

研究成果報告書の概要

講座等名	神経機能部門	事業推進者名	小早川 令子
所属部門	神経部門		
分担研究課題	嗅覚刺激による先天的な恐怖情動の誘発を担う受容体分子の解明		
キーワード	恐怖、先天的、受容体遺伝子、フォワードジェネティクススクリーニング		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	6名		
<p>研究組織（本プロジェクトに参加する研究者、大学院生等のリストおよびそれぞれの役割） 神経機能部門に所属する5名の研究者（松尾朋彦、土井昭宏、伊早坂智子、林勇一郎、小早川高、小早川令子）が本プロジェクトに必要な分子生物学、免疫組織化学、イメージング、行動学の実験を共同で実施した。</p>			
<p>研究成果の概要（平成 29・30 年度の研究成果について） 恐怖は基本的な情動であり、危険な状況において個体の生存を高めるための行動と生理的反応を誘発する。恐怖は先天的と後天的なメカニズムによって誘発される。げっ歯類は、匂い・音・視覚刺激などの条件刺激と電気ショックなどの無条件刺激を関連学習することにより、条件刺激に対してすくみ行動を示す様になることが知られている。これに対して、実験室で飼育されたげっ歯類は、何世代も天敵から隔離された条件で飼育されているにもかかわらず、本能的に天敵を恐れることが知られている。従って、先天的恐怖は進化的に保存され、遺伝的にコードされた生存メカニズムであると考えられる。そこで、我々は、先天的恐怖の分子メカニズムをフォワードジェネティクスにより明らかにすることは実行実現性が高いと考え、これを明らかにするための研究を行った。</p> <p>キツネの分泌物に含まれる TMT は、カイロモンとして最もよく知られており、TMT に未感作のマウスに対して本能的なすくみ行動を誘発することが知られている。TMT に行動が類似した 2MT は、強力な先天的すくみ行動を誘発する匂い分子として、我々の研究室により発見された (Cell 2015)。しかしながら、TMT や 2MT による先天的な恐怖行動の誘発に関与する決定的な分子メカニズムに関しては明らかにされていなかった。そこで、私たちはランダムに変異を導入したマウスから劣勢の変異マウスを大規模にスクリーニングするフォワードジェネティクススクリーニングを行うことで、2MT によって誘発される強力な先天的な恐怖行動を誘発する遺伝子を同定する研究を行なった。</p> <p>我々は、マウスの ENU ミュータジェネシスによる大規模な劣勢変異スクリーニングを行うことで、TMT および 2MT による先天的恐怖行動誘発にかかわる遺伝子の同定を行った。フォワードジェネティクススクリーニングを行う上では、強力なアッセイ系を確立することが不可欠となる。これまで試みられてきた後天的恐怖行動を担う分子のスクリーニングは、後天的恐怖行動にばらつきがあることが技術的に難しかった。これに対して、強力な先天的恐怖を誘発する人工恐怖臭である 2MT によって誘発されるすくみ行動は、学習を必要としないために、操作が簡便であり、TMT によって誘発されるすくみ行動に比較するとはるかに強力で、個体間のばらつきが非常に少ないことから、2MT を用いた行動アッセイ系を用いてフォワードジェネティクススクリーニングを行った。</p> <p>上述した大規模フォワードジェネティクスを用いて 13,222 匹の G3 マウスをスクリーニングし、2MT に対するすくみ行動に異常のある変異マウスを同定した結果、Fearless と名付けた Trpa1 遺伝子が null mutant となっているファミリーで 2MT に対するすくみ行動が顕著に減少した。ENU による Trpa1 の変異が fearless マウスで観察された表現系の異常の単独の原因であることを確認するために、Trpa1 ノックアウトマウスを入手し Trpa1 ノックアウトマウスの表現系の解析を行なった。Trpa1 ノックアウトマウスではヘテロマウスに比較すると 2MT や TMT に対するすくみ行動が完全に消失しており、また 2MT による血中コルチコステロンの上昇がほぼ完全に消失した。また、低濃度の 2MT に対する忌避行動、驚愕反応、リスクアセスメント行動が減少し、蛇の皮によって誘発される各種忌避行動も顕著に減少していた。これらの結果から、Trpa1 遺伝子は匂いによって誘発される先天的な恐怖行動や防御行動に重要な役割を果たすことが示された。</p> <p>Trpa1 は三叉神経に発現することが知られている。そこで、我々は 2MT による先天的すくみ行動の誘発における三叉神経系の関与を明らかにするために三叉神経系の破壊実験を行なった。両側の三叉神経系の破壊を行うとマウスは 2-3 日以内に死亡してしまったことから、片側の破壊を行なった。片側の三叉神経系を破壊したマウスでは、2MT によるすくみ行動が顕著に減少することが明らかになった。逆に、Trpa1 ノックアウトマウスの三叉神経節に Trpa1 を AAV を用いてレスキューすると 2MT に対するすくみ行動が誘発されるようになった。以上の結果から、これまで主に侵害受容に関わると考えられてきた三叉神経経路の Trpa1 が嗅覚による先天的恐怖行動の誘発に主要な役割を果たすことが明らかになった (Nat Comm 2018)。</p>			