

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20890287

研究課題名（和文）哺乳類養育行動中枢である視床下部内側視索前野の解剖学的・機能的解析
 研究課題名（英文）Anatomical and functional analysis of medial preoptic area of hypothalamus, the center of mammalian parental behavior

研究代表者

吉田 さちね (Yoshida Sachine)

独立行政法人理化学研究所・黒田研究ユニット・研究員

研究者番号：90513458

研究成果の概要（和文）：

脳内養育行動中枢は視床下部内側視索前野（MPOA）の主として背外側部に存在すると考えられているが、本研究より養育行動を行っているマウスでは背外側 MPOA の中でも特に多くのオキシトシン(OXT)産生ニューロンを含む Anterior commissural nucleus (ACN) と呼ばれる部位が活性化することが分かった。ACN には OXT の他、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)産生ニューロンも存在する。OXT と TRH の各単独ノックアウト及びダブルノックアウトマウスを使って巣作りと仔を巣へ戻す行動を指標に養育異常の有無を検討したが、今回の予備実験においては積極的に TRH と OXT が協調して養育行動を引き起こすという仮説を支持する結果は得られなかった。今後、実験例数を増やし、また観察感度を高めた行動実験が必要である。

研究成果の概要（英文）：

The brain center of parental behavior is believed to locate in the medial preoptic area (MPOA) of hypothalamus. The present study demonstrated that neurons of anterior commissural nucleus in the dorsolateral MPOA showed the activation during the parental behavior in mice. ACN contained oxytocin (OXT) and thyrotropin-releasing hormone (TRH) immunoreactive neurons. We examined the parental behavior using OXT or TRH knockout mice and double knockout mice. Nest building and pup retrieving behaviors were used as an index for the evaluation of parental behavior. In the preliminary results, however, any significant difference in the parental behavior of the OXT and TRH double knockout mice could not be detected. Further studies with higher sensitivity will be needed in future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：精神神経科学

キーワード：養育行動、ノックアウトマウス、視床下部、内側視索前野

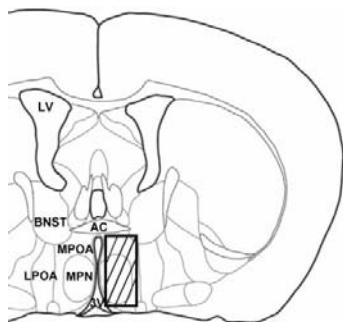
1. 研究開始当初の背景

「仔の生存の可能性を高めるような親の行動」は“養育行動”と総称される。げっ歯類の養育行動は、下の表1に示されるように複数の要素からなる。

<表1> 齧歯類の養育行動の要素

巣作り
胎盤・羊膜・臍帯を食べて仔をきれいにする
仔を巣に集める
保温
哺乳
仔をなめてきれいにし、排泄を促進する
巣の周辺への侵入者を攻撃する
死んだり弱ったりした仔を食べる

過去のげっ歯類を用いた研究から、養育行動を行っている動物では、養育行動中枢とされるMPOA(図1)のニューロンで、転写活性の指標であるc-FosおよびFosBの発現が上昇することが知られている。しかし、転写の活性化がMPOA全体で起こるのか、あるいは一部のニューロンで起こるのか、そもそもMPOAを構成するニューロンにはどのような種類があるのかという基本的な知見が欠如している。

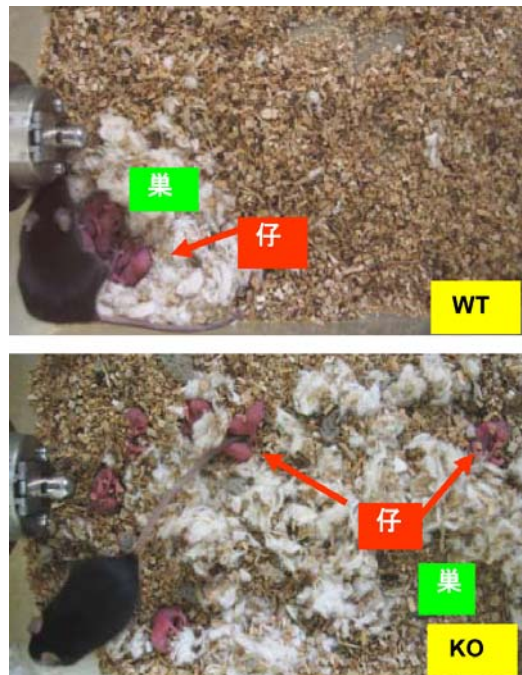


<図1>
内側視索前野
(MPOA, 斜線部)

また近年の遺伝子改変技術の発達によって多くの変異マウスが作成されるようになり、偶然にもFosBノックアウトマウスのような養育行動の異常を示す系統がすでに複数報告されている(図2)。しかし、これらは別の研究目的で作成されたマウスであり、その多くは十分な解析が行われないままになっているのが現状である。

したがって哺乳類の養育中枢を機能的・解剖学的に解析する本研究の開始には、「神経科学の形態学的手法には確立されて安定した技法が多いため脳内養育行動中枢の詳細な解剖学的解析が実施可能であること」、そ

<図2> FosBノックアウトマウスの養育行動 (WT:野生型、KO:ノックアウト)



して「十分に解析されていない養育行動異常を示す遺伝子改変マウス、あるいは養育行動への関与が示唆される遺伝子の改変マウスが多数存在すること」が背景としてあった。

2. 研究の目的

児童虐待や母性剥奪が成人後のうつ病、不安神経症、人格障害、次世代への虐待の繰り返しなどの発症率を高めることは臨床的に古くから知られている。しかし、なぜ虐待するのかという親側の原因については、ほとんど分かっていない。その原因として、正常な養育行動の神経機構がまだ不明であることがあげられる。養育行動はすべての哺乳類の存続に必須であるため、親の脳内で養育本能をつかさどるメカニズムの基本的な部分は進化的に保存されていると考えられる。本研究代表者が所属する研究グループは、全体構想としてヒトに共通する哺乳類養育行動の分子神経基盤の解明を目的にかかっている。その中で本助成研究は、養育行動中枢を解剖学的に定義するためにマーカー分子を同定すること、そしてその分子がどのように養育行動発現に寄与するのかを遺伝子改変マウスを用いて解明することを目的として、研究を進めた。

3. 研究の方法 および

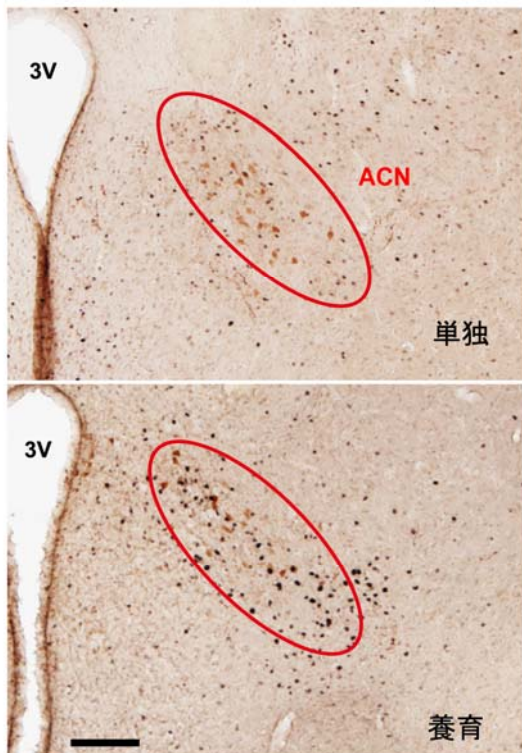
4. 研究成果

まず、養育行動中枢となる MPOA 背外側部位を解剖学的により厳密に定義する目的で、養育行動中に活性化される脳領域（図3、赤丸部）のマーカーとなる分子を探索した。具体的には、養育開始後2時間経過した未交配マウス脳を用い、ニューロンの転写活性化の指標である c-Fos 蛋白質と各種神経伝達物質やホルモン受容体などの二重免疫染色を行い、発現パターンを比較した。その結果、c-Fos 発現ともっともよく一致したのはオキシトシンニューロンの分布であった（図3「単独」、茶色）。

オキシトシン（OXT）は陣痛や射乳を引き起こす下垂体後葉ホルモンであるが、神経調節因子として脳内にも分泌される。OXT ニューロンは視床下部の室傍核（PVN）および視索上核（SON）に最も多く分布し、これらの部位から下垂体後葉や視床下部に投射している。MPOA 背外側部位の OXT ニューロンの集団は前交連核（Anterior commissural nucleus, ACN）と呼ばれている（Peterson, 1966）。ACN は PVN と SON に次ぎ3番目に大きな OXT ニューロンの集団である（Castel and Morris, 1988; Rhodes et al., 1981）が、その機能は不明であった。

さらに ACN には TRH（サイトロロピン放

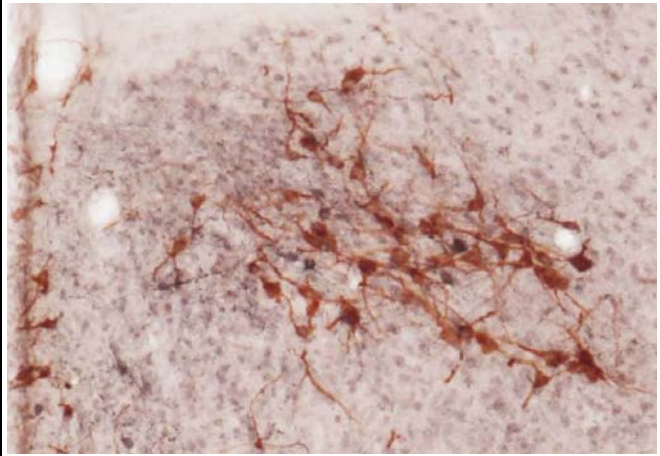
<図3> c-Fos (黒)と OXT (茶) の二重免疫染色



ACNの非オキシトシンニューロンが養育により活性化され c-Fos陽性となっている。図は背外側MPOAを示す。3V: 第三脳室。Scale: 100 μm
出ホルモン) 産生ニューロン（図4）、GABA 作動性ニューロンも存在する（data not

shown)。また、上記のいずれでもない、グルタミン酸作動性の可能性の高い大型のニューロンも存在し、最低4種類のニューロンが混在しているこ

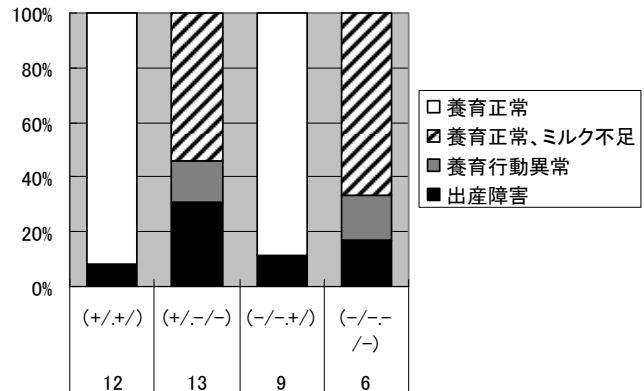
<図4> TRH(黒)と OXT (茶) の二重免疫染色



とが明らかになった。

しかしこれら養育行動中に c-Fos 陽性となるニューロンは OXT 産生ニューロンではなかった。従って、ACN の非 OXT ニューロンが養育行動に直接関与している可能性が示唆された。

<図5> TRH-OXT ダブル KO メスマウスの出産状態と養育行動



次に、ACN に発現している分子が養育行動にどのような影響を与えているのかを調べるため、C57BL6 に5回以上戻し交配を行った OXT と TRH の各単独ノックアウトマウスおよびダブルノックアウトメスマウスを作成し、性行動・妊娠・出産の基本的な所見をとった。報告されているように、TRH 遺伝子の劣性ホモマウスはやや体重が軽い傾向があったが、これらの行動にはそれほど大きな影響はない（Yamada et al., 1997）。一方、129 と C57BL6 の Mixed background の OXT 遺伝子劣性ホモマウスは正常に出産するが母乳が全く分泌されないと報告されていた（Takayanagi et al., 2005）。我々のバックグラウンドでは、乳汁分泌異常は同様に観察されたが、それに加えて1日以上分娩が遷延し母体の健康状態が明らかに悪化する、または死亡に至る重度の出産傷害がやや多く

観察された(図5)。産後当日の養育行動(巣作りおよび仔を巣に集める行動、子の胎盤・羊膜除去)については(+/.+/)マウスよりも各単独及び二重ノックアウトでやや低下する傾向がみられた。しかし今回の観察ではとくに遷延分娩を鋭敏に検出する観察方法を取っていなかったため、軽度な分娩遷延はより高率に起こっており、養育行動の低下は養育意欲の減退ではなく母体の健康状態による影響もあるのではないかと考えられた。

さらに、父親マウスも母親と同様、よく養育することが知られている(vom Saal et al., 1982)。そこで予備実験ではあるが、妊娠後期または出産時までメスと同居させた父親オスマウスについて、養育行動の観察を行った。TRH/OXT ダブル KO のオス 5 例中全例で喰殺は抑制され養育または完全養育を示した。従ってこれらの結果より、OXT と TRH が協調して養育行動に必須の働きをするのではないかという仮説は、今回の実験からは積極的に支持されなかった。

しかしオス、メスとも今回の KO マウスの行動実験はいずれも例数が少なく、今後十分な数の個体数を用いた実験を追加し確定的な所見を明らかにする必要がある。

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)

[学会発表] (計1件)

Behavioral and anatomical characterization of mouse pup response to maternal transport.

Yoshida S, Kikusui T, Kato T, Kuroda KO (8th World Congress on Neurohypophysial Hormones)

[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

吉田 さちね (Yoshida Sachine)

独立行政法人理化学研究所・黒田研究ユニット・研究員

研究者番号：90513458