

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：32701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14882

研究課題名(和文)母性因子による痛覚発達のエピジェネティクス制御

研究課題名(英文) Epigenetic regulation of the development of neural system for nociception by maternal factors

研究代表者

茂木 一孝 (Mogi, Kazutaka)

麻布大学・獣医学部・准教授

研究者番号：50347308

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：成長後の社会行動発現は幼少期の母子環境で大きく変化するが、痛覚発達にもその可能性が示唆される。近年、皮膚を撫でる刺激特異的に反応する感覚ニューロンが発見されたことから、本研究ではこの撫で感受性ニューロンが母子環境下で十分に活性化されると痛覚が適切に発達するという仮説の実証を目指した。結果として、母性行動が通常よりも低下している母マウスに育てられたマウスは、成長後に痛みを強く感じることを示された。さらに、撫で感受性ニューロン特異的に操作可能なMrgprb4-Cre遺伝子改変マウスとDREDDsシステムを用い、このニューロン活性を離乳前のみ抑制すると成長後の痛み発現が増加し、仮説が支持された。

研究成果の概要(英文)：It has been shown that the maternal environment affects the offspring's development of social behaviors. It has recently suggested that the similar possibility is also seen in nociception. On the other hand, a novel sensory neuron, which was only stimulated by massage-like stroking and express the G-protein-coupled receptor Mrgprb4, was found in 2013. In the present study, we tried to demonstrate our hypothesis that the neural system for nociception was adequately organized by the activation of Mrgprb4-expressing neurons under the maternal factors. As results, we found that pain sensitivity was increased in mice which were nurtured by mothers showing lower licking/grooming rates than usual mothers. Furthermore, when we inhibited the activity of Mrgprb4-expressing neurons in Mrgprb4-cre mice only during early life period until weaning by using the Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREDDs), pain sensitivity in those mice increased in adulthood.

研究分野：行動神経科学

キーワード：痛覚 発達 母性因子 エピジェネティクス マウス

1. 研究開始当初の背景

幼少期の母子環境は成長後の情動や社会行動発現に大きく影響する。例えばマウスは通常の3週齢よりも1週早く離乳されると、成長後に不安行動が高くなるなど情動発達が影響をうける。また母性も低下し、特に出産した仔マウスを舐めるグルーミングの量が通常離乳されたマウスよりも顕著に減少する。申請者はさらに、この早期離乳されたマウスが母として育てた次世代マウス(早期離乳次世代マウス)も、自身は通常通りに離乳されても母マウス同様に不安が高く、母性が低くなることを見出してきた。これらのことから幼少期に母から受けるグルーミングの量が神経発達をエピジェネティックに制御することが考えられる。痛みといった感覚ニューロンの発達もまた幼少期環境の影響を受けることが示唆されている。

2013年にグルーミングのような皮膚を撫でる刺激に特異的に反応する新規の感覚ニューロンの存在が実証されたことから、撫で感受性ニューロンが母子環境下で十分に活性化されることで痛覚が適切に発達するという仮説を立てるに至った。

2. 研究の目的

本研究では、撫で感受性ニューロン活性を時期特異的に操作可能な Mrgprb4-Cre 遺伝子改変マウスとミュータジェネシス受容体 DREEDs システムを駆使し、母子環境が撫で感受性ニューロンを介して痛覚発達に関与することを明らかにする。

3. 研究の方法

早期離乳次世代マウスにおける痛覚発達の変化

子マウスへのグルーミング行動が低下した早期離乳マウスに育てられた次世代マウスの成長後の痛覚変化を、足底に微量のホルマリン溶液を注入するホルマリンテストによって調べた。このテストでは疼痛の程度に比例してマウスが投与された肢を舐めることがわかっている。

幼少期の撫で感受性ニューロン活性操作による機能実証

通常の母子環境下で幼少期のみ撫で感受性ニューロン活性を抑制する(図1)。そのため Mrgprb4-Cre 遺伝子改変マウスの出生直後に AAV ベクターを腹腔内投与し、細胞活性を抑制可能な Gi-DREEDs 受容体遺伝子を撫で感受性ニューロンだけに導入する。これらマウスには6日齢から離乳する3週齢まで DREEDs 受容体のリガンドである CNO を1日2回腹腔内投与する。離乳後は8週齢まで通常飼育した後、ホルマリンテストを実施し、疼痛の程度をコントロール群と比較する。

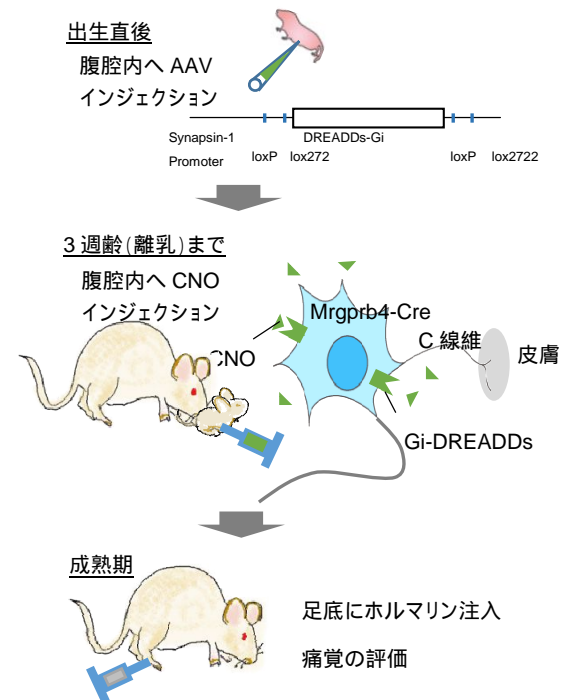


図1. 撫で感受性ニューロン活性操作実験

4. 研究成果

早期離乳次世代マウスにおける痛覚発達の変化

ホルマリンテストにおいて、早期離乳(EW)次世代マウスがホルマリンを投与された足を舐めた時間は、通常離乳(NW)次世代マウスよりも有意に長く、幼少期に受けたグルーミングの量が少ないマウスは通常よりも痛みを強く感じることを示唆された(図2)。

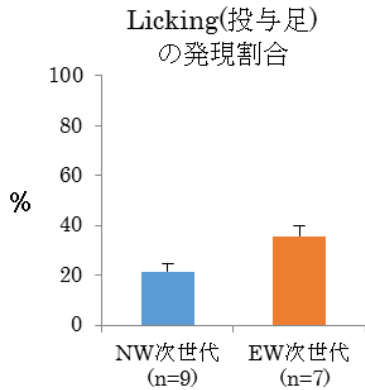


図2. 早期離乳次世代マウスにおける疼痛の増大

幼少期の撫で感受性ニューロン活性操作による機能実証

出生直後に AAV ベクターを投与された Mrgprb4-Cre 遺伝子のヘテロ (HE) マウスのうち、離乳まで CNO を処置された群 (HE AAV, n=2) におけるホルマリン投与された肢への舐め行動は、AAV ベクターを投与されずに CNO 処置をうけた HE マウス (HE, n=2) や CNO 処置された通常マウス (WT, n=1) と異なっていた。HE AAV 群のホルマリン投与直後の反応(侵害受容性疼痛の成分: Phase I) は他より低い、後半の反応(炎症性疼痛の成分: Phase II) は顕著に高かった。例数はまだ充分ではないものの、幼少期の撫でニューロン活性の抑制は持続性疼痛の適切な発達を妨げることが考えられた。

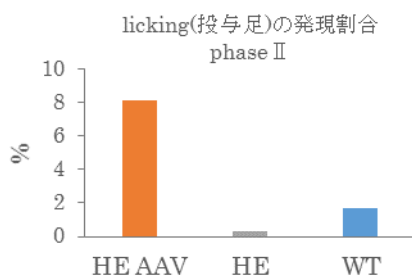
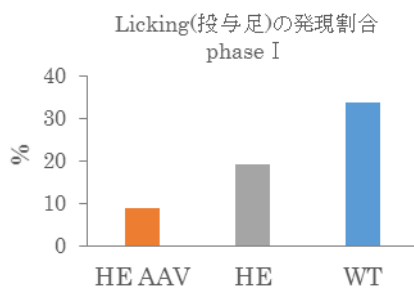


図3. Mrgprb-4-Cre マウス実験

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17件)

- (1) K. Mogi, A. Takakuda, C. Tsukamoto, R. Ooyama, S. Okabe, N. Koshida, M. Nagasawa, T. Kikusui; Mutual mother-infant recognition in mice: The role of pup ultrasonic vocalizations. *Behavioral Brain Research*, 325, Part B: 138-146, 2017. 査読有
doi: 10.1016/j.bbr.2016.08.044.
- (2) S. Okabe, Y. Tsuneoka, A. Takahashi, R. Oyama, A. Watarai, S. Maeda, Y. Honda, M. Nagasawa, K. Mogi, K. Nishimori, M. Kuroda, T. Koide, T. Kikusui; Pup exposure facilitates retrieving behavior via the oxytocin neural system in female mice. *Psychoneuroendocrinology* 79: 20-30, 2017. 査読有
doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.01.036.
- (3) T. Kikusui, K. Mogi; Emotional changes induced by social stress in juvenile period. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 149(2): 66-71, 2017. 査読有
doi: 10.1254/fpj.149.66.
- (4) K. Mogi, Y. Ishida, M. Nagasawa, T. Kikusui; Early weaning impairs fear extinction and decreases brain-derived neurotrophic factor expression in the prefrontal cortex of adult C57BL/6 mice. *Developmental Psychobiology* 58(8): 1034-1042, 2016. 査読有
doi: 10.1002/dev.21437
- (5) T. Kikusui, Y. Ishio, M. Nagasawa, J. S. Mogil, K. Mogi; Early weaning impairs a social contagion of pain-related stretching behavior in mice. *Developmental Psychobiology* 58(8): 1101-1107, 2016. 査読有
doi: 10.1002/dev.21443.

- (6) T. Hattori, T. Osakada, A. Matsumoto, N. Matsuo, B. Roth, T. Nishida, Y. Mori, K. Mogi, **K. Touhara**, **T. Kikusui**; Self-exposure of the male pheromone ESP1 enhances male aggressiveness in mice. *Current Biology* 26: 1229-1234, 2016. 査読有
doi:10.1016/j.cub.2016.03.029
- (7) M. Katayama, K. Mogi, T. Kikusui, T. Kubo, K. Ikeda, **M. Nagasawa**; Heart rate variability predicts the emotional state in dogs. *Behavioural Processes* 128: 108-112, 2016. 査読有
doi: 10.1016/j.beproc.2016.04.015
- (8) **M. Ohkita**, M. Nagasawa, K. Mogi, T. Kikusui; Owners' direct gazes increase dogs' attention-getting behaviors. *Behavioural Processes* 125: 96-100, 2016. 査読有
doi:10.1016/j.beproc.2016.02.013
- (9) A. Tonoike, G. Terauchi, M. Inoue-Murayama, M. Nagasawa, K. Mogi, **T. Kikusui**; The frequency variations of the oxytocin receptor gene polymorphisms among dog breeds. *Journal of Azabu University* 27: 11-18, 2016. 査読有
- (10) M. Nagasawa, S. Kanbayashi, K. Mogi, J. A. Serpell, **T. Kikusui**; Comparison of behavioral characteristics of dogs in the United States and Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 78(2): 231-238, 2016. 査読有
doi: 10.1292/jvms.15-0253
- (11) A. Tonoike, M. Nagasawa, K. Mogi, J. A. Serpell, H. Ohtsuki, **T. Kikusui**; Comparison of owner-reported behavioral characteristics among genetically clustered breeds of dog (*Canis familiaris*). *Scientific reports* 5:17710, 2015. 査読有
doi: 10.1038/srep17710
- (12) A. Tonoike, Y. Hori, M. Inoue-Murayama, A. Konno, K. Fujita, M. Miyado, M. Fukami, M. Nagasawa, K. Mogi, T. Kikusui; Copy number variations in the amylase gene (AMY2B) in Japanese native dog breeds. *Animal Genetics* 46(5):580-583, 2015. 査読有
doi: 10.1111/age.12344
- (13) M. Ode, A. Asaba, E. Miyazawa, K. Mogi, T. Kikusui, **E. Izawa**; Sex-reversed correlation between stress levels and dominance rank in a captive non-breeder flock of crows. *Hormones and behavior* 73:131-134, 2015. 査読有
doi: 10.1016/j.yhbeh.2015.07.012
- (14) **T. Romero**, M. Nagasawa, K. Mogi, T. Hasegawa, T. Kikusui; Intranasal administration of oxytocin promotes social play in domestic dogs. *Communicative & Integrative Biology* 8(3):e1017157, 2015. 査読有
doi: 10.1080/19420889.2015.1017157
- (15) M. Nagasawa, S. Mitsui, S. En, N. Ohtani, M. Ohta, Y. Sakuma, T. Onaka, K. Mogi, **T. Kikusui**; Oxytocin-gaze positive loop and the co-evolution of humans-dog bonds. *Science* 347(6232): 333-336, 2015. 査読有
DOI: 10.1126/science.1261022
- (16) T. Hattori, K. Kanno, M. Nagasawa, K. Nishimori, K. Mogi, T. Kikusui; Impairment of interstrain social recognition during territorial aggressive behavior in oxytocin receptor-null mice. *Neuroscience Research* 90: 90-94, 2015. 査読有
doi: 10.1016/j.neures.2014.05.003.
- (17) K. Mogi, H. Takanashi, M. Nagasawa, **T. Kikusui**; Sex differences in spatiotemporal expression of AR, ER α , and ER β mRNA in the perinatal mouse brain. *Neuroscience Letters* 584: 88-92, 2015. 査読有
doi:10.1016/j.neulet.2014.10.028

〔学会発表〕(計2件)

- (1) 茂木一孝; マウスの社会行動発達にお

ける幼少期オキシトシンの役割. 平成
28年度生理研研究会・第6回社会神経科
学研究会『社会のなりたちを支える内分
泌学』, 岡崎, 2016年11月24-25日.

- (2) K. Mogi, Y. Ishida, M. Nagasawa, T.
Kikusui; Early weaning impaired fear
extinction and decreased BDNF
expression in the prefrontal cortex in
adult C57BL/6 mice. *The 38th Annual
Meeting of the Japan Neuroscience
Society*, Kobe, Japan, 28-31 July 2015.

〔図書〕(計1件)

- (1) 動物たちは何を考えている? - 動物心
理学の挑戦 -, 技術評論社, 2015年.

ISBN 978-4-7741-7258-3

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://azabu.carazabu.com/car/home>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

茂木 一孝 (MOGI KAZUTAKA)

麻布大学・獣医学部・准教授

研究者番号: 50347308

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し

(4) 研究協力者

無し