

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08578

研究課題名(和文) 雌雄ラットの社会的きずな形成における前脳性の二型核の役割の解明

研究課題名(英文) Sexually dimorphic forebrain nucleus and social bonding

研究代表者

佐久間 康夫 (Sakuma, Yasuo)

日本医科大学・大学院医学研究科・研究生

研究者番号：70094307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：(1)オキシトシンの欠如は、雄では発情雌と非発情雌、雌では健常雄と去勢雄の判別を不可能にする。(2)雄ラット涙腺由来のフェロモンは、雌ラットの歩行を抑制し、雄の接近とマウンティングを許容する。この分子はマウスに警報フェロモンとして作用し、捕食を避ける回避行動とうずくまりを起こす。(3)ラットでは成育途上の同胞との"rough and tumble play"が社会性の成立に関わる。この行動をまねて、験者が離乳後性成熟に至るまで触刺激を与えると、験者と積極的に接触を求める「手乗りラット」が育つ。刺激を与える験者に生じるラットへの「愛着」に注目し、動物介在療法への応用を目指して研究を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ラットでは同胞の兄弟姉妹の間で離乳から性成熟に至る幼若期に激しいじゃれ合いが起こり、これにより社会性が涵養される。ヒト験者がこのじゃれ合いをまねて幼若ラットに激しい触刺激を与えると、快感を示す超音波発声と共に、ヒト験者に更なる触刺激を要求する「手乗りラット」が馴化・育成される。触刺激を与えるヒトの側ではラットに対する愛着・親和性が成立するので、このラットは児童養護施設における自立援助や介護老人保健施設における卓上での動物介在療法に有用である。

研究成果の概要(英文)：Oxytocin (oxo) receptors in the preoptic area (POA), which include hormone-sensitive sexually dimorphic nucleus (SDN-POA), have been implicated in sexual partner preference in males in various species. In male mice with oxo knockout, preference to estrous females was lost, however, the size of the SDN-POA remained as same as in wild-type males. The observation contradicted the prevailing notion and called for a revision. In the current series of experiments, we showed (1) oxo knock-outs diminished sexual partner preference in both male and female mice; (2) a lacrimal protein in rats, cystatin-related protein 1, induces defensive response through the vomeronasal system, a major source of neural inputs to the POA; (3) tickling of the young rats, which replicated cutaneous sensory stimulation during rough-and-tumble play of the animal, established avid attachment of the animal to the experimenter: the animal would be useful in the animal assisted therapy in rehabilitation medicine.

研究分野：神経内分泌学・行動生理学

キーワード：オキシトシン 愛着 性指向 嗅覚 フェロモン 鋤鼻器 発達 動物介在療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の種を問わず、複数の個体間の絆の形成には成育環境の影響が大きい。ラットでは出生後毎日限られた時間だけでも母親から分離すると、成熟後の情動不安となり、攻撃的・粗暴となつて、成熟後他個体との正常な関係を結べない。出産直後から離乳に至る時期に分娩、哺乳に伴って分泌される視床下部ホルモンであるオキシトシンの関与が想定されている。実際ヒッジでは分娩の際の母体血中オキシトシン濃度の上昇と分娩直後の羊膜除去の際の匂い刺激の組み合わせにより母仔の強い絆と信頼が成立する。ヒトとイヌといった種の相違を越えて、オキシトシンが絆の形成と相互の信頼、ひいては双方に情動の安定を生じることが既に報じた(*Science* 2015, doi:10.1126/science.1261022)。動物介在療法は脳性麻痺・自閉症・知的発達障害・中途障害など一定の診断を受けた患者に対する適応があり、ヒトの情動安定に有用であるが、広く行われているイヌ・ウマといった家畜は、リハビリテーションの場である児童養護施設や介護老人保健施設では飼養・管理が必ずしも容易でない。そこで研究代表者らは、テーブルの上で完了する動物介在療法として、ヒトとの絆が成立しているラットを用い、自律神経機能を数量化することによって、ヒトの情動の安定を評価することを目指した。

2. 研究の目的

ラットでは同胞の兄弟姉妹の間で離乳から性成熟に至る幼若期に"rough-and-tumble play"と呼ばれる激しいじゃれ合いが起こり、これにより社会性が涵養されて成熟後正常な交尾や育仔が行えるようになる。ヒト験者がこのじゃれ合いをまねて幼若ラットに激しい触刺激を与えると、快感を示す超音波発声と共に、ヒト験者に更なる触刺激を要求するいわゆる「手乗りラット」が馴化・育成される。適切な飼養管理により病原生物が存在しない (specific pathogen-free, SPF) ラットが入手できるので、このようにしてヒトに馴れたラットは感染源とならず、児童養護施設における自立援助や介護老人保健施設における作業療法の一環としての動物介在療法に有用と考えられる。これまでイヌ・ウマに代表される伴侶動物の力を借りて、ヒトの精神的・肉体的な健康状態を向上させ、機能回復を通じて対象者の社会性を高める動物介在療法が行われてきた。動物介在療法に用いられる動物は、家畜であつて、介在療法が動物に悪影響を及ぼさないこと、「正の強化法」によりヒトとの絆が成立した動物で、適切な飼養管理が保障されることが前提で、「手乗りラット」はこの定義を満足する。「手乗りラット」については、馴化に伴うラットの脳内機構が広く研究されているが、この過程でヒトがラットに対して抱く親和・愛着の発達についての研究は例を見ない。本研究ではラットとヒトの絆の形成に要する手技と経過を検討し、ヒトの自律神経機能から精神的・肉体的な健康状態の評価を試みた。

3. 研究の方法

妊娠 14 日の Wistar 系メスラット (東京実験動物、東京) を ホワイトフレークの床敷を敷いたプラスチックケージ (225x338x140 mm) に個別収容し、室温、湿度、照明を管理下におき、飼育繁殖固形飼料 (日本クレア、CE-2) と水は自由摂取とした。巣作りの材料として新聞紙を与えた。超音波検出器 (Ultrasound Detector D230, Pettersson Elektronik AB, Uppsara, Sweden) を用いて、フリースペースディビジョン方式で超音波発声を可聴域に変調して検出、ヘテロダイン方式に切替えて周波数を確認した。リニア PCM レコーダー (TASCAM DR-05VER2-JJ, ティアック、多摩) により、デジタル録音し、Adobe Audition (Adobe Systems, San Jose, CA) により波形解析を行った。動物の行動はデジタルハイビジョンビデオカメラ (パナソニック HC-V480MS-W、門真) で SD メモリーに記録、mp4 ファイルに変換しスクリーンショット画像を作成した。

得られた雌雄の新生仔は生後 10 日令から rough-and-tumble play を模した触刺激を験者が手により与えた。同日に生まれた統制群には通常のケージ交換を行い、個別の接触を最小限にとどめた。ヒトの安静度の評価には、副交感神経優位時に現れる呼吸性心拍変動の増大を指標とした。耳染より脈波を記録することで、験者の動きに関わりなく、心拍変動を測定し、呼吸による心拍変動バイオフィードバック訓練の目的で市販されている InnerBalance で記録し、iOS 上の HeartMath プログラム (HeartMath Institute, Boulder Creek, CA, U. S. A.) で解析、評価した。

4 . 研究成果



図 1

ハンドリングによるラットの馴化

ハンドリング開始後 19 日(日令 29 日) 実験群の仔ラットは験者がケージ内に手を提示すると、指先に集まって甘噛みするようになった(図 1 左)。さらにメスの 2 個体は手掌によじ登り、5-10 秒留まった。生後 30 日になると、性別を問わずすべての個体が手掌に留まるようになった。統制群では験者がケージに手を入れると、その反対側に逃げたり、床敷に潜るなど強い忌避を示した(図 1 右)。

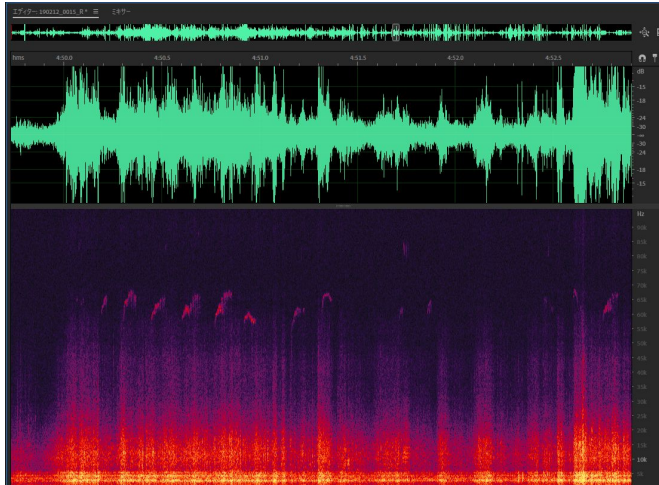


図 2

生後 43 日、ラットが安静・快感時に発することが知られている 80-90 Hz 帯域でリズム的な発声を反復していることをソノグラムで確認した(図 2)。

験者の自律神経反応

1 拍ごとの心拍間隔の変化、すなわち心拍のゆらぎからヒトの安静度やストレス反応の状況を評価することができる。本研究で用いた InnerBalances システムは心拍変動バイオフィードバックによる情動反応の緩和を自己訓練するために開発された。耳染から脈波を記録するため、ラットとの相互作用に関わりなく、心拍数の測定が可能である。心拍のゆらぎは

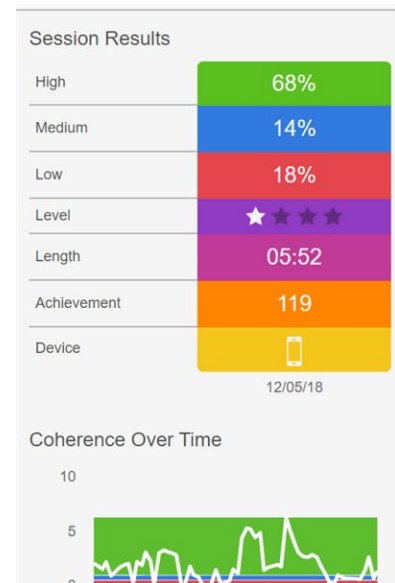


図 3

安静時に副交感神経優位となると増加する。ケージ内の験者が手を提示し、馴化したラットが手掌によじ登り、手掌に留まった状態では、心拍のゆらぎを示すコヒーレンスが増加した。主観的にはラットへの親和・愛着が生じた(図3)。

出版物・社会貢献など

Book Chapter:

1. Hamada T, Sakuma Y: Sexual dimorphism in the preoptic area: An adaptive outcome to environment. In Kawai Y, Hargens AR, Singal P (eds) *Adaptation Biology and Medicine*, Vol. 8, pp. 445-454, Narosa Publishing, New Delhi, 2017

1. Dhungel S, Rai D, Terada M, Orikasa C, Nishimori K, Sakuma Y, Kondo Y: Oxytocin is indispensable for conspecific-odor preference and controls the initiation of female, but not male, sexual behavior in mice. *Neuroscience Research* **148**: 34-41, 2019. doi: 10.1016/j.neures.2018.11.008

2. Tsunoda M, Miyamichi K, Eguchi R, Sakuma Y, Yoshihara Y, Kikusui T, Kuwahara M, Touhara K: Identification of an intra- and inter-specific tear protein signal in rodents. *Current Biology* **28**: 1-11, April 23, 2018. doi: 10.1016/j.cub.2018.02.060

3. Ishii H, Hattori Y, Munetomo A, Watanabe H, Sakuma Y, Ozawa H: Characterization of rodent constitutively active estrogen receptor α variants and their constitutive transactivation mechanisms. *General and Comparative Endocrinology* **248**: 16-26, 2017. doi: 10.1016/j.ygcen.2017.04.009

4. Orikasa C, Kondo Y, Katsumata H, Terada M, Akimoto T, Sakuma Y, Minami S: Vomeronasal signal deficiency enhances parental behavior in socially isolated male mice. *Physiology & Behavior* **168**: 98-102, 2017. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.11.004.

講演(招待講演・特別講演):

1. 佐久間康夫(招待講演): ホルモンに依存する個体間相互作用: オキシトシンとエストロゲン. 大学共同利用機関合同企画 I-URIC フロンティアコロキウム 2017、2017年12月13日、つま恋リゾート、掛川

2. 佐久間康夫(招待講演): 環境が決める脳の性差: かたち・機能・分子. 大学共同利用機関合同企画 I-URIC フロンティアコロキウム分科会 3「性・ジェンダー・社会」勉強会テーマ「性差とは何か」、人間文化研究機構会議室、2017年9月12日、虎ノ門

3. Sakuma Y (Keynote Lecture・招待講演): The female rat preoptic area contains discrete sets of estrogen-sensitive efferent neurons for proceptive or receptive behavior. International Behavioral Neuroscience Society Meeting 2017, 30 June 2017, Hiroshima

一般演題

1. Hamada T, Sakuma Y: Sexual differentiation of the preoptic area by estrogen-induced cell migration through Rac1 pathway. 9th FAOPS (Federation of Asia Oceania Physiological Societies) Congress, 30 March 2019, Kobe.

2. 折笠千登世、加藤陽子、勝又晴美、南史朗: 長期の社会的隔離がマウスの養育行動を促進する. 第45回日本神経内分泌学会学術集会、2018年10月 東京.

3. Orikasa C, Kato Y, Katsumata H, Akimoto T, Minami S: Social isolation facilitates maternal care in both sexually naïve male and female ddN mice. The 9th International Congress of Neuroendocrinology, 2018.7 Toronto.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Dhungel S, Rai D, Terada M, Oriyasa C, Nishimori K, Sakuma Y, Kondo Y	4. 巻 148
2. 論文標題 Oxytocin is indispensable for conspecific-odor preference and controls the initiation of female, but not male, sexual behavior in mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 34-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2018.11.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tsunoda M, Miyamichi K, Eguchi R, Sakuma Y, Yoshihara Y, Kikusui T, Kuwahara M, Touhara K	4. 巻 28
2. 論文標題 Identification of an intra- and inter-specific tear protein signal in rodents.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1213-1223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2018.02.060	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishii H, Hattori Y, Munetomo A, Watanabe H, Sakuma Y, Ozawa H	4. 巻 248
2. 論文標題 Characterization of rodent constitutively active estrogen receptor variants and their constitutive transactivation mechanisms.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 16-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygcen.2017.04.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oriyasa C, Kondo Y, Katsumata H, Terada M, Akimoto T, Sakuma Y, Minami S	4. 巻 168
2. 論文標題 Vomeronal signal deficiency enhances parental behavior in socially isolated male mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiology & Behavior	6. 最初と最後の頁 98-102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.physbeh.2016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 佐久間康夫
2. 発表標題 ホルモンに依存する個体間相互作用：オキシトシンとエストロゲン。
3. 学会等名 大学共同利用機関合同企画I-URICフロンティアコロキウム2017（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐久間康夫
2. 発表標題 環境が決める脳の性差：かたち・機能・分子。
3. 学会等名 大学共同利用機関合同企画I-URICフロンティアコロキウム分科会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakuma Y
2. 発表標題 The female rat preoptic area contains discrete sets of estrogen-sensitive efferent neurons for proceptive or receptive behavior.
3. 学会等名 International Behavioral Neuroscience Society Meeting 2017（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hamada T, Sakuma Y
2. 発表標題 Sexual differentiation of the preoptic area by estrogen-induced cell migration through Rac1 pathway.
3. 学会等名 9th Federation of Asia Oceania Physiological Societies Congress（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 折笠千登世、加藤陽子、勝又晴美、南史朗
2. 発表標題 長期の社会的隔離がマウスの養育行動を促進する .
3. 学会等名 第45回日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Orikasa C, Kato Y, Katsumata H, Akimoto T, Minami S
2. 発表標題 Social isolation facilitates maternal care in both sexually naive male and female ddN mice.
3. 学会等名 The 9th International Congress of Neuroendocrinology, Toronto (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐久間康夫
2. 発表標題 ホルモンに依存する個体間相互作用：オキシトシンとエストロゲン
3. 学会等名 大学共同利用機関合同企画I-URICフロンティアコロキウム2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐久間康夫
2. 発表標題 環境が決める脳の性差：かたち・機能・分子
3. 学会等名 大学共同利用機関合同企画I-URICフロンティアコロキウム分科会3「性・ジェンダー・社会」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 濱田 知宏、佐久間 康夫
2. 発表標題 エストロゲンによるラット視索前野性的二型核の雄性化：細胞移動制御機構
3. 学会等名 第40回日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 折笠 千登世、近藤 保彦、勝又 晴美、南 史朗
2. 発表標題 単独飼育条件下における性的未経験雌マウスの養育行動
3. 学会等名 第40回日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yasuo Sakuma
2. 発表標題 The female rat preoptic area contains discrete sets of estrogen-sensitive efferent neurons for proceptive or receptive behavior
3. 学会等名 International Behavioral Neuroscience Society Meeting 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Miho Nagasawa, Misato Ogawa, Shiori En, Tatsushi Onaka, Yasuo Sakuma, Kazutaka Mogi, Takefumi Kikusui
2. 発表標題 Mutual gaze induces reciprocal human-dog communication via endocrine alterations
3. 学会等名 The Joint symposium with the Japanese Society for Behavioral Neuroendocrinology at The 95th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Takamatsu (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Hamada T, Sakuma Y	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Narosa Publishing House, New Delhi	5. 総ページ数 pp. 445-454
3. 書名 Adaptation Biology and Medicine: Current Trends Volume 8	

〔産業財産権〕

〔その他〕

佐久間康夫：邦文履歴・業績一覧 http://www.h-ic.bb4u.ne.jp/~seiri/CVJpn2014.pdf Yasuo Sakuma, CV & Publications http://www.h-ic.bb4u.ne.jp/~seiri/cv06.pdf 佐久間康夫：リサーチマップ https://researchmap.jp/UCR2GH/?lang=japanese Yasuo Sakuma on Google Scholar https://scholar.google.com/citations?user=z3AfjPkAAAAJ&hl=en 佐久間康夫：科研データベース https://nrid.nii.ac.jp/ja/nrid/1000070094307/ 東京医療学院大学・教員情報・佐久間康夫 http://acoffice.jp/uthshp/KgApp?kyoinId=ymeiyogsggy
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	折笠 千登世 (Orikasa Chotose) (20270671)	日本医科大学・先端医学研究所・准教授 (32666)	
研究分担者	濱田 知宏 (Hamada Tomohiro) (90312058)	日本医科大学・医学部・助教 (32666)	