

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 25 日現在

機関番号：32701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23657062

研究課題名（和文）

マウス求愛歌の生物学的意義の解明

研究課題名（英文）

Biological functions of male mice songs

研究代表者

菊水 健史（KIKUSUI TAKEFUMI）

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：90302596

研究成果の概要（和文）：

本研究では以下の知見を得た。1) 求愛歌を聞いたメスは自身の系統とは異なるオスマウスの発した求愛歌に対して高い嗜好性を示した。2) メスの求愛歌への嗜好性は、発達期の父子間の関わりが重要であることが明らかとなった。3) メスの求愛歌への嗜好性は雌性ホルモンの存在が必要であることを示した。4) 求愛歌を呈するオスでは数回の出産を認めたが、求愛歌を呈さないオスマウスのペアではほとんど出産を認めることがなかった。5) メスマウスの歌嗜好性はオスフェロモンとの共提示により顕著に観察され、感覚統合された表現型であることがわかった。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we demonstrated that 1) we used the two-choice test to determine the song preference of female mice by assessing the time engaged in searching behavior towards played-back songs. We determined that female mice can discriminate among male song characteristics and that females innately prefer songs from strains that are different from their parents. 2) this preference was reversed by cross-fostering and disappeared by fatherless rearing conditions, indicating that the preference was learned or could be modified by social experience with their fathers. 3) this preference was controlled under estrogens. 4) there was a positive correlation between emission number of songs of males and giving birth of females in pairs. 5) the preference identified in this study was observed when females were exposed to soiled male bedding or the male mouse pheromone ESP1, which we previously reported enhanced female sexual receptivity (Nature 2010). This result suggests that cross-modal information processing from both acoustic and olfactory signals may influence mate preference in mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学

キーワード：行動生理、求愛歌

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

## 1. 研究開始当初の背景

オスマウスは、メスマウスに遭遇すると、歌構造を持つ超音波を発声することが知られているが、そのコミュニケーションにおける役割については未知の部分が多い。申請者らはマウスにおける求愛歌の音声パターンには、系統差（方言）が存在することを明らかにしてきた。さらにこの歌の多様性が環境要因ではなく、遺伝的支配を受けていることもあきらかとなった。しかしマウスの求愛歌の機能、特にメスに対する効果は明らかとなっていなかった。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、マウスの系統特異的な「求愛歌」の生物学的機能を明らかにすることを目的とし、世界唯一の超音波再生用 Nc-Si エミッター (Shinoda, Nature, 1999) を用いて、超音波領域の求愛歌を再生し、その際のメスの行動、特に性行動の誘起やオスを受け入れる姿勢（ロードシス反射）を評価し、求愛歌がメスの嗜好性を決定するだけでなく、求愛歌によって繁殖制御中枢が活性化するかどうかを調べた。また同時に、メスが自己と同じ系統の求愛歌よりも他系統の求愛歌を好むようになる過程を調べ、メスの求愛歌嗜好性の形成メカニズムの解明を目指した。

## 3. 研究の方法

1) 求愛歌による繁殖機能制御機構の解明：超音波再生用 Nc-Si エミッター (Shinoda, Nature, 1999) を用いて、超音波領域の求愛歌を再生し、その際のメスの行動、特に性行動の誘起やオスを受け入れる姿勢（ロードシス反射）を評価した。この際、嗜好性を示す異系統のオスマウスの求愛歌を聴かせた場合と、嗜好性を示さない同系統の求愛歌を聴かせた場合を比較し、嗜好性を示した音声に対して、オスからの性行動をより適切に受容するかどうかを調べた。並行して、求愛歌を発せないよう手術したオスマウス

(Devocalization) を作成し、このマウスとの間で交配した場合の産子数と、同じく Devocalization したオスと交配するものの、交尾行動中に求愛歌を再生した場合の産子数を比較し、求愛歌が繁殖機能に及ぼす影響を調べた。さらに、求愛歌への暴露が繁殖制御中枢である視床下部の性腺刺激ホルモン放出因子 (GnRH) 神経細胞を活性化するかを調べる。また同時に、GnRH 神経細胞に促進刺激を伝達する Kiss1 神経細胞、抑制刺激を伝達する性腺刺激ホルモン放出抑制因子

(GnIH) 神経細胞の活性化状態を、神経細胞の活性化に伴って発現が誘導される FOS との二重免疫組織化学手法によって調べた。

2) メスの歌嗜好性を決定するメカニズムの解明：出産直後に B6 と BALB 間で里子操作を行い、発達期音声環境を逆転したメスマウスを作製し、求愛歌嗜好性が変化するかを調べた。メスマウスが発達期音声環境により、求愛歌嗜好性を獲得している場合、離乳までの3週間の間にオスマウス（父）から求愛歌の暴露を受ける必要がある。これを検証するために、父親不在の状況で育てるメスマウスを作出した。さらに出生後から離乳に至るまでの間、継続的な超音波録音を試みた。超音波特性マイク (Avisoft UltraSoundGate CM16) にて入力された音声を、高周波解析変換ソフト (Avisoft-SASLab Pro) を用いて、FFT 変換、イベント発生時の音圧設定を行うことで、超音波が検出された場合にのみ、記録するように設定した。この状態で3週間の連続録音を行い、仔マウスが実際に暴露されている総音声量を明らかにした。これを元に見出した仔マウスが実際に暴露されている総音声量に同等の頻度にて、強制的に仔マウスに人工音を暴露することで、メスマウスの求愛歌嗜好性が変化可能かどうかを調べた。

## 4. 研究成果

1) メスマウスに音声の出ない Devocal のオスと通常のオスに対する性行動発現を調べたところ、Devocal のオスに比べて、メスの接近回数、ロードシス商、ならびにイントロミッションの回数の増加が認められ、音声はメスの性的覚醒や性行動を誘起していることがあきらかとなった。

2) C57BL/6 のペアージを作成し、4ヶ月間の出産回数とオスの歌発生回数を調べたところ、有意な正の相関が得られた。このことから、オスの歌がメスの繁殖機能を活性化させ、最終的に産仔数を増やしていることが示唆された。

3) GnRH と C-fos の 2 重染色を行ったところ、歌の暴露により、C-fos と GnRH の共染色像が確認され、歌刺激が繁殖中枢を刺激している可能性が認められた。現在、定量的比較を行なっている。

4) メスの求愛歌への嗜好性は雌性ホルモンであるエストロゲンの存在が必要であることを示した。卵巣摘出することで嗜好性が消失し、その個体に低容量のエストロゲンを投与することで回復した。また性周期に伴う変化を調べたところ、非発情期には明瞭な嗜好性が存在するが、高濃度のエストロゲンの時

期である発情期には嗜好性が消失した。

5) C57BL6 マウスをペアで半年間飼育したところ、求愛歌を呈するオスでは数回の出産を認めたが、求愛歌を呈さないオスマウスのペアではほとんど出産を認めることがなかった。

6) メスマウスの歌嗜好性はオスの床敷、あるいはオスフェロモンである ESP1 との共提示により顕著に観察され、感覚統合された表現型であることがわかった。複数の感覚（嗅覚と聴覚）の統合の座を調べることを目的とし、脳内全域における最初期発現遺伝子の応答様式を調べたところ、前頭葉や嗅覚系など脳内の複数の場所で、感覚統合されている可能性が明らかとなった。

7) 求愛歌を聞いたメスは自信の系統とは異なるオスマウスの発した求愛歌に対して高い嗜好性を示した。求愛歌の類似性を調べたところ、他の系統であっても、自身のオスマウスの求愛歌に似たものには嗜好性を示さなかったことから、メスマウスが音声の特性を認識していることが明らかとなった。また父親不在で育てたメスマウスではこのような嗜好性が認められなかったことから、発達期に父親から受ける歌特性を記憶し、成長後の嗜好性に用いていることが明らかとなった。

8) 出生後から3週間の連続録音を実施したところ、夕暮れと明け方に特に多い発声をもとめた。また1日あたり10分から30分の音声時間であった。この記録をもとに、1回30分、1日2回の音声暴露を発達期のメスマウスに負荷し、成長後の嗜好性をしらべたところ、本来の嗜好性が消失した。しかし、暴露した音声特異的な回避行動は生じず、今後の課題となった。

#### 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. Hiroki Sugimoto, Shota Okabe, Masahiro Kato, Nobuyoshi Koshida, Toshihiko Shiroishi, Kazutaka Mogi, Takefumi Kikusui, Tsuyoshi Koide. A role for strain differences in waveforms of ultrasonic vocalizations during male-female interaction. PLoS One. 2011 6(7): e22093. doi:10.1371/journal.pone.0022093
2. Kikusui T, Nakanishi K, Nakagawa R, Nagasawa M, Mogi K, Okanoya K. Cross fostering experiments suggest that mice songs are innate. PLoS One. 2011 Mar 9;6(3):e17721.

[学会発表] (計11件)

1. 杉本大樹、菊水健史、城石俊彦、小出剛 マウス交配行動時の超音波発声の役割、第58回実験動物学会、東京、2011年5月25-27日
2. 浅場明莉、永澤美保、茂木一孝、菊水健史 雌マウスの雄マウス求愛歌に対する嗜好性には嗅覚刺激が必要である、第15回行動神経内研究会・第15回鋤鼻研究会との合同大会、八王子セミナーハウス、2011年6月30日-7月2日
3. Takefumi Kikusui Social cues and neural mechanisms in mother-pup interactions、日本学術振興会中国NSFCとの2国間共同セミナー及び First Asia-Pacific Conference on Integrative Behavioral Science の共催大会、中国西安市、2011年7月24-27日
4. 菊水健史 性シグナル伝達を司る神経回路の性差構築機構の解明、新学術領域研究「性差機構の分子基盤」の第2回領域会議、佐賀県唐津市、2011年8月31日
5. 浅場明莉、永澤美保、茂木一孝、菊水健史 マウス求愛歌の生物学的意義と発声の性差の解明 (ポスター発表)、新学術領域研究「性差機構の分子基盤」の第2回領域会議、佐賀県唐津市、2011年8月31日
6. 浅場明莉、岡部祥太、永澤美保、茂木一孝、菊水健史 雌マウスの雄マウス求愛歌に対する嗜好性は幼少期に獲得される (ポスター発表)、4学会合同大会「Animal 2011」、慶應義塾大学三田キャンパス、2011年9月8日-11日
7. 菊水健史、小出剛 マウス求愛歌の行動学的解析 (Ultrasound communication in mice)、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14-17日
8. Takefumi Kikusui, Akari Asaba, Little evidence showing song learning in mice - Sexual attractiveness of male love songs. Workshop for Mouse Ultrasonic Communication, Pasteur Institute, Paris, 2012 4.12-16
9. 浅場明莉、岡部祥太、永澤美保、茂木一孝、菊水健史 オスマウス求愛歌がメスの性行動・神経内分泌・繁殖効率に及ぼす影響 第17回日本行動神経内分泌研究会 関西セミナーハウス 2012年8月30日-9月1日
10. 浅場明莉、岡部祥太、永澤美保、茂木一孝、菊水健史 雄マウス求愛歌の生物学的意義の解明 第154回日本獣医学会 岩手大学 2012年9月14日-9月16日

11. 浅場明莉、永澤美保、茂木一孝、菊水健史  
メスマウスのオス求愛歌嗜好性と繁殖機能に関する研究 新学術領域研究「性差機構の分子基盤」の第2回領域会議、佐賀県唐津市、2011年8月31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：  
出願年月日：  
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〕

<https://sites.google.com/a/carazabu.com/car/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

菊水健史 (KIKUSUI TAKEFUMI)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：90302596