

令和元年5月27日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19747

研究課題名(和文)内側視索前野-腹側被蓋野神経回路のシナプス特性と養育行動表出機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the synaptic characteristics of the medial preoptic area-ventral tegmental neural circuit

研究代表者

天野 大樹 (Amano, Taiju)

北海道大学・薬学研究院・講師

研究者番号：00591950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では養育行動の発現に中心的な役割を果たしている内側視索前野から腹側被蓋野への入力シナプスの機能について光感受性イオンチャンネル・チャンネルロドプシンを用いて検討した。電気生理実験により内側視索前野から腹側被蓋野への機能的投射シナプスを確認した。その上で、外科的手術によって埋め込んだ光ファイバーを介して内側視索前野から腹側被蓋野への入力シナプスを活性化した状態で、養育経験の無い交尾未経験マウスの仔マウスに対する行動を観察した。その結果、マウスの攻撃行動は抑制されたが、養育行動はほとんど促進されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

養育行動を示すためには内側視索前野が必要であることは破壊実験から明らかである。しかし、仔マウスに対して攻撃的な交尾未経験雄マウスが養育行動を示すようになるために内側視索前野や下流への投射シナプスの活性化のみが十分条件とは言えないことが示された。したがって雄マウスの養育行動の発現は内側視索前野だけでなく様々な脳領域・因子が寄与して達成される学習が必要であると考えられる。本研究をさらに発展させるため、内側視索前野の上流を含めた神経回路や、内側視索前野内部の神経可塑的变化について明らかにする必要がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the function of the input synapse from the medial preoptic area to the ventral tegmental area, which plays a central role in the expression of rearing behavior, using a light-sensitive ion channel, channelrhodopsin. Electrophysiological experiments confirmed functional synapses from the medial preoptic area to the ventral tegmental area. In addition, we observed behavior of mating inexperienced mice without rearing experience to the offspring while activating the input synapse from the medial preoptic area to the ventral tegmental area through the surgically implanted optical fiber. As a result, the aggressive behavior was suppressed, but the parental behavior was not significantly promoted.

研究分野：神経薬理学

キーワード：内側視索前野 腹側被蓋野 養育行動 攻撃行動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

成熟後の交尾未経験の雄マウスは仔マウスに対して養育行動は示さず、むしろ喰殺と呼ばれる攻撃行動を示す。しかし同居や交尾など雌との社会経験を経ることで喰殺を止め、養育行動を示すようになる。このような行動変化がどのようにして起こるのか、その脳内機構についてはほとんど明らかになっていない。内側視索前野は養育行動を実行する上で欠かすことが出来ない脳領域である一方で、喰殺を止める機能を持つことも示唆されてきた。しかし内側視索前野の神経回路の生理機能や行動との相関は不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

本研究では内側視索前野のうち養育行動後に神経活動マーカーである c-Fos 発現細胞数比率の上昇が報告されている GABA 作動性神経細胞に着目し、その下流投射先へ及ぼす影響を調べた。下流領域として腹側被蓋野および中脳中心灰白質に着目し、トレーサー実験および電気生理実験により内側視索前野細胞の特性を検討した。また雄マウスの内側視索前野の下流領域への入力に交尾未経験雄マウス行動様式にどのような効果をもつか検討した。

## 3. 研究の方法

本研究は雄性 C57BL/6J 系マウスおよび GABA 作動性神経を標識および操作するために vGAT-IRES-Cre マウスを用いて実験を行った。脳定位固定装置で固定したマウスに対して外科的手術によってトレーサーや光感受性イオンチャンネル・チャンネルロドプシンを発現させるための各種アデノ随伴ウイルスベクター、および光ファイバーを内側視索前野およびその下流領域に微小注入した。待機期間後に行動試験や組織化学的解析、電気生理学的解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 内側視索前野下流投射の解析

内側視索前野の GABA 作動性神経細胞に蛍光タンパク質を発現させ、投射先である脳領域を観察した。以前から養育神経回路に重要と考えられていた腹側被蓋野への投射が見られた。またその先の中脳中心灰白質腹側部への高密度な投射も認められた(図1)。

次にチャンネルロドプシンを内側視索前野細胞の GABA 作動性神経に発現させた個体から脳スライスを作成した。腹側被蓋野および中脳中心灰白質腹側部からパッチクランプ法記録を行った上で、青色光を照射したところ抑制性シナプス後電流が観察された。さらに内側視索前野から直接的なシナプス入力が存在するか調べるために、ナトリウムチャンネル阻害薬であるテトロドトキシンを灌流することで光刺激依存性シナプス後電流が抑制されることを確認した上で、カリウムイオンチャンネル阻害薬 4-AP をさらに加えて光刺激依存性シナプス後電流が再び観察されることを確認した。

また内側視索前野は比較的大きな脳領域であるが、特に養育行動には内側視索前野中心部が重要な役割を果たしているが明らかになっている。本研究の逆行性トレーサーを用いた実験から腹側被蓋野および中脳中心灰白質腹側部に投射する細胞群は内側視索前野中心部に集中していることも明らかとなった(図2)。

### (2) 行動試験

交尾未経験雄マウスの内側視索前野 GABA 作動性神経細胞から腹側被蓋野および中脳中心灰白質腹側部への神経投射を光ファイバーを介して光刺激することで、仔マウスへの行動パターンが変化するか観察した。腹側被蓋野および中脳中心灰白質腹側部いずれの経路の入力繊維を刺激した場合も仔マウスへの攻撃行動は大幅に抑制された(図3)。しかし養育行動を示すマウスはほとんど認められなかった。以上より、内側視索前野 GABA 作動性神経が腹側被蓋野および中脳中心灰白質腹側部へ投射することで仔マウスに対して攻

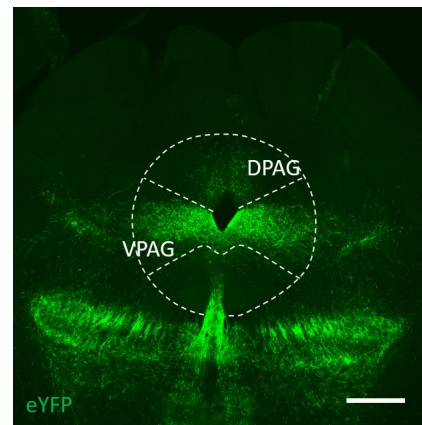


図1 内側視索前野vGAT細胞は中脳中心灰白質の腹側領域 (VPAG) に投射していた。スケールバー=500 μm

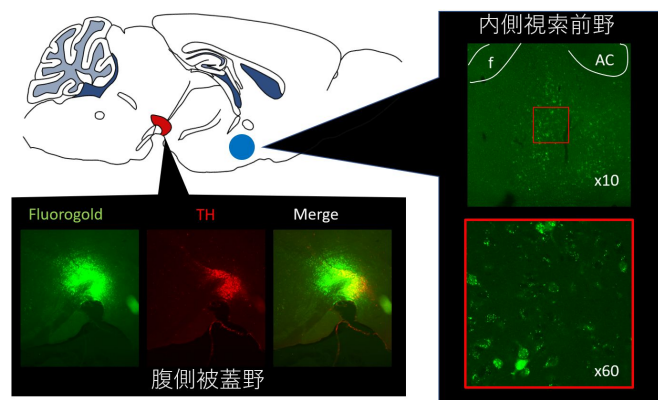


図2 逆行性トレーサー(2% Fluorogold, 25 nL)を腹側被蓋野に注入したところ、内側視索前野中心部細胞が標識された。矢状断面写真。

撃行動を抑制する機能を持つが明らかになった一方で、攻撃から養育への行動変化を引き起こすにはさらに他の因子が必要であることが示唆された。

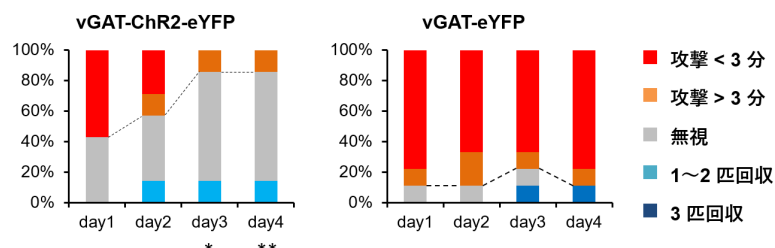


図3 内側視索前野(vGAT)-中脳中心灰白質神経路の活性化によって攻撃を示した個体の割合が減少した。  
n = 7-9, Two-tail fisher's exact test, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

### (3) 腹側被蓋野の社会行動関連領域への投射経路 腹側被蓋野ドーパミン神経がどのように仔マウスに

対する行動選択に影響を与えるか検討するためにトレーサー実験を行った。その結果、腹側被蓋野から分界条床核菱形核へ投射することが明らかになった。分界条床核はこれまでに仔マウスに対する攻撃行動に関与することが報告されており、また分界条床核のシナプス伝達効率の変化と行動パターンは相関する(Amano, 2017)。in vivoマイクロダイアリシス法の結果から、分界条床核菱形核ではドーパミンの遊離は認められる一方で、ノルアドレナリンの遊離は認められないことが分かった。さらに分界条床核菱形核細胞からパッチクランプ記録を行い、ドーパミンのシナプス応答に対する効果を検討した。その結果、ドーパミン10 μM添加によりsag陰性細胞で特異的に興奮性シナプス伝達効率が低下した。そのメカニズムの1つとして、ペアードパルス法による検討の結果からシナプス前におけるグルタミン酸放出確率が2受容体の活性化によって低下している可能性が示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Amano T, Shindo S, Yoshihara C, Tsuneoka Y, Uki H, Minami M, Kuroda KO, Development-dependent behavioral change toward pups and synaptic transmission in the rhomboid nucleus of the bed nucleus of the stria terminalis. Behavioral Brain Research, (2017) 325 Part B, 131-137 査読あり <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.10.029>

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 天野 大樹、伊藤 和貴、佐藤 圭一郎、南 雅文、内側視索前野から中脳中心灰白質への投射と行動選択への効果、第41回日本神経科学大会、2018年
2. Taiju Amano, Kazuki Ito, Keiichiro Sato, Masabumi Minami, The effects of the medial preoptic area input to the downstream brain area on the behaviors toward pup, 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin 2018 (国際学会) 2018年
3. Taiju Amano, Kazuki Ito, Haruka Uki, Kumi O Kuroda, Masabumi Minami, The effects of dopamine on the synaptic transmission in the rhomboid nucleus of the bed nucleus of the stria terminalis, 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会) 2018年
4. Taiju Amano, Kazuki Ito, Keiichiro Sato, Takeshi Sakurai, Takashi Maejima, Masabumi Minami, Kumi O Kuroda, The effects of sexual hormone on the synaptic input into the medial preoptic area, 第95回 日本生理学会大会 2018年
5. 天野大樹、伊藤和貴、佐藤圭一郎、南雅文、内側視索前野を起点とするシナプス投射の機

6. Taiju Amano, Kazuki Ito, Takashi Maejima, Takeshi Sakurai, Masabumi Minami, Kumi O Kuroda, Female partner develops father brain and changes the behavioral pattern, 第44回 内藤コンファレンス 2017年
7. 佐藤圭一郎、伊藤和貴、南雅文、天野大樹、社会性行動制御における内側扁桃体から内側視索前野への神経投射の役割 第39回 日本生物学的精神医学会 第47回 日本神経精神薬理学会 合同年会 2017年
8. 宇木遥、伊藤和貴、南雅文、天野大樹、Dopamine modulates synaptic transmission in the rhomboid nucleus of BNST via  $\alpha$ 2-adrenergic receptor、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム2017、2017年
9. Taiju Amano, Kazuki Ito, Takashi Maejima, Takeshi Sakurai, Masabumi Minami, Kumi O Kuroda The effects of sexual hormone on the brain area related to parental behavior. Gordon Research Conference on Amygdala Function in Emotion, Cognition & Disease (国際学会) 2017年
10. 天野大樹、伊藤和貴、南雅文、内側扁桃体を起点とする分界条神経繊維の機能解析、第26回 日本行動神経内分泌研究会 2017年
11. 伊藤和貴、進藤さやか、南雅文、黒田公美、天野大樹、The new model of male mice showing parental behavior without sexual experience、第40回 神経科学大会 2017年
12. 天野大樹、伊藤和貴、進藤さやか、吉原千尋、南 雅文、黒田公美、The effects of sexual hormone on the brain area related to parental behavior. 性ホルモンによる内側視索前野神経細胞の電気生理学的特性の調節 第137回 日本薬学会年会 2017年
13. Taiju Amano, Kazuki Ito, Takashi Maejima, Takeshi Sakurai, Masabumi Minami, Kumi O Kuroda, The effects of sexual hormone on the brain area related to parental behavior. 第90回 日本薬理学会年会 2017年
14. 天野大樹、伊藤和貴、前島隆司、櫻井武、南雅文、養育行動の選択と内側視索前野入力シナプスの機能相関、2016年度行動遺伝学研究会「個体の繋がり分子進化研究」2016年
15. 天野大樹、伊藤和貴、恒岡洋右、進藤さやか、吉原千尋、南雅文、黒田公美、雄マウスの養育行動発現と神経可塑的变化、第25回 日本行動神経内分泌研究会、2016年
16. 伊藤和貴、進藤さやか、吉原千尋、黒田公美、南雅文、天野大樹、性ホルモンによる雄マウスの社会行動選択の調節、第38回日本生物学的精神医学会・第59回日本神経化学大会 合同年会、2016年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

北海道大学大学院薬学研究院 医療薬学部門 医療薬学分野 薬理学研究室

<https://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakuri/>

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。