

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：32202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22657003

研究課題名（和文） マウス超音波発声パターンにみられる地理的変異の行動学的及び遺伝学的解析

研究課題名（英文） Behavioral and Genetic analysis of ultrasonic vocalization of mice

研究代表者

杉本 大樹 (SUGIMOTO HIROKI)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：70515866

研究成果の概要（和文）：

本研究では、交配行動時のマウス超音波発声の役割や系統差の影響を調べた。13 マウス系統を用い交配行動時の超音波発声データを用い主成分分析によって超音波発声の特徴を明らかにした。超音波再生実験によって、これらのオスマウスの超音波発声パターンの系統差が、メスマウスのオスマウスに対する選好性に関わることを示した。この結果は、マウスにおいて音声コミュニケーションが交配選択に重要な役割を持ち得ることを示唆し、マウス社会行動における音声コミュニケーションの役割を理解する上で非常に重要であった。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we researched a role for strain difference of ultrasonic vocalizations during male-female interaction. By the principle component analysis, we characterized the strain differences among 13 mouse strains. By playback experiment, we showed that strain differences of USV affect the preference of female mouse for male mice. This result suggests that USV is important to choice the mate partner.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1400000	0	1400000
2011年度	700000	210000	910000
2012年度	800000	240000	1040000
年度			
年度			
総計	2900000	450000	3350000

研究分野：

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：行動遺伝 超音波 社会コミュニケーション

1. 研究開始当初の背景

動物は、育児や交配行動のような多様な社会行動を行なっている。このような社会行動においてコミュニケーション手段の一つとして発声は非常に重要である。マウスにおいて、オスは交配行動中にメスに対して超音波を発

することが知られている。その超音波発声パターンは非常に複雑であり、動物の社会行動に何らかの役割をもっていると考えられているが、これまでのマウス超音波研究の多くは、どのような環境下で超音波を発するのかとい

う点に焦点が当てられ、その役割は不明であった。同時に、鳴き方には、“方言”が存在することが、マウス系統間の超音波発声パターンの比較によって明らかになっていた。つまり、このことは、マウスの地理的な分布や系統の違いによって超音波発声パターンが異なり、メス個体に与える影響が変化している可能性を示唆する。しかしながら、このマウスの方言についても実験用系統を用いた比較研究がほとんどであり、この方言の行動学的・生物学的意義そして遺伝学的基盤については、ほとんど分かっていなかった。しかし、国立遺伝学研究所において、世界各地で採集された複数の野生由来系統が維持され、さらに、近年、コンソミックマウス系統が樹立されており(実験系統マウス C57BL/6 の任意の一本の染色体を、野生由来系統 MSM で置き換えたマウス系統)、このようなリソースの整備により野生由来系統間の超音波”方言”の比較解析することが可能となっていた。

2. 研究の目的

本研究では、

(1) マウス超音波発声パターンを比較検討することで、マウス社会的コミュニケーションにおけるオスマウスの“方言”と交配行動との関係の解明

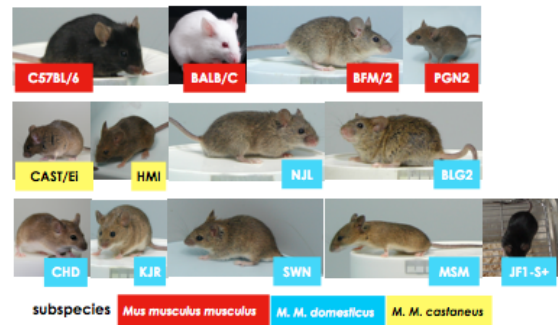
(2) コンソミック系統を使用した超音波発声に関わる染色体の同定を目指した。

超音波発声時の方言と行動との関係の解明は、マウスにおける言語の役割を明らかにし、複雑な社会行動を理解する第一歩となる。

3. 研究の方法

マウス交配行動時の超音波発声の系統差を明らかにするために、実験用マウス((C57BL/6、BALB/c)、野生由来マウス(MSM、KJR、BLG2、NJL、SWN、PGN2、BFM/2、CHD、HMI、CAST/E)そして、愛玩用マウス(JF1)の13のマウス系統を用い、交配行動時

の超音波発声データを記録した。



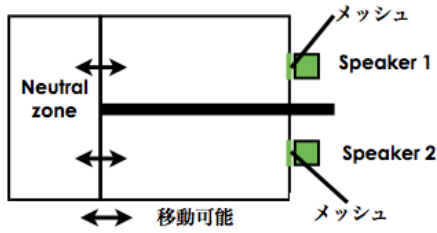
使用マウス系統

専用ソフト(SAS Lab PRO, Avisoft)によって周波数データを取得した。メスマウスは、MCH系統に統一し、MCHメスに対するオス系統の超音波発声を記録した。マウスの超音波発声には、さまざまなタイプの波形パターンが存在する。正確にマウス系統差を明らかにするために、得られた超音波発声のさまざまな波形パターンをScattoniら(2008)の分類法を参考に分類し、各波形パターンの出現頻度、周波数、一鳴きの時間等を計測した。

系統間の違いを、より明確にするため、取得したデータを用い主成分分析を行い、主成分得点によって系統差を特徴付けた。

主成分分析で明らかになった系統間の特徴が、メスの行動(オスへの選好性)に影響するかを調べるため、超音波再生実験を行った。再生実験用の音声は、系統差をあらゆる各成分の主成分得点と、メスマウスのオスに対する嫌がりの鳴き(クリック)との相関をもとに“クリックと正の相関を示す波形

(LOW2-4)”と“クリックと負の相関を示す波形(HIGH2-4)”の超音波ファイルをそれぞれ作成し使用した。さらにネガティブコントロールとしてホワイトノイズ(Noise)の音声ファイルを用意した。同時に2つのスピーカーからそれぞれの音声を再生し、スピーカー覆うメッシュに対する探索時間で選好性を評価した。



再生実験 メッシュ探索時間で音への 選好性を評価

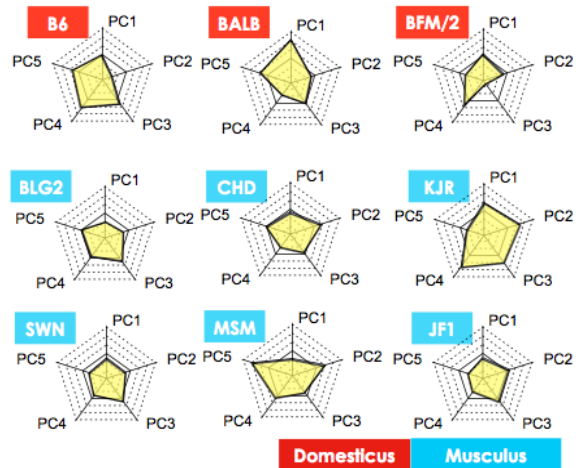
マウス超音波発声に関わる責任染色体を明らかにするため、C57BL/6の任意の染色体をMSMに置き換えたコンソミック系統の超音波発声を記録した。この実験では、C57BL/6メスに対する各コンソミック系統オスの超音波発声を記録した。

4. 研究成果

本研究において13のマウス系統オスの超音波発声を調べた。実験用系統は、非常に超音波を発する頻度が高いが、野生由来系統は、超音波を発する頻度が低いということが明らかになった。特にPGN2、CAST/Ei、HMI、NJL1は、ほとんど超音波を発さなかった。鳴き時間 (call duration)、オスとの遭遇後超音波を発するまでの時間 (call latency)、周波数 (frequency) といった様々な項目で系統の効果が見られた。さらに、BALBは、山型の波形パターンを多く示す、BFM/2は、右上がりの波形パターンを多く示すなど各波形パターンの出現頻度も系統の効果を示した。しかし、系統間の超音波発声は、特に遺伝的距離を反映した類似度を示さなかった。従って、超音波発声の系統の特徴は、遺伝的浮動もしくは、地域特異的な選択によって生じたのかもしれない。

系統間の違いを、より明確にするため、取得したデータを用い主成分分析を行った。主成分分析の結果、第1成分は“鳴き時間と周

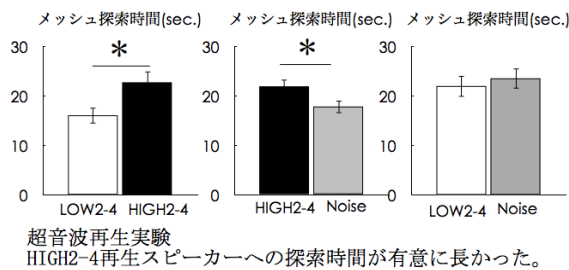
波数”、第2-4成分は、“超音波波形パターン”に関わる成分であると考えられた。各成分の主成分得点をレーダーチャートで示した。BALBは、第1成分の得点が最も高く、低周波数で長時間鳴く系統であることが明らかになった。CHD、JF1、BLG2、SWNは、各得点が似ており、超音波発声特徴がよく似ているということを示していた。



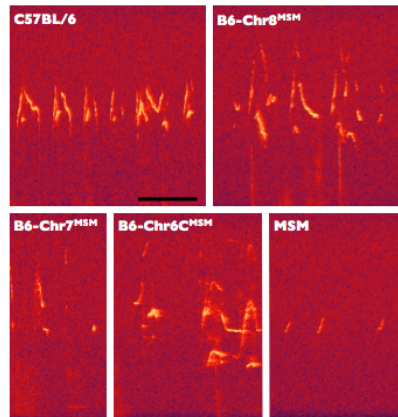
主成分得点による超音波発声の特徴付け

また、メスのクリック (嫌がりの鳴き) 発声頻度にも有意な効果があった。つまり、相手のオスによってオスクリックの発声回数が異なるという結果が得られた。そこでクリックの発声頻度をメスマウスのオスへの“嫌がり度”として、超音波発声の特徴との相関を調べた。嫌がり度は、第2-4成分の主成分得点に対して、弱い相関を示した。このことは、オスマウスの超音波発声の波形が、メスマウスのオスマウスに対する好みに影響するという可能性を示していた。このことからマウス超音波の波形パターンにおける系統差が、メスマウスのオスマウスに対する選好性に重要であると考え、“メスが嫌がるオス超音波 (LOW2-4)”と“メスが嫌がらないオス超音波 (HIGH2-4)”を作成した。再生実験において、メスマウスは有意にHIGH2-4に引きつけられた。この結果は、オスマウス

の超音波発声の系統差が、メスマウスの選好性に関わるということを示し、さらに交配選択において重要であるということを示唆した。さらに LOW2-4 と Noise 間には有意な差は見られなかった。つまり以前からオスの超音波が、メスとの交配成功を容易にすると考えられていたが、特定の超音波波形のみがメスに対して正の効果を持ち得るということを示した。この結果は、マウスにおいて音声コミュニケーションが交配選択に重要な役割を持ち得ることを示唆し、マウス社会行動における音声コミュニケーションの役割を理解する上で非常に重要である。



これらの超音波発声に重要な染色体をあきらかにするために、C57BL/6 マウスの任意の一本の染色体を野生由来系統 MSM に置換したコンソミック系統を用い、各コンソミックマウス系統の C57BL/6 メスマウスに対する超音波発声を記録した。結果は、コンソミック系統ごとに特徴的な超音波発声パターンを示した。4、5C、6C、6T、12C、12T、13C 番染色体コンソミックマウスは、B6 に比べ、Jump と Harmonic な波形を多く示し非常に複雑な発声パターンだった。1、5T、7C、7T、17、19 番染色体コンソミックマウスは、B6 に比べ非常にシンプルな波形や、少ない鳴き回数を示し、より MSM に近い発声パターンを示した。



各コンソミック系統の超音波波形の一例
Bar =200msec.

このことから超音波発声パターンは、複数の遺伝子によって複雑に制御されていると考えられる。今後は、これらコンソミックマウスの鳴き声を使用した選好実験によりメス系統 (C57BL/6 と MSM) ごとに好みの発声パターンに違いがあるのか、あるならどのような発声パターンが重要かを明らかにする必要がある。交配行動に重要な超音波発声パターンを用いたコンソミックスクリーニングは、交配に真に重要な超音波発声の原因遺伝子を同定する第一歩となる。

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)

[雑誌論文] (計 1 件)
 ① Hiroki Sugimoto, Shota Okabe, Masahiro Kato, Nobuyoshi Koshida, Toshihiko Shiroishi, Kazutaka Mogi, Takefumi Kikusui, Tsuyoshi Koide. A role for strain differences in waveforms of ultrasonic vocalizations during male-female interaction. PLoS one, 2011, 6(7), e22093. (査読有)
 doi:10.1371/journal.pone.0022093

[学会発表] (計 3 件)
 ① 杉本大樹、菊水健史、城石俊彦、小出剛、マウス交配行動時の超音波発声の役割、第 57 回 日本実験動物学会 京都 2010 年 5 月

②Hiroki Sugimoto, Shota Okabe, Takefumi Kikusui, Tsuyoshi Koide, Arole of strain differences in waveforms of male ultrasonic vocalization for social behavior. 13th International Behavioural and Neural Genetics Society, Roma, May, 2011.

③杉本大樹、菊水健史、城石俊彦、小出剛、マウス交配行動時の超音波発声の役割、第58回 日本実験動物学会 東京 2011年5月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 大樹 (Sugimoto Hiroki)

自治医科大学・医学部・細胞生物研究部・助教

研究者番号：70515866

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

小出 剛 (Koide Tsuyoshi)

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・准教授

研究者番号：20221955

菊水 健史 (Kikusui Takefumi)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：90302596