

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年3月25日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22791153

研究課題名（和文） 哺乳類新生仔が運ばれる時に示すトランスポートレスポンスの分子神経メカニズムの解析

研究課題名（英文） Transport Response in mammalian young: Analysis of neuromolecular mechanism

研究代表者

吉田 さちね (YOSHIDA SACHINE)

独立行政法人理化学研究所・黒田研究ユニット・研究員

研究者番号：90513458

研究成果の概要（和文）：

幼弱に生まれる哺乳類の仔の多くは、親に運ばれて移動する。この時、仔は運ばれやすいコンパクトな姿勢でおとなしくなる輸送反応（TR）を示す。本研究は仔マウスを用いてTRの発達や制御機構を解析した。TRは離乳前一過的に発現し、不動と姿勢制御という構成要素から成る。不動反応には触覚と固有覚刺激が必須であり、姿勢制御は小脳機能を介することが分かった。これらの結果よりTRはその制御に複数の脳部位が関わる仔特有の反応であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

A mother carries the young in many altricial mammals. Meanwhile, the transported young immediately assume a compact posture and stay calm. This young's response to maternal transport is called "Transport Response (TR)". We studied the postnatal development and regulatory mechanisms of TR using mouse pups. We found that TR was an intricate combination of immobilization and postural regulation. Tactile sensation and proprioception were essential for immobilization component of TR. The postural regulation component of TR was dependent on the cerebellar function. These findings indicate that TR is a filial-specific response that involves multiple brain areas for its regulation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：マウス、輸送反応、生後発達、親子関係

1. 研究開始当初の背景

幼弱に生まれる哺乳類の仔は親からの適切な養育がなければ生き延びることができない。そのため仔には自分を守ってくれる相

手を認識し、その対象に愛着する「愛着行動」、そして親には仔の世話をする「養育行動」が本能的に備わっている。愛着行動と養育行動は相互依存的であり、双方の働きかけと応答

が必須である。たとえばイヌ、ネコ、ネズミなど四足哺乳類の多くでは、親が仔を口でくわえて運ぶ場合、仔は親が運びやすいように大人しくなり、同時に四肢を縮めてコンパクトな姿勢になるトランスポートレスポンス (Transport Response, TR) を示す (図1)。

一方、ヒト乳幼児は泣いているときに抱き上げられると泣き止むことが多い。さらに抱きかかえながら歩くと、そのままおとなしくしていることは広く知られている。親の輸送を助ける TR はマウスなどだけではなく、ヒトを含む霊長類にも相当する反応がある可能性が高い。しかし、TR に関する研究はあまりなされておらず、反応制御に必要な脳部位や神経機構はほとんど不明であった。



図1：親ネコの輸送中に見られる仔ネコのトランスポートレスポンス

2. 研究の目的

TR はこれまであまり注目されてこなかった現象であり、特にその神経基盤はほとんどわかっていない。そこで、本研究ではマウスモデルを用いて TR を構成する反応要素の詳細な解析、特徴の抽出、そして発達曲線の作成を行う。さらには薬理学的手法や遺伝子改変マウスを用いて TR の分子神経メカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

近交系 C57BL/6 マウスを用いて TR の基礎データを収集する。TR は本来、親が仔を運ぶ時に現れる反応であるが、ラットやマウスにおいては実験者が母親の輸送をまねて仔の背中をつまみあげることによって簡単に TR を誘導することができる (図2)。そこで本研究では実験者が仔マウスを指でつまむことで TR を誘導する。

生後0日から20日齢のマウスを用いて TR を観察し、おとなしくしていた時間の長さ、TR 中の四肢の姿勢における発達曲線を作成する。TR 誘導に関わる感覚刺激入力と同定するため、関与が予想される感覚受容器の外科的破壊や薬理的阻害を試みる。また活動亢進や多動、姿勢異常といった表現型を有する遺



図2：指でつまみあげて誘導した仔マウスの TR

伝子改変マウスは TR 異常が予想される。このような改変マウスを入手し、TR 異常の有無を検討することで TR 制御に関わる脳部位やシグナル伝達を考察する。

4. 研究成果

仔マウスを指でつまみあげ、不動時間と後肢の姿勢タイプに従って、生後0日 (P0) から20日の21日間を分類したところ、指でつまんだ場合、顕著な TR は P8 から P15 にかけて一過的に見られ、P18 以降見られないことが分かった (図3)。C57BL/6 マウスは P14 頃に脛が開いた後、運動能力が急速に発達し、離乳する P21 では仔自身で自由に動き回ることができる。つまりはっきりとした TR が起こる時期は、運動能力が未発達で親に運ばれる必要があるとともに、親にとっては成長する仔の輸送が困難になる時期でもある。従って TR の発現タイミングは仔の発達とよく相関することが分かった。

TR 誘導に関わる感覚刺激入力を調べるため、種々の感覚遮断実験を行った。前庭器官を外科的に破壊した仔では正常 TR が見られた (図4)。次いで、指でつまみあげる首背部の皮膚に局所麻酔をしたところ、不動反応の顕著な減弱が見られた (図5)。さらに、ビタミン B6 の過剰投与により固有覚障害を引き起こした仔マウスでも顕著な不動反応の減弱が観察された (図6)。この固有覚障害によりじっとしなくなった仔マウスを母親に輸送させたところ、対照群よりも輸送に時間がかかることが分かった (図7)。これらの結果から、少なくともマウスでは TR の誘導には、触られる部位の触覚刺激および固有覚刺激が必須であることが分かった。また TR には親の輸送を助ける機能があることが実験的に示された。

TR 中、仔は体幹の柔軟性は維持したまま、四肢を収縮させる。この複雑な姿勢適応には小脳を介した制御機構の関与が示唆されたため、*reeler* と *cerebellless* という二系統の小脳ミュータントマウスを用いて TR 異常の有無を検討した。その結果、両ミュータントにおいて姿勢異常が見られ、つまみあげられた時の体長が野生型およびヘテロマウスよりも長くなっていることが明らかになった (図8A、B)。小脳皮質を外科的に除去した仔マウスでも同様の表現型が観察されたことから (図8C)、TR 特有の姿勢には小脳を介した協調運動制御が関与することが示唆された。

本研究により、TR はその制御に複数の脳部位が関与する仔特有の鎮静化反応であり、親の輸送を助ける機能をもつことが明らかになった。

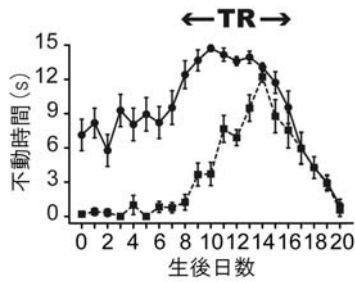


図3：じっとしていた秒数（実線）、後肢を縮めてじっとしていた秒数（破線）

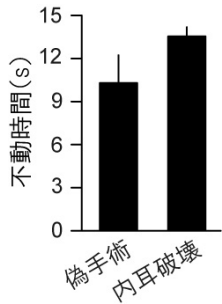


図4：偽手術群と外科的に内耳破壊をした仔マウスの不動時間の比較

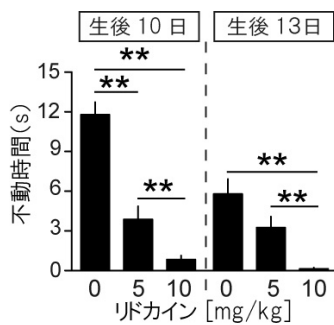


図5：首背部にリドカインを投与してからTRを誘導したときの不動時間 (** $p < 0.01$)

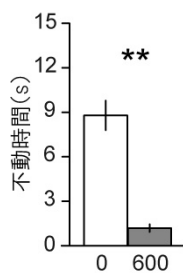


図6：ピリドキシンを投与しない個体と投与した個体の不動時間の比較 (** $p < 0.01$)

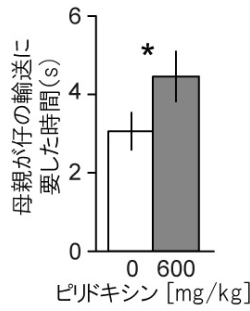


図7：ピリドキシンを投与しない個体と投与した個体を母親に運ばせたときにかかる時間の比較 (* $p < 0.05$)

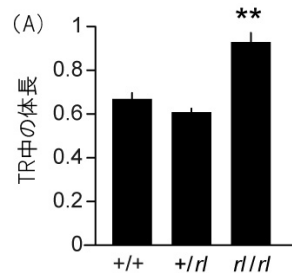
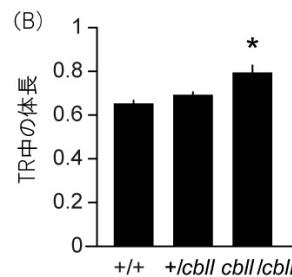
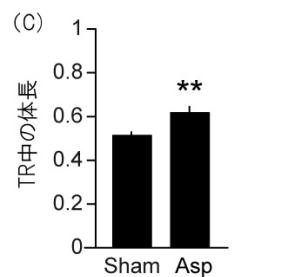


図8：小脳皮質構造に異常をもつマウスのTR中の体長比較

「TR中の体長」は「TR中の鼻先からつま先までの長さ」を「麻酔下で計測した鼻先から肛門までの長さ」で割ることにより算出した



(A) +/+ : 野生型、+/rl : *reeler* ヘテロ、rl/rl : *reeler* ホモ、(B) +/+ : 野生型、+/cbll :



cerebellless ヘテロ、cbll/cbll : *cerebellless* ホモ (C) sham : 偽手術、Asp : 小脳皮質吸引 (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

①Esposito G#, Yoshida S#, Ohnishi R, Tsuneoka Y, Rostango M, Yokota S, Okabe S, Kamiya K, Hoshino M, Shimizu M, Venuti P, Kikusui T, Kato T, Kuroda KO. : Infant calming responses during maternal carrying in humans and mice. *Current Biol.* Accepted. (# equal contribution)

②Tsuneoka Y, Maruyama T, Yoshida S, Nishimori K, Kato T, Numan M, Kuroda KO. : Functional, anatomical, and neurochemical

differentiation of medial preoptic area subregions in relation to maternal behavior in the mouse. *J. Comp. Neurol. in press.*

③ Yoshida S, Hisano S. : Vesicular glutamate transporter 2 expression in the rat pineal gland: Detailed analysis of expression pattern and regulatory mechanism. *Kansei Eng. Int. J.* 11 : 133-137, 2012.

④ Yoshida S, Hira Y, Ehara A, Mimura-Yamamoto Y, Kawano M, Shutoh F, Nogami H, Hisano S. : A rhythmic change of vesicular glutamate transporter (VGLUT) 2 expression in the rat pineal gland. *Neurosci. Res.* 72 : 16-22, 2012.

⑤ Esposito G, Yoshida S, Venuti P, Kuroda KO : Three lessons from Philip Teitelbaum and their application to studies of motor development in humans and mice. *Behav. Brain Res.* 23 : 366-370, 2012.

⑥ Ohmomo H, Ehara A, Yoshida S, Shutoh F, Ueda S, Hisano S. : Temporally distinct expression of vesicular glutamate transporters 1 and 2 during embryonic development of the rat olfactory system. *Neurosci. Res.* 70 : 376-382, 2011.

[学会発表] (計5件)

① 吉田さちね, Gianluca Esposito, 恒岡洋右, 菊水健史, 加藤忠史, 黒田公美 : 仔マウスが親に運ばれる時に示す輸送反応へ及ぼす母子分離ストレスの影響、第39回日本神経内分泌学会学術集会、福岡、2012. 9. 28-29

② 吉田さちね, Gianluca Esposito, 恒岡洋右, 大西竜子, 神谷和作, 星野幹雄, 菊水健史, 加藤忠史, 黒田公美 : 仔マウスが親に運ばれる時に示す輸送反応の発達とその制御機構、第35回日本神経科学大会、愛知、2012. 9. 18-21

③ 吉田さちね, 恒岡洋右, 大西竜子, 菊水健史, 加藤忠史, 黒田公美 : 仔マウスが運ばれる時に示す輸送反応の解析: 制御機構と愛着行動としての可能性、Animal 2011、東京、2011. 9. 8-11

④ 吉田さちね, 黒田公美 : 仔マウスが運ばれる時に示す輸送反応の研究: 制御機構と愛着形成への関与の検討、第13回日本感性工学会大会、東京、2011. 9. 3-5

⑤ Yoshida S, Tsuneoka Y, Kikusui T, Kato T, Kuroda KO. The ontogeny and the regulatory mechanism of transport response in mouse pups. The 4th International conference on The Parental Brain. Edinburgh, 2010. 9. 1-4

[図書] (計1件)

① Yoshida S, Nogami H, Hisano S. Diurnal expression of vesicular glutamate transporters in the rat pineal gland and its relationship to melatonin secretion, In: *New Developments in Melatonin Research*. Acuña-Castroviejo D (ed), Nova Publisher, New York (*in press*)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

研究室ホームページ

<http://asb.brain.riken.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 さちね (YOSHIDA SACHINE)

独立行政法人理化学研究所・黒田研究ユニット・研究員

研究者番号 : 9 0 5 1 3 4 5 8