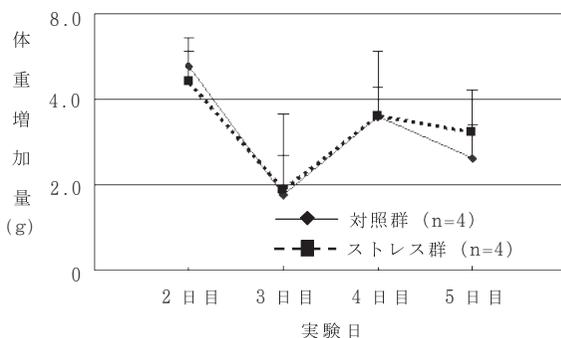


図2 実験期間中の体重増加量

1日前に測定した体重との差を体重増加量として対照群とストレス群との間で比較した。データは、平均±標準偏差で示した。縦軸：体重増加量(g)、横軸：実験日。(Tukey's test following ANOVA)

### 2-1. 1回目試行の探索時間の群間での比較(図3)

1回目の試行について、入水からプラットフォーム到達までの探索時間を対照群とストレス群との間で比較・検討したが、有意な差は見られなかった。

### 2-2. 2回目試行の探索時間の群間での比較(図4)

2回目の試行について、入水からプラットフォーム到達までの探索時間を対照群とストレス群との間で比較・検討したが、有意な差は見られなかった。

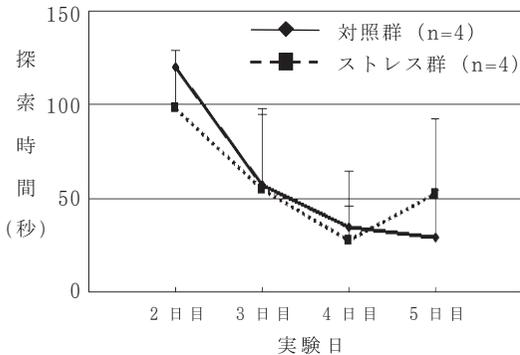


図3 1回目試行の探索時間の群間での比較

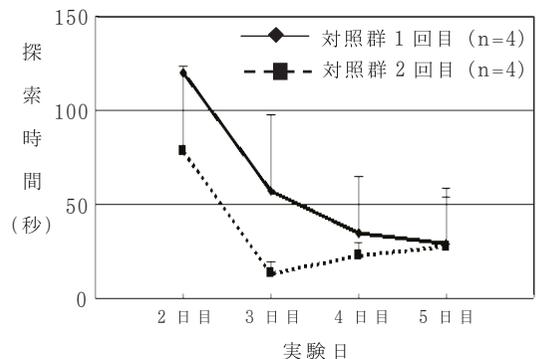


図5 対照群 1回目試行と 2回目試行の探索時間の群内での比較

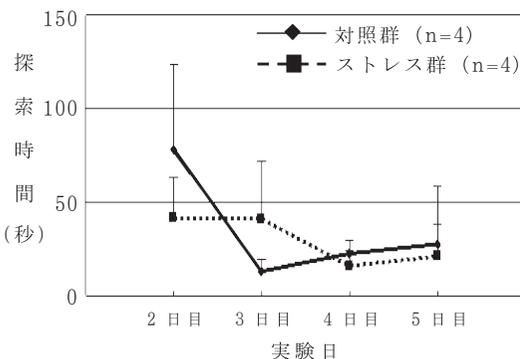


図4 2回目試行の探索時間の群間での比較

データは、平均±標準偏差で示した。縦軸：探索時間（秒）、横軸：実験日。（Tukey's test following ANOVA）

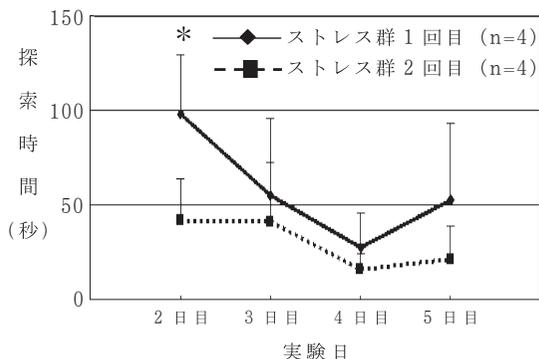


図6 ストレス群 1回目試行と 2回目試行の探索時間の群内での比較

データは、平均±標準偏差で示した。縦軸：探索時間（秒）、横軸：実験日。（Tukey's test following ANOVA、\*： $p < 0.05$ ）

### 2-3. 1回目試行と2回目試行の探索時間の群内での比較 (図5、6)

対照群ラットの1回目試行の探索時間と2回目試行の探索時間を比較・検討したが、有意な差は見られなかった。同様に、ストレス群ラットの1回目試行の探索時間と2回目試行の探索時間を比較・検討した結果、2日目に有意な差が見られたが3日目から5日目では有意な差は見られなかった。

### 2-4. 1回目試行と2回目試行の探索時間の差の群間での比較

1回目試行と2回目試行の探索時間の差を対照群とストレス群との間で比較・検討したが、有意な差は見られなかった。

### 考 察

本研究より、胎生期ストレス暴露の有無により出生仔の空間学習機能に明確な違いは見られなかった。しかし、ストレス群において1回目試行と2回目試行の探索時間は、実験2日目に有意に短縮された。Fujiokaらは、胎児期に軽度なストレスを暴露された動物が、成長後に能動的回避課題及び放射状迷路課題において学習成績の向上が見られたことを報告している<sup>6) 7)</sup>。このことから、今回の実験で行った空間学習課題においても胎生期ストレス暴露の影響により学習成績が向上したことが示唆された。

### 参考文献

1. Schwabe L, Bohbot VD, Wolf OT. Prenatal

- stress changes learning strategies in adulthood. *Hippocampus*. 2012;22(11):2136-43.
2. Magariños AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *PNAS*. 1997;94(25):14002-8.
  3. Buss C, Entringer S, Wadhwa PD. Fetal programming of brain development: intrauterine stress and susceptibility to psychopathology. *Sci Signal*. 2012;5(245):pt7.
  4. 永井拓, 尹在錫, 衣斐大祐, 小池宏幸, 日比陽子, 山田清文「ストレスにより誘発される脳機能障害とストレス応答性転写因子Npas4の機能解析」*日本薬理学雑誌*. 2012;139(4):147-51.
  5. Nunez J. Morris Water Maze Experiment. *J Vis Exp*. 2008;19.
  6. Fujioka T, Fujioka A, Tan N, Chowdhury GM, Mouri H, Sakata Y, Nakamura S. Mild prenatal stress enhances learning performance in the non-adopted rat offspring. *Neuroscience*. 2001;103(2):301-7.
  7. Fujioka T, Sakata Y, Yamaguchi K, Shibasaki T, Kato H, Nakamura S. The effects of prenatal stress on the development of hypothalamic paraventricular neurons in fetal rats. *Neuroscience*. 1999;92(3):1079-88.