

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02710

研究課題名(和文) マウス「母性の目覚め」の内側視索前野における分子神経回路機構の解明

研究課題名(英文) Neuromolecular mechanism of motherhood-specific nurturing motivation

研究代表者

黒田 公美 (Kuroda, Kumi)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：90391945

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、母親マウスが身の危険を冒しても子を助ける行動の一端を担う分子神経機構を特定した。まず子育てに必須の脳部位cMPOA(内側視索前野中央部)において、子育て中に最も高率に活性化するのがカルシトニン受容体(Calcr)発現ニューロンであることを見出した。次にCalcrニューロンを発火抑制すると母親でも未経産メスでも子育てが著しく減退すること、Calcr分子発現は母親になると増加し、母親特有のリスク条件下における子育てを可能にすることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

母親による子育てはヒトを含む全哺乳類に基本的な部分が共通しており、その神経機構も進化的に保存されていると考えられる。本成果は、マウスの母親が自らの危険を冒して子を助ける子育て意欲を発揮するためのメカニズムの一端を明らかにした。このようなモデル動物を用いた研究は、将来的には人間の子育て意欲低下の理解と支援にも役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Maternal mammals exhibit heightened motivation to care for offspring, but the responsible neuromolecular mechanisms are yet to be clarified. Here we report that the calcitonin receptor (Calcr)-expressing neurons in the central part of the medial preoptic area (cMPOA) are critical for maternal care even under risky conditions. Calcr+ cMPOA neurons are highly activated during parenting, and Calcr molecular expression increased 8-times in mothers. Suppression of Calcr neuron firing in the cMPOA abolished maternal care, so that 80% of their offspring could not survive, without affecting general health, mating and normal delivery. Reduction of Calcr molecular expression caused inhibition of risk-taking maternal pup retrieval. Considering the fact that the same brain area exists in primate brain, this study will contribute to understanding and support of human parental care in future.

研究分野：複合領域

キーワード：母性行動 養育(子育て)行動 カルシトニン受容体 高架式十字迷路 内側視索前野 Medial preoptic area

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の子は未成熟な状態で生まれるため、母乳栄養や保温、外敵からの保護など、様々な面で親からの養育がなければ生存できない。そのため、母親による子育てがない哺乳類種は存在しない。また9割程度の哺乳類種においては、父親や他の個体は子育てに直接関与せず、母親が単独で子育てをする。そのためメスは妊娠・出産すると、その生理機能だけでなく行動面でも、妊娠前と比べて大きく変化する。古くから研究がおこなわれてきたラットなどげっ歯類では、妊娠・出産に伴い、不安の抑制、縄張りへの侵入者に対する攻撃性の増大(母性的攻撃 Maternal aggression)、子に対する養育意欲の増大(例えばより大きな巣を作る、より迅速に子を回収するなど)などが起こることが、子の回収行動試験(図1)をはじめとする各種行動試験によって見いだされている¹。また、これら各種の母性的な行動変化は、妊娠・出産に伴って増加するエストロゲン、オキシトシン、プロラクチンなどのホルモンの脳内への作用によって引き起こされるといふ示唆されている。しかし、これらのホルモンレセプターを発現する脳内のどの領域の神経回路がこうした「母性の目覚め」ともいえる行動変化をもたらすのかについては、まだ十分にわかっていない。

「母性行動」は本能行動の一種であって、母親になれば自然に、確実に獲得できるもののように思われる場合があるが、これは母性愛神話とも呼ばれる誤解である。確かに、母親になると上述のとおり、妊娠・出産に伴うホルモン変化が直接に脳に作用し、それまでと異なる生理的反応や行動パターンを示すことがある。一方で、ヒトだけではなく野生動物においても、母性行動の発現には幼少期に自分が受けた母親から世話を受けた経験や、他の同種個体との社会的な接触が重要であることが、霊長類やげっ歯類の母性剥奪・社会的隔離実験などから明らかになっている。さらに、子育て行動はあらゆる本能行動の中でももっとも複雑かつ高度な認知を必要とする。通常の養育を受けて大きくなったライオンやマカクザルでも、初産の育児放棄率はその後の出産に比べ著しく高い^(2参照)。従って、子育てをしたいという欲求はある程度本能的である一方、子どもが離乳するまで子育てをやり遂げるためには、相当に実地体験による学習が必要である。つまり、実際の母性行動には、生得的な神経回路がさまざまな経験・学習によって活性化され洗練される必要があるのであり、その経験・学習とは、つきつめていえば脳内の特定の神経回路における分子発現レベルの増大やシナプス形態変化を介した、シナプス伝達強度の変化であろう。本申請者らは、この「母性の目覚め」の物質的な脳内基盤を総合的に解明することを目指している。そのためにはまず、母性の目覚めに伴って活性が高まり、かつ、阻害すると母性的行動が抑制されるような神経回路を見出す必要があった。

2. 研究の目的

本研究の目的は「母性の目覚め」、すなわちメスの出産後の養育意欲増大の分子神経機構の解明である。そのためには、養育「意欲」を行動試験によって定量化しなければならない。そこでまず、リスク状況でも子育て意欲を維持する母親特有の行動変化を定量するC57BL/6 マウス用の新たなテストバッテリーを開発する。そしてそれを用いて、母親と非母親の脳内のどのような差が、母親ならではの「養育意欲増大」をもたらすのかを明らかにすることを目指した。

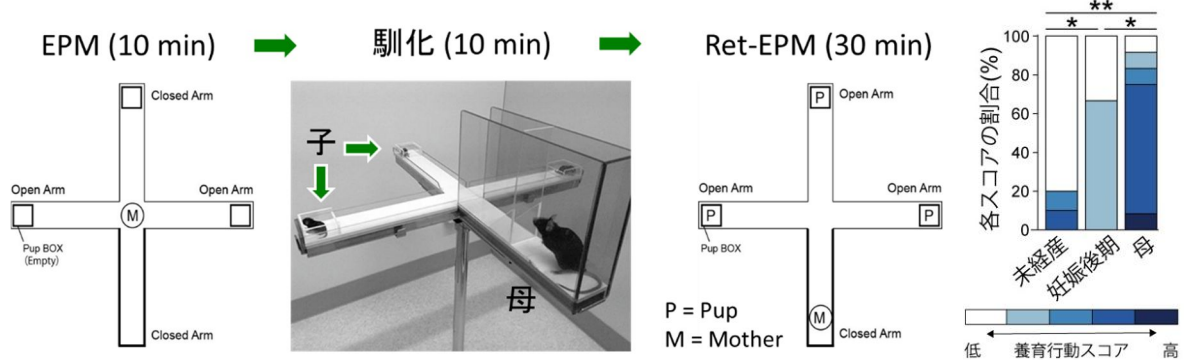
引き続き、我々のこれまでの研究によって見いだされた、養育行動に最も重要な役割を果たす脳領域、内側視索前野中央部 cMPOA (central part of the medial preoptic area) 内で母性行動に必須の分子神経メカニズムを探索する。そのため、まず cMPOA 内で養育行動によって活性化されるニューロンのもっともよい分子マーカーを見出し、その分子の promoter 下流で Cre を発現するトランスジェニックマウスを作成する。これを用いて、この分子マーカーを発現する cMPOA ニューロン特異的にウイルスベクターを用いた機能操作を行うことで、本ニューロンの機能、および見出したマーカー分子の機能を明らかにするという手順で研究を推進した。

3. 研究の方法

養育意欲を定量する試験として、不安行動を測定する高架式十字迷路を改変した新しい行動試験を開発した。まず通常の高架式十字迷路(ただし Closed arm は1本のみ、他は Open arm) 試験を10分行い、被検体の一般的な不安様行動を定量しておく。次に Closed arm に被検体を10分間とどめて馴化させたのち、各 Open arm の端に Donor 仔を1匹ずつ置く。

この状態で仕切りを外し、30 分間観察することで、被検体の子に対する行動を定量する(図 1)。この方法により、子の回収が遅れる場合、それが一般の不安様行動によるものや、多動など一般的な行動変容によるものなのか、それとも本能的に子育て意欲によるのかを、分離することが可能である。

図 1 高架式十字迷路 EPM を用いた、リスク下の子の回収試験 Ret-EPM



また下図 2 のように、Calcr-Cre トランスジェニックマウスを作成した。

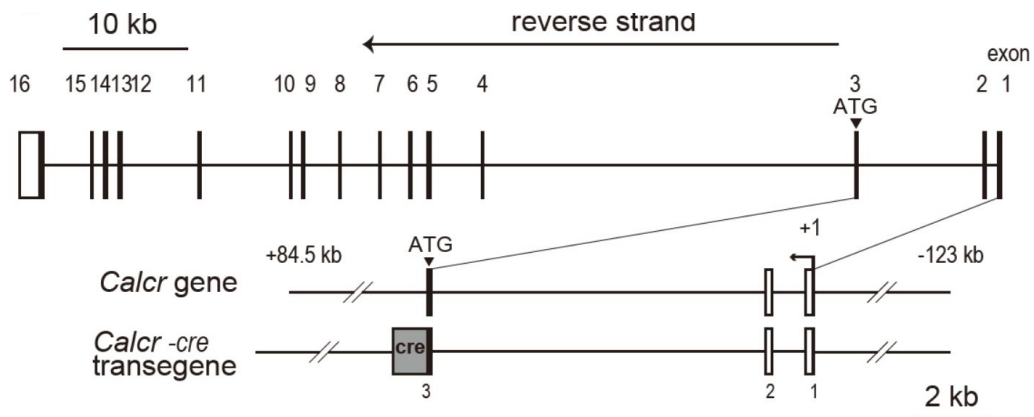


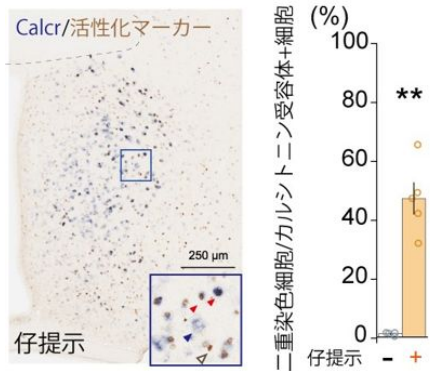
図 2 Calcr-Cre トランスジェニックマウスのデザイン

4 . 研究成果

本研究ではまず、一般的なホームケージでの子育て行動試験に加え、より高い養育意欲を必要とする行動テストバッテリーとして「高架式十字迷路上の子の回収試験 Ret-EPM」を開発した。この試験では、Home cage ではよく子を集める未経産メスであっても、ほとんど子を集められないが、母親であればほとんどが 30 分以内に 3 匹を Closed arm に回収することがわかった(図 1 右)。従って本試験は母親特有の、リスク条件下での子育て行動を定量することができる。

並行して本研究では、申請者らがこれまでに見出してきた、子育て行動に必須の脳部位 cMPOA において、母親メスと未産メスで発現量の異なる分子を特定した。30 以上の cMPOA に発現する候補分子を Allen Brain Atlas や既存の文献から収集、c - Fos との共染色によりスクリーニングしたところ、カルシトニン受容体 Calcr とポンペシン関連ペプチド受容体 3 Brs3 が、cMPOA 内で養育行動 2 時間後に誘導された c-Fos 発現と、50%前後と高い共発現率を示した。Brs3 は MPOA 内では Median preoptic nucleus MnPO にも多く発現するが、Calcr の発現はかなり cMPOA とその背側にある前交連核 Anterior commissural nucleus に限局していた。さらに Calcr 発現は母親になると約 8 倍と顕著に増大することも明らかになった(図 3)。

仔の提示でCalcr発現神経細胞が活性



Calcrの発現は母で上昇

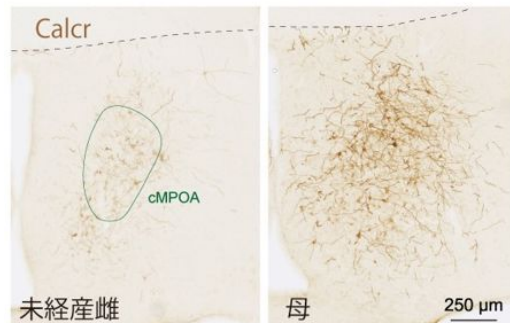
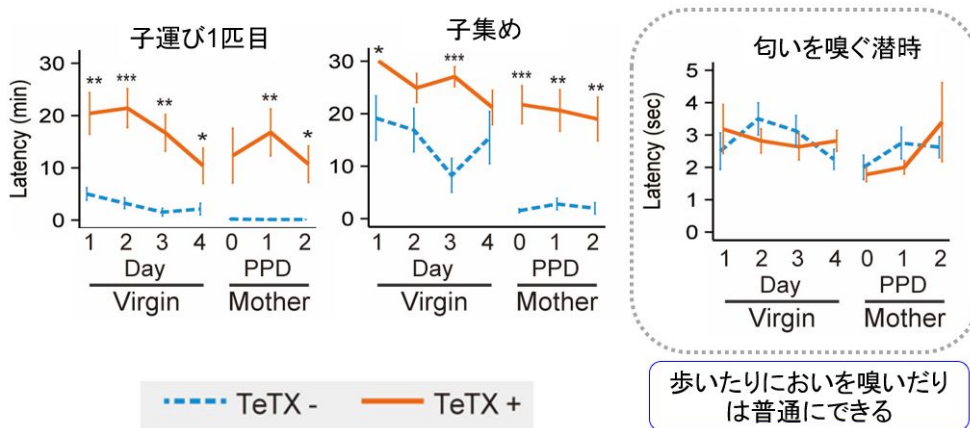


図3 Calcr の cMPOA における発現動態

Calcr は本来カルシトニンをリガンドとする7回膜貫通型のGタンパク質共役受容体である³が、脳内にはカルシトニンが分布せず、アミリンというペプチドホルモンと結合して活性化する。アミリンはラット脳内でMPOAに発現し、子育てで発現が上昇することが報告されている⁴。

次にCALCRプロモーターでCreタンパク質を発現するトランスジェニックマウス(CALCR-Cre-Tg)を作成(図2) Calcrニューロン特異的にテタヌストキシンTeTXをAAVウイルスベクターを用いて発現させ、ニューロンの神経伝達を抑制したところ、未経産メス、母親とも子集め行動が顕著に低下し(図4)、母親では子の8割が生後数日以内に死亡した。一方で、このマウスは正常にホームケージ内で活動し、オスと交尾し、コントロールウイルスを注入し発火抑制が起こっていないマウスと同様、正常に出産を行った。また子をホームケージに導入した際のおいを嗅ぐ潜時が変わっていなかった。従ってCalcrニューロンの活動は他の一般的な行動、メス生殖生理、感覚刺激に対するおおよその反応などには必要なく、仔集め行動に高度に特異的な機能を持つことが明らかになった。

図4 Calcr神経細胞の機能抑制



最後に、Calcr分子発現をcMPOAから減少させることを、AAVウイルスによるRNA干渉を用いて行った。残念ながらこの方法ではCalcr発現を元の60%にしか減少させることができなかったが、それでも、高架式十字迷路上で母親が子を集める潜時を約2倍にする、すなわち子を集める意欲を低下させることができた。なお、子がいる・いない状況での高架式十字迷路上の行動はコントロール群と差はなく、Calcrが単に移動速度を遅延させたり、あるいは不安一般を上昇させたりするメカニズムによって2次性に子育て行動を遅延させているのではないことを確認済みである。

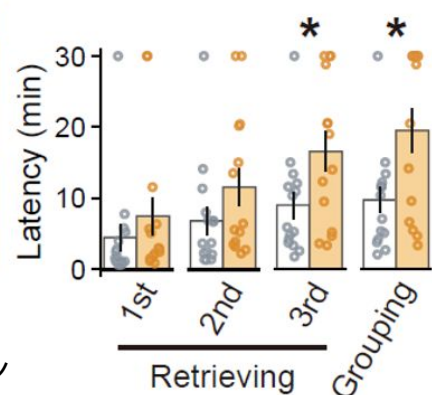
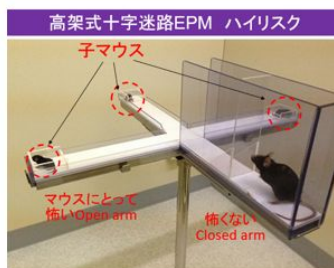


図5 Calcr分子ノックダウン

<謝辞>

本研究は以下の方々との共同研究により行われました。謹んで感謝申し上げます。

理化学研究所 脳神経科学研究センター 親和性社会行動研究チーム
研究員 吉原 千尋 (よしはら ちひろ)
基礎科学特別研究員 福光 甘斎 (ふくみつ かんさい)
研究員 篠塚 一貴 (しのづか かずたか)
テクニカルスタッフ 宮澤 絵里 (みやざわ えり)
研究員(研究当時) 時田 賢一 (ときた けんいち)
研究員(研究当時) 恒岡 洋右 (つねおか ようすけ)
神経回路・行動生理学研究チーム
テクニカルスタッフ アーサー・ファン (Arthur Jyh-Yen Huang)
チームリーダー トーマス・マックヒュー (Thomas John McHugh)
行動遺伝学技術開発チーム
チームリーダー(研究当時) 糸原 重美 (いとはら しげよし)
生命機能科学研究センター 比較コネクトミクス研究チーム
チームリーダー 宮道 和成 (みやみち かずなり)
日本獣医生命科学大学 応用生命科学部 動物科学科
教授 田中 実 (たなか みのる)
大学院生(研究当時) 丸山 徹歩 (まるやま てっぽ)
大学院生(研究当時) 金子 美里 (かねこ みさと)
東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻 生物化学研究室
教授 東原 和成 (とうはら かずしげ)

<引用文献>

1. Krasnegor, N. A. & Bridges, R. S. *Mammalian parenting: biochemical, neurobiological, and behavioral determinants* (Oxford UP, 1990).
2. 黒田公美, 白石優子, 篠塚一貴 & 時田賢一. 子ども虐待はなぜ起こるのか—親子関係の脳科学 in *ここまでわかった! 脳とこころ* (ed. 加藤忠史) 16-24 (日本評論社, 2016).
3. Hay, D. L., Garelja, M. L., Poyner, D. R. & Walker, C. S. Update on the pharmacology of calcitonin/CGRP family of peptides: IUPHAR Review 25. *Br J Pharmacol.* **175**, 3-17 (2018).
4. Dobolyi, A. Central amylin expression and its induction in rat dams. *J Neurochem.* **111**, 1490-1500 (2009).

本成果の詳細は、既報

Cell Rep. 2021 Jun 1;35(9):109204.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109204>

“Calcitonin receptor signaling in the medial preoptic area enables risk-taking maternal care” をご覧ください。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kuroda, K.O., Shiraishi, Y. and Shinozuka, K.	4. 巻 74
2. 論文標題 Evolutionary adaptive and nonadaptive causes of infant attack/desertion in mammals: Toward a systematic classification of child maltreatment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 516 ~ 526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.13096	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihara, C., Tokita K., Maruyama, T., Kaneko, M., Tsuneoka, Y., Fukumitsu, K., Miyazawa, E., Shinozuka, K., Huang, A.J., McHugh, T.J., Tanaka, M., Itoharu, S., Touhara, K., Miyamichi, K. and Kuroda, K.O.	4. 巻 -
2. 論文標題 Calcitonin receptor signaling in the medial preoptic area enables risk-taking maternal care.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Esposito Gianluca, Truzzi Anna, Yoshida Sachine, Ohnishi Ryuko, Miyazawa Eri, Kuroda Kumi O.	4. 巻 374
2. 論文標題 Using maternal rescue of pups in a cup to investigate mother-infant interactions in mice/rodents	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 112081 ~ 112081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2019.112081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村山綾子、黒田公美	4. 巻 33
2. 論文標題 動物行動の脳科学から見る子の愛着と、養育環境の発達への影響	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 そだちの科学	6. 最初と最後の頁 14 ~ 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉原千尋、黒田公美	4. 巻 19(3)
2. 論文標題 哺乳類の子育て(養育)行動とオキシトシンの役割	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 分子精神医学	6. 最初と最後の頁 8~16 (108~116)
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida S, Ohnishi R, Tsuneoka Y, Yamamoto-Mimura Y, Muramatsu R, Kato T, Funato H, Kuroda KO	4. 巻 12
2. 論文標題 Corticotropin-Releasing Factor Receptor 1 in the Anterior Cingulate Cortex Mediates Maternal Absence-Induced Attenuation of Transport Response in Mouse Pups	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front. Cell. Neurosci.	6. 最初と最後の頁 Article 204
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2018.00204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 黒田公美	4. 巻 47(9)
2. 論文標題 子育てと児童虐待に関わる脳内回路機構 - 行動神経科学の視点から -	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床精神医学	6. 最初と最後の頁 1021-1028
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 白石優子, 黒田公美	4. 巻 15
2. 論文標題 親和性社会行動と親子支援2 哺乳類の親子の協力とコンフリクト	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 子育て支援と心理臨床	6. 最初と最後の頁 130-135
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒田公美	4. 巻 -
2. 論文標題 おわりに-親と子、それぞれの立場、ほどよい関係への支援	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 子ども虐待対応のネットワークづくり1 メンタルヘルス問題のある親の子育てと暮らしの支援 先駆的支援活動例にみるそのまなざしと機能	6. 最初と最後の頁 144-152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 白石優子, 黒田公美	4. 巻 16
2. 論文標題 親和性社会行動と親子支援3 哺乳類の親子と社会	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 子育て支援と心理臨床	6. 最初と最後の頁 82-87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 白石優子, 黒田公美	4. 巻 716
2. 論文標題 トピック イヤイヤ期、子の発達と養育者のかかわり	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 月刊母子保健	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒田公美, 白石優子	4. 巻 157
2. 論文標題 I虐待をめぐって 行動の脳科学からみる子育てとその問題	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 発達	6. 最初と最後の頁 16-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kuroda, K.O.
2. 発表標題 Neural circuit for fatherhood and motherhood in the medical preoptic area.
3. 学会等名 Remote programme of Colloquia Series at the Champalimaud Centre for the Unknown (CCU) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 哺乳類の親子関係の脳内基盤
3. 学会等名 第32回日本行動神経内分泌研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 重度の子ども虐待事例における生物心理社会的な背景要因分析
3. 学会等名 公開シンポジウム「児童虐待への文理融合アプローチ 世帯の貧困、おやこの支援に着目して」
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 児童虐待事件に関し受刑中の養育者への質問紙調査：同意取得に関して留意した点
3. 学会等名 第116回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukumitsu, K., Kuroda, K.O., Kaneko, M., Maruyama, T., Yoshihara, C., Huang, J. A., McHugh T J., Tuneoka Y., Itohara S., and Tanaka M.
2. 発表標題 Calcitonin receptor neurons in the MPOA regulate affiliative social contact behaviors
3. 学会等名 The SfN Global Connectome (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kumi Kuroda
2. 発表標題 Parental behavior and infanticide mammals; anatomical, endocrinological and clinical considerations
3. 学会等名 13th World Congress on Neuroendocrinology (WCNH2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 Science Media links brain science and future society
3. 学会等名 Japan SCICOM forum
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 ほ乳類に共通する、子の親への愛着の行動神経メカニズム
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 Behavioral examination framework for parental behavior components in rodents, non-human primates and humans
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回日本神経科学大会, 第62回日本神経化学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 Role of the medial preoptic area in parental care and infanticide
3. 学会等名 New Zealand Medical Sciences Congress 2018 (Queentown, New Zealand)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 Circuit mechanisms of fatherhood and motherhood in the medial preoptic area
3. 学会等名 Symposium on Systems Neuroscience (NTHU) (Hsinchu, Taiwan)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒田公美
2. 発表標題 Neural mechanism of parental care and infanticide in mammals
3. 学会等名 New Directions in Systems Neuroscience (Tuebingen, Germany)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒田公美、吉田さちね
2. 発表標題 Neural basis of infant attachment and separation anxiety
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (神戸)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関