

令和 元年 6 月 5 日現在

機関番号： 15301

研究種目： 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間： 2016～2018

課題番号： 15KK0257

研究課題名（和文）性機能を司る脳 - 脊髄神経ネットワークにおける非シナプスの神経制御メカニズムの解明
（国際共同研究強化）研究課題名（英文）Oxytocin and the gastrin-releasing peptide system in the lumbar spinal cord
(Fostering Joint International Research)

研究代表者

坂本 浩隆 (Hiroataka, Sakamoto)

岡山大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号： 20363971

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,000,000円

渡航期間： 6ヶ月

研究成果の概要（和文）：研究代表者が英国オックスフォード大学へ渡航・滞在し、現在の国際共同研究の基盤を構築した。その間、オックスフォード滞在中に研究会を通じて既知となった、同大 Antony Galione 教授（分子薬理学）と共同し、神経内分泌機構の分子メカニズム解明に関する国際共同研究も新たに起ち上げた。これまでの日英共同研究基盤に加えて、本国際共同研究の発展によりグローバル研究ネットワークの構築に拍車をかけることができた。また、米国エモリー大学へも研究代表者が渡航、2週間滞在し、Larry J. Young 教授と国際共同研究に関する打合せを行い、今後の日米国際共同研究の実施方針についても議論した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本国際共同研究は、雄ラットの性機能を司る神経回路系における機能・分子メカニズムの解明を目指して遂行した。特に、下垂体後葉ホルモン（オキシトシン）のエキソサイトーシス機構に着目して、分子・細胞機能から個体レベルまで多角的にグローバル研究展開した。

研究代表者の坂本が、それぞれの海外研究機関（英国オックスフォード大学、および米国エモリー大学）に直接出向くことで、各機関・各階層での特性を活かしつつ、それらのピース（成果）をはめ込むことにより効率よく研究を推進することができた。結果として、グローバル研究ネットワークを構築し、国際共同研究の基盤形成・加速することに成功した。

研究成果の概要（英文）：Although this study was mainly based on the UK-Japan collaboration, we would like to try forming a global research network for the purpose of technical exchanges. The advanced ultrastructural (electron microscopy; EM) analyses were performed under the supervision of Professor John F. Morris (University of Oxford, UK, Ultrastructural Neuroanatomy). In addition, analyses for CD38-related, cellular Ca²⁺ influx and FRET imaging were performed under the supervision of Professor Antony Galione (University of Oxford, UK, Molecular Pharmacology). Optogenetics and chemogenetics behavioral analyses were performed under the supervision of Professor Larry J. Young (Emory University, USA, Behavioral Neuroendocrinology). In this study, we analyzed that release of oxytocin in the lumbar spinal cord is not limited to synapses, but occurs from axonal varicosities and acts by diffusion - a localized volume transmission - to reach oxytocin receptors and facilitate male sexual function.

研究分野： 神経内分泌学

キーワード： 脳-脊髄神経ネットワーク 神経内分泌 ガストリン放出ペプチド オキシトシン

1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまでに、脊髄に存在するガストリン放出ペプチド（GRP）系が雄優位な性的二型を示し、雄の性機能を脊髄レベルで制御することを報告してきた。本研究では、この新規に見出した性機能を司る神経回路システムと脳との機能的・器質的結びつきについて解析する。特に、脳が合成する下垂体後葉ホルモンのひとつ、オキシトシンの脊髄における作用に着目した解析を進める。その過程で中枢神経系において「ペプチド性シグナル分子の作用部位がシナプス構造に必ずしも限局する必要がない」、という興味深い現象を明らかにしつつある。

2. 研究の目的

本研究では国際共同研究を広く展開し、シナプスを介さない従来とは全く異なる極めて独創的な概念：ニューロン-ニューロン間コミュニケーションにおいて、シナプスを介さず傍分泌的に作用するという革新的な生命原理 *volume transmission* 機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

英国オックスフォード大学 John F. Morris 教授が既に脳ニューロンおよび下垂体後葉において確立している「エキソサイトーシス誘発実験技法」を脊髄に応用することを試みた。これらの予備的な解析は国内で予め行い、渡航後の研究進展の効率化を図った。研究代表者が約 6 ヶ月間オックスフォードへ滞在し、John F. Morris 教授のご指導の下、エキソサイトーシスの立体的な電顕解析に関する解析を行った。さらに、研究代表者が約 2 週間米国エモリー大学へ滞在し、Larry J. Young 教授と国際共同研究に関する打合せ、および予備的な解析を行った。

4. 研究成果

本国際共同研究強化の一環で、研究代表者が英国オックスフォード大学へ渡航・滞在し、現在の国際共同研究の基盤を構築してきた。その間、オックスフォード滞在中に研究会を通じて既知となった、同大 Antony Galione 教授（分子薬理学）と共同し、神経内分泌機構の分子メカニズム解明に関する国際共同研究も新たに起ち上げた。これまでの日英共同研究基盤に加えて、本国際共同研究の発展によりグローバル研究ネットワークの構築に拍車をかけることができた。また、米国エモリー大学へも研究代表者が渡航、2 週間滞在し、Larry J. Young 教授と国際共同研究に関する打合せを行い、今後の日米国際共同研究の実施方針についても議論した。なお、これらの得られた成果の一部に関しては、現在学術論文として国際誌へ投稿中である。

5. 主な発表論文等

（研究代表者は下線）

〔雑誌論文〕（計 11 件）

- (1) Oti T, Takanami K, Ito S, Ueda T, Matsuda KI, Kawata M, Soh J, Ukimura O, Sakamoto T, Sakamoto H. Effects of sex steroids on the spinal gastrin-releasing peptide system controlling male sexual function in rats. *Endocrinology* 159: 1886-1896, 2018. (査読あり) DOI: doi:10.1210/en.2018-00043.
- (2) Kamishima M, Hattori T, Suzuki G, Matsukami H, Komine C, Horii Y, Watanabe G, Oti T, Sakamoto H, Soga T, Ishwar S, Parhar IS, Kondo Y, Takigami H, Kawaguchi M. Early-life exposure to Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate (TDCIPP) induces dose-dependent suppression of sexual behavior in male rats. *Journal of Applied Toxicology* 38: 649-655, 2018. (査読あり) DOI: 10.1002/jat.3569.
- (3) Luo Y-J, Kanda M, Koyanagi R, Hisata K, Akiyama T, Sakamoto H, Sakamoto T, Satoh N. Nemertean and phoronid genomes reveal lophotrochozoan evolution and the origin of bilaterian head. *Nature Ecology & Evolution* 2: 141-151, 2018. (査読あり) DOI: 10.1038/s41559-017-0389-y.
- (4) Ito T, Oti T, Takanami K, Satoh K, Ueda Y, Sakamoto T, Sakamoto H. A sexually dimorphic peptidergic system in the lower spinal cord controlling penile function in non-human primates. *Spinal Cord* 56: 57-62, 2018. (査読あり) DOI: 10.1038/sc.2017.105.
- (5) Thomas AL, Maekawa F, Kawashima T, Sakamoto H, Sakamoto T, Davis P, Dores RM. 2018 Analyzing the effects of co-expression of chick (*Gallus gallus*) melanocortin

receptors with either chick MRAP1 or MRAP2 in CHO cells on sensitivity to ACTH(1-24) or ACTH(1-13)NH₂: implications for the HPA axis and melanocortin circuits in the hypothalamus of the chick. *General and Comparative Endocrinology*, 256: 50-56, 2018 (査読あり) DOI: 10.1016/j.ygcen.2017.09.002.

- (6) Sakamoto T, Yoshiki M, Sakamoto H. Induced glucocorticoid receptor in CNS but not in other organs of mineralocorticoid-receptor knockout medaka *Scientific Data*, 4: 170189, 2018 (査読あり) DOI: 10.1038/sdata.2017.189.
- (7) Takayanagi Y, Yoshida M, Takashima A, Takanami K, Yoshida S, Nishimori K, Nishijima I, Sakamoto H, Yamagata T, Onaka T. Activation of supraoptic oxytocin neurons by secretin facilitates social recognition. *Biological Psychiatry* 81: 243-251, 2017.(査読あり) DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.11.021.
- (8) Tamura K, Kobayashi Y, Hirooka A, Takanami K, Oti T, Jogahara T, Oda SI, Sakamoto T, Sakamoto H. Identification of the sexually dimorphic gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord that controls male reproductive function in the mouse and Asian house musk shrew (*Suncus murinus*). *Journal of Comparative Neurology*, 525: 1586-1598, 2017.(査読あり) DOI: 10.1002/cne.24138.
- (9) Oti T, Takanami K, Katayama N, Edey T, Satoh K, Sakamoto T, Sakamoto H. Perinatal testosterone exposure is critical for the development of the male specific sexually dimorphic gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord that mediates erection and ejaculation. *Biology of Sex Differences*, 7(4): 1-10, 2016.(査読あり) DOI: 10.1186/s13293-016-0058-x. eCollection 2016
- (10) Katayama N, Oti T, Takanami K, Sakamoto T, Sakamoto H. Postnatal development of the gastrin-releasing peptide system in the lumbosacral spinal cord controlling male reproductive function in rats. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.*, 92: 69-75, 2016.(査読あり) DOI: 10.2183/pjab.92.69
- (11) Sakamoto T, Yoshiki M, Takahashi H, Yoshida M, Ogino Y, Ikeuchi T, Nakamachi T, Konno N, Matsuda K, Sakamoto H. Principal function of mineralocorticoid signaling suggested by constitutive knockout of the mineralocorticoid receptor in medaka fish. *Scientific Reports*, 6, 37991, 2016.(査読あり) DOI: 10.1038/srep37991

〔学会発表〕(計 39 件)

- (1) Sakamoto H. Brain-spinal cord neuronal network controlling male sexual behavior. (in Neuroendocrine basis of development of neural networks for sex-specific behavior). The Third Sino-Japan session: Symposium on the Frontier of Behavioral Neuroendocrinology. Tsukuba, Japan, 20-22 March, 3/20~22/2019
- (2) Kobayashi A, Matsukawa Y, Hamada M, Tsutsui N, Sakamoto T, Sakamoto H. Platylocin: Discovery of the ancestral neurohypophyseal hormone from Platyhelminthes. The Third Sino-Japan Symposium on the Frontier of Behavioral Neuroendocrinology. Tsukuba, Japan, 20-22 March, 3/20~22/2019
- (3) Ueda R, Nagafuchi J, Oti T, Sakamoto T, Sakamoto H. Effects of copulatory experience on neural circuits expressing oxytocin-oxytocin receptor system in male rats. The Third Sino-Japan Symposium on the Frontier of Behavioral Neuroendocrinology. Tsukuba, Japan, 20-22 March, 3/20~22/2019
- (4) 越智拓海、歌 大介、永淵詢大、津田 誠、坂本竜哉、坂本浩隆 雄の性行動を調節する脳-脊髄神経回路系の *in vivo* 神経生理学的解析 第 45 回日本神経内分泌学会学術集会 東京 2018 年 10 月 21~22 日
- (5) 永淵詢大、越智拓海、坂本竜哉、坂本浩隆 雄ラットの性行動に関わるオキシトシン受容体ニューロン系の解析 第 45 回日本神経内分泌学会学術集会 東京 2018 年 10 月 21~22 日
- (6) 野村 黎、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆 ラット内側視索前野において雄の性行動を司る神経回路系の解析 第 45 回日本神経内分泌学会学術集会 東京 2018 年 10 月 21~22 日

- (7) 坂本浩隆 雄の性行動を司る分子神経解剖．京都府立医科大学 大学院特別講義，招待講演，京都 2018年10月19日
- (8) 松川祐大、濱田麻友子、筒井直昭、吉田真明、関口俊男、坂本竜哉、坂本浩隆 扁形動物ヒラムシを用いた原始バソプレシンの作用機構の解明 日本動物学会第89回大会 札幌 2018年9月13~14日(震災のため誌面開催)
- (9) 藤山大輝，廣岡あすか，高浪景子，坂本竜哉，坂本浩隆 魚類メダカから探るガストリン放出ペプチド系の機能進化～痒みに着目して 日本動物学会第89回大会 札幌 2018年9月13~14日(震災のため誌面開催)
- (10) 高橋望史，平野 誠，筒井直昭，濱田麻友子，吉田真明，関口俊男，坂本竜哉，坂本浩隆 原始左右相称動物扁形動物ヒラムシにおける生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンおよび受容体の解析 日本動物学会第89回大会 札幌 2018年9月13~14日(震災のため誌面開催)
- (11) 小林 蒼、濱田麻友子、筒井直昭、坂本竜哉、坂本浩隆 扁形動物ヒラムシのキノコ体様構造から探る高次中枢機能の起源 日本動物学会第89回大会 札幌 2018年9月13~14日(震災のため誌面開催)
- (12) 越智拓海、熊谷亮子、永淵詢大、近藤保彦、津田 誠、坂本竜哉、坂本浩隆 性経験が雄の性機能を制御する脊髄 GRP ニューロン系に与える影響 第29回日本行動神経内分泌研究会 神奈川 2018年8月5~7日
- (13) 永淵詢大、越智拓海、坂本竜哉、坂本浩隆 雄の性機能を司る脳領域におけるオキシトシン受容体ニューロン系の解析 第29回日本行動神経内分泌研究会 神奈川 2018年8月5~7日
- (14) 野村 梨、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆 ラット内側視索前野における雄の性行動を制御する神経回路系の解明 第29回日本行動神経内分泌研究会 神奈川 2018年8月5~7日。
- (15) 大坪秋人、綿部崇久、佐藤慧太、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆 マウス脳におけるエストロゲン受容体 を可視化する試み 第29回日本行動神経内分泌研究会 神奈川 2018年8月5~7日
- (16) Sakamoto H. The peptidergic control circuit for male sexual behavior in rats. 第41回日本神経科学大会(2018年度)公募シンポジウム「Expressing love and hate: Neural mechanisms controlling pathos」, 神戸 2018年7月26~29日
- (17) Takanami K, Murata K, Sakamoto T, Sakamoto H. Ultrastructural analysis of the peptidergic neurons mediating itch sensation. 9th International Congress of Neuroendocrinology. Toronto, Canada, 7/15~18/2018
- (18) Morishita M, Takanami K, Sakamoto T, Sakamoto H. Effects of chronic corticosterone administration on male sexual function and itch sensation in rats. 9th International Congress of Neuroendocrinology. Toronto, Canada, 7/15~18/2018
- (19) Sakamoto H. Central control of sexual function and behavior in male rats. The 2005th Biological Symposium 国立遺伝学研究所, 招待講演, 三島 2018年6月22日
- (20) 藤山大輝，廣岡あすか，高浪景子，坂本竜哉，坂本浩隆 魚類にも体性感覚はあるのか～メダカで検証する試み 生物系三学会中国四国支部大会(第70回動物学会中国四国支部会) 高知 2018年5月12~13日
- (21) 高橋望史，平野 誠，筒井直昭，濱田麻友子，吉田真明，関口俊男，坂本竜哉，坂本浩隆 原始左右相称動物扁形動物ヒラムシから探る生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンの機能進化 生物系三学会中国四国支部大会(第70回動物学会中国四国支部会) 高知 2018年5月1~13日
- (22) 高浪景子，伊藤隆志，越智拓海，小林靖尚，佐藤慧太，上田康雅，坂本竜哉，坂本浩隆 霊長類二ホンザルにおける Gastrin-releasing peptide 神経系の機能局在 第123回日本解剖学会総会・学術集会 東京 2018年3月28~30日
- (23) 坂本浩隆，佐藤慧太，高浪景子，大坪秋人，坂本竜哉，John F. Morris コペプチンからバソプレシン遺伝子の転写-翻訳-プロセッシングを解析する試み 第44回日本神経内分泌学会学術集会 神奈川 2017年10月21~22日

- (24) 永淵詢大, 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆 オキシトシン受容体-関連遺伝子改変ラットを用いた性行動調節に関わる神経回路系の解析 第44回日本神経内分泌学会学術集会 神奈川 2017年10月21~22日
- (25) 永淵詢大, 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆 先端的遺伝子改変ラットを用いてオキシトシン受容体の中枢機能を解析する試み 日本動物学会第88回大会 富山 2017年9月21~23日
- (26) 松川祐大, 平野 誠, 濱田麻友子, 筒井直昭, 吉田真明, 坂本竜哉, 坂本浩隆 原始左右相称動物・扁形動物ヒラムシにおける神経内分泌系: バソプレシンと神経ペプチドY 日本動物学会第88回大会 富山 2017年9月21~23日
- (27) 越智拓海, 高浪景子, 松田賢一, 河田光博, 坂本竜哉, 坂本浩隆 蛍光タンパク質 Venus 導入ラットを用いた雄の性機能を司る脊髄神経回路系の解析 日本アンドロロジー学会 第36回学術大会 岡山 2017年6月30日~7月1日
- (28) 森下 誠, 高浪景子, 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆 慢性ストレスは男性の性機能障害とかゆみ感覚の過敏を引き起こす 生物系三学会中国四国支部大会(第69回動物学会中国四国支部会) 高知 2017年5月13~14日
- (29) 永淵詢大, 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆 オキシトシン受容体の中枢機能解明を目指した先端的遺伝子改変ラットの作出 生物系三学会中国四国支部大会(第69回動物学会中国四国支部会) 高知 2017年5月13~14日
- (30) 松川祐大, 平野 誠, 濱田麻友子, 筒井直昭, 坂本竜哉, 坂本浩隆 原始左右相称動物・扁形動物ヒラムシにおけるバソプレシン・神経ペプチドYの起源 生物系三学会中国四国支部大会(第69回動物学会中国四国支部会) 高知 2017年5月13~14日
- (31) 高浪景子, 歌 大介, 松田賢一, 河田光博, 坂本竜哉, 坂本浩隆 ホルモンによる知覚調節への影響 第27回日本行動神経内分泌研究会 岡山 2017年4月28~30日
- (32) 松川祐大, 平野 誠, 濱田麻友子, 筒井直昭, 坂本竜哉, 坂本浩隆, 生体制御の要、神経ペプチド系の起源: 原始左右相称動物扁形動物ヒラムシのバソプレシン・神経ペプチドY 第27回日本行動神経内分泌研究会 岡山 2017年4月28~30日。
- (33) 森下 誠, 高浪景子, 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆 慢性ストレスによる雄の性機能と痒み感覚への影響の解析 第27回日本行動神経内分泌研究会 岡山 2017年4月28~30日
- (34) 永淵詢大, 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆 遺伝子改変ラットを用いてオキシトシン受容体ニューロンを解析する試み 第27回日本行動神経内分泌研究会 岡山 2017年4月28~30日
- (35) 高浪景子, 佐藤慧太, 河田光博, 坂本竜哉, 坂本浩隆, 免疫電子顕微鏡法による痒みの神経回路網解析, 日本解剖学会第71回中国・四国支部学術集会, 2016年10月22日~2016年10月23日, 岡山大学鹿田キャンパス, 岡山
- (36) 坂本浩隆(招待講演), 行動を司る時・空間的神経内分泌制御メカニズム, 企画シンポジウム「全身に作用する神経内分泌機構~時間・空間の調節と制御~, 第43回日本神経内分泌学会学術集会, 2016年10月14日~2016年10月15日, アクトシティ浜松, 浜松
- (37) 坂本浩隆(招待講演), 雄の性機能を司る神経内分泌系の解析(川上賞受賞講演)第43回日本神経内分泌学会・学術集会, 2016年10月14日~2016年10月15日, アクトシティ浜松, 浜松
- (38) 坂本浩隆, 佐藤慧太, 高浪景子(招待講演), 分子・神経内分泌動態の組織細胞化学的可視化, シンポジウム3「組織化学を用いた神経系研究のup-date», 第57回日本組織細胞化学会総会・学術集会, 2016年9月3日~2016年9月4日, 杏林大学井の頭キャンパス, 東京
- (39) 坂本浩隆(招待講演), 「基礎系」オキシトシンと性機能(特別講演). 卒後・生涯教育プログラム, 日本性機能学会第27回学術総会/The 11th Japan-ASEAN Conference on Men's Health & Aging 合同大会, 2016年8月25~2016年8月28日, あべのハルカス, 大阪

〔図書〕(計1件)

(1) 坂本浩隆(分担執筆)

培風館, 第11章「動物における生体制御の仕組み」, 第13章「脳と行動の仕組み」 in 基礎生物科学, 高橋純夫編, 2016年7月, pp 110-116, pp. 135-145 (268ページ)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.science.okayama-u.ac.jp/~rinkai/ushi.htm>

6. 研究組織

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名: ジョン F. モーリス

ローマ字氏名: John F. Morris

所属研究機関名: University of Oxford

部局名: Department of Physiology, Anatomy & Genetics

職名: Professor

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名: ラリー J. ヤング

ローマ字氏名: Larry J. Young

研究協力者氏名: アントニー ガリオーネ

ローマ字氏名: Antony Galione

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。