

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月7日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05635

研究課題名(和文) 情動を制御する嗅覚コミュニケーションの全容解明

研究課題名(英文) Toward understanding of olfactory emotional communication

研究代表者

清川 泰志 (Kiyokawa, Yasushi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：70554484

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究助成により、ストレスを受けていないラットから放出され、受容個体のストレスを緩和する安寧フェロモンの放出部位を特定し、その候補分子を4つにまで絞り込むことができた。

またこの安寧フェロモンと、これとは逆の作用を持つ警報フェロモンの脳内作用メカニズムについても検討した。その結果、安寧フェロモンは前嗅核後部を活性化し、その活性化が外側扁桃核間細胞塊を介して扁桃体外側核を抑制することで、受容個体のストレスを緩和することが示唆された。一方で警報フェロモンは受容個体の分界条床核を活性化することで、不安行動を引き起こすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、害獣制御方法としてフェロモン関連物質を利用する新たな方法の提起にもつながると期待される。現代においても飲食店や食料品販売店はほぼ例外なくネズミの被害に遭い続けているが、これらは野生ドブネズミによるものである。野生ドブネズミとラットは同種であることを考えると、ラットの不安を抑制する安寧フェロモン分子を同定することができれば、それを塗布することで野生ドブネズミを捕らえる罠の捕獲効率を高めるような応用的展開の可能性も拓けると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Supported by this grant, we could locate the releasing site of the appeasing pheromone and could specify 4 chemicals as the candidates for the pheromone molecules. We could also further our understanding of neural mechanisms underlying the appeasing and alarm pheromone effects. Specifically, the appeasing pheromone activates the posterior complex of the anterior olfactory nucleus, which suppresses the lateral amygdala via the activation of the lateral intercalated cell mass of the amygdala. As a result, the stress responses in the pheromone donors are ameliorated. Similarly, the alarm pheromone activates the anterior bed nucleus of the stria terminalis, which leads to elicit anxiety responses in the pheromone recipients.

研究分野：獣医動物行動学

キーワード：警報フェロモン 安寧フェロモン 社会的緩衝 揮発性分子 鋤鼻系 主嗅覚系 分界条床核 扁桃核

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

不安や恐怖といった情動は、様々な危機から逃れることを可能にする適応的な心的反応であるため、哺乳類を通じて広く保存されている。しかしこれらの情動が不必要に強くなってしまうと、例えばヒトでは様々な不安障害や心的外傷後ストレス障害(PTSD)などが引き起こされ、正常な社会生活を妨げてしまうことになりかねない。このため、社会性の高い動物が正常に生活を営むためには、情動を適切なレベルに維持すべく制御することが重要である。動物は、高い社会性を持つ方向に進化していくプロセスで、おそらく不安や恐怖といった情動反応が過度にならないよう修飾し適切な社会行動をとることを可能にする情動制御メカニズムを獲得し、ただ怖がってすくんでいるのではなく、状況を見極めたうえで積極的に探索を継続できるように進化したと考えられるが、このような情動抑制メカニズムに関する理解は進んでいない。動物における社会性の背景となる脳機能を解明するためには、生存に不可欠な不安や恐怖といった情動と、それを必要に応じて制御するメカニズムの両者を包括的に理解することが必要と考えられる。

2. 研究の目的

申請者らによってその存在を見出した、ラット安寧フェロモン分子の化学構造を決定することが本研究の第一義的な目的である。先行研究により、安寧フェロモンは警報フェロモンと同様に、ラットの体表から放出される揮発性分子であることが明らかとなった。そのため、警報フェロモンに関する研究の経験を活かし、基本的に同様の研究戦略に従う。まず、現在使用している指標であるすくみ行動と比較して、より簡便かつ信頼性の高い生物検定系の指標を探索するとともに、麻酔下のラットから揮発性の安寧フェロモンを効率よく回収する方法を確立する。そして、これらを最新の微量分析法と組み合わせることで、リガンド分子を同定する。

並行して、2つの情動フェロモンの中枢作用メカニズムの解明を目指す。現時点では安寧フェロモンの中枢作用メカニズムに関する研究が先行しているため、この経験を活かして警報フェロモンに関しても研究を進め、両者を統合することで社会性の基盤となる脳機能を理解する。

3. 研究の方法

フェロモン分子を同定するためには、精度の高い生物検定系を用いてフェロモン分子が確実に含まれていることが確認された試料(フェロモン陽性試料)を作製し、それを分画していくことが必要である。分画されたそれぞれの画分のフェロモン活性を生物検定法によって判定し、フェロモン陽性画分を再び分画していくという作業を繰り返すことで、陽性画分に含まれるフェロモン候補分子を絞り込み、最終的にフェロモン分子を同定する。

また同時に、2つのフェロモンを実験モデルとして用い、まずは分界条床核が警報フェロモン作用に、扁桃体が安寧フェロモン作用に、それぞれ関与していることを明らかとする。その後、脳破壊法やトレーサーを用いた解剖学的手法など、様々な手法を用いた神経科学的解析により、警報フェロモン情報が鋤鼻器から分界条床核へ、安寧フェロモン情報が嗅上皮から扁桃体へとそれぞれ伝達されていくルートを解明し、フェロモンの中枢作用メカニズムを明らかとする。

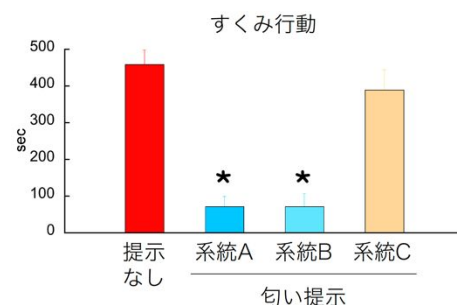
4. 研究成果

(1) 安寧フェロモン分子同定に関する研究

これまでの研究結果より揮発性であることが確認された安寧フェロモンを、効率的に捕集する方法の開発を試みた。その結果、麻酔下ラットのある特定の体表領域から匂いを回収し、それを被験動物に提示したところ、条件刺激に対する超音波発生を抑制し、すくみ行動を抑制することが明らかとなった。このことから、この方法にて安寧フェロモンを回収することが可能であることが明らかとなった。また上記の方法を用いて安寧フェロモンの系統差を検討したところ、安寧フェロモンを放出する系統としない系統のラットが存在することが明らかになった(右図)。

安寧フェロモン分子を同定するためには、吸着剤を用いてフェロモンを捕集し、その内容を分析することが必要である。その際、捕集物の中に夾雑物が少なければ少ないほど分析精度が上昇することが知られている。これらの点を鑑みて検討を繰り返した結果、清浄な空気を満たされたアクリルボックス内に麻酔下ラットを静置し、人工的に放出させた安寧フェロモンを吸着剤に捕捉するフェロモン捕集システムを構築することに成功した。

このシステムを用いて、フェロモン分子同定のための分析を開始した。まず、全てのサンプルにある一定量加えることにより、サンプルに含まれる各化学物質の量を定量的に解析することを可能とする標準物質を選定することにした。ラットからは放出されない物質であり、また取り扱いが容易であり安定な物質を検討した結果、エチルノナノネートが最適であることが判明した。次に、安寧フェロモンを放出する系統のラットから捕集されたサンプルと、放出しない系統のラットから捕集されたサンプルを比較することで、安寧フェロモン分子を絞り込んで



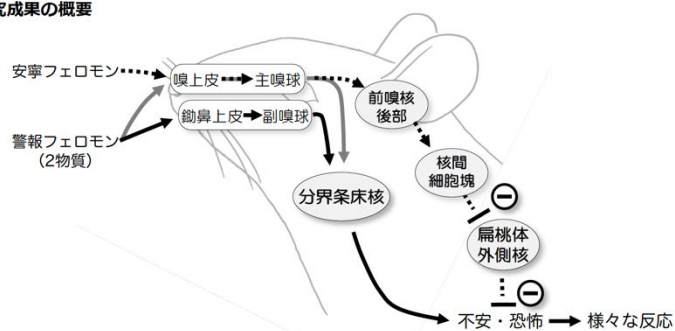
いくこととした。その結果、安寧フェロモンの有無は不明であるが、ラットから放出されるに
 おい成分として 77 成分を検出することができた。次にこれらの成分を系統間で比較したところ、
 安寧フェロモンを放出する系統のラットのみがもつ成分が 4 つ存在することが明らかになった。
 そのため、この 4 成分が安寧フェロモンの有力な候補であることが考えられる。

(2) フェロモンの中枢作用メカニズムに関する研究

安寧フェロモンは前嗅核後部を活性化することで、最終的に扁桃体外側核の活性化を抑制す
 ることが示唆されているが、前嗅核後部の抑制性ニューロンが扁桃体外側核を直接的に抑制す
 るのか、興奮性ニューロンが他の神経核を活性化することで間接的に扁桃体外側核を抑制す
 るのかが不明であった。そこで社会的緩衝作用が観察された際に、どちらのニューロンが活性化
 するのかを検討した結果、抑制性ニューロンの特異的な活性化が観察されなかった。そのため、
 前嗅核後部は他の神経核を活性化することで間接的に扁桃体外側核を抑制することが示唆され
 た。そのため次に、扁桃体外側核を抑制できる能力を持った神経核に対して、その関与を検討
 した。その結果、社会的緩衝作用が観察された際に外側扁桃核間細胞塊が活性化することが
 明らかになった。そのため、活性化した前嗅核後部が外側扁桃核間細胞塊を活性化すること
 で扁桃体外側核を抑制する、という神経メカニズムが示唆された。

また警報フェロモンの中枢作用メカニズムについても研究を進めた。これまでの研究により、
 警報フェロモンは不安神経回路を活性化することが示唆されていた。そこでこの点をより直接
 的に検討するために、不安回
 路において重要な働きを担
 っている分界条床核に焦点
 を当て、その関与を検討した。
 その結果、分界条床核を不活
 化すると警報フェロモン効
 果が観察されなくなること
 が明らかとなったことから、
 分界条床核が重要な役割を
 担っていることが示唆され
 た(右図)。

本研究成果の概要



これと並行して、警報フェロモン受容体の検討も進めている。これまでの研究により、警報フ
 エロモン分子である 4-メチルペンタナールは、鋤鼻上皮に発現している受容体のうち V1R ファ
 ミリーに属する受容体で受容されることが示唆されていた。そこで 4-メチルペンタナールを提
 示し、それを受容したために活性化した鋤鼻上皮細胞を特定し、これらの細胞が発現している
 V1R 受容体を検討した。その結果、4-メチルペンタナールの受容体候補を 4 つの V1R 受容体
 にまで絞り込むことができた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 16 件)

1. [Kiyokawa, Y.](#), Kawai, K. and Takeuchi, Y. (2018)

The benefits of social buffering are maintained regardless of the stress level of the subject rat and enhanced by more conspecifics

Physiology & Behavior, 194, 177-183. 査読有

DOI: 10.1016/j.physbeh.2018.05.027

2. Koizumi, R., [Kiyokawa, Y.](#), Mikami, K., Ishii, A., Tanaka, K.D., Tanikawa, T., and Takeuchi, Y. (2018)

Structural differences in the brain between wild and laboratory rats (*Rattus norvegicus*): Potential contribution to wariness

Journal of Veterinary Medical Science, 80, 1054-1060. 査読有

DOI: 10.1292/jvms.18-0052

3. [Kiyokawa, Y.](#), Tanaka, K.D., Ishii, A., Mikami, K., Katayama, M., Koizumi, R., Minami, S., Tanikawa, T. and Takeuchi, Y. (2017)

Two strains of roof rats as effective models for assessing new-object reaction

Journal of Veterinary Medical Science, 79, 702-708. 査読有

DOI: 10.1292/jvms.17-0002

4. [Kiyokawa, Y.](#) and Takeuchi, Y. (2017)

Social buffering ameliorates conditioned fear responses in the presence of an auditory conditioned stimulus

Physiology & Behavior, 168, 34-40. 査読有

DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.10.020

5. Nakamura, K., Ishii, A., Kiyokawa, Y., Takeuchi, Y. and Mori, Y. (2016)
The strain of an accompanying conspecific affects the efficacy of social buffering in male rats
Hormones and Behavior, 82, 72-77. 査読有
DOI: 10.1016/j.yhbeh.2016.05.003

〔学会発表〕(計 32 件)

1. 小泉亮子、清川泰志、田中和之、谷川力、武内ゆかり
野生ドブネズミの新奇物に対する反応における性別の影響
第 161 回日本獣医学会学術集会、2018 年

2. 向後大樹、武内ゆかり、清川泰志
ラットにおける系統に対する社会的選好性
第 161 回日本獣医学会学術集会、2018 年

3. Kiyokawa, Y.
Social buffering of stress responses: A possible measure of affiliation to the accompanying animal
Conference Neurobiology of empathy, 2018 年

4. Koizumi, R., Kiyokawa, Y., Tanaka, K., Tanikawa, T. and Takeuchi, Y.
Behavioral neuroscientific analysis on new-object reaction in wild brown rat (*Rattus norvegicus*)
The 41th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2018 年

5. Kiyokawa, Y., Minami, S. and Takeuchi, Y.
Functional mapping of the intercalated cell masses of the amygdala during social buffering of conditioned fear responses in male rats
The 41th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2018 年

〔図書〕(計 2 件)

Kiyokawa, Y., Academic Press,
Relief provided by conspecifics: Social buffering
in: Meyza, K., Knapska, E. (Eds.), *Neuronal Correlates of Empathy*.
2018 年、214 ページ(pp. 137-149).

Kiyokawa, Y., Springer,
Social odors: Alarm pheromones and social buffering
in: Wöhr, M., Krach, S. (Eds.), *Social Behavior from Rodents to Humans*.
2018 年、429 ページ(pp. 47-65).

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/koudou/>

6 . 研究組織

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。