

2023 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	マウス触覚嗜好性に関わる神経回路基盤の同定
キーワード	①触覚嗜好性、②神経回路基盤の解明、③マウスの行動実験

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ホリオ カヨ 堀尾 佳世
配付時の所属先・職位等 (令和5年4月1日現在)	藤田医科大学 医学部 生理学 II 助教
現在の所属先・職位等	藤田医科大学 医学部 生理学 II 助教
プロフィール	大学院修士課程ではヒト小児心電図を用いて発育過程における心筋再分極の変動を解析し、博士課程ではマウス網膜アマクリン細胞における電位依存性イオンチャネルへのヒスタミンの影響をパッチクランプ法で解析してきました。その後、出産・育児休暇を経て2021年4月に研究活動を再開し、マウスの社会性行動や嗜好性を司る神経回路の探求に取り組んでいます。

1. 研究の概要

ヒトには肌触りの良いシーツを好むといった触覚に関する好き嫌い(触覚嗜好性)がある。マウスにおいても生得的な触覚嗜好性があると考えられるが、神経メカニズムはよくわかっていない。本研究では、触覚嗜好性の神経回路基盤を解明することを目的として、マウスにおける床テクスチャ嗜好性を検討した。雄マウスに対して粗さの異なる紙やすりを床素材として提示し、場所嗜好性試験を行った結果、雄マウスは P1000 という粗さの紙やすりを好んだ。また神経活性化マーカーである cFos の発現を免疫染色により解析した結果、P1000 紙やすり上での滞在により外側結合腕傍核のニューロンが活性化し、さらに同部位の神経細胞を神経毒により除去すると床テクスチャ嗜好性が消失したことから、外側結合腕傍核に触覚嗜好性の責任ニューロンが存在することが示唆された。雌マウスでも同様の試験を行い、P1000、P2000、P3000 の紙やすりで有意に滞在率が高いことが示された。さらに、Mrgprb4 ニューロンを除去したトランスジェニックマウスを用いた実験では、Mrgprb4 ニューロンの欠如が床テクスチャ嗜好性に影響を与えないことが示唆された。本研究は、触覚嗜好性の神経回路基盤に関する新たな知見を提供し、自閉スペクトラム症(ASD)などの精神疾患における触覚過敏の理解に寄与することを目指している。

2. 研究の動機、目的

ヒトには肌触りの良いシーツを好むといった触覚に関する好き/嫌い(触覚嗜好性)がある。マウスにおいても粗い床面と滑らかな床面での滞在時間を測定した実験で、雌マウスでは滑らかな床面よりも粗い床面を好むことが示されている(Maricich et al., J Neurosci., 2012)ことから、生得的な触覚嗜好性があると考えられる。高等動物では、視覚、聴覚、体性感覚といった感覚は脳皮質の一次感覚野に入力され、情報の内容に応じて選別された後、二次、三次とより高次の感覚野において階層的に処理される。味覚による嗜好性は外側視床下部を介

して制御され (Fu et al., Nat Commun., 2019)、また主観的幸福は右半球の楔前部の灰白質体積と相関がある (Sato et al., Sci Rep., 2015) ことが示されている。しかしながら触覚嗜好性は、皮膚に存在する機械受容器であるメルケル細胞を介した神経ネットワークが関与していることは分かっているが (Maricich et al., J Neurosci., 2012; Maksimovic et al., Nature., 2014)、触覚情報を触覚嗜好性へつなげる神経回路基盤は解明されていない。

3. 研究の結果

(1) 床テクスチャ嗜好性試験

マウスが好む床の質感を探索するために、雄マウスに粗さの異なる4種類 (P40、P400、P1000、P2000; 図1.A) の紙やすりを床素材として提示し、3部屋測定ケージを用いて場所嗜好性試験を行った。赤外線カメラにより記録した映像 (図1.B) を行動解析ソフトウェア DeepLabCut により解析した。3部屋を領域で分けて滞在フレーム数から滞在率を算出したところ (図1.C)、アクリル床と比較してP1000紙やすり床で有意に滞在率が高かった (図1.D)。

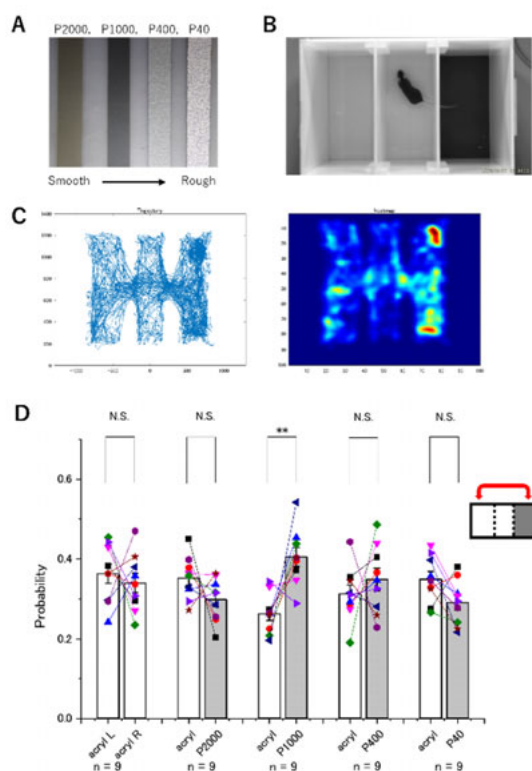


図1. 床テクスチャ嗜好性試験 A) 3部屋測定ケージ B) 粒度の異なる紙やすり C) 15分間の軌跡例 左アクリル床、右P1000床 D) 平滑床と紙やすり床での滞在率の比較 Paired t-test, ** $P < 0.01$, $n = 9$

(2) 床テクスチャ嗜好性関連神経の探索

アクリル床で自由行動をさせたマウスとP1000床で自由行動させたマウスの脳スライス切片を用いて、神経活性化マーカーであるcFosの発現を免疫染色により解析した。外側結合腕傍核中央部でP1000床条件でのcFos発現細胞が増加したことから、P1000紙やすり上での滞在により外側結合腕傍核のニューロンが活性化することが示唆された (図2.A-E)。そこで両側の外側結合腕傍核に神経毒であるイボテン酸 (10 mg/mL, 両側 4 nL) を注入して同部位の神経細胞を除去したところ、P1000床に対する場所嗜好性が消失した (図2.F, G)。

さらに、Gタンパク質共役型受容体であり無髄の感覚ニューロン (C-触覚求心線維) に発現しているMrgprb4を、ジフテリア毒素Aで除去したMrgprb4-Cre^{+/+};LSL-DTA^{+/+}マウスを用いた実験を行った。しかしながらコントロールとして記録したMrgprb4-Cre^{-/-};LSL-DTA^{+/+}マウスでP1000への嗜好性が消失しており、野生型マウスと同等の結果が得られなかったため実験条件を再検討する必要が出

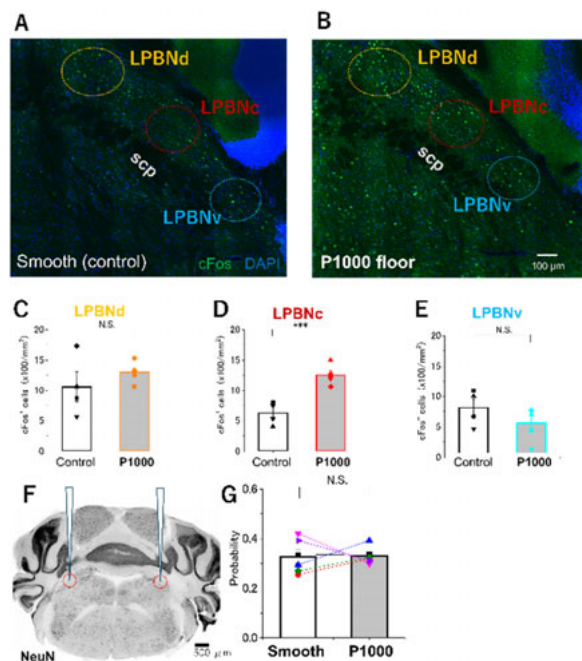


図2. cFos免疫染色 A) アクリル床で自由行動をしたマウスの試料 外側結合腕傍核部分を背側 LPBNd: 橙、中央 LPBNc: 赤、腹側 LPBNv: 青 に分けて、cFos免疫陽性細胞数を測定 (scp: superior cerebellar peduncle, 小上脳脚; 緑: cFos免疫陽性細胞, 青: DAPI陽性細胞) B) P1000床で自由行動をしたマウスの試料 Bar = 100 μ m C~E) アクリル床 (control, $n = 4$) とP1000床 ($n = 5$) でのcFos免疫陽性細胞数の比較 T-test, *** $P < 0.001$

外側結合腕傍核 破壊実験 F) 神経毒 (イボテン酸) の局所注入後のNeuN免疫染色 (NeuN: neuronal nuclei, 神経細胞マーカー) G) イボテン酸注入マウスでの床テクスチャ嗜好性試験結果 Paired t-test, $P = 0.932$, $n = 6$

てきた。

(3) 雌マウスでの床テクスチャ嗜好性試験

そこで、雌マウスでの実験の再構築を行った。雄マウス同様に粗さの異なる紙やすりを提示し、床テクスチャ嗜好性試験を行ったところ、P1000、P2000、P3000 でアクリル床と比較して有意に滞在率が高い結果を得た (図 3. A)。また有意に滞在率の高かった P2000 と有意差のなかった P40 を比較した実験も行った。P40 床と比較して P2000 床での滞在率は有意に高かった。

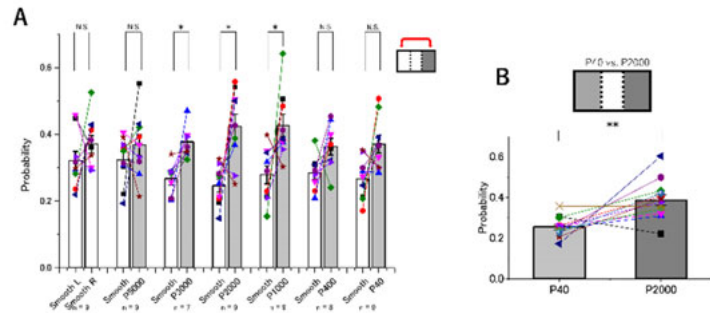


図 3. 雌マウスでの床テクスチャ嗜好性実験 A) 雌マウスでの床テクスチャ嗜好性試験結果 Paired t-test, * $P < 0.05$ B) 異なる粒度に対する嗜好性試験結果 ** $P < 0.01$, $n = 13$

(4) トランスジェニックマウスへの応用試験

雄マウスでは再現性が得られなかったトランスジェニックマウスへの応用も、雌マウスで行った。Mrgprb4-Cre^{-/-};LSL-DTA^{+/-}雌マウスにおけるP2000床に対する嗜好性を試験したところ、野生型マウスと同様にアクリル床よりもP2000床での滞在率が有意に高かった (図4. A)。さらにMrgprb4-Cre^{+/-};LSL-DTA^{+/-}雌マウスにおける嗜好性も同様の結果となった (図4. B)。この結果は、MrgprB4ニューロンは有毛皮膚をなでることに反応するものであるため、このニューロンを除去しても床テクスチャの嗜好性には影響しないという仮説にも合致した。

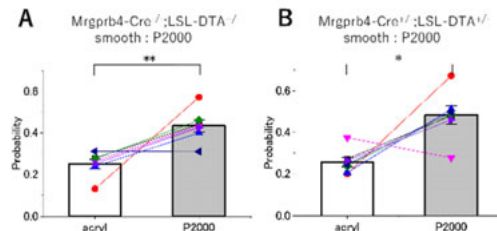


図 4. Mrgprb4-Cre;LSL-DTA 雌マウスでのP2000床テクスチャ嗜好性試験 A) Mrgprb4-Cre^{-/-};LSL-DTA^{-/-} マウスでの嗜好性試験結果 Paired t-test, ** $P < 0.01$, $n = 7$ B) Mrgprb4-Cre^{+/-};LSL-DTA^{+/-} マウスでの嗜好性試験結果 * $P < 0.05$, $n = 7$

4. 研究者としてのこれからの展望

自閉スペクトラム症 (ASD; Autism Spectrum Disorder) は社会的コミュニケーションや他人との関りが困難であったり、興味や活動が偏ったりといった特徴を持つ神経発達障害であり、ASD 患者の多くに共通してみられる病態として触覚知覚異常がある。他の発達障害の患者と比較しても触覚に敏感であることが多く (Wiggins et al., J. Autism Dev. Disord., 2009)、また ASD の重症度と触覚知覚異常には高い相関がみられる (Mammen et al., Infant Ment. Health J., 2015)。以上のことから本研究のように触覚嗜好性の神経回路基盤を解明することで、ASD だけでなく統合失調症など触覚過敏が認められる精神疾患の触覚嗜好性の変化をコントロールし、患者の QOL 向上の一助となることを期待し、今後も邁進していく。

5. 支援者 (寄付企業等や社会一般) 等へのメッセージ

この度は、本研究に対しご支援を賜り、誠にありがとうございます。ご厚意に心より感謝申し上げます。皆様からのご支援のおかげで本研究を一層深化させ、新たな知見を得るための重要な一步を踏み出すことが出来ました。今回のご寄付は研究の推進にとって非常に大きな励みとなります。今後も皆様のご期待に沿えるよう、研究活動に全力を尽くし、社会に貢献できる成果を生み出せるよう、一層精進してまいります。引き続きよろしくお願いいたします。

