

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12092

研究課題名(和文) 個体差形成に関与する匂い-ストレス反応における選択的抑制機構の解明

研究課題名(英文) Clarifying selective inhibition mechanisms in odor-induced stress responses involved in the formation of individual differences

研究代表者

松川 睦 (MATSUKAWA, Mutsumi)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：90318436

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：感性における個体差の形成過程を解明するため、動物が先天的に持っている価値判断基準が生後の経験によって改変される際の脳内抑制システムを推定することを目的とし、脳内の嗅覚情報処理過程に沿って匂いストレスに関与する遺伝子発現の変化をもとに抑制システムを探索した。嗅覚情報を最初に受け取る嗅球では、遺伝子発現に相違が認められなかった。続いて嗅球からの嗅覚情報を受け取る前梨状葉皮質の解析を行ったところ、背側部で匂いストレス発現に関わる可能性のある遺伝子が、また腹側吻側部で匂いストレスの緩和に関わる可能性のある遺伝子が発現変動しており、これらをもとに梨状葉皮質内の抑制性神経回路の推定を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに動物が先天的に持っている価値判断基準が生後の経験によって改変される際に、脳内では直接的かつ選択的な抑制システムが関与していることを示してきた。つまりこの抑制システムの詳細が解明されることは、感性における個体差の形成過程を明らかにするための重要な知見をもたらし、ヒト個々人において感性の相違を生じる重要な要因を解明するために有用である。さらにそれぞれ個別の刺激に対する意図的なりセットや反応抑制などが可能となり、各個人における生活の質(Quality of Life (QOL))の向上にも影響を与えるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：We sought to assess the inhibitory mechanism in the brain when animals' innate value standards are altered by postnatal experience, in an effort to shed light on the process by which individual variances in sensibility are formed. Based on alterations in gene expression linked to odor stress along olfactory information processing circuits, we looked for a suppressive system. There were no differences in gene expression were observed in the olfactory bulb (OB), which first receives olfactory information. Next, we analyzed the anterior piriform cortex (APC), which receives olfactory information from the OB, and found that some genes may be involved in the expression of odor stress in the dorsal region, and some genes that are involved in the relaxation of odor stress in the rostral ventral region. We estimated the inhibitory neuronal circuit of the APC based on these.

研究分野：神経科学

キーワード：感性脳科学 感性形成機構 個体差形成 ストレス反応 ストレス緩和 抑制性神経回路 梨状葉皮質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年げっ歯類(ラットやマウスなど)に、捕食者(ネコやキツネなど)の匂いを嗅がせると恐怖反応やストレス応答が惹起され、これらの反応は先天的なものであることが報告されてきている(Morrow et al., Brain Res., 2000; Masini et al., Physiol. Behav., 2006; Fendt and Endres, Neurosci. Biobehav. Rev., 2008)。その一方でヒトを含む様々な動物で、ストレス緩和効果のある匂い(緑の匂いや柑橘臭、花の香りなど)がある事も知られている(Brauchli et al., Chem. Senses, 1995; Umezu, Pharmacol. Biochem. Behav., 1999; Bradley et al., J. Ethnopharmacol., 2007)。我々は、この捕食者臭によって誘発されるストレス反応を指標として動物が先天的に匂いに対する価値判断基準を持っており、各種の匂い物質を少なくとも3群(先天的にストレス反応を生じる匂い(捕食者臭など)、先天的にストレスを緩和する匂い(バラ臭やヒノキ臭など)、先天的には何ら影響を示さない匂い(キャラウェイ臭や新聞紙臭のような人工臭など))に分類できることを示し、加えてこれらのストレスを緩和する作用機序には異なる2種類(ストレス関連神経活動を選択的に抑制する系、もしくは嗅覚関連神経活動を包括的に活性化することでマスキング効果を示す系)があることを報告してきた(Matsukawa et al., 2011; Murakami et al., 2012)。続いて、先天的には何ら影響を及ぼさないような人工臭(新聞紙臭)であっても授乳期に環境臭として生育することで、成体になった時点でストレス緩和作用を示すようになること、つまり生まれ持った価値判断基準を生後の経験によって改変することが可能であることを明らかにし、その際のストレス緩和に関わる作用機序がストレス関連神経活動の選択的かつ直接的な抑制によるものである可能性を示してきた(Matsukawa et al., 2016)。これらの結果から先天的な価値判断基準が経験によって改変される過程には、脳内における関連神経活動を選択的に抑制することが必要であることが明らかとなった。さらに捕食者臭によって惹起される神経活動は、脳内で最初に匂い情報を受け取る嗅球内でそれぞれ2か所ずつに分かれて鏡像関係的に亢進されており、この2か所からの反応が一次嗅覚野である前梨状葉皮質(APC)において統合・連合されることが“匂い誘発ストレス反応”の発現に重要であり、このストレス反応の緩和に関与する選択的抑制システムは嗅球内ではなくAPC内にある可能性が高いことを示してきた(Matsukawa et al., 2020)。しかし多数ある抑制システムのうち、いずれの抑制性神経回路や抑制性神経伝達物質が関与しているのかなど多くの疑問点が残されたままであり、これらを解明することが感性における個体差の形成過程を解明するために重要である。また、APCにはさらに細分化された2つの亜領域(腹側吻側部(APCvr)と背側部(APCd))が存在し(Ekstrand et al., J. Comp. Neurol., 2001)。嗅球からの匂い情報の投射にも相違があることが知られている(Igarashi et al., J. Neurosci., 2012)。加えて、これらの細領域にまたがる抑制システムとしてAPCvrからAPCdへの抑制性神経回路があることも示されており(Ishikawa et al., J. Neurophysiol., 2007; Sato et al., Anat. Sci. Int., 2008)。それぞれの細領域内における抑制システム、および細領域間における抑制システムなど、詳細に検討する必要がある。

2. 研究の目的

そこで本研究では感性における個体差の形成過程において、経験に伴って生じる抑制メカニズムを解明するために、価値判断基準が改変される過程で活性化される脳内の選択的な抑制システムについて解析することを目的とする。具体的には嗅覚情報処理過程に沿って、まず嗅球で、続いて一次嗅覚野である前梨状葉皮質を対象として遺伝子発現が変動する抑制性神経伝達物質を探索し、その機序を解明するために関与すると考えられる抑制性神経回路網を推定した。

3. 研究の方法

実験動物としては遺伝的に同一性が保たれている近交系のマウス(C57BL/6J)を用いた。げっ歯類に対してストレス反応を誘発することが知られている捕食者臭として、キツネ臭である2,5-Dihydro-2,4,5-trimethylthiazoline (TMT)を用い、所謂『癒し』効果の期待される匂い物質の候補としては、バラ臭(rose oil)を用いた。

実験動物(マウス)に捕食動物の匂い(T群)とバラ臭(R群)をそれぞれ単独で、もしくは捕食者臭とバラ臭の混合臭(TR群)を嗅がせ、その後、脳内で活性化した神経細胞をマッピングし、活動神経細胞の数と分布について比較・検討した。神経活動マップは脳内の活性化神経細胞をc-Fosに対する抗体を用いた免疫組織化学的手法で標識して作成した。

続いて、T群、TR群を用いて、何の匂いも嗅いでいない対照群(N群)に対して、特定の脳領域における全トランスクリプトームを対象にRNAseq法を用いてRNAを定量化して遺伝子発現解析することで、発現が有意に変化する遺伝子を比較・検討することを企画し、その対象領域として嗅覚情報処理過程に沿って(嗅球(背側部(OBd)と腹側部(OBv))および、一次嗅覚野(腹側

吻側部 (APCvr) と背側部 (APCd)) を用いた。

なお、全ての動物実験は動物の愛護および管理に関する法律などを遵守し、「日本大学医学部動物実験指針」に則り「日本大学医学部実験動物取扱要領」に基づいて、日本大学医学部動物実験委員会ならびに日本大学動物実験委員会の承認を得た後にこれを遂行した。

4. 研究成果

まず、嗅球内における活性化神経細胞のマッピングの結果、OBd と OBv においては、T 群、R 群、TR 群の全動物群において、何も匂いのない N 群より明らかに活性化神経細胞数が増加していたが (図 1)、3 群間の比較においては、有意差はなかった。また遺伝子発現解析を行った結果、全嗅球において T 群、R 群、および N 群における発現遺伝子群を比較したところ、49 遺伝子のみ発現に変動が生じたものの、神経系で抑制に関与する可能性があるものは含まれていなかった (図 2)。つまり、匂いを嗅ぐことで、何も匂いのない対照群より明らかに活性化神経細胞数が増加したものの、匂い物質の違いや組合せによる変化は生じず、発現遺伝子の変動も見られなかった。このことはこれまでに推測していた、嗅球内には個体差形成に関与する可能性のある選択的抑制系は存在しない可能性を支持するものと考えられた。

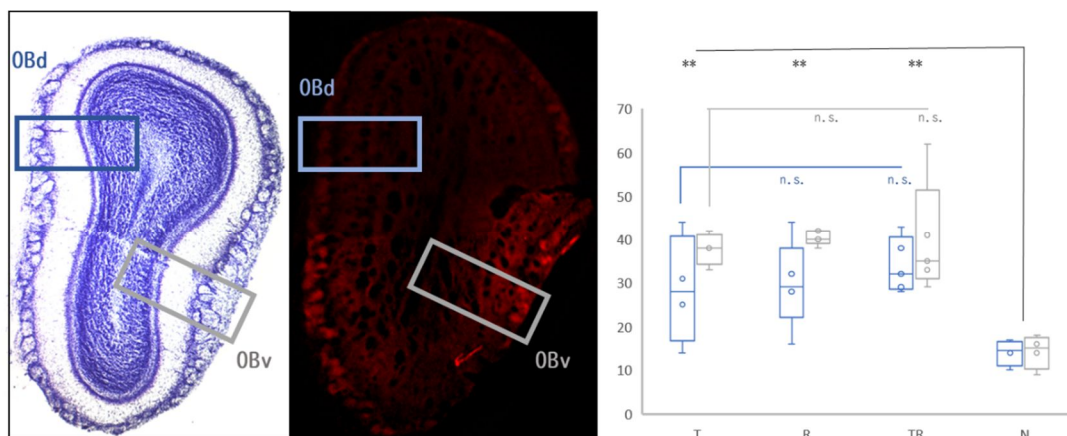


図 1

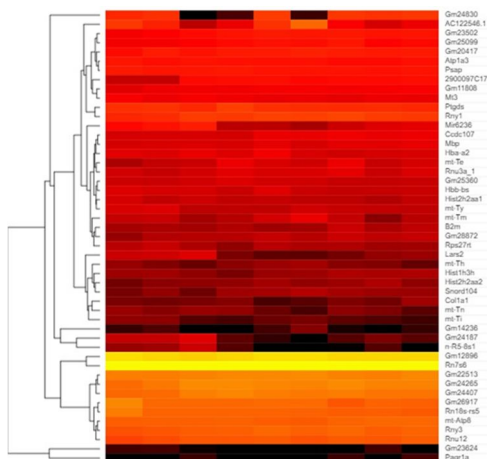


図 2

次に一次嗅覚野である梨状葉皮質において活性化神経細胞のマッピングを行った結果、APCvr と APCd において、T 群、R 群、TR 群の全てにおいて、N 群より明らかに活性化していたが、3 群間の比較においては、APCd では活性化神経細胞数に有意差は見られず、APCvr では R 群と TR 群で活性化神経細胞数の変動が見られた (図 3)。そこで発現遺伝子群の変化について比較したところ、APCvr と APCd のそれぞれで抑制系に関与する可能性のある遺伝子変動が認められた (図 4)。その主な変動としては APCvr では、Calb1 (Calbindin) や CCK が TR 群で増加し、Nts (Neurotensin) が TR 群で減少していた。一方 APCd では、Calb1 (Calbindin)、Calca (CGRP)、VIP、Oxt が T 群で減少していたが、TR 群では変動が見られなかった (図 5)。

各種の抑制性神経伝達物質を産生・使用する神経細胞のAPC内分布パターンについては、これまでに報告があるため、これらの報告と本研究で明らかになったAPC内での遺伝子発現変動の結果とを合わせたところ、図6のような抑制システムが想定され、これらのいずれか、もしくはすべてが感性における個体差の形成過程に機能する可能性が示された。

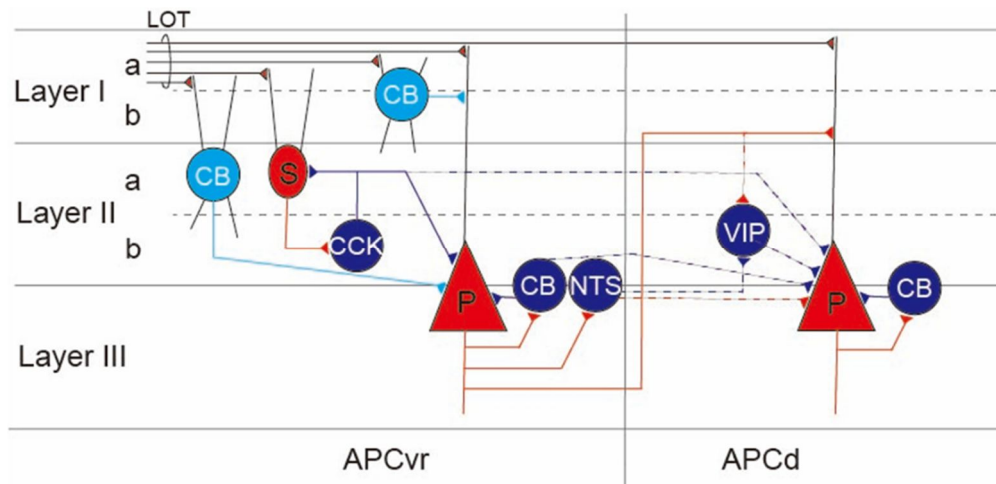


図6

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 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sato Takaaki, Matsukawa Mutsumi, Iijima Toshio, Mizutani Yoichi	4. 巻 16
2. 論文標題 Hierarchical Elemental Odor Coding for Fine Discrimination Between Enantiomer Odors or Cancer-Characteristic Odors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 849864
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnbeh.2022.849864	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 Matsukawa Mutsumi, Yoshikawa Masaaki, Katsuyama Narumi, Aizawa Shin, Sato Takaaki	4. 巻 16
2. 論文標題 The Anterior Piriform Cortex and Predator Odor Responses: Modulation by Inhibitory Circuits	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 896525
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnbeh.2022.896525	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 Matsukawa Mutsumi, Fukuda Mitsuhiro, Sato Takaaki	4. 巻 17
2. 論文標題 Editorial: Odor information processing and stress response	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	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） 10.3389/fnbeh.2023.1142186	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 松川 睦, 湯田 幸, 吉川雅朗.
2. 発表標題 捕食者臭誘発ストレス反応を緩和するための抑制システムは、嗅球内ではなく、前梨状葉皮質にあるようだ。
3. 学会等名 第45回 日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川雅朗, 松川 睦, 大島秀規, 相澤 信, 志賀 隆.
2. 発表標題 無重力飼育マウスとALSモデルマウスの脊髄神経節で発現変動する遺伝子の解析
3. 学会等名 第45回 日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川雅朗, 松川 睦, 相澤 信, 志賀 隆.
2. 発表標題 微小重力環境マウスおよびALSモデルマウスの脊髄における遺伝子発現変動の比較解析
3. 学会等名 第44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 吉川雅朗, 松川 睦, 相澤 信, 志賀 隆.
2. 発表標題 微小重力環境マウスおよびALSモデルマウスの脊髄で発現変動する遺伝子の解析
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松川 睦, 吉川雅朗, 湯田 幸, 日野浩嗣.
2. 発表標題 嗅覚情報処理過程において匂い誘発ストレス反応の発現もしくは緩和に関与する抑制性神経回路の推定
3. 学会等名 第129回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2024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
---------	---------