科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 2 8 年 6 月 1 日現在

機関番号: 82401

研究種目: 研究活動スタート支援

研究期間: 2014~2015

課題番号: 26893327

研究課題名(和文)哺乳類養育行動の神経基盤の進化:コモンマーモセット内側視索前野の解剖・機能的解析

研究課題名(英文) Evolution of neural mechanisms for mammalian parental behavior: Anatomical and

functional analysis of medial preoptic area in common mamosets

研究代表者

篠塚 一貴 (Shinozuka, Kazutaka)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号:50549003

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文):哺乳類養育行動の神経基盤の進化を理解するため、コモンマーモセットを対象として研究を実施した。まずマーモセットの養育行動を定量する手法を確立するため、子の回収テストなどを実施し、十分な基礎データを得た。次にげっ歯類の養育行動の発現に重要である内側視索前野を中心に機能解析を行ったところ、子を背負う行動に相関してc-fos mRNAの発現が認められた。さらに、興奮性神経毒を用いて同領域を損傷したところ、子を背負う行動が減少することを示唆する結果を得た。今後はサンプル数の増加とともに、より精密な脳定位手術が必要である。

研究成果の概要(英文): A study using common marmoset was conducted to understand evolution of neural mechanisms for mammalian parental behavior. First, basic behavioral data (infant retrieving test etc.) was acquired to establish methods for quantifying parental behavior of marmosets. Next, functional analysis of the medial preoptic area, which is important for expression of parental behavior in rodents, was conducted. Increased expression of c-fos mRNA was suggested after retrieving and carrying an infant. Additionally, excitotoxic lesions of the medial preoptic area suggested to decrease carrying behavior. In future it is necessary to obtain more samples and precise surgery.

研究分野: 心理学

キーワード: 養育行動 進化 内側視索前野 神経科学

1.研究開始当初の背景

良好な親子関係は、子どもの心身発達に必須のライフラインである。現在社会問題ともなっている虐待やネグレクトなどの不適切養育は、社会性の発達や性格形成、さらには精神・神経疾患への罹患率など、子どもの成長に対して重大な影響を与える(Meaney, Ann.Rev. Neurosci., 2001)。しかし、親子関係を構成する要素、すなわち親の子育て(費を構成する要素、すなわち親の子育て(費育)行動と子が親を慕う愛着行動は、心理学の、分子神経生物学的には未知の部分が多く、記憶学習や知覚・認知などほかのさまざまな脳機能の研究に比べると研究が立ち遅れているのが現状である。

ヒト以外の哺乳動物にとっても、とくに母子関係は子の生育に必須であり、最重要の社会的関係である。そのため、脳内メカニズムの基本的な部分は、哺乳類を通じて進化的に保存されていると考えられる。したがって、哺乳類をモデル動物として用いる研究を行うことで、ヒトの親子関係の理解に役立つ知見を得ることにつながる。

本申請者の所属研究室では、上述のような観点から、これまで主にげっ歯類(マウス)の養育行動の神経機構を研究し、視床下部前方にある内側視索前野の亜核が養育行動の発現に重要であることを明らかにした。同領域は、養育行動の発現と相関して神経活動が高まる一方、損傷すると子殺し行動が生起するようになる(Tsuneoka et al., J. Comp. Neurol., 2013)。

このような知見をヒトに外挿するためには、進化的にヒトにより近い霊長類を対象とした研究が必須であるが、霊長類の養育行動に必要な脳部位の探索は未だ行われていない。そこで本研究は、一夫一妻で繁殖し、母親だけでなく父親やきょうだい個体も積極的に養育に参加する小型霊長類のコモンマーモセット(Callithrix jacchus)を用いて、霊長類の養育に関わる神経機構を解剖と機能の両面から明らかにすることを目的とする。

2.研究の目的

これまでの研究から、げっ歯類では内側視索前野が養育に必須であることがわかっている。 そこで、本研究ではマーモセットの内側視索前野を中心に、解剖・機能の両側面から養育における役割を検討する。

(1)内側視索前野の解剖学的検討

マーモセットの内側視索前野の解剖学的特徴を、免疫染色による物質分布、養育行動時の c-fos 陽性細胞の分布から検討する。免疫染色では、マウスの内側視索前野周辺に多く発現するニューロフィジン I 等を染め、マウスの内側視索前野周辺との物質分布の対応関係を検討する。次に、養育行動中のマーモセットの脳標本を作製し、最初期遺伝子 c-fos の発現を可視化することで、養育行動に

相関して神経活動が高まる内側視索前野周 辺の脳領域を同定する。

(2)内側視索前野の機能的検討

3. 研究の方法

(1)内側視索前野の解剖学的検討

マーモセットを灌流固定して抜脳し、50 μm 厚の凍結切片を作成して、内側視索前野周辺の免疫染色を実施した。用いる抗体は、ニューロフィジン I、カルビンジン、SMI-32 とした。

次に養育行動中のマーモセットの脳標本を作製し、 $in\ situ\$ 八イブリダイゼーション法による c- $fos\$ mRNA の分布の可視化を行った。被験マーモセットに対して子の回収テスト(後述)を実施し、回収後 25 分間の子の背負い行動を観察した後、直ちに灌流固定を行った。抜脳後に $50\$ µm 厚の凍結切片を作成して、 $in\ situ\$ 八イブリダイゼーションに用いた。

(2)内側視索前野の機能的検討

はじめに、マーモセットの養育行動に関する基礎的データの収集を行った。出産があったペアに対して、(a)背負い行動のサンプリング、(b)家族観察、(c)子の回収テスト、(d)食物分配テストの各観察・実験を実施した。

(a)背負い行動のサンプリングでは、毎日 9:00、11:00、13:00、15:00、17:00 の 5 回、 家族内のどの個体が子を背負っているかを 記録し、背負い行動の割合やその経時的変化 を検討した。1カ月齢を超えるまで実施した。 (b)家族観察では、週に 2 回、家族の自然な 行動を 20 分間観察した。子が 50 日齢を超え るまで継続的に実施した。(c)子の回収テス トでは、一時的に家族から離した子をかごに 入れ、ホームケージの一方に置いた。被験マ ーモセットをホームケージのもう一方に入 れ、両ケージを連結トンネルで連結した。連 結トンネルのギロチンドアを開け、被験マー モセットが子を回収しに行き背負うまでの 潜時を記録した。また、回収後 10 分間の背 負い行動を観察した。家族の各個体に対して、 子が1カ月齢を超えるまで週に2回継続的に

実施した。(d)食物分配テストでは、被験マーモセットと子をホームケージに入れ、ケージの外側に設置した台上に、被験マーモセットだけが届く距離にサツマイモ片を並べ、自由に摂食させた。この時子マーモセットが接マーモセットの持っているサツマイモトを取ることに対して拒絶をするか、しないかを5分間観察した。食物分配テストは子が2~3カ月齢の間に週に2回継続的に実施した。

次に、マーモセットの養育行動における内側視索前野の損傷の効果を検討した。出産のあった1家族(両親、上のきょうだい2頭、下のきょうだい2頭、新生児2頭)に対して、上記の背負い行動のサンプリングと回りちに、家族のきょうだいの1個体に対して、脳定位側側表前野の損傷を試みた。回復のための1週間の隔離の後同個体を家族に戻し、再び背負的で動のサンプリングと回収テストを2週間実施した。実験後、同個体は灌流固定に関切片を作成し、NeuN 染色によって損傷領域を検討した。

4. 研究成果

(1)内側視索前野の解剖学的検討

ニューロフィジン | 染色の結果、室傍核、 視索上核、前腹側脳室周囲核で多数の陽性細胞を認めた。これはマウスのニューロフィジン | 分布と対応する結果であった。一方、マウスでは前交連核にもニューロフィジン | 陽性細胞が分布することが知られているが、マーモセット脳では前交連の腹側に類似の核を見いだせなかった。

次に c-fos mRNA の in situ ハイブリダイゼーションを実施したところ、養育行動中のマーモセットでは、前腹側脳室周囲核、内側視索前野、視索上覚で陽性細胞が確認された(図1)。したがって、これらの領域が子を回収して背負う行動に関わることが示唆された。

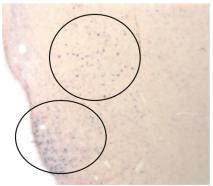


図 1 養育中マーモセット脳の c-fos mRNA の分布。前腹側脳室周囲核(下丸)および内側視索前野(上丸)の陽性細胞を示す。

(2)内側視索前野の機能的検討

はじめに各種の観察・実験を実施し、マーモセットの養育関連行動の定量を試みた。その結果、マーモセットの子の背負い行動は1カ月齢程度を境に急速に減少する(図 2)ことなど、これまで知られている知見と同様の結果を得ることができ、養育行動の実験的検討が十分に可能であることを確認した。

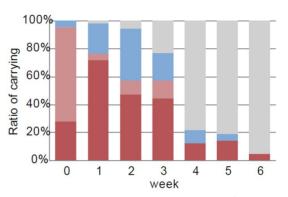


図 2 1 つの家族における背負い行動のサンプリングの例。各週齢における子を背負っていた個体の割合を示す。 赤:母親、青:父親、ピンク:姉、水色:兄、灰色:背 負われていない

次に、子の養育中の家族において、姉個体の内側視索前野を NMDA の微量注入により損傷した。結果、背負い行動の減少を示唆する結果を得た(図3)。

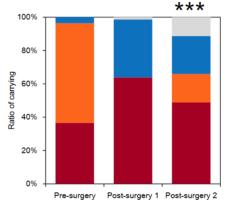


図3 背負い行動の割合の変化。赤:母親、橙:姉、青: 弟。姉の内側視索前野の損傷前(左)と比較して、損傷 後(右)に姉が背負う割合が減少した(中央は回復期間 で姉は隔離されている)。

また、この家族に対して子の回収テストを 実施したところ、姉の内側視索前野損傷後に、 姉が子を回収した後に背負っている時間が 減少した(図4)。

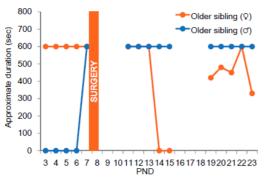


図4 子の回収テストの結果。縦軸は子の回収後の10分間に子を背負っていた時間を、横軸は子の日齢を示す。姉(橙)は弟(青)と比較して、手術後の背負い時間が減少した。

実験後に姉個体を灌流固定し脳切片を作成した。NeuNの免疫染色によって損傷領域を確認したところ、内側視索前野の尾側からそれよりも尾側方向に神経細胞の脱落が認められた。内側視索前野に対するより正確な脳定位固定手術を実施することで、養育行動に対するさらに明確な効果が得られることが期待された。

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 0件)

[学会発表](計 2件)

Shinozuka, K., Saito, A., Tokita, K., Tokuno, H., & Kuroda, K.O. Investigating brain mechanisms for parental behavior in common marmosets. RIKEN BSI Retreat, 東京大学, 2014年11月.

Shinozuka, K., Saito, A., Tokita, K., Yoshihara, C., Shindo, S., Moriya, K., Matsui, R., Watanabe, D., & Kuroda, K.O. Investigating brain mechanisms for parental behavior in common marmosets: Activation mapping and functional analysis. RIKEN BSI Retreat, 未来館(お台場), 2015年12月.

[図書](計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 田内外の別:

取得状況(計 0件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 取得年月日: 国内外の別:

〔その他〕 ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

篠塚 一貴 (SHINOZUKA KAZUTAKA) 理化学研究所・脳科学総合研究センター・ 研究員

研究者番号:50549003