

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：74415

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300122

研究課題名(和文) 先天的と後天的な恐怖反応を特異的に制御する神経回路の解明

研究課題名(英文) Neural circuits regulating innate and learned fear responses

研究代表者

小早川 令子 (Kobayakawa, Reiko)

公益財団法人大阪バイオサイエンス研究所・神経機能学部門・室長

研究者番号：40372411

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,700,000円、(間接経費) 4,710,000円

研究成果の概要(和文)：恐怖情動は感覚入力により先天的と後天的に誘発される。しかし、これらの恐怖がどのような神経メカニズムによって誘発されるのかに関しては不明な点が多い。私たちが独自に同定した、マウスに極めて強い先天的恐怖を誘発する匂い分子「恐怖臭」を用いて、匂いによって誘発される先天的と後天的恐怖を比較解析した結果、両者は全脳にわたって異なる脳領域によって制御され、異なる生理応答を誘発することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Fear emotion is evoked by sensory inputs either by innate or learned processes. However, little is known about the neural mechanisms that regulate innate and learned fear emotions. We have successfully identified "fear odors", a series of odorants that can induce potent innate fear in mice. Using these odors, we found that innate and learned fears are regulated by distinct brain regions throughout the whole brain, and are accompanied by distinct physiological responses.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：行動神経科学

## 1. 研究開始当初の背景

私たちは遺伝子操作の方法を用いて、特定の嗅覚神経回路を選択的に除去した「神経回路の改変マウス」の匂い認識能力を解析するという独自の手法を用いた研究で、マウスにおける天敵臭に対する恐怖反応を先天的に制御する神経回路を世界に先駆けて発見した ( Kobayakawa et al., **Nature** (Article) 2007)。ここで発見した、恐怖反応を制御する嗅覚神経回路の活性に着目し、これまでに知られていた天敵の分泌物由来の匂い分子 (トリメチルチアゾリン:TMT)に比較して、最大で10倍もの活性で恐怖反応を誘発する一連の匂い分子群の発見に成功した。マウスの恐怖反応はすくみ行動の頻度を計測することで定量解析できる。既知のTMTが誘発できる先天的なすくみ行動の頻度は、電気ショックとの関連学習によって後天的に誘発できるすくみ行動の頻度より明らかに低いために、TMTが真に恐怖情動を誘発しているのか単に嫌な匂いとして認識されているのかという議論が続いていた。また、天敵臭は多くの匂い分子を含んでいることから、単一種類の匂い分子によって強力な恐怖反応を誘発できるのかという疑問も呈されていた。このような状況で、私たちは幾つかの法則を満たす化学構造を持つ匂い分子によって、電気ショックによって後天的に誘発したものと同じレベルのすくみ行動を先天的に誘発できるとことを初めて明らかにした。これらの強力なすくみ行動を誘発できる匂い分子の発見によって、先天的と後天的に誘発したすくみ行動を示す動物における生理応答を比較解析することで2つの恐怖を解明するという独自の研究が実施できるようになった。

## 2. 研究の目的

ヒトや動物は危険なほど高い場所にいる場合や、身動きが出来ないほどの狭い場所に閉じ込められた場合、また、多くの哺乳類動物では天敵の匂いを感知した場合に恐怖を感じる。これらの恐怖は危険な状況にあることを個体が認識して生存確率を上昇させるために先天的にプログラムされた反応であると考えられる。また、痛みなどの嫌悪刺激と関連学習することで特定の匂い分子に対する恐怖反応を後天的に学習することができる。現時点では、様々な恐怖反応はいずれの感覚入力によって誘発されたかや、先天的か後天的なのかは区別されずに一概に「恐怖」と呼ばれている。しかし、各種の恐怖反応が質的に等価なものであって同一の生理応答を伴うのかは不明である。例えば、高い場所に対する恐怖が誘発する生理応答と、強い痛みを学習した場所に対する恐怖が誘発する生理応答の質が異なる可能性がある。本研究では私たちが独自に開発した、マウスに後天

的恐怖に匹敵する強力な先天的恐怖を誘発する匂い分子「恐怖臭」を用いて先天的と後天的な恐怖情動の比較解析を行うことで、先天的と後天的な恐怖情動の評価指標の開発および先天的と後天的な恐怖情動の誘発メカニズムの比較解析を目指した研究を行った。

## 3. 研究の方法

マウスに対して恐怖臭を用いて先天的恐怖情動を、中立の匂い(スパイスの匂い)と電気ショックを関連学習させることで後天的恐怖情動を誘発した。先天的と後天的恐怖情動の比較解析を行うために先天的と後天的恐怖によって誘発される生理応答、先天的と後天的恐怖に伴い神経活動の変化する脳領域、の解析を行った。

### 先天的と後天的な恐怖によって誘発される生理応答の解析

マウスに上記の方法で先天的と後天的な恐怖情動を誘発し、サーモグラフィーカメラ・無線式テレメトリーシステム・筋電図を用いて体表面温度・体深部温度・心拍数・首の筋電位を計測した。

### 先天的と後天的な恐怖に伴い神経活動の変化する脳領域の探索

上記の方法で先天的と後天的な恐怖情動を誘発したマウスの脳から全脳にわたって切片を作成し、神経活動のマーカーとしてよく知られている immediate early gene の発現を、*in situ* hybridization 法を用いて解析した。

## 4. 研究成果

### 先天的と後天的な恐怖によって誘発される生理応答の解析

後天的な恐怖は首の筋肉の筋電位を低下させることが知られている。同様に先天的恐怖も首の筋肉の筋電位を低下させることが明らかになった。一方、これまで後天的な恐怖は体温および心拍数がわずかに上昇させることが知られていた。これに対して、恐怖臭によって先天的恐怖情動を誘発したマウスにおいては、背骨を中心とした体表面温度および体内温度の3程度の低下、および刺激呈示後1-2分以内に心拍数が半減するという極めて強力な生理応答が誘発されることが見出された。先天的と後天的恐怖はこれらの生理応答に着目することで分離可能であることが明らかになった。心拍数の半減は、恐怖症の患者が恐怖刺激を呈示され、失神する際に観察されることが報告されている。しかしながら、このような特徴的な生理応答を誘発する実験系はこれまで報告されていなかった。恐怖臭によって誘発される先天的恐怖は、恐怖症の新たなモデルとなる可能性が

考えられた。

#### 先天的と後天的な恐怖に伴い神経活動の変化する脳領域の探索

先天的と後天的な恐怖を誘発したマウス脳内の immediate early gene の発現量を、全脳の中の代表的な 63カ所の脳領域について定量解析した。その結果、約半数の領域に関して、先天的と後天的恐怖で immediate early gene の発現量が有意に異なることが明らかになった。これらの領域の中には恐怖症やうつなどのヒトの精神疾患に関連があると報告されている脳領域が多く含まれていた。さらに、恐怖臭のレパトリーを利用して、弱い先天的恐怖と強い後天的恐怖によって誘発される immediate early gene の発現パターンを比較した結果、先天的恐怖の強度によらず、immediate early gene の発現が共通して誘導される脳領域と先天的恐怖の強度が強くなるに従って、immediate early gene の発現が強くなる又は弱くなる脳領域が観察されることが明らかになった。従って、脳内には恐怖の種類（先天的か後天的か）を表現する脳領域と恐怖の強度を表現する脳領域とが存在することが示唆された。また、恐怖情動の中核として知られている扁桃体 - 中脳水道周囲灰白質における immediate early gene の発現を詳細に検討した結果、先天的と後天的恐怖はこれらの領域において異なる亜核における immediate early gene の発現を誘発することが明らかになった。

さらに私たちは immediate early gene の発現の差が、神経活動の違いを反映しているかを明らかにするため、先天的と後天的恐怖とで immediate early gene の発現が異なる複数の脳領域について GABA<sub>A</sub> agonist の muscimol を注入し、先天的と後天的恐怖反応の変化を解析した。その結果、解析した全ての領域で、先天的あるいは後天的恐怖に伴う行動または生理応答に影響が見られることが明らかになった。

これまで、後天的恐怖は、動物に本来備わった先天的恐怖のメカニズムを利用して誘発されると考えられてきた。これに対して、本研究結果により、先天的恐怖と後天的恐怖は異なる神経回路によって引き起こされ、全く異なる生理応答を誘発する、異なる情動状態であることが示唆された。

#### 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2件)

1. Igarashi K M\*, Iseki N, An M, Yamaguchi Y, Nagayama S, Kobayakawa K, Kobayakawa R, Tanifuji M, Sakano H, Chen W R, and Mori K\*. Parallel mitral and tufted cell

pathways route distinct odor information to different targets in the olfactory cortex. *J Neuroscience* 32(23) p7970-7985, 2012

DOI:10.1523/JNEUROSCI.0154-12.2012.

2. Yokoyama T K\*, Mochimaru D, Murata K, Manabe H, Kobayakawa K, Kobayakawa R, Sakano H, Mori K, and Yamaguchi M. Elimination of adult-born neurons in the olfactory bulb is promoted during the postprandial period. *Neuron* 71(5) p883-897, 2011

DOI:10.1016/j.neuron.2011.05.046

[学会発表](計7件)

小早川 令子、「全脳活性化マッピング法によって解明された嗅覚入力による多様な恐怖情動」

自然科学研究機構 新分野創成センターシンポジウム『大規模脳神経回路機能マップのその先』、星陵会館(2014年1月12日)

小早川 令子、「嗅覚系によるマウスの社会行動制御メカニズム」

第35回日本分子生物学会年会ワークショップ 1W11111「動物の行動制御メカニズムの新展開」、福岡国際会議場(2012年12月11日)

小早川 令子、「匂いによる社会コミュニケーション行動の制御」

日本味と匂学会 第46回大会 シンポジウム4「匂いが決める仲よしこよし」、大阪大学コンベンションセンター(2012年10月5日)

小早川 令子、「脳を知る:『匂いに対する多様な情動・行動を制御する神経メカニズム』」

第20回脳の世紀シンポジウム・若手研究者によるパネルディスカッション「脳科学研究のこれからの20年」、有楽町朝日ホール(2012年9月12日)

小早川 令子、「Neuronal mechanisms controlling innate and learned fear responses」第34回日本神経科学大会シンポジウム、パシフィコ横浜(2011年9月17日)

小早川 令子、「哺乳類の脳が多様な情動を生み出す神経メカニズム~猫が怖がらないネズミが教える心の仕組み~」第30回分子病理学研究会、鷺羽山下電ホテル(2011年7月23日)

小早川 令子、「神経回路の機能に基づいて哺乳類の本能情動を制御する機能性分子の開発」バイオファーマージャパン、インテックス大阪(2011年7月13日)

〔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：  
取得年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

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

〔その他〕

ホームページ

<http://www.obi.or.jp/>

報道関連

小早川 令子「背筋が凍るネズミ」

NHK BSプレミアム 超常現象 2014年1月  
11日放送

小早川 令子「背すじも凍る「恐怖の香り」」

朝日新聞 GLOBE 2013年4月21日掲載

小早川 令子「ネズミ忌避剤 製品化へ -  
- において恐れる回路解明」

化学工業日報 2012年3月30日掲載

小早川 令子「動物の行動を探る(1)～遺  
伝子によってつくられる行動～」

NHK高校生講座生物 2011年11月4日放送

アウトリーチ活動

大阪府立大手前高校「次代を担う産業人材養  
成啓発事業(学びが変わる! 高校生の職業意  
識3D化事業)」2013年12月9日、大阪バイ  
オサイエンス研究所見学

石川県立金沢泉丘高校「関西サイエンスツア  
ー」2013年10月21日、大阪バイオサイエ  
ンス研究所研修

大阪府立泉陽高校「サイエンス・パートナ  
シップ・プロジェクト」2012年7月13日、  
大阪バイオサイエンス研究所見学

6. 研究組織

(1)研究代表者

小早川 令子(KOBAYAKAWA, REIKO)

公益財団法人大阪バイオサイエンス研究  
所・神経機能学部門・室長

研究者番号：40372411

(2)研究分担者

塩井 剛(SHIOI, GO)

独立行政法人理化学研究所・変異マウス開発  
ユニット・研究員

研究者番号：60391968

研究者番号：

(3)連携研究者

なし