

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06773

研究課題名(和文) 恐怖情動時の生理応答変化を担う神経回路の解明

研究課題名(英文) Neural circuits involved in fear-induced physiological responses

研究代表者

松尾 朋彦 (MATSUO, Tomohiko)

関西医科大学・医学部・研究員

研究者番号：90641754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：恐怖情動は行動・生理応答を変化させることで危機的状況下における生存確率を高めている。しかし、どのような危機状況でどのような生命保護作用が誘導されるのか、さらにはその誘発機構については未解明であった。

チアゾリン類恐怖臭は齧歯類の天敵臭の構造類似体であり、マウスの先天的恐怖情動を強力に誘発する。今回、このチアゾリン類恐怖臭に暴露されたマウスでは体温や心拍数、代謝の低下といった生理応答変化に加え、低酸素耐性、虚血再灌流障害耐性などの生命保護作用が誘発されることがわかった。また、チアゾリン類恐怖臭の受容体であるTRPA1や中脳腕傍核、脳幹孤束核/三叉神経脊髄路核がこれら応答の多くに関わることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

恐怖情動はすべてのヒトに保存された情動であり、我々の生存に必須の役割を果たしていると考えられる。一方、これまで恐怖情動が持つ生存に有利に働く機能に着目しこれを利用する試みはほとんどなかった。本研究により、先天的な恐怖情動が誘発されたマウスでは低酸素耐性、虚血再灌流障害耐性など危機的状況下における生命保護作用が引き起こされることがわかってきた。このことは、ヒトにおいても恐怖情動誘発に関わる分子や神経回路に働きかけることで、低酸素障害や脳梗塞・心筋梗塞などの虚血再灌流障害等の治療にも繋がる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Innate fear has evolved to orchestrate protective effects in crises by inducing behavioral and physiological responses. However, the mechanism by which physiological responses induced by innate fear stimuli contribute to the generation of bioprotective effects are mostly elusive.

Thiazoline-related fear odors (tFOs), chemical analogs of predator odorants, induce robust innate fear and systemic hypothermia/hypometabolism in mice. Moreover, tFO-stimulation enables long-term survival in a lethal hypoxic environment and exerts therapeutic effects in cutaneous and cerebral ischemia/reperfusion injury models. Finally, we show that most of the tFO-induced responses are mediated by transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1), a receptor of tFOs, and brain stem Sp5/NST to midbrain PBN pathway.

研究分野：神経科学

キーワード：恐怖情動 匂い物質 trpa1 体温 代謝

## 1. 研究開始当初の背景

恐怖情動はヒトや動物の行動・生理応答を変化させることで生命を保護し、危機的状況下における生存確率を高めている。しかしながら、恐怖情動に伴う生理応答・行動変化がどのようなメカニズムによって引き起こされ、最終的にどのように個体の生存率を高めるのかについては不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

恐怖情動に伴う生理応答・行動変化を担う分子や神経回路を明らかにし、恐怖情動が生命の生存維持に果たす役割の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

これまでの研究で報告者らが開発したチアゾリン類恐怖臭は、マウスの天敵であるキツネが放つ匂い物質の構造類似体であり、マウスの先天的恐怖情動を強力に誘発することができる<sup>1</sup>。本研究ではチアゾリン類恐怖臭を用いた恐怖情動の誘発系を用い、特定の神経系の機能を操作したマウスやノックアウトマウスでの生理応答変化の解析、および危機的状況下でのチアゾリン類恐怖臭が生体を保護する効果を調べた。

## 4. 研究成果

チアゾリン類恐怖臭である 2-methyl-2-thiazoline (2MT) に暴露されたマウスは恐怖行動(すくみ行動)を示すことがわかっている<sup>1</sup>。そこで、行動以外の生理応答にも変化があるのかを調べたところ、2MT 暴露に伴いマウスの体表面温度、体深部温度、心拍数、酸素消費量がいずれも著しく減少し、低代謝状態になることがわかった。一方、これらの生理指標の減少は電気刺激との関連学習による後天的恐怖の誘発時には観察されず、先天的恐怖と後天的恐怖では異なる生理応答を示すこともわかった。また、2MT を長期間にわたって暴露し続けると、体温は室温程度にまで低下し一時的な冬眠様の状態に至った。そこで 2MT 暴露時の代謝状態を調べるために、ピルビン酸脱水素酵素(PDH)の活性を調べた。この結果、2MT 暴露によって脳における PDH の活性が抑制されることがわかった。またこの時、PDH のタンパク量に変化はないものの、PDH 活性を抑制することが知られているリン酸化部位へのリン酸化が増加していたことから、リン酸化による活性制御を受けていることもわかった。PDH は解糖系産物のピルビン酸をアセチル CoA へと変換し、アセチル CoA は TCA サイクルへと入って行く。このことから 2MT は解糖系から TCA サイクルへの移行を抑制していることが示唆された。

次に、これらの生理応答変化がマウスの生存に有利に機能する可能性を考え、恐怖情動の誘発時すなわち生存が脅かされる状況下におけるチアゾリン類恐怖臭の効果調べた。この結果、2MT を事前に暴露させたマウスでは 4 %酸素状況下での生存時間が有意に延長することがわかった。さらに、2MT 以外の恐怖誘発臭の 4 %酸素下での生存時間への影響を調べたところ、2MT

と構造が類似しているチオモルホリンで刺激したマウスでは、驚くべきことに4%酸素環境下における生存時間が通常の10分程度から4時間程度にまで延長することができた。

また、皮膚や脳の虚血再灌流モデルを用いた実験においても、チアゾリン類恐怖臭刺激したマウスでは障害が軽減することがわかった。特に皮膚の虚血再灌流時には酸化ストレスマーカーである4-ヒドロキシ-2-ノネナルが増加するが、2MTに暴露されたマウスでは4-ヒドロキシ-2-ノネナルの増加が顕著に抑制されており、2MTが酸化ストレスを軽減している可能性が示唆された。以上の結果から、チアゾリン類恐怖臭は低酸素耐性に加えて皮膚や脳の虚血再灌流障害を改善するなど、いくつかの生体を保護する作用を持つことがわかってきた。

次に、チアゾリン類恐怖臭がどのようにこれら生理応答や生体保護作用をもたらすのかを調べた。報告者らはこれまで、2MTの受容体としてTransient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)を同定し、*trpa1*ノックアウトマウスでは2MT暴露時のすみ行動がほとんど観察されないことを報告した<sup>2</sup>。そこで、TRPA1が2MTに誘発される生理応答変化や生体保護作用にも関与するのかを調べた。この結果、*trpa1*ノックアウトマウスでは2MT誘導性の体表面温度低下、体深部温度低下、心拍数低下、酸素消費量低下、および低酸素耐性が著しく阻害されることがわかり、TRPA1の関与が強く示唆された。また、解剖学・遺伝学的に特定の神経系の機能を阻害した一連の実験から、嗅神経、三叉神経、迷走神経系が2MTによって誘発される生理応答変化には重要な役割を果たしていることもわかってきた。さらに、チアゾリン類恐怖臭の受容に関わる脳神経核を明らかにするために、2MT暴露によって活性化される脳領域を神経活性化マーカーである*c-fos*の発現解析により調べた。この結果、中脳の腕傍核、脳幹の三叉神経脊髄路核および孤束核にてTRPA1依存的な*c-fos*の発現上昇が見られた。三叉神経脊髄路核および孤束核はそれぞれ三叉神経および迷走神経の投射先であり、腕傍核へと投射することが知られている。また、三叉神経と迷走神経はともにTRPA1を発現することから、2MTは三叉神経、迷走神経に発現するTRPA1によって受容され、その投射先である三叉神経脊髄路核・孤束核を経て中脳腕傍核へと受容情報が伝達されることが示唆された。このことを部分的に確認するために、孤束核から腕傍核へと至る神経経路をDREADD (designer receptors exclusively activated by designer drugs)法を用いて活性化させたところ、体表面温度、体深部温度、心拍数、酸素消費量の低下が観察され、孤束核 腕傍核経路の活性化により、チアゾリン類恐怖臭によって誘発される生理応答変化の多くが再現されることが明らかとなった。

これらの結果により、チアゾリン類恐怖臭によって誘発される生理応答変化や生体保護作用を担う分子や神経回路の解明が進んできた。ヒトにおいてもこれら分子・神経回路を活性化させることで、生物が潜在的に持つ生命保護作用を人工的に誘発できる可能性が示唆された。

#### 参考文献

1. Isosaka et al., *Cell*, 2015
2. Wang et al., *Nat. Commun.*, 2018

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nishi Masahiro, Ogata Takehiro, Kobayakawa Ko, Kobayakawa Reiko, Matsuo Tomohiko, Cannistraci Carlo Vittorio, Tomita Shinya, Taminishi Shunta, Suga Takaomi, Kitani Tomoya, Higuchi Yusuke, Sakamoto Akira, Tsuji Yumika, Soga Tomoyoshi, Matoba Satoaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Energy sparing by 2 methyl 2 thiazoline protects heart from ischaemia/reperfusion injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ESC Heart Failure	6. 最初と最後の頁 428 ~ 441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ehf2.13732	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 該当する

1. 著者名 Matsuo Tomohiko, Isosaka Tomoko, Tang Lijun, Soga Tomoyoshi, Kobayakawa Reiko, Kobayakawa Ko	4. 巻 4
2. 論文標題 Artificial hibernation/life-protective state induced by thiazoline-related innate fear odors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	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) 10.1038/s42003-020-01629-2	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 Matsuo Tomohiko, Isosaka Tomoko, Hayashi Yuichiro, Tang Lijun, Doi Akihiro, Yasuda Aiko, Hayashi Mikio, Lee Chia-Ying, Cao Liqin, Kutsuna Natsumaro, Matsunaga Sachihiko, Matsuda Takeshi, Yao Ikuko, Setou Mitsuyoshi, Kanagawa Dai, Higasa Koichiro, Ikawa Masahito, Liu Qinghua, Kobayakawa Reiko, Kobayakawa Ko	4. 巻 12
2. 論文標題 Thiazoline-related innate fear stimuli orchestrate hypothermia and anti-hypoxia via sensory TRPA1 activation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	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) 10.1038/s41467-021-22205-0	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 松尾 朋彦、伊早坂 智子、小早川 令子、小早川 高
2. 発表標題 チアゾリン類恐怖臭が誘発する生体保護作用とその作用機序解析 Molecular and neural mechanism of life-protective effects induced by thiazoline-related innate fear odors in mice
3. 学会等名 第4回日本神経科学大会/CJK第1回国際会議(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾 朋彦、伊早坂 智子、小早川 令子、小早川 高、
2. 発表標題 先天的恐怖を誘発する匂い物質による生体保護作用
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Matsuo Tomohiko
2. 発表標題 Orchestrated induction of bioprotective effects by innate fear odors in mice
3. 学会等名 8th Symposium of the Smart-Aging Research Center, Tohoku University (招待講演)
4. 発表年 2020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
---------	---------