

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06521

研究課題名（和文）社会性ホルモンバソプレシンの嗅覚系神経回路の解明

研究課題名（英文）Investigation of the olfactory neural circuitry of the social hormone vasopressin

研究代表者

辻 知陽（Tsuji, Chiharu）

金沢大学・子どものこころの発達研究センター・特任准教授

研究者番号：00523490

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、嗅覚系のVP神経の神経回路を明らかにし、匂いによる社会性情報処理機構を明らかにすることを目的とした。VP神経の出力先を順行性の蛍光蛋白質を発現するアデノウイルスにより同定し、入力は、変異型狂犬病ウイルスを用いたトレーサーシステムを用いて同定することにした。安定したウイルス導入及び、使用可能なウイルスの同定及び確保に時間がかかったが、嗅覚系バソプレシン細胞と視床下部を結ぶ新規神経回路の特定に至った。現在、その詳細な解析を行っており、今後、この神経回路の生理的役割を同定する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バソプレシン（VP）及びオキシトシン（OT）は、脳内視床下部から放出され、社会的な絆、個体認識、社会性記憶など、社会性に重要な役割をもつ神経ペプチドである。哺乳類では、その受容体は脳内に広く分布しており、特に齧歯類では嗅覚系で豊富に発現している。しかし、嗅覚系から入力される社会性情報の視床下部への伝達経路やその生理的役割についてはほとんど研究されていない。感覚系から入出力される社会性情報の処理機構は、視覚が優位なヒトでも同様なメカニズムで働いている可能性があり、生物共通な神経基盤の一端を明らかにできると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the neural circuitry of the VP neurons in the olfactory system and to elucidate the mechanism of social information processing by odor. The output of the VP neurons were identified by an adenovirus expressing fluorescent protein, and the input neurons were identified by using a tracer system with a mutant rabies virus. It took us time to establish the virus injection systems and to identify the type of virus suited for our systems. However, as a result, we have identified a novel neural circuit connecting olfactory vasopressin cells to the hypothalamus. We are now conducting detailed analysis of this neural circuit, and plan to identify its physiological role.

研究分野：神経生理学

キーワード：バソプレシン 嗅覚系 神経回路 視床下部

## 1. 研究開始当初の背景

オキシトシン (OT) 及びバソプレシン (VP) は、社会性の絆形成、認識、記憶など様々な局面で作用する脳内ペプチドホルモンである。視床下部にある視索上核 (SON) や室傍核 (PVN) に存在する OT 神経や VP 神経から産生されており、OT や VP の脳内作用部位や、作用機序、生理機能については多くの研究が齧歯類でなされている。しかし、社会性情報が感覚器からどのように入力処理されるのか、また、VP や OT がその入力情報経路や、フィードバックの情報処理経路にどのように関与するかについては、未だ不明な点が多い。

嗅覚系の入力に対しての OT の関与については、PVN の OT 神経が前嗅核の OT 受容体陽性神経に投射し、さらにそれらが主嗅球の介在ニューロンに投射する経路が明らかになっている。これらの介在ニューロンは、(社会性) 嗅覚情報のフィードバックを受け、僧帽細胞 (嗅細胞から入力を受ける二次神経) の神経活動の S/N 比をあげるように働く (Oettl et al, Neuron, 2016)。一方、Ludwig らは、ラットの嗅覚系の VP 受容体を阻害または、VP 産生細胞を破壊すると、同種認識が低下し、VP 受容体が発現する僧帽細胞の神経活動が VP により抑制されることを示した (Tobin et al., Nature, 2010)。彼らは、一度覚えた匂い (同種の匂いなど) が僧帽細胞に入力されたときに、VP が分泌され、僧帽細胞の神経活動を抑制し、新たな匂い情報として出力しないというフィルター仮説を提案した。このように、VP や OT は嗅覚系で社会性情報伝達に重要な役割を担っていることが示唆される。しかし、社会認識過程のどのような局面で、特に、嗅覚系に存在する VP 神経が活性化・抑制化され、局所的な分泌を生じるのか、神経回路も含め明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究は、嗅覚系の VP 神経の神経回路を明らかにし、匂いによる社会性情報処理機構を検討する。

## 3. 研究の方法

本研究では、嗅覚系 VP 神経回路について、変異型狂犬病ウイルスを用いたトレーサーシステムを用いて明らかにすることにした。このトランスシナプス標識法は、スタート細胞から逆行性に位置する細胞を同定できるため、嗅覚 VP 神経に入力する神経を同定することができる。VP 神経の出力は、VP 神経特異的に Cre を発現するマウスに、順行性の蛍光蛋白質を発現するアデノウイルス (pAAV-hSyn-DIO-mCherry, addgene) を嗅覚 VP 神経群に導入することによって検討する。

### 1. 嗅覚VP神経の入力及び投射経路の同定

変異型狂犬病ウイルスを用いたトランスシナプス標識法は、感染した細胞から、一段階だけ上流に位置するシナプス前細胞 (入力する細胞) に感染するので、この方法を用いると、スタート細胞から逆行性に位置する細胞を同定できる (Watanabe-Uchida et al, Neuron, 2012)。申請者はこのトランスシナプス標識法を用いて、嗅覚 VP 神経に入力する神経を同定する。さらに、このトランスシナプス標識法は、バソプレシン神経の投射

先も同時に同定できることから、非常に利便性の高いシステムである。VP 細胞特異的に Cre が発現するマウスの嗅覚系部位（主嗅球、副嗅球、前嗅覚、梨状皮質）に RAV が細胞内にとりこまれる為に必要な受容体（TVA）と赤色蛍光蛋白質（mCherry）の DNA を持つアデノウイルス（AAV）（AAV-FLEX-TVA-mCherry, addgene）と、RAV の膜タンパク質 G（RAV-G）の DNA を持つアデノウイルス（AAV-FLEX-RG, addgene）を同時感染させる。これらの AAV は、Cre 依存的に mCherry、TVA、RAV-G を VP 神経内に発現させる。数週間たったのち、RAV を感染させる。RAV は RAV-G を欠損した不完全なウイルスで、それ自体には、感染増殖能がないが、TVA を介して VP 細胞に取り込まれる。そして、RAV-G によって、機能的な感染ウイルスとなり、VP 神経に入力する前シナプス細胞に感染する。一方、RAV の DNA には、緑色蛍光蛋白質（GFP）がコードされているので、VP 神経と前シナプス細胞に GFP を発現する。さらに、この前シナプス細胞は RAV-G が発現しないので、これ以上 RAV がシナプスを超えて感染することはなく、標的 VP 神経は、GFP と Cherry で標識され、前シナプス細胞は、GFP で標識されている。このようにして、VP 神経に入射する細胞を特定することができる。以上により理論的には一回の実験で VP 神経の順行性（AAV のみ）と逆行性（AAV と RAV）によっての神経経路を明らかにできる。

## 2. 嗅覚 VP 神経の投射経路の同定（順行性トレーサー）

外にも、VP 神経特異的に発現する CRE によって、蛍光蛋白質を発現するアデノウイルス（pAAV-hSyn-DIO-mCherry, addgene）を嗅覚 VP 神経群に導入することによって検討する。

### 4. 研究成果

安定したウイルス導入及び、使用可能なウイルスの同定及び確保に時間がかかったが、嗅覚系 VP 神経と視床下部を結ぶ新規神経回路の特定に至った。現在その詳細な解析を行っており、今後、この神経回路の生理的役割を同定する予定である。

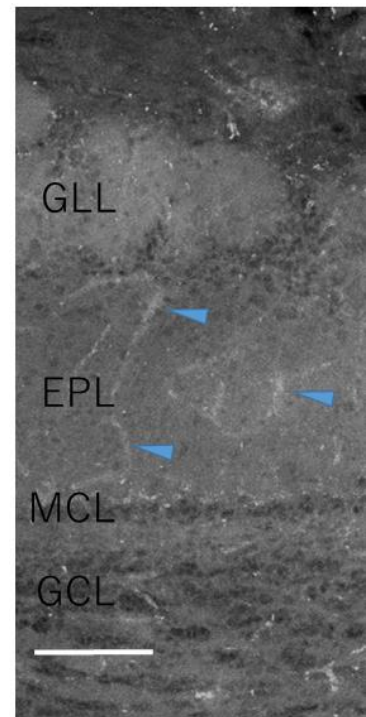


図1 CRE 依存的に GFP が発現する順行性ウイルスを VP-CRE マウスの視床下部に導入。GFP のシグナルを嗅覚にて確認した（矢頭）。GLL 糸球体層、EPL 外網状層、MCL 僧帽細胞層、GCL 穀粒細胞層、スケール 100  $\mu$ m

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tsuji Takahiro, Tsuji Chiharu, Lozic Maja, Ludwig Mike, Leng Gareth	4. 巻 7
2. 論文標題 Coding of odors in the anterior olfactory nucleus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports	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) 10.14814/phy2.14284	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kogami Yuji, Tsuji Takahiro, Tsuji Chiharu, Yokoyama Shigeru, Furuhashi Kazumi, Lopatina Olga, Shabalova Anna, Salmina Alla B., Watanabe Yumi, Hattori Tsuyoshi, Nishimori Katsuhiko, Kodama Kota, Higashida Haruhiro	4. 巻 -
2. 論文標題 A monoclonal antibody raised against a synthetic oxytocin peptide stains mouse hypothalamic neurones	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	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) 10.1111/jne.12815	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 Higashida Haruhiro, Hashii Minako, Tanaka Yukie, Matsukawa Shigeru, Higuchi Yoshihiro, Gabata Ryosuke, Tsubomoto Makoto, Seishima Noriko, Teramachi Mitsuyo, Kamijima Taiki, Hattori Tsuyoshi, Hori Osamu, Tsuji Chiharu, et al	4. 巻 9
2. 論文標題 CD38, CD157, and RAGE as Molecular Determinants for Social Behavior	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 62 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9010062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shabalova Anna A., Liang Mingkun, Zhong Jing, Huang Zhiqi, Tsuji Chiharu, Shnyder Natalia A., Lopatina Olga, Salmina Alla B., Okamoto Hiroshi, Yamamoto Yasuhiko, Zhong Zeng-Guo, Yokoyama Shigeru, Higashida Haruhiro	4. 巻 120
2. 論文標題 Oxytocin and CD38 in the paraventricular nucleus play a critical role in paternal aggression in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hormones and Behavior	6. 最初と最後の頁 104695 ~ 104695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yhbeh.2020.104695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chiharu Tsuji, Tomoaki Fujisaku, Takahiro Tsuji	4. 巻 ahead of print
2. 論文標題 Oxytocin Ameliorates Maternal Separation-Induced Ultrasonic Vocalisation Calls in Mouse Pups Prenatally Exposed to Valproic Acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 ahead of print
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.12850	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 Mahmuda Naila Al, Yokoyama Shigeru, Munesue Toshio, Hayashi Kenshi, Yagi Kunimasa, Tsuji Chiharu, Higashida Haruhiro	4. 巻 8
2. 論文標題 One Single Nucleotide Polymorphism of the TRPM2 Channel Gene Identified as a Risk Factor in Bipolar Disorder Associates With Autism Spectrum Disorder in a Japanese Population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diseases	6. 最初と最後の頁 4 ~ 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diseases8010004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuhi Teruko, Ise Kosuke, Iwashina Kei, Terao Naoya, Yoshioka Satoshi, Shomura Keijiro, Maehara Toshikatsu, Yazaki Akari, Koichi Kana, Furuhashi Kazumi, Cherepanov Stanislav, Gerasimenko Maria, Shabalova Anna, Hosoki Kouhei, Kodama Hikari, Zhu Hong, Tsuji Chiharu, Yokoyama Shigeru, Higashida Haruhiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Sex Differences in Salivary Oxytocin and Cortisol Concentration Changes during Cooking in a Small Group	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Behavioral Sciences	6. 最初と最後の頁 101 ~ 101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/bs8110101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Sanae, Komagome Aiko, Iguchi-Sherry Aya, Nagasaka Akiko, Yuhi Teruko, Higashida Haruhiro, Rooksby Maki, Kikuchi Mitsuru, Arai Oko, Minami Kana, Tsuji Takahiro, Tsuji Chiharu	4. 巻 10
2. 論文標題 Participatory Art Activities Increase Salivary Oxytocin Secretion of ASD Children	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Sciences	6. 最初と最後の頁 680 ~ 680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci10100680	査読の有無 無
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15件(うち招待講演 0件/うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Chiharu Tsuji, Tomoaki Fujisaku,
2. 発表標題 Reduced emission of ultrasonic vocalization in the valproic acid exposed pups
3. 学会等名 13th World Congress of Neurohypophysial Hormone (WCNH2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chiharu Tsuji, Pinyue Fu, Zing Zhong, Takahiro Tsuji
2. 発表標題 Establishment of female social behavioral paradigm to detect social deficit in the valproic acid-induced mouse model of autism.
3. 学会等名 第42回日本神経科学・神経化学合同大会(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Anna A. Shabalova, Mingkum Liang, Jing Zhong, Chiharu Tsuji, Yasuhiko Yamamoto, Shigeru Yokoyama, Haruhiro Higashida.
2. 発表標題 Analysis of paternal aggression in CD38 knockout autism model mice.
3. 学会等名 Int. Symposium on Chronic Disease and Glycation Biology, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Pinyue Fu, Jing Zhong, Takahiro Tsuji, Shunki Yamaguchi, Anna A. Shabalova, Maria Gerasimenko, Stanislav M. Cherepanov, Shegeru Yokoyama, Chiharu Tsuji.
2. 発表標題 Analysis of ultrasonic vocalization in the valproic-acid induced female mouse model of autism
3. 学会等名 Int. Symposium on Chronic Disease and Glycation Biology, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoaki Fujisaku, Chiharu Tsuji, Yoshinari Nasu, Anna A. Shabalova, Stanislav M. Cherepanov, Shigeru Yokoyama, Takahiro Tsuji.
2. 発表標題 Analysis of pup USV calls in the valproic-acid induced mouse model of autism.
3. 学会等名 Int. Symposium on Chronic Disease and Glycation Biology, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Tsuji, Shigeru Yokoyama, Yasuhiko Yamamoto, Haruhiro Higashida, Chiharu Tsuji.
2. 発表標題 Maternal behavior of CD38 KO autism model mouse dam is improved by social support
3. 学会等名 Int. Symposium on Chronic Disease and Glycation Biology, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chiharu Tsuji, Kazumi Furuhashi, Maria Gerasimenko, Kana Minami, Shigeru Yokoyama, Haruhiro Higashida, Takahiro Tsuji.
2. 発表標題 Carnosine attenuates the social deficit of CD157KO mouse model of autism
3. 学会等名 Int. Symposium on Chronic Disease and Glycation Biology, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sanae Tanaka, Aya Iguchi Sherry, Maki Rooksby, Teruko Yuhi, Kana Minami, Haruhiro Higashida, Chiharu Tsuji.
2. 発表標題 Establishing the verification methods to assess the effect of art workshop on autistic children.
3. 学会等名 Int. Symposium on Chronic Disease and Glycation Biology, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chiharu Tsuji, Maki Rooksby, Aya Iguchi-Sherry, Teruko Yuhi, Kana Minami, Haruhiro Higashida, Sanae Tanaka,
2. 発表標題 Establishing the biomarkers to assess the effect of participatory art work shop on autistic children.
3. 学会等名 Int. Symposium on New Frontiers in Neuroscience, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Pinyue Fu, Zing Zhong, Takahiro Tsuji, Shunki Yamaguchi, Anna A. Shabalova, Maria Gerasimenko, Stanislav M. Cherapanov, Shigeru Yokoyama, Chiharu Tsuji.
2. 発表標題 Establishing the female social behavioral paradigm to detect social deficit in the valproic acid-induced mouse model of autism.
3. 学会等名 Int. Symposium on New Frontiers in Neuroscience, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoaki Fujisaku, Chiharu Tsuji, Yoshinari Nasu, Anna A. Shabalova, Stanislav M. Cherepanov, Shigeru Yokoyama, Kazumi Furuhashi, Sodeo Saika, Takahiro Tsuji.
2. 発表標題 The deficit of pup USV calls in the valproic-acid induced mouse model of autism.
3. 学会等名 Int. Symposium on New Frontiers in Neuroscience, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Tsuji, Shigeru Yokoyama, Yasuhiko Yamamoto, Haruhiro Higashida, Chiharu Tsuji.
2. 発表標題 Deficit of maternal behavior of CD38 KO autism model mouse induced by the isolation stress is improved by the social support.
3. 学会等名 Int. Symposium on New Frontiers in Neuroscience, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Chiharu Tsuji, Maki Rooksby, Aya Iguchi-Sherry, Teruko Yuhi, Kana Minami, Haruhiro Higashida, Sanae Tanaka,
2. 発表標題 Establishing the biomarkers to assess the effect of participatory art work shop on autistic children.
3. 学会等名 Int. Symposium on New Frontiers in Neuroscience, Kanazawa University (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Tsuji, Haruhiro Higashida, Chiharu Tsuji.
2. 発表標題 Maternal behavior of CD38 KO dam is improved by social support.
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学会大会 合同年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoaki Fujisaku, Chiharu Tsuji, Takahiro Tsuji
2. 発表標題 Analysis of USV calls induced mouse model of autism
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学会大会 合同年会
4. 発表年 2018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
研究分担者	辻 隆宏  (Tsuji Takahiro)  (40787389)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・助教    (13401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------