

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01986

研究課題名（和文）母性記憶形成における脳内自己報酬系と概日時計の役割

研究課題名（英文）The role of reward system and circadian clock in maternal memory

研究代表者

富永 恵子（吉野恵子）（Tominaga, Keiko）

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号：60256196

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、母性行動の経験が母性記憶として脳内に保持されるメカニズムを、マウスを用いた実験により明らかにした。雌親が出産直後の数日間、仔と接触し、母性行動を繰り返し経験することにより、脳内報酬系におけるシナプス新生が起こることがわかった。仔との接触期間にタンパク合成阻害剤を脳内投与すると、報酬系におけるシナプス新生と母性記憶の形成が阻害された。また、海馬の長期可塑性現象の誘発に重要なCa²⁺透過型AMPA受容体も母性記憶形成に関与していることがわかり、海馬など他の脳部位で起こるシナプス可塑性現象と同様のメカニズムで母性記憶が形成され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

母性記憶という現象は、生得的（本能的）なものとして考えられてきた養育行動が経験により影響を受けることを示している。母性記憶の細胞基盤を明らかにした本研究成果により、適切な経験を繰り返すことで、未熟な母性行動を適切なものへと修正できる可能性を示すことができた。母性記憶形成の細胞メカニズムの解明は、具体的な修正方法への道筋をつけると期待される。

研究成果の概要（英文）：We found that synaptogenesis occurred in the reward system of a dam which experienced maternal behavior. The synaptogenesis was retained even though the dam was separated from pups after contacting with them for several days. A protein synthesis inhibitor administered intracerebrally during the contact period inhibited the synaptogenesis in the reward system and maternal memory formation. We also found that the Ca²⁺-permeable AMPA receptor, which is important for induction of the synaptic plasticity in the cultured hippocampal slices, was also involved in maternal memory formation. It is suggested that maternal memory is established by the mechanism similar to synaptic plasticity produced in other brain regions such as the hippocampus. Our finding indicates the possibility that immature maternal behavior can be corrected by repeating appropriate maternal behavior. Elucidation of the cellular mechanism of maternal memory is expected to pave the way for specific correction methods.

研究分野：神経生理学

キーワード：シナプス可塑性 マウス 母性記憶

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

繁殖戦略に重要な養育行動は遺伝的にプログラムされた生得的(本能的)なものだが、経験の影響も受ける。げっ歯類の研究では、出産経験も仔との接触経験もない個体に、里仔を提示しても母性行動は示さず、仔を異物として拒否し、攻撃行動を示すことすらある。初めての母性行動は、妊娠・出産時に分泌されるホルモンや仔からの感覚情報が、母性行動中枢である内側視索前野を刺激し、さらに報酬系を動かすことで、「仔の拒否」から「仔への関心」へと脳内回路が変化することによって現れるという。母性行動を一度経験した動物は、長期間仔と離れていても、ふたたび仔と接触した時には、即時に仔に関心を示し、母性行動を開始する。これは、過去の養育経験により母親の脳内神経回路に可塑的な変化が生じ、母性行動を誘発する回路の感受性が高まるためだと考えられる。この母性行動の経験が長期に亘り保持される現象を母性記憶(maternal memory)という(Scanlan et al, Behav Neurosci 2006)。母性記憶が母性行動に關与する神経回路のどこに、どのような変化として保存されるのかはほとんど分かっていない。

申請者はこれまで、培養海馬切片に長期増強現象(LTP)を繰り返し誘発すると、長期間維持するシナプス新生を伴った、シナプス伝達の強化現象(RISE)が起こることを見出し、構造可塑性現象のモデルとして解析してきた(Tominaga-Yoshino et al, 2008; 富永恵子&小倉明彦2013)。母性記憶が長期間保持される現象であることから、これを海馬におけるRISEのアナロジーとして捉え、「母性記憶の細胞基盤はシナプス新生という構造可塑性現象であり、その誘発はタンパク合成に依存する」という仮説を立て、それを検討することとした。

2. 研究の目的

本研究では、母性記憶が、母性行動の経験による脳内回路の可塑的変容により保持されるのかを明らかにすることを目的とする。母性記憶は長期間保持される現象なので、海馬における長期記憶の形成と同様に、タンパク合成を伴うシナプスの構造可塑性現象が関与していると考え、その形成場所を特定することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 出産育児を経験したマウスを出産後に仔と分離した後に、再び仔と接触させ、母性行動の即時発現を評価した。この母性記憶の解析では、ケージ内の仔マウスの回収行動の完了までにかかる時間を計測した。

(2) 母性行動の経験により脳内に生じる可塑的变化を捉えるために、シナプス数を解析した。母性行動の発現に関わるとされる回路の中で、報酬系と海馬、扁桃体に着目し、出産育児を経験したマウスと未経産マウスのシナプス数を比較した。シナプス数の評価は各脳部位の神経細胞をゴルジ染色により可視化し、シナプス構造の指標であるスパイン密度を計測して行った。

(3) シナプス数の増加という構造可塑性現象には、新規のタンパク合成が関与すると考えられる。そこで、出産直後から仔と接触する3日間に、母マウスの脳内にタンパク合成阻害剤を投与した。その後、仔と分離させ、再び仔と接触させた時の母性行動完了までの速度を計測した。また、タンパク合成阻害剤を投与した時の報酬系におけるシナプス数も計測した。

(4) 海馬や報酬系における可塑性現象でCa²⁺透過型AMPA受容体(CP-AMPA)の関与が報告されている。そこで、母性記憶の形成にCP-AMPAが関与しているかどうかについて検討した。仔との分離直後にCP-AMPA阻害剤を腹腔投与し、母性記憶形成への影響を調べた。また、我々がこれまで提唱してきた、培養海馬切片における繰り返し刺激依存的シナプス新生現象においても、CP-AMPAが関与しているかを検討した。

(5) リズム障害が母性記憶形成を阻害する要因となりうるかについて検討した。時計遺伝子欠損マウスを用いて、母性行動を観察し、母性記憶を評価した。

4. 研究成果

(1) 母性記憶形成部位の特定

母性行動の発現中枢は内側視索前野であるが、母性行動の発現には他のさまざまな脳部位を含む回路で調節されると考えられている。そこで、この回路に含まれる報酬系(側坐核と腹側被蓋野)と、さらに空間記憶や恐怖記憶の形成に関わる海馬や扁桃体に着目し、母性行動を経験した経産マウスと母性行動を経験していない未経産マウスについて、シナプス数(スパイン数)を比較した。すると、報酬系では、母性行動を経験したマウスでは未経産マウスに比べて、シナプス数が有意に増加していた。しかし、海馬や扁桃体ではシナプス数は増加していなかった。報酬系が行動の動機付けに關与する脳部位であることから、母性行動の経験が報酬系でのシナプス数を増加させることで母性行動の動機付けを促進し(誘発閾値を下げる)、次回の母性行動の発現をスムーズにすると考えられる。母性行動を経験した雌マウスでは、海馬でのシナプス数が増加し、空間認知能力が上昇するという報告があるが、本研究ではそれを再現できなかった。計測時期や方法、実験スケジュールの違いによると考えられる。

(2) 母性記憶形成のタンパク合成依存性

シナプス数の増加という構造可塑性現象は、回路のダイナミックな編成を伴うと考えられる。海馬の可塑性研究においても、構造可塑性現象には新規のタンパク合成が必須であることが示されている。そこで、本研究で発見した母性記憶形成によるシナプス数の増加に、新規のタンパク合成が関与するかどうかを検討した。出産後3日間（仔と接触し、母性行動を経験している期間）に、雌親の脳内にタンパク合成阻害剤を毎日微量注入し、母性記憶の形成を仔の回収行動で評価した。すると、タンパク合成阻害剤を3日間連続で投与した雌親では、母性記憶の形成が著しく阻害されていた。しかし、3日間のうちの1日だけにタンパク合成阻害剤を投与したマウスでは、阻害効果は弱かった。また、タンパク合成阻害剤は、母性記憶形成時の報酬系におけるシナプス数の増加も阻害した。したがって、出産後、少なくとも数日間、仔と接触し、母性行動を繰り返し経験することが、新規のタンパク合成を促進し脳内回路を可塑的に変化させ、それが母性記憶形成につながると考えられる。

(3) 海馬における可塑性現象のアナロジー：母性記憶形成における CP-AMPA の関与

母性記憶の形成が、繰り返し依存的で長期持続する構造可塑性現象によることが明らかとなり、これまで我々が解析を続けてきた以下の現象のアナロジーであるという考えに至った。これまで我々は、げっ歯類脳の海馬切片を培養下に移し、長期増強現象（LTP）を繰り返し誘発すると、シナプス新生を伴って3週間以上の長期間持続するシナプス強化が起こることを見出した。RISE と呼ぶこの現象を繰り返し学習による記憶形成のモデル現象と考え、解析を進めてきた（Tominaga-Yoshino et al, 2008）。RISE の成立では、繰り返し LTP 誘発の直後数日間の発達期とシナプス新生後の維持期があり、発達期には脳由来栄養因子やアクチン制御因子の発現が上昇し、シナプスのゆらぎが見られ、シナプス動態のダイナミックな変化が起こっていることがわかっている（富永恵子 & 小倉明彦 2013）。この発達期に、Ca²⁺透過型 AMPA 受容体（CP-AMPA）の構成サブユニットである GluA1 の遺伝子・蛋白質がともに増加していることが分かり、CP-AMPA が RISE 成立に関与するかどうかを検討することとなった。その結果、繰り返し LTP 誘発後数日（RISE 発達期）に、CP-AMPA の表在化が一過性に起こり、この時期に CP-AMPA の阻害剤を投与すると、RISE 成立が完全に阻害された。CP-AMPA は RISE の成立に必須の分子であることが明らかとなった（Tominaga-Yoshino et al., 2020）。

母性記憶も同様に、母性行動の繰り返しに依存し、長期間持続するシナプス新生によることから、RISE と相同の現象である可能性がある。また、報酬系に誘発される可塑性現象が細胞基盤とされる薬物依存症でも、CP-AMPA の活性化が起こるといわれている。そこで、報酬系でシナプス新生が起こる母性記憶形成にも、CP-AMPA が必須であるかを明らかにするために、仔との数日間の接触の直後（仔との分離後）に CP-AMPA の阻害剤を投与した。すると、母性記憶の形成が阻害された。CP-AMPA は RISE であれ、母性記憶であれ、繰り返し刺激による可塑的変容の誘発時にスイッチを入れる重要な分子であることが示唆された。

(4) 母性記憶形成と時計遺伝子の関係

母性行動の経験が雌親の脳内回路を可塑的に変化させることが、次回の母性行動の発現に有利に働く時、経験が生きるといえる。しかし、母性記憶の形成は、雌親自身の発達期の生育環境、出産前後のストレスなど、さまざまな外的要因で阻害される可能性がある。本研究では、雌親がリズム障害を患う時に母性記憶形成がどのような影響を受けるかを検討した。本研究で用いた時計遺伝子欠損マウスでは、恒常暗条件下におくと、概日リズムは消失するが、12時間12時間の明暗条件下で飼育した時には、見かけ上の行動リズムを示した。この明暗条件下で、まず母性行動を観察すると、母性行動のリズムパターンが野生型マウスと異なることが分かった。しかし、母性記憶の形成を評価すると、野生型との違いが見いだせなかった。母性記憶形成を阻害する要因の探索は今後の課題である。

以上の結果から、母性行動の経験は脳内報酬系に記憶され、次の母性行動の即時発現の動機付けの基盤となることが明らかとなった。母性行動が生得的なものだけでなく経験の影響も受けることを利用すれば、母性行動の異常を修復する方法の解明にもつながると期待される。

< 引用文献 >

- Scanlan VF, Byrnes EM, Bridges RS(2006) Reproductive experience and activation of maternal memory. *Behav Neurosci*, 120: 676-686.
- Tominaga-Yoshino K, Urakubo T, Okada M, Matsuda H, Ogura A (2008) Repetitive induction of late-phase LTP produces long-lasting synaptic enhancement accompanied by synaptogenesis in cultured hippocampal slices. *Keiko Hippocampus*, 18:281-293,
- 富永恵子, 小倉明彦 (2013)長期記憶の細胞機構解明を目指して. *日薬理誌*, 142:122-127.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 小倉明彦, 齋藤慎一, 木村聡志, 富永(吉野)恵子 | 4. 巻 150 |
| 2. 論文標題 ストレスの記憶への影響を細胞レベルで解析するためのin vitroモデル系 | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 日本薬理学雑誌 | 6. 最初と最後の頁 223-227 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/fpj.150.223. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Tominaga Yoshino Keiko, Urakubo Tomoyoshi, Ueno Yukiko, Kawaai Katsuhiko, Saito Shinichi, Tashiro Tomoko, Ogura Akihiko | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Transient appearance of Ca ²⁺ permeable AMPA receptors is crucial for the production of repetitive LTP induced synaptic enhancement (RISE) in cultured hippocampal slices | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Hippocampus | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hipo.23206 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 河村小雪, 松本かな子, 村上温美, 岡村均, 富永恵子 |
| 2. 発表標題 Per-nullマウスにおける母性行動の日周リズム |
| 3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Keiko Tominaga, Tomonori Nakamura, Mitinori Saitou and Hitoshi Okamura |
| 2. 発表標題 Does maternal rhythm affect the development of circadian rhythm of the offspring? |
| 3. 学会等名 The 20th International Conference on System Biology (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 村上温美、河村小雪、松本かな子、武田万稀、岸川友佳、岡村均、富永恵子 |
| 2. 発表標題 時計遺伝子改変マウスを用いた母性行動の解析 |
| 3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|-----------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 尾崎 友香 (Ozaki Yuka) | | |
| 研究協力者 | 川尻 敏孝 (Kawajiri Toshitaka) | | |