

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：12102
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2019～2021
 課題番号：19K03379
 研究課題名(和文)性ステロイドホルモンによる社会行動神経回路の機能的性差形成メカニズムの解明

研究課題名(英文)The role of steroid hormones on the formation of sexually dimorphic social behavior networks

研究代表者
 佐野 一広 (SANO, Kazuhiro)
 筑波大学・人間系・客員研究員

研究者番号：60736081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、性ステロイドホルモンによる社会行動神経回路の機能的性差形成のメカニズムの解明を目指し研究を進めてきた。その結果として、思春期における視床下部腹内側核でのエストロゲン受容体(ER)を介したテストステロンの作用が、雄の性行動表出の基盤となる神経回路の構築に不可欠であることを突き止めた。また、雌雄それぞれの社会行動神経回路上でのERおよびERが出生後から成熟期にかけて、性別特異的、脳領域特異的に変化していく工程を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含む多くのほ乳類では、社会性や情動性に性差が存在し、その違いは劇的なホルモンバランスの変化と急激な身体的成長が起こる思春期を境により顕著なものとなる。しかし、その性別特有な機能の発達メカニズムは未だ完全には解明されておらず、本研究の成果は、出生から思春期において雌雄の性に特徴的な社会性や情動性の基盤となる脳内機構がどのように構築されていくのかを知る上で重要な手掛りとなる。

研究成果の概要(英文)：This study focused on elucidating how sex steroid hormones organize the sex-specific functions of social behavioral network in the brain. In this study, we have found that the activation of estrogen receptor in the ventromedial hypothalamus (VMH) by testosterone is necessary for the full expression of male sexual behavior and its neural bases. We also clarify the development process how sexually dimorphic expression patterns of ER and ER are formed from birth to the end of pubertal period.

研究分野：行動神経内分泌学

キーワード：社会行動神経回路 性ステロイドホルモン エストロゲン受容体 性差 性行動 攻撃行動

1. 研究開始当初の背景

社会的場面における適応的な行動、すなわち社会行動の表出は、多くの動物種にとって生存・繁殖といった生命の営みの根幹を成すものである。我々ヒトを含む哺乳類の社会行動には性差が存在し、これらの違いは、身体的・精神的に急激な成長が促される「思春期」を境により顕著なものとなる。この性に特徴的な社会行動表出はそれらを司る脳内神経回路(社会行動神経回路)の性差に起因する。そして、性特異的な社会行動神経回路の構築、及びその機能調節に性ステロイドホルモンが中心的な役割を果たしている。しかし、思春期にテストステロンの作用により、中枢神経機構にどのような構造的・機能的変化が引き起こることで雌雄それぞれの性に特徴的な行動的発達が支えられているのかについては未だ不明な点が多い。

社会行動神経回路

哺乳類の脳内には、辺縁系及び視床下部の諸領域を中心に構成される「社会行動神経回路」が存在する。主要な構成領域は雌雄に共通しているが、そのうち幾つかの領域において、細胞、神経線維あるはシナプスの数、領域の形態やサイズ、などに性差が見られる。こういった違いは遺伝的に決定されているのではなく、発達過程において性ステロイドホルモンが未分化の脳に作用することで引き起こされる。

性ステロイドホルモン

性ステロイドホルモンは、臨界期とよばれる発達途上の限られた期間において社会行動神経回路の性特異的な構築を促す「形成作用」、成熟後に構築が完了した社会行動神経回路に作用してその機能を調節する「活性作用」の二種類の作用により性特異的な社会行動の表出を制御している。性ステロイドホルモンの代表的なものとして、精巣から分泌されるテストステロン(アンドロゲンの一種)、卵巣から分泌されるエストラジオール(エストロゲンの一種)が挙げられる。これらのホルモンは脳内で、それぞれアンドロゲン受容体(AR)、エストロゲン受容体アルファサブタイプ(ER α)及びベータサブタイプ(ER β)を介して作用する。加えて、テストステロンは脳内でアロマトラーゼ酵素によりエストラジオールへと変換された後、エストロゲン受容体を介しても作用する。

2. 研究の目的

本研究では、思春期の性ステロイドホルモンによる社会行動神経回路の性特異的な機能構築のメカニズムを解明することを目的とし、(1)視床下部腹内側核(VMH)における思春期限定のER α ノックダウンが成熟後の雄の社会行動表出に及ぼす影響の検討、(2)発達過程における、雌雄マウスのER α 、ER β の脳内発現パターン変化の解析による、性ステロイドホルモン受容体発現パターンの性差形成の過程の検証、を行った。

3. 研究の方法

(1)思春期開始前である生後21日齢に雄マウスの視床下部腹内側核(VMH)に、ドキシサイクリン(DOX)存在下でのみER α に相補的な配列をもつshRNAの発現が誘導されるように設計したベクターを組み込んだアデノ随伴ウイルス、AAV-U6/TO-ER α shRNA-CMV-TetR-P2A-GFPを局所投与し、思春期が終了する生後8週齢まで、DOXを含有した餌で飼育することで、VMHのER α を思春期限定的にノックダウン(KD)した。対照群にはAAV-U6/TO-ER α shRNA-CMV-TetR-P2A-GFPの代わりにAAV-U6/TO-LUC shRNA-CMV-TetR-P2A-GFPをVMHに局所投与しKDマウスと同様の条件で飼育したマウスを用いた。すべてのマウスが12週齢に達して時点で発情メスに対する性行動テスト、他個体雄に対する攻撃行動テストを行った。

(2)ER β プロモーターの下流に赤色蛍光タンパク質(RFP)遺伝子を組み込んだC57BL/6J系統BACトランスジェニックマウス(ER β -RFPマウス)を用いて実験を行った。雌雄実験マウスがそれぞれ、生後0、7、14、21、28、35、42、52日齢の時点で脳組織を採取し、ER α 、ER β の発現を免疫組織化学法により可視化し、発達過程における雌雄マウスの脳内ERs分布パターンの経時的变化を解析した。

4. 研究成果

(1)VMHのER α を思春期限定的にノックダウンしたマウス(KD群)では、対象群と比べて発情雌に対する性行動の表出が有意に減少することが明らかになった。一方、他個体雄への攻撃行動の表出には両群の間に有意な差は認められなかった。これらの結果は、思春期におけるVMHでのER α を介したテストステロンの作用が雄マウスの性行動の表出に不可欠であること、テストステロンが思春期において、VMHのER α を介して雄の性行動表出を司る中枢神経機構に不可

逆的に作用する、すなわち「形成作用」を施す可能性が高いことを示唆する。

(2) 前腹側脳室周囲核において、雌では、生後 14 日齢から生後 42 日齢にかけて ER α の発現量が増加していくこと、一方、雄では ER α の発現量に変化は見られなかったが、生後 14 日齢から生後 35 日齢にかけて ER β の発現量が減少していくこと、分界条床核では雌でのみ、生後 14 日齢から生後 35 日齢にかけて ER α 、ER β の発現量が増加することで、生後 14 日齢で見られた雄優位な性差が消失すること、視床下部腹内側核では、生後 14 日齢から生後 21 日齢にかけて、雌の ER α 発現量が増加し雌優位な性差が形成されること、また、生後 14 日齢から、雌雄共に ER β の発現量が減少していき、生後 56 日齢ではほぼ消失することを明らかにした。この実験により、雌雄それぞれの社会行動神経回路上での ER α および ER β が、出生後から成熟期にかけて性別特異的、脳領域特異的に変化していく工程を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 佐野一広
2. 発表標題 The role of estrogen receptors in the regulation of male and female social behaviors.
3. 学会等名 NEURO 2019 第42回日本神経科学大会 第62回日本化学会大会 合同学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 初鹿野 徹、佐野 一広、小川 園子
2. 発表標題 エストロゲン受容体 の可逆的ノックダウンが雄マウスの社会行動の表出に与える影響
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Larissa Moraes、佐野一広、仲田真理子、小川園子
2. 発表標題 The distribution of Estrogen Receptors expression throughout development
3. 学会等名 日本動物心理学会第81回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Larissa Lana、初鹿野徹、佐野一広、仲田真理子、小川園子
2. 発表標題 Sex and age difference in the distribution of estrogen receptors throughout the development
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------