

## 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 5月31日現在

機関番号：82401  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23700420  
 研究課題名(和文) 父性発現の脳内機構：雄マウスの攻撃から養育への行動変化に関与する脳部位の同定  
 研究課題名(英文) Neural circuit mechanisms underlying behavioral transition from attack to parenting in male mice.  
 研究代表者 刀川 夏詩子 (TACHIKAWA KASHIKO)  
 独立行政法人理化学研究所・シナプス分子機構研究チーム・研究員  
 研究者番号：70424182

## 研究成果の概要(和文)：

本研究において、仔を攻撃する交尾未経験の雄マウスでは、仔が発するフェロモンによって鋤鼻神経回路が活性化され、攻撃行動が誘発されているのに対し、仔を養育する父マウスでは、フェロモンを感知する入り口の鋤鼻器で既にその情報伝達が抑制されていることがわかった。さらに、交尾未経験の雄マウスの鋤鼻器を切除して仔のフェロモン情報の感知を遮断すると、仔への攻撃行動が抑制されるとともに、父性行動が発現することが明らかとなった。以上の結果から、雄マウスの攻撃から養育への行動変化には、鋤鼻器における仔のフェロモン情報の伝達抑制が重要であることが示唆された。

## 研究成果の概要(英文)：

We found that chemical cues evoking pup-directed aggression are received by the vomeronasal sensory neurons and activate the vomeronasal neural pathway in sexually-naïve male mice but not in fathers. In addition surgical ablation of the vomeronasal organ in sexually-naïve males resulted in the abrogation of pup-directed aggression and simultaneous induction of parental behavior. Thus the down-regulation of pup pheromone-induced activation of the vomeronasal system might be important for the behavioral transition from attack to parenting in male 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	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経解剖学・神経病理学

キーワード：父性行動、養育行動、鋤鼻器、フェロモン

## 1. 研究開始当初の背景

養育行動とは、仔の生存を高めるための親の行動の総称であり、全ての哺乳類に共通した大切な行動である。げっ歯類は、仔を保温する、体をなめて清潔に保つ、巣を作る、仔を巣に回収する、授乳するといった典型的な養育行動を示すことが知られている。一般的に実験室で飼育されている雌マウスは、交尾未経験であっても授乳以外の養育行動を行う。一方、交尾未経験の雄マウスは、新生児マウス(仔)に接すると直ちに攻撃行動を示す。しかし、「交尾を経験し、妊娠中の雌マウスとの同居を経た雄マウス(父マウス)」

は、交尾から19~20日が経過して自分の仔が生まれる時期になると、自分の仔以外の仔に対しても雌と同様な養育行動を示すようになる(図1)。交尾未経験雄マウスに見られる仔への攻撃行動は、雌が養育している他の雄の仔を排除することにより、授乳中は抑制されている雌の発情を促し、自らの生殖成功率を高める可能性がある。一方、父マウスになったときの仔への攻撃の抑制は、自らの仔を誤って殺すことが無いように機能する。従って、仔への攻撃と養育は、どちらもその雄の遺伝子を受け継いだ子孫を維持するための適応的な行動であると考えられている。この

ように、仔から発せられる知覚情報（匂いやフェロモン・鳴き声・姿形など）は同じであるのに、雌との社会的経験を経るとなぜ攻撃から養育へと雄が行動を変化させるのか、その神経機構については分かっていなかった。

申請者は申請当時までに、交尾未経験雄と父において、仔を提示した際に活性化される脳部位を、神経活動に依存して発現する事が知られている最初期遺伝子、c-Fos の発現を指標に比較し、どの脳部位が両者で異なるかを検討した。その結果、交尾未経験雄では父と比較して、フェロモンの情報を受容し伝達する鋤鼻神経回路が強く活性化している事を見出した。様々な先行研究より、鋤鼻器で受容されたフェロモンシグナルは、脳の一次中枢である副嗅球で中継され、情動と深く関わる大脳辺縁系の扁桃体へ、さらには本能や性行動を制御する視床下部へと伝えられることが知られている。フェロモンは、この鋤鼻神経回路を介して動物の行動や内分泌系に影響を与えることが分かっており、例えば、交尾行動や雄同士の攻撃行動を引き起こすことが知られている。

つまり、交尾未経験の雄マウスでは、仔のフェロモンが鋤鼻神経回路を活性化して仔への攻撃行動を誘発していることが予想され、一方父では抑制されている事が示唆された。しかしながら、その詳細な神経回路、及び、父ではこの鋤鼻神経回路のどの段階で仔のフェロモン情報伝達が抑制されているかについては分かっていなかった。また、鋤鼻神経回路を介したシグナルが仔への攻撃行動を直接的に誘発するのか、さらにその抑制が父性発現に十分であるのかについても不明であった。

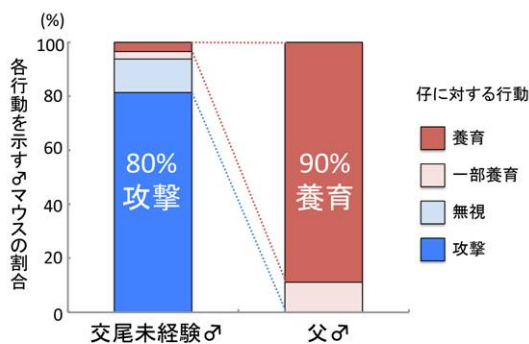


図 1. C57BL/6 系統の雄マウスが示す攻撃から養育への行動変化

交尾未経験の雄マウスの約 80%が仔への攻撃行動を誘発した。一方父マウスは仔への攻撃行動を見せず、約 90%が養育行動を示した。

## 2. 研究の目的

以上の背景をふまえて、本研究ではまず、1) 交尾未経験雄に仔を提示したときに活性化される鋤鼻神経回路を詳細に同定し、父ではこの神経回路のうち、どこが抑制されているかを検討することによって、雄マウスの攻撃から養育への行動変化に関与する脳部位を同定する。次に 2) 鋤鼻神経回路を介したシグナルが仔への攻撃行動を直接的に誘発しているのか、さらに、父で見られた鋤鼻神経回路の抑制が父性発現に十分であるか否かを検討することを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

1) 雄マウスの攻撃から養育への行動変化に関与する脳部位の同定をするために、神経細胞の活性化に依存して発現することが知られている c-Fos タンパク質の発現を指標にして、C57BL/6 系統の交尾未経験の雄マウスと父マウスそれぞれに対して、仔マウスを提示し、活性化された脳部位を比較した。なお、仔を提示する際、仔マウスから発せられる知覚情報で活性化される脳部位を観察するため、雄が仔を直接触れて攻撃したり養育したりすることができないように、仔は金網のボールに入れて提示した。仔を提示してから 2 時間後、4%PFA にて灌流固定し、鋤鼻器及び中枢の鋤鼻神経回路(副嗅球、扁桃体内側核、分界状床核)と各視床下部神経核において、c-Fos 陽性細胞数を定量し、交尾未経験雄と父で比較した。

2) 仔を提示した際に交尾未経験雄に見られた鋤鼻神経回路の強い活性化が、仔への攻撃行動を実際に誘発しているのか、また、鋤鼻神経回路の抑制が父性発現に十分であるのかを検討するために、まずフェロモンを受容する感覚受容器である鋤鼻器を外科的に除去し、その後、仔への行動変化について検討した。具体的には、下記 1)~4)の手順に従って行った。1)手術前の行動実験：手術前に仔の回収行動実験を実施し、仔に対して攻撃行動を示した交尾未経験雄マウスと、仔を巣に回収し養育行動を示した父マウスのみを手術に使用した。2)鋤鼻器切除手術：口蓋からアプローチして鋤鼻器を切除した(Wyscoki CJ. 1995, Kimchi T. 2007)。この際コントロールとして、鋤鼻器の切除は行わないが、同じような手術の操作を行ったサンプルも同時に作成した。3)手術後の行動実験：手術から 2 週間後、仔の回収行動実験を 5 日間連続して行い、手術前に仔に対して攻撃行動を示した交尾未経験雄マウス、養育行動を示した父マウスの行動変化を検討した。4)鋤鼻器切除の確認：行動実験後、4%PFA にて灌流固定し、鋤鼻器を含む鼻腔部分の切片を作成し、

HE染色により組織学的に鋤鼻器が切除されている事を確認した。さらに副嗅球を含む縦状断の脳切片を作成し、鋤鼻器からの神経繊維が染まる事が知られているレクチン蛋白質のSBAで染色し、副嗅球において鋤鼻器からの神経繊維が消失している事を確認した。最終的には、この2つの過程で鋤鼻器が完全に除去されていると確認されたサンプルの行動実験結果について評価した。

#### 4. 研究成果

交尾未経験雄と父に仔を提示した際、交尾未経験の雄マウスでは、一部の鋤鼻感覚ニューロンを起点として、その下流の一次中枢である、副嗅球、扁桃体内側核、分界条床核が活性化され、最終的に、攻撃行動に関与する視床下部脳領域の視床下部前野、視床下部腹内側核腹外側部が活性化されていることが分かった(図2)。一方、父マウスでは、フェロモンを感知する鋤鼻感覚ニューロンにおいて既にその活性化は見られなかった(図3)。また、金網のボールに仔が入っているのに、直接養育行動を示すことができないにもかかわらず、雌マウスの養育行動(母性行動)を制御する内側視索前野という脳領域が、父マウスで有意に活性化していることも分かった(図4)。さらに、交尾未経験の雄マウスの鋤鼻器を外科的に切除して、仔のフェロモン情報を感知できないようにすると、仔への攻撃行動が抑制されるだけでなく、大変興味深いことに父性行動の発現も観察された(図5)。

以上のことから、交尾未経験の雄マウスでは仔から発せられるフェロモンを鋤鼻器が感知し、攻撃行動を司る鋤鼻神経回路が活性化され、仔への攻撃行動が誘発されることが分かった。一方父マウスでは、雌との交尾、妊娠雌との同居、分娩時における立ち合いなどの社会的経験が雄の鋤鼻器に影響を与え、仔のフェロモン情報伝達が抑制された結果、養育行動に関連した脳部位が活性化されて父性行動を発現することが分かった(図6)。

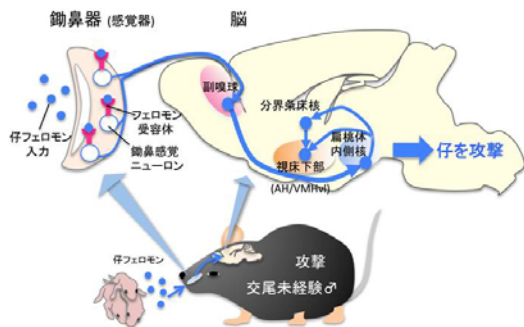


図2. 交尾未経験雄に仔を提示したときに活性化される鋤鼻神経回路

交尾未経験の雄マウスに仔を提示すると、フェロモン情報を伝達する鋤鼻神経回路(鋤鼻器→副嗅球→扁桃体内側核→分界条床核)が活性化されていた。さらに視床下部では、攻撃行動への関与が報告されている視床下部前野(AH)と視床下部腹内側核腹外側部(VMHvl)が活性化されていた。

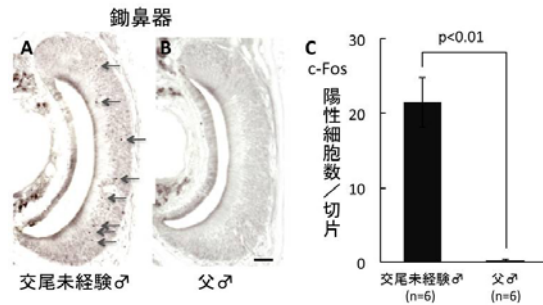


図3. 仔を提示したときの鋤鼻器におけるc-Fosの発現

A、B: 仔を提示したときの交尾未経験の雄マウス(A)と父マウス(B)の鋤鼻器におけるc-Fosタンパク質の発現。交尾未経験の雄マウスでは、一部の鋤鼻感覚ニューロンでc-Fosタンパク質の発現(矢印:黒点)を検出した(A)が、父マウスではほとんど検出されない(B)。C: 仔を提示したときの鋤鼻器におけるc-Fos陽性の鋤鼻感覚ニューロンの数。

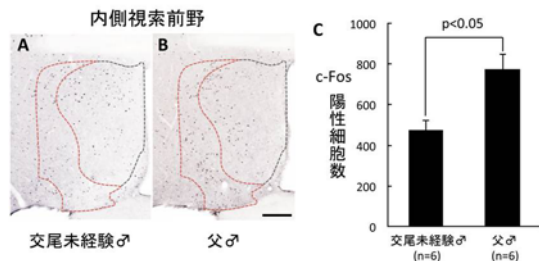


図4. 仔を提示したときの鋤鼻器におけるc-Fosの発現

A、B: 仔を提示したときの交尾未経験の雄マウス(A)と父マウス(B)の内側視索前野(点線で囲まれた部分)におけるc-Fosタンパク質の発現。赤点線の領域を比較すると、父マウスの方がc-Fosタンパク質の発現が多い。C: 仔を提示したときの内側視索前野(赤点線で囲まれた部分)におけるc-Fos陽性細胞数。父マウスではc-Fos陽性細胞の数が有意に増加。

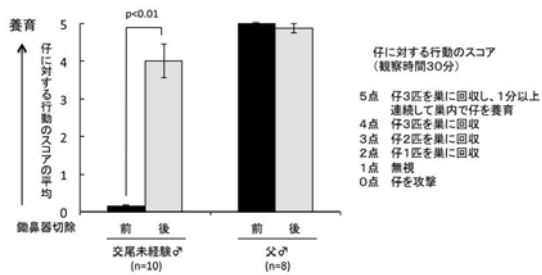


図 5. 鋤鼻器切除が雄マウスの仔に対する行動に与える影響

鋤鼻器切除前後で仔への行動に変化があるか否かを観察した。雄のケージに仔を 3 匹入れ、30 分間仔への行動を観察した。鋤鼻器切除前では全ての交尾未経験の雄マウスが仔を攻撃したが、鋤鼻器を切除すると攻撃行動は抑制され、養育行動(父性行動)を発現した。一方父マウスでは、鋤鼻器切除前と後で仔への行動に変化はなく、常に養育行動を示した。

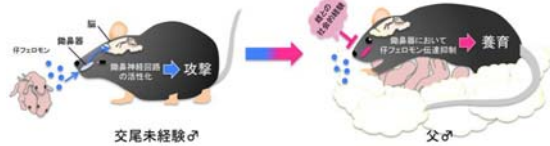


図 6. 仔マウスに対する攻撃から養育への雄マウスの行動変化を制御するメカニズム

交尾未経験の雄マウスは、仔から発せられるフェロモンを鋤鼻器で感知し、攻撃行動を誘発する鋤鼻神経回路が活性化される。一方、交尾、妊娠中の雌マウスとの同居、分娩時における立ち会いなどを経験した父マウスは、攻撃行動を誘発する仔のフェロモン情報の受容・伝達が鋤鼻器で抑制され、父性行動を発現すると考えられる。

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 1 件)

① Kashiko S. Tachikawa, Yoshihiro Yoshihara, and Kumi O. Kuroda. “Behavioral Transition from Attack to Parenting in Male Mice: a Crucial Role of the Vomeronasal System” *Journal of Neuroscience*, 2013, 33(12):5120-5126. 査読あり

[学会発表] (計 1 件)

① Kashiko Tachikawa, Yoshihiro Yoshihara, and Kumi O. Kuroda. “Neural circuit mechanisms underlying behavioral transition from attack to parenting toward pups in male mice” *International Symposium on Olfaction and Taste*. Stockholm, Sweden. 2012.6.24.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

刀川 夏詩子 (TACHIKAWA KASHIKO)  
 独立行政法人理化学研究所・シナプス分子機構研究チーム・研究員  
 研究者番号：70424182

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし