

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07262

研究課題名（和文）匂い刷り込み学習の脳内情報表現の解読

研究課題名（英文）Decoding the neural representation of olfactory imprinting

研究代表者

梶 秀人（Kaba, Hideto）

高知大学・医学部・名誉教授

研究者番号：50136371

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）：本研究で研究代表者は、（1）ND1ペプチドとND2ペプチドのアミノ酸配列が異なるBALB/cとNZBの間では、ブルース効果が母性遺伝すること、ND1ペプチドとND2ペプチドのアミノ酸配列が同じであるBALB/cとCBAの間ではブルース効果は母性遺伝しないこと、（2）バソプレッシンが、顆粒細胞の電位依存性Ca²⁺チャネルを抑制することによりGABA放出を抑制し、代わって僧帽細胞から顆粒細胞へのグルタミン酸作動性伝達を促進す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

本研究の成果は、嗅覚を介した動物間コミュニケーションの実態解明に大きく寄与すると共に、ミトコンドリアゲノム由来ペプチドが“自己か非自己か”を認識する際の原因となり得ることから、嗅覚系と免疫系との新たなクロストークの場を提供し、MHCによる体臭の違いがヒトの配偶者選択に影響を及ぼすように、ヒトにおける嗅覚コミュニケーションの新たな発見にも繋がり得る。

研究成果の概要（英文）：In this study I demonstrate (1) the pregnancy-blocking chemosignals in NZB male urine are maternally inherited, based on the observations that sons of reciprocal crosses between BALB/c and NZB mice blocked pregnancy only when their mother, but not their father, is of the NZB strain, and in contrast, sons of reciprocal crosses between BALB/c and CBA mice did not block pregnancy even if their mother is of either the BALB/c or CBA strain, pointing to the involvement of factors other than the ND1 and ND2 peptides that are identical between the CBA and BALB/c strains and (2) vasopressin suppressed IPSC recorded in a mitral cell via V1a vasopressin receptors, thereby disinhibiting the mitral cell.

研究分野：環境生理学

キーワード：環境生理学 神経科学 個体認識 匂い 鋤鼻系

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くの哺乳動物における雌雄ペアや母仔の間の社会的絆の形成には嗅覚系による個体の認識・記憶学習が基盤となっている。妊娠雌マウスが交配雄とは異なる系統の雄の匂いに曝露されると妊娠の進行が止まり、流産する(ブルース効果)。一方、雌マウスは交尾を契機に交配雄フェロモンの刷り込み学習(主座:副嗅球)を成立させ、交配雄による妊娠阻止を回避している。

これまでの研究代表者らの研究により、フェロモンの刷り込み学習は、交配雄のフェロモンシグナルと交尾刺激により活性化されたノルアドレナリン作動性シグナルが鋤鼻系の最初の中継部位である副嗅球において連合することにより、種々の情報分子が関わり、副嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス伝達に生じる可塑的变化(長期増強の誘導とアクティブゾーンの増大)によって支えられていることが判明している。

研究代表者らは最近、ミトコンドリア呼吸鎖酵素の NADH dehydrogenase 1 (ND1) と NADH dehydrogenase 2 (ND2) の N 末端から 9 残基のペプチド(生合成時、N 末端がホルミル化されている。それぞれ ND1 ペプチドと ND2 ペプチドと呼ぶ)のアミノ酸配列がマウスの系統間で異なることに着目し、非自己の脱ホルミル化ペプチドがブルース効果を惹起するなど個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能していることを見出した。

交配雄フェロモンの刷り込み学習の主座である副嗅球の僧帽細胞と顆粒細胞の間には相反性相互シナプスが形成されている。興奮した僧帽細胞はグルタミン酸を放出して顆粒細胞を興奮させる。興奮した顆粒細胞は GABA を放出して僧帽細胞を抑制する。すでに研究代表者らは、バゾプレッシンが副嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス伝達に長期増強を誘導することを明らかにしている。しかし、バゾプレッシンは僧帽細胞と顆粒細胞との間の相反性相互シナプスのどこにどのように作用するのか明らかではない。

2. 研究の目的

ミトコンドリア由来ペプチドは母親を通して子に受け継がれる。本研究の第一の目的は、ブルース効果が母性遺伝するか否かを明らかにすることである。第二の目的は、我々が同定した個体認識ペプチドを用いて、匂い刷り込み学習の脳内情報表現を単一ニューロンとセルアセンブリの双方のレベルで解読することである。第三の目的は、バゾプレッシンが副嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス伝達に長期増強を誘導するメカニズムを明らかにすることである。

3. 研究の方法

第一の目的に対して、BALB/c と NZB の正逆交雑により F1 を得て、その雄ならびに雄尿の妊娠阻止能を検討した。続いて、BALB/c と CBA との間で ND1 ペプチドと ND2 ペプチドのアミノ酸配列が同じであるにも関わらず、BALB/c 雄と交尾した BALB/c 雌の妊娠は CBA 雄やその尿により阻止される。そこで、BALB/c と CBA の間でもブルース効果が母性遺伝するか否か、BALB/c と CBA の正逆交雑により F1 を得て、その尿の妊娠阻止効果を検討した。

第二の目的に対して、前日に BALB/c 雄と交尾させた BALB/c 雌マウスを麻酔・脳定位固定下で、この雌マウスの鋤鼻器への ND1-6A (NZB マウスの ND1 ペプチド。BALB/c のものとは異なるため、ブルース効果を惹起する)投与に対する副嗅球僧帽細胞の神経アンサンブル活動応答を記録する。同様に、NZB 雄と交尾させた BALB/c 雌の ND1-6A (この場合は妊娠が保障される)に対する応答も記録する。神経アンサンブル活動の記録はマルチ電極プローブを用いて行う。データを解析することによりブルース効果と妊娠の保障に帰結する出力信号の解読を試みる。

第三の目的に対して、マウス副嗅球のスライス標本作製し、僧帽細胞と顆粒細胞との間の樹状突起間相反性シナプス由来の抑制性シナプス後電流 (IPSC) に対するバゾプレッシンの効果を、whole-cell clamp 法を用いて膜電位固定下で解析した。

4. 研究成果

(1) ブルース効果は母性遺伝するか

BALB/c と NZB の正逆交雑により F1 を得て、その雄ならびに雄尿の妊娠阻止能を検討した結果を図 1 に示す。BALB/c 雄と交尾した BALB/c 雌は BALB/c と NZB の F1 の雄の母親が BALB/c ではなく NZB の時に高い妊娠阻止率を示した。この効果は F1 の雄の尿でも再現された。すなわち本結果は、ブルース効果が母性遺伝し、その有効成分が尿に含まれていることを示している。

一方、BALB/c と CBA との間で ND1 ペプチドと ND2 ペプチドのアミノ酸配列が同じであるにも関わらず、BALB/c 雄と交尾した BALB/c 雌の妊娠は CBA 雄やその尿により阻止される。そこで、BALB/c と CBA の間でもブルース効果が母性遺伝するか否か、BALB/c と CBA の正逆交雑により F1 を得て、その尿の妊娠阻止効果を検討した。その結果を図 2 に示す。BALB/c 雄と交尾した BALB/c 雌は BALB/c と CBA の F1 の雄の母親が BALB/c でも CBA でも低い妊娠阻止率を示し、ブルース効果の母性遺伝は観察されなかった。この結果は、BALB/c 雄と交尾した BALB/c 雌の妊娠を阻止する CBA 雄尿中の原因物質がミトコンドリア由来ペプチドではなく他の因子、たとえば主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) ペプチドなどが関わることによると考えられる。

(2) 副嗅球僧帽細胞は学習したミトコンドリアペプチドと未学習のミトコンドリアペプチドを識別できるか

ND1 ペプチドや ND2 ペプチドへの曝露に対する副嗅球僧帽細胞の神経アンサンブル活動応答を解析しているが、例数が少なく僧帽細胞が学習したペプチドと未学習のペプチドを識別できるか解明するには至っていない。

(3) 副嗅球におけるバゾプレッシンの作用

僧帽細胞に脱分極刺激を与えると、上記相反性シナプス由来の抑制性シナプス後電流 (IPSC) が生じる。この IPSC は、バゾプレッシンによりバゾプレッシン V1a 受容体を介して抑制された。この相反性シナプス伝達は、僧帽細胞から顆粒細胞へのグルタミン酸作動性伝達と、顆粒細胞から僧帽細胞への GABA 作動性伝達によって形成されている。バゾプレッシンは、顆粒細胞から僧帽細胞への GABA 作動性伝達において僧帽細胞の GABA に対する応答性を変化させず、顆粒細胞の電位依存性 Ca^{2+} チャンネルを抑制して、GABA の放出を抑制し、引いては僧帽細胞から顆粒細胞へのグルタミン酸作動性伝達を促進し、長期増強へと導くと推察された。

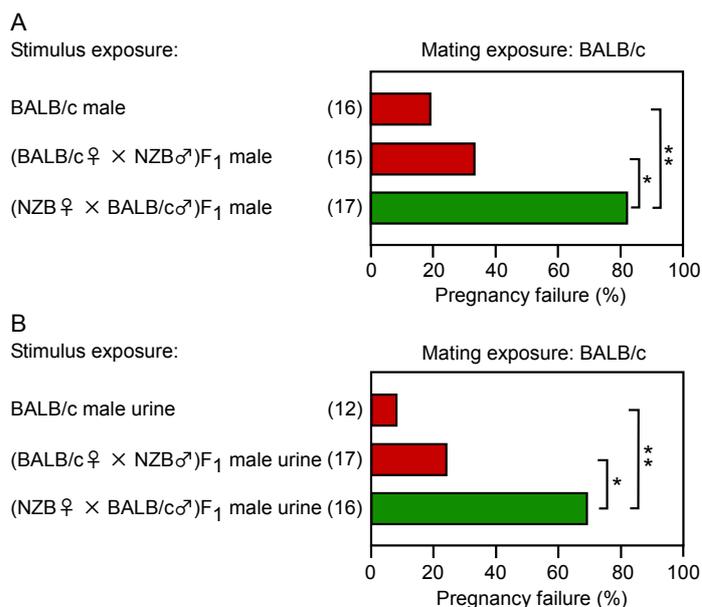


図1 NZB マウスの尿にはブルース効果を母性遺伝させる匂い成分が含まれている
括弧内は検体数を示す * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

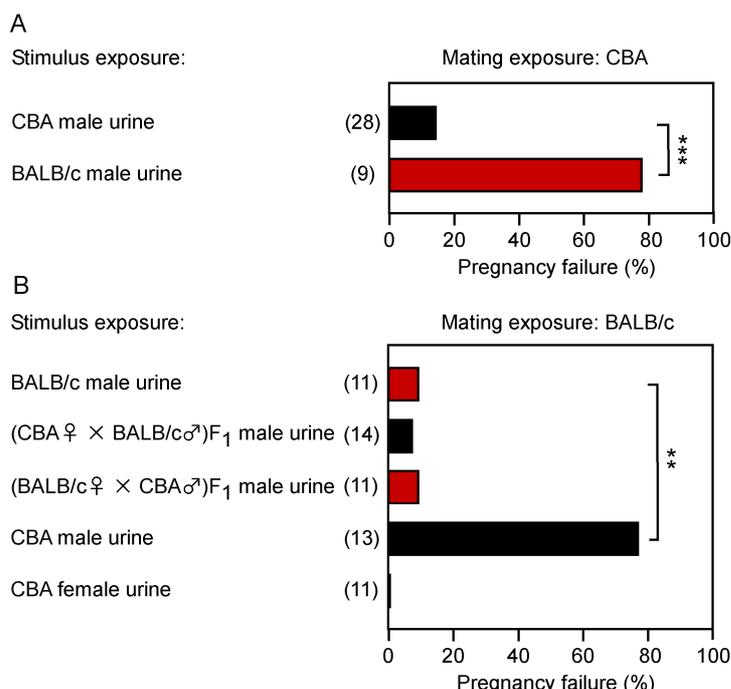


図2 BALB/c と CBA の間ではブルース効果の母性遺伝は観察されない ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kaba H, Fujita H, Agatsuma T, Matsunami H	4. 巻 117
2. 論文標題 Maternally inherited peptides as strain-specific chemosignals.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 30738-30743
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2014712117	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷口睦男、村田芳博、山口正洋、椋秀人
2. 発表標題 電位依存性Ca電流の抑制を介したバソプレシンによるマウス副嗅球顆粒細胞 - 僧帽細胞間GABA作動性シナプス伝達抑制
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（Web大会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口睦男、村田芳博、山口正洋、椋秀人
2. 発表標題 マウス副嗅球顆粒細胞の応答性に対するバソプレシンV1a受容体の作用
3. 学会等名 第100回日本生理学会記念大会
4. 発表年 2023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			
米国	Duke University Medical Center			