

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19755

研究課題名(和文) 養育行動における視床下部視索前野カルシトニンレセプターニューロンの機能神経解剖学

研究課題名(英文) The role of hypothalamic preoptic calcitonin-receptor neurons in parental behavior

研究代表者

時田 賢一 (Tokita, Kenichi)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：70384188

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、雌マウスにおいて産後に内側視索前野で発現が増加し、またそのリガンドである神経ペプチドアミリンの発現量も養育行動(子育て行動)と正の相関を示すことが知られているカルシトニンレセプターについて、その養育行動における役割を機能神経解剖学的、行動学的にアプローチした。内側視索前野カルシトニンレセプターニューロン特異的に神経連絡の出入力を詳細に明らかにした。また、カルシトニンレセプターニューロン特異的な機能剥奪やカルシトニンレセプターの発現抑制が養育行動の質の低下をもたらすことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the function of calcitonin receptor in the medial preoptic area in parental behavior was investigated in female mice using neuroanatomical and behavioral approaches. Afferent and efferent connections of calcitonin receptor neurons in the medial preoptic area were analyzed. Both calcitonin receptor-neuron specific loss of function and suppression of calcitonin receptor expression lowered the quality of parental behavior in female mice.

研究分野：神経科学

キーワード：養育行動 内側視索前野 カルシトニンレセプター

1. 研究開始当初の背景

親による児童虐待や母性剥奪が、子供の成人後のうつ病、不安障害、人格障害、次世代へ待の繰り返しなどの発症リスクを高めることは臨床的に古くから知られている (Meaney, 2001)。このような不適切養育行動の効果的な予防・治療法が開発されれば社会負担は軽減され、人類の幸福に大きく寄与するものと考えられる。そのためには、まず親の正常な子育て (養育行動) をつかさどる神経機構を解明しなければならないが、現在のところ社会に還元できるほど多くの成果が得られているとはいえない。

哺乳類の仔は単独では生存できず、出生後しばらくは哺乳・保温・外敵からの保護といった親による世話 (養育行動) が必須である。養育行動はヒトを含む全ての哺乳類に共通しているため、性行動や摂食・飲水行動と同様に、養育行動をつかさどる神経制御機構も基本的な部分は種を通して進化的に保存されていると考えられ、ラットやマウスといったげっ歯類がモデル動物として研究されている。先行研究により、内側視索前野 (Medial preoptic area, MPOA) (図 1) の破壊が養育行動を著しく阻害すること (Tsuneoka et al, 2013) また、養育行動開始後に MPOA で転写活性の指標である c-Fos や FosB の発現が増加すること (Calamandrei and Keverne, 1994) などから、この脳部位が養育行動中枢だと考えられている。今後の研究では、分子神経科学的なレベルでの知見の蓄積と機構解明が求められる。

以上のような観点から、本申請者の所属研究室では、哺乳類に共通する正常および異常養育行動の神経基盤解明を目指してきた。そのなかで、養育行動中に神経活動を増加させる MPOA ニューロンでは、アミリン受容体であるカルシトニンレセプター (CT-R) の遺伝子が発現していることが明らかになった (未発表)。また、MPOA の CT-R ニューロンと養育行動誘導性 c-Fos の共染率は約 60% と高かった (未公開)。このような結果から、CT-R ニューロンの養育行動における機能的役割が示唆されるが、その知見は極めて限られている。

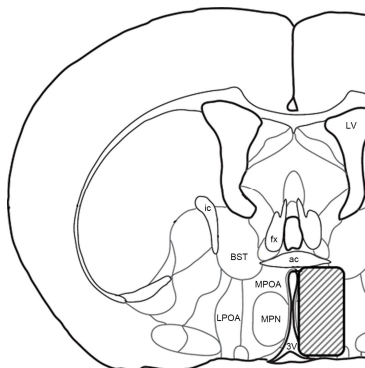


図 1. マウス内側視索前野 (MPOA、斜線部分)

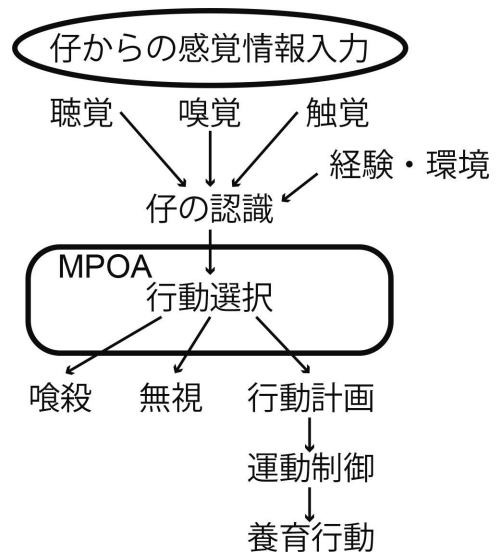


図 2. 内側視索前野 (MPOA) を中心とした養育行動の神経回路モデル

2. 研究の目的

アミリンは、グルカゴンの分泌抑制や、後脳の後野に作用して摂食行動の抑制をおこなうペプチドホルモンであり、CT-R と結合する。アミリンは神経伝達物質の一種としても知られ、その受容体は MPOA を始めとして情動に関連する扁桃体や神経内分泌の中核である室傍核などの広範な脳部位に発現している。養育行動への関与を示唆する知見として、ラットではアミリンの発現には雌雄差があり、メスでは出産後に養育行動中枢近傍に発現が増加するという報告がなされた。また、本申請者の所属研究室の実験でも、マウスのアミリン脳内発現は、上記の先行研究と同様の結果をえており、また、MPOA の CT-R ニューロンと養育行動誘導性 c-Fos の共染率は約 60% と高く、CT-R の発現数も産後に増加していた (丸山、未公開)。上記のような知見をもとに、MPOA に分布している CT-R ニューロンの神経解剖学的入力様式およびその行動レベルにおける機能を分子神経科学的に解明するための実験の着想に至った。

3. 研究の方法

実験は大きく分けて CT-R ニューロンの出入力様式解明に関する神経解剖学的研究と、MPOA の CT-R ニューロンや CT-R 発現に操作を加えたマウスを作成し、行動の変化を観察する行動神経科学的研究に分けられる。

神経解剖学的研究においては、出力投射の解析では GFP を組み込んだアデノ随伴ウイルス (Adeno associated virus: AAV) を Calc-Cre マウス (未交尾および母マウス) の MPOA に限局して微量注入した。入力投射の解析では、AAV と変異型狂犬病ウイルスを用いて、CT-R ニューロンに単シナプス性に入力している脳部位を網羅的に検索した。以上のふたつの神経解剖学的実験により、

CT-R ニューロンの入力様式を、社会的経験（出産経験の有無）が神経回路を変化させるかという点を絡めて詳細に明らかにする。

なお、実験計画立案時は、上記の神経解剖学的研究を未交尾および父マウスをもちいた実験もおこなう予定であったが、時間的制約等の理由で母性養育行動の神経機構解明に注力するため計画を一部変更し、雄マウスは実験にもちいないこととした。それに伴い、行動神経科学的研究の計画も雌マウスのみを対象とした。行動神経科学的研究では、AAV をもちいて MPOA の CT-R ニューロンの神経活動抑制の母性養育行動への影響と、shRNA 法により MPOA ニューロンの CT-R の発現抑制の母性養育行動への影響を調べた。

4. 研究成果

〔神経解剖学的研究〕

MPOA の CT-R ニューロンへの求心性投射解析実験については、未交尾マウス、母マウスともに定量的データ解析に十分な数のマウスにおいて、ウィルスが標的部位である MPOA に注入されていたことが確認された（図 1）。

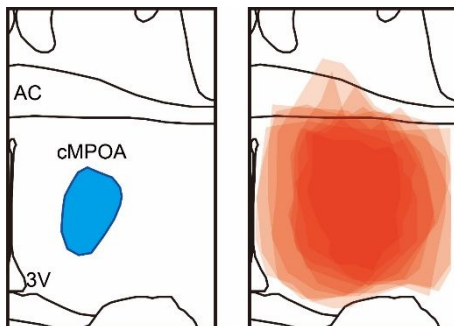


図 1. 標的部位である MPOA の位置（左）と、それぞれのマウスのウィルス注入部位（右）。

MPOA の CT-R ニューロンへの投射細胞は、全脳で検索された。その結果、側坐核、外側中隔核、分界条床核、視床下部内の複数の部位、扁桃体、腹側被蓋野、中脳水道周囲灰白質等の広範な脳部位で確認された（図 2）。現在、未交尾マウスと母マウスとの間で標識された部位や細胞数について差が認められるかどうか定量的に解析中である。

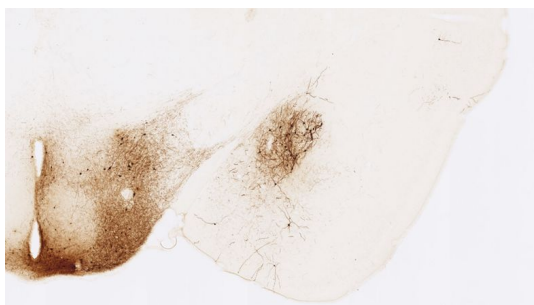


図 2. CT-R ニューロンに投射するニューロンの細胞体が視床下部や扁桃体に認められる。

遠心性投射解析実験についても未交尾マウス、母マウスともに十分な数のデータが得られた。これについても求心性実験と同様に、出産という社会的経験・記憶が神経回路におよぼす変化を検出するため解析中である。

〔行動神経科学的研究〕

テタヌストキシンによる CT-R ニューロンの神経活動抑制実験では、実験群でのみ養育行動の質が有意に悪化した（図 3）。この結果は、MPOA のニューロンのうち CT-R を発現しているニューロンが母性養育行動において重要な役割を果たしていることを示している。

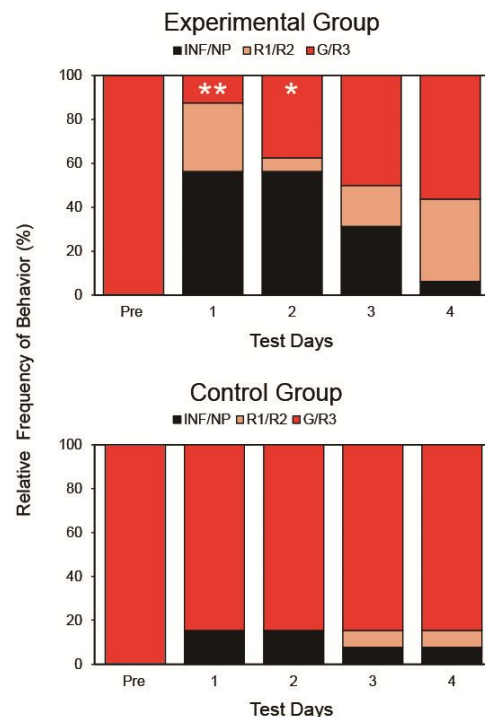


図 3. 実験群（上）と統制群（下）の母性養育行動の評価。（INF, Infanticide; NP, Non-parental; Retrieval, R1-3; Grouping, G）

次に shRNA 法をもちいて MPOA の CT-R 発現を抑制する実験では通常の飼育ケージ内での仔回収試験に加え、高架式十字迷路での仔回収試験をおこなった（図 4）。



図 4. 高架式十字迷路と仔の回収試験を組み合わせた実験。

その結果、実験群のマウスは統制群のマウスよりも仔を回収する、一か所に集める、授乳姿勢をとるといった行動の出現までの潜在時間が長いことが示された(図5)。このことは、CT-R という分子が MPOA において発現していることが質の良い母性養育行動には必要であることを示している。現在、本実験はデータ取得が7割程まで完了しており、今後しばらく実験は十分なデータを得るために継続する予定である。

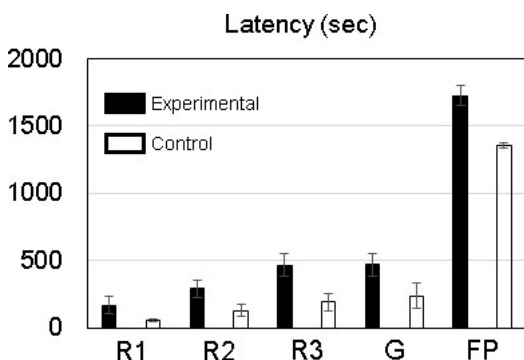


図5. 仔を回収 (Retrieval, R1-3) し、一か所に集め (Grouping, G) 仔の上に覆いかぶさり授乳姿勢をとる (Full Parental, FP) までの潜時。

<引用文献>

Meaney MJ. Ann.Rev.Neurosci. 2001. 24: 1161-1192.
 Tsuneoka Y. et al. J.Comp.Neurol. 2013. 251: 1633-1663.
 Calamandrei G., Keverne EB. Behav.Neurosci. 1994. 108:113-120.
 丸山徹歩. 2013. 日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究所修士論文(未公開)

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0件)

[学会発表](計4件)

時田賢一

雄マウスにおける子殺しと子育ての神経制御機構. 平成28年度生理研研究会『情動研究会』『神経回路研究と精神疾患研究の連合による情動機構解明』, 2016年10月18日, 生理学研究所, 岡崎市(愛知県)

時田賢一

雄マウスにおける喰殺と養育の神経制御. 2016年度行動遺伝学研究会「個体の繋がり」の分子進化研究」, 2016年10月14日, 国立遺伝学研究所, 三島市(静岡県)
 時田賢一, 恒岡洋右, 天野大樹, 佐藤まなみ, 黒田公美

マウス父性行動および喰殺行動に關与する神経回路. 2016年7月20日, パシフィコ横浜, 横浜市(神奈川県)

Kenichi TOKITA, Yousuke TSUNEOKA, Taiju AMANO, Manami SATO, Kumi KURODA
 Neural circuits controlling pup-directed behaviors in male mice.
 2016年6月6日, パシフィコ横浜, 横浜市(神奈川県)

[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]

ホームページ等
http://asb.brain.riken.jp/index_j.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

時田 賢一 (TOKITA, Kenichi)
 理化学研究所・脳科学総合研究センター・
 研究員
 研究者番号: 70384188

(2) 研究分担者

該当なし()

研究者番号:

(3) 連携研究者

該当なし()

研究者番号:

(4) 研究協力者

黒田 公美 (KURODA, Kumi)
 宮道 和成 (MIYAMICHI, Kazunari)

吉原 千尋 (YOSHIHARA, Chihiro)
篠塚 一貴 (SHINOZUKA, Kazutaka)
大西 竜子 (OHNISHI, Ryuko)