

研究報告書

「匂いに対する忌避行動を規定する神経回路の解明」

研究期間：平成19年10月～平成24年3月
(ライフイベント;平成22年4月1日～平成23年3月31日)

研究者：小早川 令子

1, 研究のねらい

情動とは嫌悪、恐怖、食欲、母性などの生存に欠かせない多様な本能を呼び起こす脳の働きです。適切な情動はヒトや動物の行動を生存に有利な方向へ動機付けるという役に立つ側面を持っています。その一方で、異常な情動は治療が難しい精神疾患を誘発してしまうという困った側面も持ち合わせています。本研究の目的は、脳が外界の情報の価値を判断して適切な情動や行動を誘発する未知のメカニズムを解明することです。この目的は心の原理の一つを説き明かすという科学的な挑戦であるという意味と、物質的に満ち足りた現代社会において寧ろ拡大する心の問題への対策法のイノベーションを創造するという2つの意味で重要です。

2, 研究成果

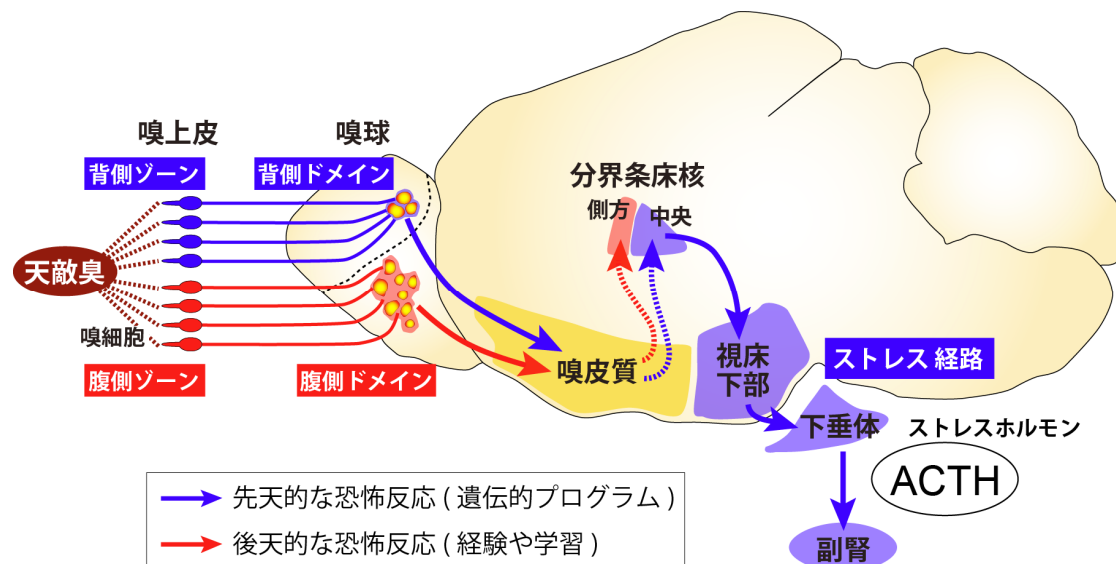


嗅覚系の匂い分子の種類に応じて多様な情動を誘発できるという特徴に着目して研究を進めました。マウスの鼻腔内にはゾーン構造、匂い情報が初めに伝達される脳の領域である嗅球にはドメイン構造が存在することが知られていました。私たちは、これらの構造の生物学的な機能を解明するために、一部のゾーンやドメインに対応する匂いセンサー細胞(嗅細胞)がジフテリア毒素遺伝子の作用で除去されるように設計した遺伝子操作マウスを作製しました。鼻腔内には背側ゾーンと腹側ゾーンがあります。この中で背側ゾーンのみを選択的に除去した「背側除去マウス」の匂い認識能力を解析したところ、腹側ゾーンの嗅細胞を用いて腐敗臭や天敵臭を正常に感知できるにもかかわらず、これら匂い分子に対する忌避行動を全く示さないことが明らかになりました。野生型マウスは天敵臭を嗅いだときに脳のストレス中枢が活性化し、血液中にストレスホルモンが分泌されます。しかし、背側除去マウスでは天敵臭を嗅いだときのストレス中枢の活性化や、ストレスホルモンの分泌が起こりませんでした。背側除去マウスであっても天敵臭や腐敗臭を嗅がせた後に、痛み刺激を与えると、後天的に匂いに対す

る忌避行動を学習できることが明らかになっています。従って、背側除去マウスは嫌だという感情そのものがなくなっているのではなく、嫌な匂いを嗅いだときに嫌だと判断することができなくなっていることが分かります。逆に、腹側の嗅覚神経回路を除去した腹側除去マウスでは腐敗物の匂いに対する先天的な忌避行動を示しました。

以上の実験結果から、背側ゾーンの嗅細胞によって腐敗臭が“嫌だ”や、天敵臭が“怖い”という情動判断が先天的に決まることが初めて明らかになりました。腐敗物にはカルボン酸やアルデヒドが含まれますが、これらの匂いは嗅球の背側-クラスⅠドメインという領域を活性化します。これに対して、天敵の匂いは嗅球の背側-クラスⅡドメインという領域を活性化します。背側クラスⅠドメインから始まる嗅覚神経回路によって腐敗臭に対する嫌悪反応、背側-クラスⅡドメインから始める嗅覚神経回路によって天敵臭に対する恐怖反応が制御されていると考えられました。腐敗臭も天敵臭も嫌な匂いであることに変わりはないように思われます。確かに、両方の匂いともにマウスは忌避行動を示します。しかし、脳のストレス中枢のひとつである分界条床核の活動領域を比較すると、腐敗臭に対する嫌悪と天敵臭に対する恐怖とは区別できることが明らかになりました。

匂いの好き嫌いには個人差が多いことなどから類推して、経験や学習によって後天的に決まると考えられてきましたが、この常識は覆されることになりました。写真は、背側除去マウスが恐れるそぶりも見せず子猫に近づいてしまう様子を示しています。匂い分子の持つ意味や価値の判断は脳の中枢部において初めてなされるのではないかと漠然と考えられてきましたが、鼻腔の内部の段階で既に意味や価値の決定の重要なプロセスが始まっていると考えられるようになりました。



天敵臭は背側ゾーンと腹側ゾーン双方の嗅細胞を同時に活性化させる。背側ゾーンから始まる青色の嗅覚神経回路は嗅皮質、ストレス中枢である分界条床核の中央領域視を經由して、床下部-下垂体-副腎経路を活性化する。この結果、血液中にストレスホルモンACTHが分泌される。腹側ゾーンの嗅細胞も天敵臭によって活性化されるが、匂いと報酬との後天的な学習などの異なる情報を脳へ伝達していると考えられる。

マウスなどの小動物にとってネコやキツネなどの肉食動物は天敵です。ネコの付けていた首輪や、キツネの糞に含まれる匂い分子であるトリメチルチアゾリンに対してマウスは恐怖

応答を示します。恐怖応答の一種に「竦(すく)み行動」があります。匂い分子を嗅いだときにすくんでいる時間の割合を計測することで、恐怖レベルを定量化することができます。これまで述べてきた天敵臭とはこのトリメチルチアゾリンのことです。しかし、これらの天敵由来の匂い分子によって先天的に誘発できる竦み行動のレベルは、電気ショックとの関連学習によって後天的に獲得した恐怖に比較するとずっと弱いことが知られていました。天敵の匂いは弱い竦み行動しか誘発できないので、実のところ、マウスは天敵の発する匂いを恐怖として認識しているのではなく、単なる嫌な匂いとして認識しているに過ぎないのではないかという議論が続いていました。なぜ、天敵臭は弱い恐怖応答しか誘発できないのでしょうか？これまでに発見されていない新しい匂い分子を用いることでより強い恐怖応答を誘発できるのでしょうか？

私たちは、先天的な恐怖応答を誘発する嗅覚神経回路を活性化する匂い分子を人工物匂い分子ライブラリーの中から探索しました。その結果、これまでに知られていた天敵臭に比較して最大で10倍以上も高い竦み行動の誘発活性を持つ一連の匂い分子群「恐怖臭」の発見に成功しました。これまでの研究では、自然物自体や、自然物の成分から生理活性を持つ匂い分子の探索が行われてきました。これに対して、私たちの成果は嗅覚神経回路の活性に基づくことで、人工物から極めて高い生理活性を持つ匂い分子が同定される可能性を示しているという点でも重要であると考えられます。

「恐怖臭」によって誘発された先天的な恐怖情動と、電気ショックとの関連学習によって後天的に獲得した恐怖情動の両者に伴う生理応答や、両者を制御する神経回路を比較解析しました。その結果、「恐怖臭」による先天的な恐怖は体温や心拍数が大きく低下するという性質を持つことから「冷たい恐怖」に例えられ、後天的な恐怖はこれらの変化が無いために「温かい恐怖」に例えられるというように、マウスには複数種類の恐怖応答が存在することが初めて明らかになりました。また、両者の恐怖は脳の異なる神経回路によって制御されていることも明らかになりました。

3. 今後の展開

さきがけ研究では匂いに対する恐怖や嫌悪などの忌避性の情動を制御する神経メカニズムの研究を主に実施しました。部分的に嗅覚神経回路を遮断した神経回路の改変マウスを用いた研究から、食欲、性、攻撃などの様々な種類の情動反応に関しても特定の嗅覚神経回路によって先天的に制御されている可能性が明らかになっています。今後は、匂いに対する誘因性を含む各種情動を制御する神経メカニズムの解明も進めたいと考えています。

「恐怖臭」は種類によって竦み行動などの恐怖応答の誘発レベルが異なっていることが明らかになっています。「恐怖臭」の化学構造は嗅覚受容体との結合特異性を規定していると考えられます。「恐怖臭」の発見によって、匂い分子の種類、嗅覚受容体との結合特異性、誘発される行動や情動の3者の相関関係を解析することが可能になりました。この相関関係の解析により、匂い分子の種類と特異的な情動や行動を結びつける未知の神経メカニズムを解明したいと考えています。

「恐怖臭」によって誘発される恐怖は繰り返し刺激によっても慣れることがありません。忘れることが困難な恐怖が引き起こすPTSDなどの精神疾患の診断や治療薬の開発の新しい手段として活用できます。また、近年増加している野生獣による住居、倉庫、農地などへ

の被害を低減させる新たな忌避剤が開発できます。忌避剤に関しては様々な種類の有害野生動物に適応できる可能性が既に明らかになっており、実用化を急ぎたいと考えています。私たちの匂い研究から情動イノベーションが加速すると考えられます。

4, 自己評価

さきがけ研究の目的は、脳が外界の情報の価値を判断して適切な情動や行動を誘発する未知のメカニズムを解明することでした。しかし、さきがけ研究開始時点では先行研究も殆ど存在せず、研究戦略や方法論を構築するところから開始する必要がありました。私たちは、遺伝子操作の方法を応用して、嗅覚神経回路を部分的に除去した「神経回路の改変マウス」を作製し、その匂い認識能力を行動学、生化学、生理学の各種方法を総合的に用いて解析するという独自の方法を用いた研究方法を確立しました。この研究方法を使って、匂い分子に対する嫌悪と恐怖の応答が嗅球の背側ドメインのそれぞれ異なる領域から始まる嗅覚神経回路によって先天的に制御されていることを世界に先駆けて解明しました。続いて、ここで発見した先天的な恐怖応答を誘発する嗅覚神経回路の活性に着目して、極めて強力に先天的な恐怖応答を誘発する匂い分子「恐怖臭」を発見することにも成功しました。「恐怖臭」のバリエーションを用いて様々な強度で先天的な恐怖応答を誘発する技術を確立しました。この技術を用いて匂い分子による先天的と後天的な恐怖反応が異なる神経メカニズムにより制御されることを初めて明らかにしました。

これらの成果は、外界の情報と行動や情動との対応関係を解明する研究を、嗅覚系に着目して進める戦略や方法論の一つを示すと同時に、今後の研究を実行する際に必要となる道具立てを初めて整備したという点でも高く評価できると考えられます。さきがけ研究の継続や、新たな共同研究の実施によって、脳の情報処理の原則を発見したいと考えています。

5, 研究総括の見解

部分的な嗅覚神経回路の除去マウスを用いて、背側の嗅覚神経回路によって匂い分子に対する忌避行動が先天的に制御されることを発見したことから、食欲、性、攻撃などの情動反応に関して特定の嗅覚神経回路によって先天的に制御されている可能性を示し、この分野の研究をリードしていることを高く評価している。応用面でも、PTSD などの精神疾患の診断や治療薬の開発や野生獣による住居、倉庫、農地などへの被害を低減させる新たな忌避剤が開発など、その拡がり大きく、楽しみにしている。

6, 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. *Ko Kobayakawa, *Reiko Kobayakawa, Hideyuki Matsumoto, Yuichiro Oka, Takeshi Imai, Masahito Ikawa, Masaru Okabe, Toshio Ikeda, Shigeyoshi Itohara, Takefumi Kikusui, Kensaku Mori & Hitoshi Sakano (*equally contribution) "Innate versus learned odour processing in the mouse olfactory bulb" Nature vol450(7169),p503-508 (2007)
2. Imai T, Yamazaki T, Kobayakawa R, Kobayakawa K, Abe T, Suzuki M, Sakano H.

"Pre-target axon sorting establishes the neural map topography." Science (Article) 325, p585-590 (2009)
3. Matsumoto H, Kobayakawa K, <u>Kobayakawa R</u> , Tashiro T, Mori K, Sakano H and *Mori K. "Spatial arrangement of glomerular molecular-feature clusters in the odorant-receptor-class domains of the mouse olfactory bulb." J Neurophysiol. Vol.103, p3490-3500 (2010)
4. Haga S, Hattori T, Sato T, Sato K, Matsuda S, <u>Kobayakawa R</u> , Sakano H, Yoshihara Y, Kikusui T, and *Touhara K. "The male mouse pheromone ESP1 enhances female sexual receptive behavior through a specific vomeronasal receptor." Nature 466, p118-122 (2010)
5. *Yokoyama T K, Mochimaru D, Murata K, Manabe H, Kobayakawa K, <u>Kobayakawa R</u> , Sakano H, Mori K, and Yamaguchi M. "Elimination of adult-born neurons in the olfactory bulb is promoted during the postprandial period. Neuron 71(5) p883-897 (2011)

(2)特許出願

研究期間累積件数: 4件

発明者: 小早川令子(70%), 小早川高(30%)

発明の名称: 体重調節作用を有する物質の検出方法および不安行動に影響を及ぼす物質の検出方法ならびにそれらに使用する動物

出願人: JST(100%)

出願日: 2008/07/09

他3件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

学会発表

1. 小早川高、伊早坂智子、小早川令子

第34回日本神経科学大会シンポジウム" Molecular and Neural Mechanisms of Chemosensory Information Processing" (2011.9.17)

「Neural mechanisms controlling innate and learned fear responses」

2. 小早川令子

第30回分子病理学研究会(2011.7.23)

「哺乳類の脳が多様な情動を生み出す神経メカニズム～猫を怖がらないネズミが教える心の仕組み」

3. 小早川高、小早川令子

第33回日本神経科学大会 ISN シンポジウム「不情動の生物学的基盤: 生得的回路と獲得的回路」(2010.9.3)

「Innate versus learned odor processing in the mouse olfactory bulb」

4. 小早川令子、小早川高

第83回日本薬理学会年会(ランチョンセミナー)(2010.3.16)

「哺乳類の脳が匂いに対する忌避行動を引き起こすメカニズム～猫を恐がらないマウスが教え

る心の仕組み～」

5. 小早川高、小早川令子

第 32 回日本分子生物学会年会 (2009.12.9)

「Neural mechanisms to control odor evoked emotions and behaviors」

受賞

1. 第 10 回バイオビジネスコンペ JAPAN 最優秀賞 (2010)

「神経回路の機能に基づいて哺乳類の本能情動を制御する機能性匂い分子の開発」

2. 第一回湯川・朝永奨励賞 (2008)

「哺乳類の匂いに対する行動を先天的に決める神経細胞の発見」

著書

1. 小早川高、小早川令子

「嗅覚系による情動や行動の制御メカニズム」 Annual Review 神経 2011, p35-41 (2011)

2. 小早川高、小早川令子

「匂いに対する先天的な恐怖反応を制御する嗅覚神経回路の発見」

生化学みにれびゅう vol.83, p23-28 (2011)

3. 小早川高、小早川令子

「嗅覚の分子機構」 Clinical Neuroscience, vol.28, p1247-1250 (2010)

4. 小早川高、小早川令子

「匂いに対する情動や行動を先天的に制御する神経回路の発見 - 構造生物学と行動生物学の遠くて近い関係」 入門 構造生物学, p178-184 (2010)

5. 小早川高、小早川令子

「哺乳類の匂いに対する情動を先天的に制御する神経回路の発見」

医学のあゆみ, vol.232, no.1, p53-60 (2010)