

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293047

研究課題名(和文)匂いの絆：最終的な行動表現に帰結する普遍的な可塑性メカニズム

研究課題名(英文)Common mechanisms of synaptic plasticity underlying olfactory bonds

研究代表者

梶 秀人(KABA, Hideto)

高知大学・医学部・特任教授

研究者番号：50136371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で我々は(1)雌マウスが交配雄の化学シグナルを認識記憶することによって妊娠維持を保障する単純なモデルにおいて、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効率の長期増強(LTP)の後期相にアクチン重合化が関与すること、またバゾプレッシンもバゾプレッシン受容体1aを介してこのLTPの誘導に関与すること、(2)新生子ラットにおける匂いの嫌悪学習とその基礎過程としての嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス伝達効率のLTPに小胞体の機能が重要であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study we demonstrate (1) in a simple model, in which the ability of female mice to recognize their mate's chemosignals ensures the maintenance of their pregnancy, actin polymerization is required for the late-phase of long-term potentiation (LTP) at the mitral-to-granule cell synapse in the accessory olfactory bulb, and vasopressin, acting at vasopressin receptor 1a, is also required for the induction of LTP and (2) the function of the endoplasmic reticulum is important for aversive olfactory learning and synaptic plasticity at the mitral-to-granule cell synapse in the olfactory bulb in neonatal rats.

研究分野：医歯薬学

キーワード：匂い 記憶 学習 嗅球 長期増強 アクチン重合化 バゾプレッシン 小胞体

### 1. 研究開始当初の背景

人類はその誕生以来、親子や夫婦をはじめとする人と人の“絆”を求めてきた。しかし、その複雑さのために、近年まで脳科学の見地からの研究対象とはならなかった。一方、親子・夫婦の問題は、新しい世紀を迎えてますます困難になってきている。愛情で結びついたはずの家族の中で、時として命を奪うほどの暴力が起こる。全国の児童相談所に持ち込まれる児童虐待の件数は、年々増加の一途を辿っており、この問題への取り組みが社会的に強く求められている。人間における親子・夫婦の間の愛着行動を理解するためには、広範囲にわたる各種動物の詳細かつ正確な観察から学びとることが必要である。なぜかという、愛着行動は種の維持にかかわる基本的行動であり、人間とその他の動物は、互いに共通した行動パターンを進化させてきたと考えられるからである。事実、子どもに反応して活性化される母親の脳の活動部位は、人間と齧歯類で似ていることから、哺乳類の脳には普遍的な母性回路が存在すると考えられる。

### 2. 研究の目的

マウスやラットにおける母子間あるいは雌雄間の社会的絆の形成には嗅覚系による個体認識とその記憶学習が基盤となっている。我々はこれまでに、(1)雌マウスに形成される交配雄フェロモンの記憶(夫婦の絆モデル)、(2)新生子ラットにおける匂い学習(子から見た母子の絆モデル)、(3)ラットにおける母性行動(母から見た母子の絆モデル)の何れにおいても嗅球(主嗅球、副嗅球)が記憶学習に中心的な役割を果たす脳部位であることを特定し、神経・シナプス・分子レベルでそのメカニズムを解明してきた。本研究の目的は、これらの神経科学的所見を基礎とし、絆や個体認識といった最終的な行動表現に帰結する脳機構、とりわけその分子・シナプスメカニズムを明らかにすることであった。

### 3. 研究の方法

#### (1) 雌マウスに形成される交配雄フェロモンの記憶

雌マウスに形成される交配雄フェロモンの記憶は妊娠の保障に不可欠である。このフェロモン記憶は、鋤鼻系の最初の中継部位である副嗅球に生じるシナプスの可塑的变化によって支えられている。交尾刺激により遊離されたノルアドレナリンやオキシトシンの働きを引き金として、新たに合成されたタンパク質を含め、種々の情報分子が関わり、僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプスに超微形態学的変化が生じることを示してきた。また、この記憶の電気生理学的相関としてのシナプス伝達効率の長期増強(LTP)も副嗅球スライス標本において示してきた。このLTPの後期相(L-LTP)にプロテインキナーゼC(PKC)の非

典型PKCのひとつであるPKM $\zeta$ が関わることもすでに示している。今回、LTPに対するアクチン重合化の関与を検討するため、副嗅球の急性スライス標本を作製し、顆粒細胞に発生する興奮性シナプス後電位を反映する集合電位(fEPSP)を記録した。

オキシトシンと構造が酷似したバゾプレッシン(AVP)にもオキシトシンと同様な効果が期待され、LTP誘導におけるAVPの効果を検討した。

#### (2) 新生子ラットにおける匂い学習

生後11日の子ラットに匂いと電撃を対提示することによって成立する匂いの嫌悪学習は主嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス伝達の可塑的变化によって支えられている。我々は、小胞体ストレスを誘導する物質として知られているツニカマイシンに着目した。ツニカマイシンはN-glycosylationを阻害し、視細胞におけるロドプシンの代謝およびシナプス可塑性に関わる遺伝子発現に影響を及ぼすと報告されている。そこで、匂いの嫌悪学習とその基礎過程と考えられている嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞へのシナプス伝達効率のLTPに対するツニカマイシンの効果を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 雌マウスに形成される交配雄フェロモンの記憶

外側嗅索にテタヌス刺激を与えると、顆粒細胞に発生した興奮性シナプス後電位を反映したfEPSPのスロープ値は増大し、180minに渡って維持され、L-LTPの成立が確認された。この条件下でアクチン重合阻害薬・サイトカラシンDを灌流投与したところ、テタヌス刺激後0min、30minでは変化が見られなかったが、150minでfEPSPのスロープ値はテタヌス刺激前のレベルに戻った。一方、アクチン重合促進剤・ジャスプラキノリドの灌流投与下で、短期増強のみ誘導されるテタヌス刺激でL-LTPが成立した。以上の結果は、副嗅球シナプスにおけるL-LTPの成立にはPKM $\zeta$ に加えてアクチン重合化が関与することを示唆している。

オキシトシンに加えAVPも、用量依存的にLTP誘導を促進した。この促進効果はAVP受容体(R)1aアンタゴニストであるマニング化合物(d(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>[Try(Me)<sub>2</sub>]AVP)によって阻害され、AVPR1bアンタゴニストであるSSR149415では阻害されなかった。また、AVPに代えてAVPR1aアゴニストである[Phe<sub>2</sub>, Ile<sub>3</sub>, Orn<sub>8</sub>]-vasopressinはAVPのLTP誘導促進作用を再現した。以上の結果は、AVPがAVPR1aを介してLTPの誘導を促進することを示している。

#### (2) 新生子ラットにおける匂い学習

ツニカマイシンは、学習成立の感受性期(生後11日)に嗅球に局所投与されると、匂いの嫌悪学習の長期記憶を選択的に阻害

した。ツニカマイシンはまた、生後 11 日のラットから調製した嗅球スライス標本において LTP の誘導をも阻害した。以上の結果は、嗅球に負荷された小胞体ストレスによって匂い学習が阻害されることを行動と電気生理の両面から証明すると共に、匂いの学習成立に小胞体の機能が重要であることを示唆している。

## 5 . 主な発表論文等

(研究代表者及び研究分担者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

Tong J, Okutani F, Murata Y, Taniguchi M, Namba T, Wang YJ, Kaba H: Tunicamycin impairs olfactory learning and synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Neuroscience*, 査読有, 344, 371-379, 2017. doi:

10.1016/j.neuroscience.2017.01.001

Namba T, Taniguchi M, Murata Y, Tong J, Wang Y, Okutani F, Yamaguchi M, Kaba H: Activation of arginine vasopressin receptor 1a facilitates the induction of long-term potentiation in the accessory olfactory bulb of male mice. *Neuroscience Letters*, 査読有, 634, 107-113, 2016. doi:

10.1016/j.neulet.2016.09.056

村田芳博, 谷口睦男, 榎秀人: 匂いの記憶のメカニズム. *Clinical Neuroscience*, 査読無, 34, 1324-1327, 2016. URL <http://chugaiigak>.

[学会発表](計 18 件)

Tong J, Okutani F, Murata Y, Kaba H: ER stress impaired olfactory learning by inhibiting synaptic plasticity via a presynaptic mechanism in the olfactory bulb. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, June 5-9, 2016, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama) Taniguchi M, Namba T, Kaba H: Action of vasopressin on chemical signal processing at the reciprocal synapses between mitral cells and granule cells in the mouse accessory olfactory bulb through the V1 receptors. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, June 5-9, 2016, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama)

Murata Y, Kaba H: Maintenance of long-term potentiation in the accessory olfactory bulb: Cellular mechanisms of olfactory recognition memory. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, June 5-9, 2016, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama)

Kaba H, Huang G-Z: Impairment of DCG-IV-induced long-term potentiation

and mate recognition memory in mGluR2-deficient mice. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, June 5-9, 2016, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama)

Namba T, Taniguchi M, Murata Y, Okutani F, Kaba H: Activation of the vasopressin 1a receptor is necessary for the induction of synaptic plasticity in the accessory olfactory bulb of male mice. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, June 5-9, 2016, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama) 村田芳博, 榎秀人: 長期増強維持のメカニズム: マウス副嗅球シナプスの場合. 第93回日本生理学会大会, 2016年3月22~24日, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)

Murata Y, Taniguchi M, Namba T, Okutani F, Kaba H: Olfactory learning in mice: neural mechanisms of synaptic plasticity in the accessory olfactory bulb. 日本味と匂学会 第49回大会, 2015年9月24~26日, じゅうろくプラザ(岐阜県・岐阜市) 谷口睦男, 難波利治, 榎秀人: V1受容体を介したマウス副嗅球僧帽細胞-顆粒細胞間相反性シナプス電流に対するバゾプレッシンの抑制機構. 日本味と匂学会 第49回大会, 2015年9月24~26日, じゅうろくプラザ(岐阜県・岐阜市)

谷口睦男, 難波利治, 榎秀人: Modulation of reciprocal synaptic transmission between mitral cells and granule cells in the mouse accessory olfactory bulb through vasopressin V1 receptors. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会・第92回日本生理学会合同大会, 2015年3月21~23日, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市) 村田芳博, 榎秀人: マウス副嗅球シナプスの長期増強を維持する2つのメカニズム. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会・第92回日本生理学会合同大会, 2015年3月21~23日, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)

全加, 奥谷文乃, 村田芳博, 榎秀人: 嗅球内小胞体ストレスによる嗅覚記憶障害の神経機構. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会・第92回日本生理学会合同大会, 2015年3月21~23日, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)

Taniguchi M, Namba T & Kaba H: Effects of vasopressin receptor agonists and antagonists on recurrent inhibition in the mouse accessory olfactory bulb. The 12th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (YR Umami Forum 2014), November 2-4, 2014, Collaborative Research Center, Kyushu University (Fukuoka・Fukuoka)

Murata Y, Kaba H: Maintenance of long-term potentiation at synapses in the mouse accessory olfactory bulb requires actin polymerization as well as new protein synthesis. The 12th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (YR Umami Forum 2014), November 2-4, 2014, Collaborative Research Center, Kyushu University (Fukuoka・Fukuoka)

村田芳博, 榎秀人: フェロモンの記憶を支える副嗅球シナプス可塑性のメカニズム. 第66回日本生理学会中国四国地方会, 2014年11月1~2日, 情報通信交流館 e-とぴあ・かがわ(香川県・高松市)

Taniguchi M, Namba T, Kaba H: Suppressin action of vasopressin on the reciprocal synaptic transmission between mitral and granule cells in the mouse accessory olfactory bulb. 日本味と匂学会第48回大会, 2014年10月2~4日, 静岡市清水文化会館マリナート(静岡県・静岡市)

村田芳博, 榎秀人: 副嗅球シナプスの長期増強維持には新規蛋白合成とアクチン重合化が必要である. 日本味と匂学会第48回大会, 2014年10月2~4日, 静岡市清水文化会館マリナート(静岡県・静岡市)

全加, 奥谷文乃, 村田芳博, 榎秀人: ツニカマイシンは嗅覚嫌悪学習および嗅球内シナプス可塑性を阻害する. 日本味と匂学会第48回大会, 2014年10月2~4日, 静岡市清水文化会館マリナート(静岡県・静岡市)

Murata Y, Kaba H: Maintenance of long-term potentiation at synapses in the accessory olfactory bulb requires both new protein synthesis and actin polymerization. 2014 ICN / JSCP, July 28- August 1, 2014, Sapporo Convention Center (Hokkaido・Sapporo)

[その他]

ホームページ等

[http://www.kochi-ms.ac.jp/~ff\\_phs11/index.htm](http://www.kochi-ms.ac.jp/~ff_phs11/index.htm)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

榎 秀人 (KABA, Hideto)

高知大学・医学部・特任教授

研究者番号: 50136371

### (2) 研究分担者

奥谷 文乃 (OKUTANI, Fumino)

高知大学・教育研究部医療学系看護学

部門・教授

研究者番号: 10194490

谷口 睦男 (TANIGUCHI, Mutsuo)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学  
部門・准教授

研究者番号: 10304677

村田 芳博 (MURATA, Yoshihiro)

高知大学・教育研究部医療学系基礎医学  
部門・助教

研究者番号: 40377031