

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06909

研究課題名(和文) 発達期の感覚入力が成長後の精神行動に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Effects of sensory inputs during development on mental behavior after growth

研究代表者

西住 裕文(Nishizumi, Hirofumi)

福井大学・学術研究院医学系部門・准教授

研究者番号：30292832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：発生初期の感覚入力により、神経回路が可塑的に修正される臨界期が存在する。我々はマウス嗅覚系を用いて、匂い刷り込みの研究を行った。新生仔マウスに特定の匂いを嗅がせると、反応した糸球体内でSema7Aの発現が高まり後シナプスの成熟が促進された。また、嗅がせる匂いが忌避性であっても、誘引性の質感が付与されることも見出した。KOマウスの解析から、匂いに誘引性の質感を付与するのにオキシトシンが重要であることが判明した。一方、臨界期にSema7Aシグナルを遮断すると、成長後のマウスの社会性行動に障害が生じた。本研究はSema7Aとオキシトシンが、臨界期における匂い刷り込みに必要であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

力モの雛が最初に見た動くものを親と記憶し後追いつける刷り込み現象は、百年以上前にローレンツ博士らが報告したが、その仕組みは未だほとんど解明されていなかった。本研究では、マウス嗅覚系を用いて、新生仔期に匂い刷り込みが成立することを、分子・神経回路・行動レベルで明らかにした。逆に、臨界期に感覚入力が阻害されると、成長後の社会行動に異常が生じることも発見した。以上の研究成果は、感覚入力の阻害や異常入力によって生じる自閉症や愛着障害などヒトの精神発達疾患の、理解や治療法の開発にも繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：During development, there is a narrow time window that allows plastic but irreversible changes in neural circuits by environmental inputs. We study the olfactory imprinting during the critical period in mice. Sema7A that induces post-synaptic events within glomeruli is key to imprinting the olfactory memory. When the newborn is exposed to a particular odorant, Sema7A expression is enhanced in the responding glomeruli recruiting dendrites of mitral/tufted cells. This early odor exposure establishes the imprinting that induces attractive responses even toward aversive odorants. The attractive quality is not added to imprinted memory in the oxytocin knockout mice. Blockage of Sema7A signaling in neonates also causes impairment of social interactions in adults. Our study demonstrates that Sema7A signaling and oxytocin are required for imprinting the attractive odor memory during the critical period.

研究分野：分子生物学

キーワード：嗅覚 刷り込み 神経回路 臨界期

### 1. 研究開始当初の背景

生物は、個体や種の存続に必須な外界情報に対して、遺伝的にプログラムされた先天的本能回路によって出力判断を下している。しかしこれら先天的な情動や行動の出力も、新生仔の臨界期に入力する外環境からの感覚情報によって、神経活動依存的かつ可塑的に修正を受け得る。例えば、孵化直後のカモが初めて見る動く物体を親と記憶し追従するようになる刷り込み現象は、一世紀以上前にローレンツ博士らによって報告され、広く知られている。しかしこれらの研究では、どのような分子基盤に則って臨界期が定められ、刷り込み記憶が成立するのかについて、ほとんど未解明であった。

マウス嗅覚系には、先天的な匂い情報回路が存在する。4-methyl-thiazole (4MT)など忌避性の匂いは、嗅細胞で受容された後、そのシグナルは嗅球背側後方に送られ、僧帽細胞を介して扁桃体皮質核(CoA)へ伝達される(文献)。一方、雌雄間の愛着行動に關する匂い分子 methylthiomethanethiol (MTMT)などは、嗅細胞で受容された後、そのシグナルは嗅球腹側末端に送られ、僧帽細胞を介して内側扁桃体の前方部(aMeA)へ伝達される(文献)(図1)。また我々は最近、マウスの出生後早期に任意の匂いを嗅がせておくと、例えばその匂いが先天的に忌避性の匂い(4MT など)であっても、成体となった後もその匂いに対して愛着行動を示すようになることを見出しており、嗅覚系の臨界期の存在が示唆されていた。

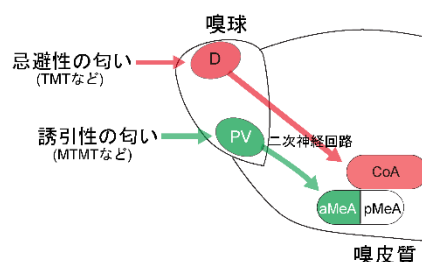


図1. 先天的な匂い情報処理回路

### 2. 研究の目的

我々は長年マウス嗅覚系について研究を行う過程で、例えば先天的に「嫌い」な匂いであっても、新生仔期に嗅がせておくと成長後もその匂いが「好き」に変化するという、嗅覚刷り込み現象がマウスに存在することを見出した。そこでまず、刷り込みが可能であるマウス嗅覚系の臨界期はいつで、どのように規定されているのかを分子レベルで解明することを目的とした。更に、出生後早期の刷り込みによって、生来忌避性の匂いであってもマウスは愛着行動を示すように変化し得るが、この忌避性と誘引性という相反した状況が、マウス脳内で如何に裁定されているのかについて、神経回路レベルで明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では、マウス嗅覚系の神経回路形成を中心に、嗅覚系の臨界期を特定し、匂い刷り込みによって脳内で起きていることの解明を主軸に研究を進めた。基本的には、loss-of-function と gain-of-function の遺伝学的立場を念頭に実験方針を構築した。Loss-of-function としては、マウスの鼻腔を閉塞して匂いを嗅げなくした場合や、特定の遺伝子のノックアウトマウスを用いた解析を行なった。逆に gain-of-function としては、臨界期に任意の匂い分子を嗅がせて刷り込みを行ったり、特定因子を腹腔内投与することによる社会行動異常のレスキュー実験などを行ったりした。

遺伝子発現や神経活動の検出には、脳切片に対する *in situ* hybridization 法や免疫染色法を使用した。また、匂い情報の価値付けの評価には、匂い嗜好性テストなどのマウス行動実験を行った他、血液中のストレスホルモン量を ELISA 法により測定して検証した。

### 4. 研究成果

(1) マウスの鼻腔を閉塞して匂い刺激を遮断する実験を行った。生後直ぐに鼻腔閉塞しても、生後一週間以内に閉塞を解消すると異常は見られなかったが、一週間以上閉塞したままにすると、嗅球の糸球体内で形成される嗅細胞の軸索と僧帽/房飾細胞の樹状突起間のシナプス形成が不完全な状態に留まることを、シナプスマーカーによる免疫染色法で明らかにした。この実験から、マウス嗅覚系の臨界期は生後一週間であることが示唆された。

(2) 糸球体内のシナプス形成に關する分子をスクリーニングした結果、嗅細胞で神経活動依存的に発現するセマフォリン 7A (Sema7A) タンパク質と、生後一週間に限って僧帽/房飾細胞の樹状突起で発現する「プレキシシン C1 (PlxnC1)」タンパク質を同定した。Sema7A あるいはその受容体である PlxnC1 分子を欠損したマウスでは、鼻腔閉塞した場合と同様に、糸球体内のシナプス形成が不完全となった。

(3) 生後一週間以上の鼻腔を閉塞したマウスや、Sema7A あるいは PlxnC1 ノックアウトマウス

スの行動を観察した。これらのマウスは匂いを検出・識別することはできたが、本来興味を持つはずの他個体のマウス臭を忌避し、自閉症様の行動を示した。幼少期に仲間の匂いを嗅いで刷り込まれることで、正常な社会行動ができるようになる可能性が示された。

(4) 生後一週間の臨界期であれば、任意の匂いを嗅がせて刷り込むと、例えばその匂いが先天的に忌避性の匂い(4MT など)であっても、成長して成獣となった後もその匂いに対して誘引行動を示すことが行動実験によって確認された。

(5) 授乳期に母仔共に高発現しているオキシトシンが、嗅いだ匂いにポジティブな質感(心地良い、安心、愛着)を付与する役目をもっていることを、オキシトシン欠損マウスの解析から明らかにした(図2)。オキシトシン欠損マウスは匂いを介した異性マウスの記憶が劣るなど社会行動異常が報告されているが、オキシトシンを生後一週間に腹腔内投与してやれば、レスキューされることが明らかとなった。

(6) 出産後に母親の乳首に、忌避臭(4MT)を塗布しておく、仔マウスは 4MT に対して誘引行動を示した。刷り込みによって影響を受ける脳領域を特定するため、神経活動の指標となる *c-fos* 遺伝子の発現を *in situ* hybridization 法によって解析した。その結果、4MT を含む忌避的な匂い物質によって活性化される脳領域(室傍核、分界条床核、扁桃体中心核)の活性化が、4MT の刷り込み記憶によって抑制されていることが判明した。一方、報酬学習や意思決定に関わると考えられている領野(眼窩前頭皮質)の活動が、4MT の刷り込み記憶によって新たに活性化されていることを見出した(図3)。更に興味深いことに、4MT の刷り込みを行ったマウスは、化学構造上では全く似ていない別の不快臭(プロピオン酸)に対する忌避行動も抑制されていることを発見した。以上の知見は、仔マウスが生得的な質感に関わらず、生存のために様々な環境臭に順応できる能力を有していることを示唆している。

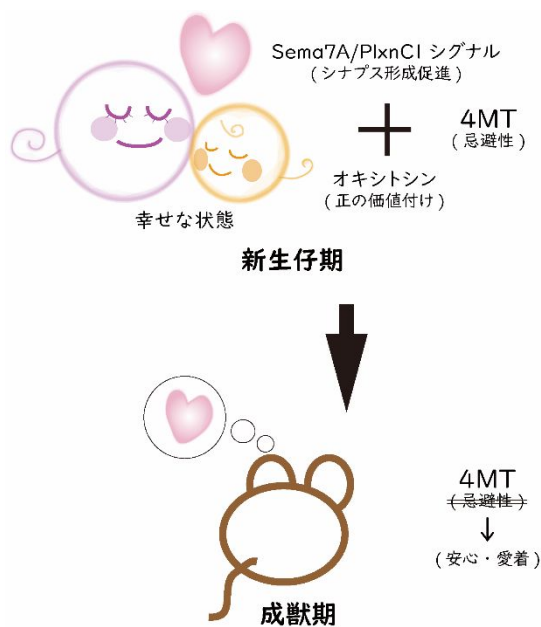


図2. マウス新生仔の臨界期における匂い刷り込み記憶

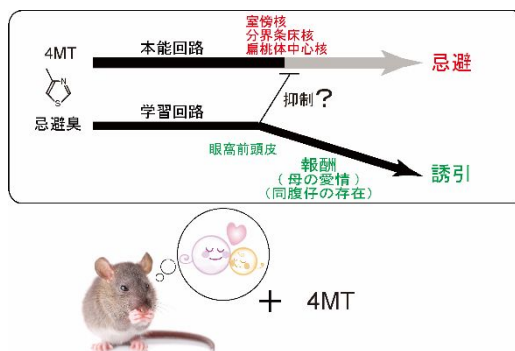


図3. 新生仔期の匂い刷り込みによる制御

<引用文献>

Saito H, *et al.*: Immobility responses are induced by photoactivation of single glomerular species responsive to fox odour TMT. *Nat. Commun.*, 8:16011. (2017)  
 Inokuchi K, *et al.*: Nrp2 is sufficient to instruct circuit formation of mitral-cells to mediate odour-induced attractive social responses. *Nat. Commun.*, 8:15977. (2017)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Nishizumi H, Sakano H	4. 巻 3
2. 論文標題 Circuit formation and synaptic plasticity in the mouse olfactory system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Senses: A Comprehensive Reference (2nd Edition)	6. 最初と最後の頁 624-639
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/B978-0-12-809324-5.23829-7	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 Inoue N, Nishizumi H, Ooyama R, Mogi K, Nishimori K, Kikusui T, Sakano H	4. 巻 10
2. 論文標題 The olfactory critical period is determined by activity-dependent Sema7A/PlxnC1 signaling within glomeruli	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e65078
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.65078	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 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西住裕文
2. 発表標題 授乳期の仔マウスが匂い記憶に正の価値を付与する仕組みの検討
3. 学会等名 令和4年度子どものこころ発達研究センター研究発表会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西住裕文
2. 発表標題 新生仔期の刷り込みによる環境への順応
3. 学会等名 第8回ケモビ研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hirofumi Nishizumi, Nobuko Inoue, Kazutaka Mogi, Katsuhiko Nishimori, Takefumi Kikusui, Hitoshi Sakano
2. 発表標題 The olfactory critical period is determined by activity-dependent Sema7A/PlxnC1 signaling within glomeruli
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

福井大学研究者総覧 個人ページ <a href="https://r-info.ad.u-fukui.ac.jp/Profiles/11/0001066/profile.html">https://r-info.ad.u-fukui.ac.jp/Profiles/11/0001066/profile.html</a> EurekAlert! "Smell you later" <a href="https://www.eurekalert.org/pub_releases/2021-04/uof-syl041321.php">https://www.eurekalert.org/pub_releases/2021-04/uof-syl041321.php</a>
--

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
---------	---------