

捕食者の臭いを感知し、本能的な恐怖を惹起する新規臭いセンサーの発見 ～なぜ、マウスは捕食者の臭いを「学習」する必要がないのか～

研究成果のポイント

1. 遺伝子にランダムな突然変異を起こさせたマウスをスクリーニングするフォワード・ジェネティクス^{注1}により、捕食者の臭いに対する本能的な恐怖行動の減弱(減少)を示すマウス家系 *Fearless* を発見しました。
2. *Fearless* 家系では、刺激性化学物質や温度のセンサーとして知られている *Trpa1* 遺伝子に変異があることを見いだしました。
3. TRPA1 タンパク質は、古典的な嗅覚系ではなく、ワサビなどの刺激臭を感知する体性感覚系(三叉神経系)を介すことで、捕食者の臭いを感知するセンサーとして機能し、恐怖行動を引き起こすことが明らかになりました。

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 Qinghua Liu 教授および柳沢正史機構長/教授らが率いる国際的な研究グループは、フォワード・ジェネティクスにより、捕食者の臭いに対する恐怖行動が減弱したマウス家系 *Fearless* を発見し、その原因遺伝子変異が *Trpa1* 遺伝子にあることを見つけ、さらにはその神経基盤を明らかにしました。

本能的な恐怖は、動物が危険を回避しその身を守るために必要不可欠な情動ですが、そのメカニズムは全くわかっていません。本研究グループは、本能的な恐怖を誘発する遺伝子を見つけるために、遺伝子にランダムな突然変異が加えられたマウスの中から注目する表現型を見つけるフォワード・ジェネティクスを用いました。マウスは捕食者の臭い成分に対して強い恐怖行動を示します。そこで、その類似物質である 2-メチル-2-チアゾリン(2MT)を用いてスクリーニングを行いました。その結果、2MT に対する本能的な恐怖行動が減弱した *Fearless* 家系の樹立に成功し、そのマウスでは刺激性化学物質や温度のセンサーとして知られる *Trpa1* 遺伝子に変異があることを発見しました。さらに研究グループは、三叉神経節(体性感覚系)の TRPA1 タンパク質を発現している神経細胞が 2MT のセンサーとして働き、恐怖行動を引き起こしていることを明らかにしました。これまで、捕食者の臭いによる恐怖行動の誘発は嗅覚系を介していると考えられてきました。したがって、本研究グループが明らかにした三叉神経系を介した恐怖行動の誘発は、これまでの概念を覆す発見です。

マウスにおけるフォワード・ジェネティクスは、従来、ヒトの生理や病気のメカニズムを明らかにするために有効なアプローチです。本研究では同手法を用いて、捕食者の臭いに対して本能的な恐怖行動を引き起こす分子メカニズムについて明らかにしたことから、その他の本能的な行動を解き明かす上でも有効な戦略であると考えられます。

本研究は、筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構(WPI-IIIIS)、関西医科大学、北京生命科学研究所、University of Texas Southwestern Medical Center、東邦大学、Tsinghua University による共同研究として行なわれました。

本研究の成果は、5月23日(日本時間23日午後6時)に *Nature Communications* 誌オンライン版で公開されます。

研究の背景

恐怖は、厳しい自然環境の中で、動物が危険を回避しその身を守るために必要不可欠な情動です。恐怖情動のなかでも学習によらずに生得的に備わっているものは本能的な恐怖情動だと考えられます。たとえば、研究室で飼育されているマウスは、生まれてから一度もヘビやキツネに出合ったことがないにも関わらず、これらの動物の臭いに対して本能的に恐怖行動を示します。このことから、本能的な恐怖情動は、遺伝子もしくは脳内に深く刻み込まれていると考えられます。しかし、この本能的な恐怖情動がどのようにして誘発されるのか、その分子・神経基盤は全くわかっていませんでした。本研究グループでは、フォワード・ジェネティクスにより、捕食者の臭いに対する恐怖行動を示さないマウス家系 *Fearless* を発見しました。そしてその原因遺伝子が *Trpa1* 遺伝子であること見だし、さらにはその神経基盤を明らかにしました。

研究内容と成果

今回の研究では、マウスが本能的に恐怖を感じる臭い物質を用いて、異常な行動を示すマウスを探し出し、樹立したマウス家系からその原因遺伝子変異を同定し、どのようなしくみで恐怖行動を引き起こすかを調べました。

本能的な恐怖行動に異常を示すマウス家系を樹立するため、化学変異原であるニトロソウレア(ENU)を雄マウスに投与し、精子に多数のランダム遺伝子変異を生じさせました。この雄マウスを野生型雌マウスと交配し、さらに孫世代を作ることにより、変異が入った13,222匹(632家系)を生産し、それぞれの個体において恐怖行動を観察しました。この実験では、キツネの臭い成分の類似物質であり、マウスがその臭いをかぐと、すくんで動けなくなること(すくみ行動)が知られている 2-メチル-2-チアゾリン(2MT)を使用し、表現型のスクリーニングを行いました。その結果、2MT に対してすくみ行動をほとんど起こさない家系を発見し、*Fearless* 家系と命名しました。

この *Fearless* 家系において、すくみ行動を起こさない表現型に連鎖する染色体領域を絞り込み、全エクソームシーケンシング^{注2} による責任遺伝子の同定を行いました。その結果、*Fearless* マウスでは、刺激性化学物質や温度のセンサーとして知られる *Trpa1* 遺伝子に変異があることを見いだしました。次に、*Trpa1* 遺伝子が恐怖行動に関与しているかを確かめるために、*Trpa1* 遺伝子を持たないノックアウトマウスを作成しました。そのマウスでは、健康状態に異常がないにも関わらず、2MT をかいたときのすくみ行動が減少していました。さらに、*Trpa1* ノックアウトマウスでは、ヘビのぬげがらに対するすくみ行動の減少も観察されました。これらのことから、*Trpa1* は本能的な恐怖行動を引き起こすために重要な遺伝子であることが明らかになりました。

より詳細なメカニズムを調べるために、恐怖やストレス刺激をうけたときに活性化する脳内の扁桃体中心核(CeA)および中脳水道周囲灰白質(PAG)の神経活動を組織化学的に解析しました。2MT を与えたときに、野生型マウスの CeA および PAV は活性化するのに対し、*Trpa1* ノックアウトマウスでは、ほとんど変化がありませんでした。このことから、*Trpa1* 遺伝子はマウスの恐怖情動やストレス反応を制御する脳領域を活性化するために重要であると考えられます。また、研究グループは、*Trpa1* ノックアウトマウスの嗅覚や、学習による恐怖反応について調べましたが、これらの機能には異常が見られませんでした。

TRPA1 タンパク質は刺激臭を感知する受容体として知られています。そこで TRPA1 が 2MT の化学センサーとして機能しているかを調べるために培養細胞を用いて実験を行ったところ、TRPA1 は 2MT の直接的な化学センサーとして働いていることがわかりました。一方で、ヒトの TRPA1 は 2MT を感知しませんでした。このことから、マウスの TRPA1 を介した 2MT による恐怖行動の誘発は、種に特有のシステムであると考えられます。次に、マウスの本能的な恐怖行動を引き起こす 2MT の感覚野を探索しました。本研究グループは、古典的な嗅覚系ではなく、鼻腔と直接的に神経がつながり、ワサビなど刺激物に対する受容体が存在する体性感覚系(三叉神経節)に注目しました。

野生型マウスの三叉神経細胞は 2MT により活性化したのに対し、*Trpa1* ノックアウトマウスでは、そのような活性化が認められませんでした。さらに、片側の三叉神経節を人為的に損傷することにより、2MT による恐怖行動の減少が認められました。また、*Trpa1* ノックマウスにおいて、三叉神経細胞で人為的に *Trpa1* を発現させると、そのマウスは 2MT に対して恐怖行動を示すようになりました。これらの結果から、三叉神経細胞に存在する TRPA1 が 2MT のセンサーとして働き、恐怖行動を引き起こしていることが明らかとなりました。

今後の展開

マウスにおけるフォワード・ジェネティクスは、従来、ヒトの生理や病気のメカニズムを明らかにするために有効なアプローチです。本研究では同手法を用いて、捕食者による臭いに対して本能的な恐怖行動を引き起こす分子メカニズムについて明らかにしたことから、その他の本能的な行動を解き明かす上でも有効な戦略であると考えられます。

参考図



図 1 本研究では、ランダムな突然変異を生じさせたマウスのなかから注目する表現型を見つけ、その原因遺伝子を探索するフォワード・ジェネティクスを採用した。

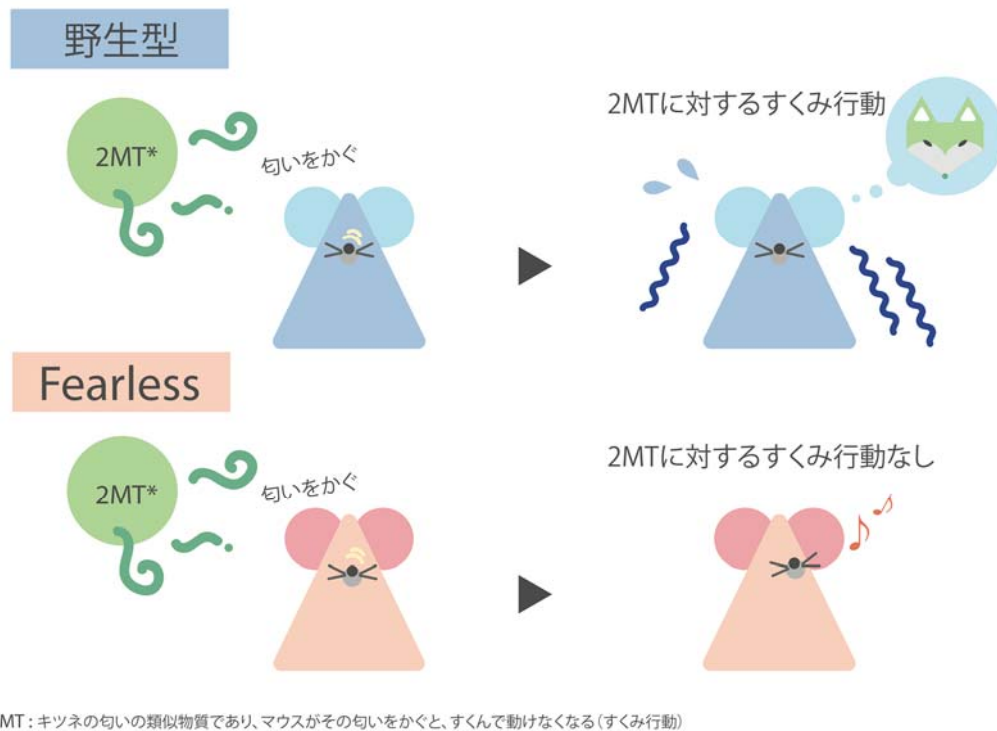


図2 フォワード・ジェネティクスにより樹立した *Fearless* 家系では、捕食者であるキツネの臭いの類似物質(2MT)をかいたときの本能的な恐怖行動が減弱(減少)していた。

用語解説

1) フォワード・ジェネティクス

ランダムな遺伝子変異が生じた実験生物を多数つくり、その中から注目する性質や表現型をもつ個体の遺伝子型を調べていく方法。

2) 全エクソームシーケンシング

タンパク質をコードしているDNAの領域はエクソンと呼ばれる。全エクソームシーケンシングとは、ゲノム上のすべてのエクソン領域(エクソーム)について網羅的にDNA塩基配列を解析する方法である。ヒトやマウスでは参照できるゲノム配列が公表されているため、これらを比較することで、どの遺伝子に変異があるのか検出できる。

掲載論文

【題名】 Large-scale forward genetics screening identifies *Trpa1* as a chemosensor for predator 2-evoked innate fear behaviors

(大規模フォワード・ジェネティクスにより、捕食者の臭いによる恐怖行動を引き起こす *Trpa1* を発見)

【著者名】 Yibing Wang, Liqin Cao, Chia-Ying Lee, Tomohiko Matsuo, Kejia Wu, Greg Asher, Lijun Tang, Tsuyoshi Saitoh, Jamie Russell, Daniela Klewe-Nebenius, Li Wang, Shingo Soya, Emi Hasegawa, Yoan Chérasse, Jiamin Zhou, Yuwenbin Li, Tao Wang, Xiaowei Zhan, Chika Miyoshi, Yoko Irukayama, Jie Cao, Julian P. Meeks, Laurent Gautron, Zhiqiang Wang, Katsuyasu Sakurai, Hiromasa Funato, Takeshi Sakurai, Masashi Yanagisawa, Hiroshi Nagase, Reiko Kobayakawa, Ko Kobayakawa, Bruce Beutler, Qinghua Liu

【掲載誌】 *Nature Communications*

DOI: 10.1038/s41467-018-04324-3

問合わせ先

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構(WPI-IIS)広報連携チーム

住所 〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1 睡眠医科学研究棟

E-mail wpi-iis-alliance@ml.cc.tsukuba.ac.jp

電話 029-853-5857