

令和元年6月7日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19788

研究課題名(和文) 神経活動の可視化と可逆的抑制によるマーモセット養育行動の神経基盤の解明

研究課題名(英文) Investigation of neural mechanisms for parental behavior in common marmosets with visualization and reversible inhibition of neural activity

研究代表者

篠塚 一貴 (Shinozuka, Kazutaka)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員

研究者番号：50549003

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、小型霊長類のコモンマーモセットを対象として、養育行動中の神経活動の可視化および機能抑制を行った。養育行動中の個体では、内側視索前野の一部の領域で神経活動の増加が認められた。また、可逆的機能抑制の効果は十分に得られなかったものの、内側視索前野を不可逆的に損傷すると、子の回収テストにおいて、子を回収するまでの潜時は変化せず、子の回収後の背負い率が低下し、拒絶率が増加した。したがって、マーモセットの内側視索前野は、子への感受性(回収までの潜時)よりも寛容性(背負い・拒絶率)に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、親による子の虐待やネグレクトといった不適切な養育が大きな社会問題となっており、適切な養育を行うための神経メカニズムの理解が求められている。これまで養育行動の神経メカニズムは主にげっ歯類を用いて研究され、内側視索前野という領域が重要な役割を持つことが分かっている。しかし、げっ歯類のメカニズムをそのままヒトに外挿するのは難しく、進化的にヒトにより近い霊長類を対象とした研究が必要である。本研究は、一夫一妻で繁殖し家族で子を育てる霊長類であるコモンマーモセットを対象として、霊長類においても内側視索前野が適切な養育行動の発現のために重要であり、特に子への寛容性に強く関わっていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：This study conducted visualization and reversible functional inhibition of neural activities while exhibiting parental behavior in common marmosets. Increasing neural activities were observed in a part of the medial preoptic area. Although reversible inhibition including this area had no effect, lesions including this area reduced carrying rate and increased rejection rate of an infant without changing retrieval latency on the infant retrieval test. Thus, the medial preoptic area in marmosets was suggested to have an important role on tolerance rather than sensitivity to infants.

研究分野：神経科学

キーワード：養育行動 内側視索前野 霊長類 マーモセット

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

1. 研究開始当初の背景

良好な親子関係は、子どもの心身発達に必須であるが、親子関係を構成する要素、すなわち親の子育て(養育)行動と子が親を慕う愛着行動は、心理学や社会学のレベルでは古くから注目されてきたものの、分子神経生物学的には未知の部分が多く、記憶学習や知覚・認知などほかのさまざまな脳機能の研究に比べると研究が立ち遅れている。本申請者の所属研究室では、これまで主にげっ歯類(マウス)の養育行動の神経機構を研究し、視床下部の吻側にある内側視索前野の亜核が養育行動の発現に重要であることを明らかにした。同領域は、雌雄ともに、養育行動の発現と相関して神経活動が高まる一方、損傷すると子殺し行動が生起するようになる(Tsuneoka et al., 2013; Tsuneoka & Tokita et al., 2015)。このような知見をより確かにヒトに外挿するためには、進化的にヒトにより近い霊長類を対象とした研究が必須であるが、霊長類の養育行動に必要な脳部位の探索は未だ行われていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、一夫一妻で繁殖し、母親だけでなく父親やきょうだい個体も積極的に養育に参加する小型霊長類のコモンマーモセット(*Callithrix jacchus*)を用いて、霊長類の養育行動に関わる神経機構を検討することを目的とした。特に、養育における内側視索前の機能を、神経活動の可視化および神経活動の抑制という2つの側面から検討し、げっ歯類と霊長類の養育行動のメカニズムが、どのような点で類似し、どのような点で相違するのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

家族で飼育しているマーモセットを対象とし、母親が出産した時点で、上のきょうだい個体(およそ10カ月齢)を被験体として、養育行動に関わる実験を実施した。

(1) 養育行動一般の記述

行動観察によって、マーモセットの養育行動の一般的記述を行った。両親、上のきょうだい2頭、下のきょうだい2頭、新生児2頭の最大8頭で飼育されているホームケージ内で、どの個体が新生児を背負っているか、あるいは誰も背負っていないかを継続的に記録した。また、ホームケージ内での20分間の行動観察を継続的に行い、背負い行動以外に活動性や摂食行動、家族間の社会的行動などを記録した。

(2) 養育行動に関わる神経活動の可視化

養育行動に関わる神経活動を可視化するため、新生児を背負っている最中のマーモセットの脳サンプルを得て、c-Fosの染色を行った。実験の2日前に被験体を家族から視覚的・触覚的に隔離した。実験当日、新生児(およそ20日齢)を被験体のケージに入れて養育行動を生起させた。90分間子を提示した後回収し、その30分後に被験体を灌流固定し脳サンプルを得た。脳の薄切後にc-Fosの免疫染色を行い、陽性細胞の分布を確認した。

(3) 内側視索前野の可逆的機能抑制

内側視索前野の神経活動を可逆的に抑制するため、アデノ随伴ウイルス(AAV)によるTet-ONシステムを用いた。被験体の内側視索前野にテタヌトキシン遺伝子を導入し、ドキシサイクリン依存的に発現させることで、神経活動を一時的に抑制することを目的とした。家族で飼育しているマーモセットの母親の出産予定日のおよそ4週間前に、被験体の内側視索前野に両側性にAAVを注入した。母親の出産後に子の回収テストを実施した。被験体が新生児を背負うまでの潜時を測定し、さらに子を背負ってから10分間の行動観察で、子の背負い率および拒絶率を記録した。ドキシサイクリンの投与前後でこれらの指標が変化するか検討した。

(4) 内側視索前野の不可逆的機能抑制

(3)の実験でドキシサイクリン投与の効果がみられなかった場合は、被験体の内側視索前野にNMDA溶液を両側性に注入して損傷する再手術を行い、再度子の回収テストを実施した。実験後に灌流固定を行い、脳の薄切標本作製して、テタヌトキシシンの発現部位およびNMDAによる神経細胞の脱落部位を評価した。

4. 研究成果

(1) 養育行動一般の記述

9家族29出産分の養育行動の観察を実施した。背負い行動の記録から、新生児は0から2週齢の間はほぼ家族の誰かに背負われていることが明らかになった。3週齢以降、背負い率は急速に減少した。背負い率の減少はロジスティック曲線によくあてはまり、およそ34日齢で50%を下回ることがわかった。20分間の行動観察から、0から2週齢の間に1回あたりの子の背負い持続時間が減少して行くが、子を背負う延べ個体数が増加し、背負い率を高く維持していることがわかった。また、子を背負うことによって移動や摂食行動が減少し、養育行動のコストを反映していると考えられる一方、子を背負っている個体は他の個体から受ける毛づくろいが増加し、子を背負うことに対する社会的報酬となっている可能性が示唆された。

(2) 養育行動に関わる神経活動の可視化

免疫組織化学的手法を用いて、養育行動 2 時間後の内側視索前野、分界条床核における c-Fos の発現を解析した。その際、c-Fos が発現する微小領域を特定するため Galanin と NeuN 抗体を用いた対比染色をそれぞれ行った。その結果、マウスの内側視索前核、内側視索前野中心部、分界条床核に相当すると考えられる領域で c-Fos 免疫陽性ニューロンが多く観察された。これらの領域はマウスにおいても子育て行動後に c-Fos が有意に上昇する領域である。

(3) 内側視索前野の可逆的機能抑制

Tet-ON システムによる内側視索前野の機能抑制実験を 14 個体を実施した。子の回収までの潜時がドキシサイクリンの投与後に短くなったが、AAV の投与を受けていない個体でもテストの繰り返しによって回収潜時の短縮が認められたことから、機能抑制の影響ではなく練習効果と考えられた。また、子の回収後の背負い行動に影響は認められなかった。実験後の組織染色では、内側視索前野を含む領域でテタヌトキシンの発現が確認できたが、十分な機能抑制が生じる発現量には足らなかった可能性が考えられた。

(4) 内側視索前野の不可逆的機能抑制

(3) で用いた被験体を含む 6 個体について、内側視索前野に NMDA を注入する実験を行った。注入後の子の回収テストでは、注入前と比較して、子の回収までの潜時は変化しなかった。一方、回収後の子の背負い率が顕著に低下し、子の拒絶率が大きく上昇した。また、別の 6 個体について、中隔を中心として、内側視索前野以外に NMDA を注入する手術を行った。これらの個体では、内側視索前野を損傷した個体のような顕著な変化は認められなかった。実験後に NeuN の免疫染色によって損傷領域を評価し、両側性に損傷された領域と回収テストの成績の相関を検討したところ、特に子の背負い率や拒絶率について、内側視索前野の一部領域との有意な相関が認められ、これらの領域が子の背負い行動に特に重要であると考えられた。また、健全な個体を用いた回収テストでは、子の回収までの潜時と回収後の背負い率や拒絶率の間に相関が認められなかった。このため、マーモセットの子に対する反応性は、感受性(回収潜時)と寛容性(回収後の背負い率・拒絶率)の 2 軸でとらえることができると考えられ、内側視索前野は特に子への寛容性に関わることが示唆された。

以上から、霊長類であるコモンマーモセットにおいても、げっ歯類と同様に内側視索前野が養育行動に重要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに、子への感受性と寛容性という 2 軸のうち、特に寛容性に対して重要であるという新たな知見を得ることができた。これらの成果は、現在論文として取りまとめている。

< 引用文献 >

- Tsuneoka, Y., Murayama, T., Yoshida, S., Nishimori, K., Kato, T., Numan, M., & Kuroda, K.O. (2013). Functional, anatomical, and neurochemical differentiation of medial preoptic area subregions in relation to maternal behavior in the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, 521(7), 1633-1663.
- Tsuneoka, Y., Tokita, K., Yoshihara, C., Amano, T., Esposito, G., Huang, A.J., Yu, L.M.Y., Odaka, Y., Shinozuka, K., McHugh, T.J., & Kuroda, K.O. (2015). Distinct preoptic-BST nuclei dissociate paternal and infanticidal behavior in mice. *EMBO Journal*, 34(21), 2652-2670.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

1. 矢野沙織・篠塚一貴・吉田さちね・黒田公美 (2019) 動物の世界の愛着 . チャイルドヘルス 22 巻 2 号 特集「アタッチメントを知りたい!」, 診断と治療社, 85 . 査読無
2. 篠塚一貴・矢野沙織・Menno R. Kruk・黒田公美 (2017) 攻撃性の脳内基盤 II 最近の基礎研究の動向 臨床精神医学, 46(9), 1067-1079 . 査読無
3. 篠塚一貴・清水透 (2016) 比較神経科学からみた進化にまつわる誤解と解説 . 心理学ワールド 75 号 特集「脳科学と心理学 (2) 脳をもっと知ろう」, 新曜社, 17-20 . 査読無
4. 黒田公美・白石優子・篠塚一貴・時田賢一 (2016) 子ども虐待はなぜ起こるのか 親子関係の脳科学 . こころの科学増刊「ここまでわかった! 脳とこころ」, 日本評論社, 16-24 .

査読無

5. Gonzales-Portillo, C., Ishikawa, H., Shinozuka, K., Tajiri, N., Kaneko, Y., & Borlongan, C.V. (2016). Stroke and cardiac cell death: Two peas in a pod. *Clinical Neurology & Neurosurgery*, DOI 10.1016/j.clineuro.2016.01.001 査読有
6. Watanabe, S., Shinozuka, K., & Kikusui, T. (2016). Preference for and discrimination of videos of conspecific social behavior in mice. *Animal Cognition*, **19(3)**, 523-531, DOI 10.1007/s10071-016-0953-x. 査読有

〔学会発表〕(計 1件)

1. 篠塚一貴・矢野(梨本)沙織・進藤さやか・齋藤慈子・黒田公美. コモンマーモセットの養育行動 複数指標からの検討. 日本霊長類学会第34回大会, 武蔵大学, 2018年7月.

〔図書〕(計 1件)

1. Shimizu, T., Shinozuka, K., Uysal, A. K., & Leilani Kellogg, S. (2017). The origins of the bird brain: Multiple pulses of cerebral expansion in evolution. In: Watanabe, S., Hofman, M., and Shimizu, T. (eds.), *Evolution of the Brain, Cognition, and Emotion in Vertebrates*, Springer, Pp. 33-57.

〔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

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。