

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K06911

研究課題名（和文）行動制御の性差を生み出す神経メカニズムの解明

研究課題名（英文）Neural mechanisms of sexually dimorphic behavior

研究代表者

周防 諭（Suo, Satoshi）

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20596845

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）：行動の性差は動物が効率的に繁殖するために重要であるが、そのメカニズムには不明な点が多い。線虫*C. elegans*には、自家受精できる雌雄同体と、雌雄同体と交配するオスが存在し、交配相手が必要でない雌雄同体はオスよりも自発運動量が小さい。本研究では、雌雄同体の運動は精子により抑制されることを発見し、交配相手が必要かどうかによって性特異的に探索行動を制御する機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳類を含め多くの生物で、交尾によってメスの体内に入った精子はしばらくの間、貯蔵される。交尾後にメスの行動に変化が見られることが、いくつかの動物種で報告されているが、これは交尾によるのか、それとも貯蔵精子によるのか、不明な点が多い。本研究では、線虫の雌雄同体を用いることで、交尾と関係なく、精子によって行動に変化が起きることを明らかにし、精子による適応的な行動制御を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Sex differences in behavior are important for animals to reproduce effectively, but the mechanisms underlying these sex differences are largely unknown. In the nematode *C. elegans*, there are hermaphrodites that can self-fertilize and males that mate with hermaphrodites, and hermaphrodites that do not need a mate have lower locomotor activity than males. In this study, we found that hermaphrodite locomotion is suppressed by sperm and revealed a mechanism that regulates sex-specific exploration depending on whether a mate is needed to reproduce.

研究分野：神経科学

キーワード：行動 性差 *C. elegans* 精子 運動量

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物の行動には性差があり、オスとメスの行動が違うことは、動物が効率的に交尾し繁殖するために重要である。求愛行動など主に片方の性だけで見られる性特異的な行動の他に、摂食や自発運動のような両方の性で共通して見られる行動についても、その調節に性差が見られる。しかし、行動の性差はどのように生み出されるのかについては、不明な点が多い。

動物の行動は、複数の行動状態 (Behavioral state) に分けられ、例えば睡眠と覚醒のような、その覚醒度、代謝、自発運動量などが異なる複数の状態を遷移している。行動状態の制御には性差が見られ、このことが性共通の行動に性差が生じる一因と考えられている。

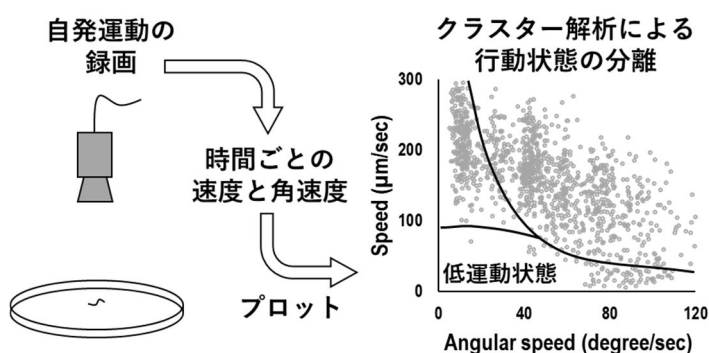
線虫 *C. elegans* には、自家受精できる雌雄同体と、雌雄同体と交配しなければ繁殖できないオスが存在する。雌雄同体は自発運動量の高い状態 (Roaming) と自発運動量の低い状態 (Dwelling) の二つの行動状態をとる。行動状態の配分は環境に影響され、餌が十分あるときに雌雄同体は大半の時間を低運動状態で過ごす。また、行動状態はドーパミン、セロトニン、オクトパミン (無脊椎動物がノルアドレナリンの代わりに持つ神経伝達物質) などのアミン神経伝達物質やニューロペプチドによって制御されることが報告されている。最近我々はオスの行動解析を行い、オスは雌雄同体よりも自発運動量が大きく、低運動状態にある時間が雌雄同体と比べて短いことを明らかにしている。しかし、この行動状態の性差が生み出されるメカニズムについては、まだ不明な点が多かった。

2. 研究の目的

本研究では、この *C. elegans* で見られる自発運動量、行動状態の性差が生み出されるメカニズムを明らかにすることを目的とした。このために、様々な変異体の解析を行い、性差を生み出す因子を同定し、その作用メカニズムを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

線虫の行動状態の解析は、これまでに我々が確立したクラスター解析を用いる方法で行った。一匹の線虫をプレートに乗せ、自発運動を録画した後、時間ごとの運動速度と角速度 (方向変化の指標) を算出した。判別分析により低運動状態と高運動状態に分け、それぞれで過ごす時間の割合を計算した (図 1)。これまでに野生型では、オスは低運動状態が少なく、雌雄同体は多いことを明らかにしている。本研究では様々な変異体について解析を行い、行動の性差に寄与する新しい因子の同定を行った。



4. 研究成果

図 1. 行動状態の解析

(1) 解析法の改善

取得した画像データから、運動速度、角速度、行動状態の算出を行うプログラムを Python で作成した。これまでは、ImageJ と R で行っていたが、より効率よく解析が行えるようになった。

(2) TGF 経路、PKD 経路

ドーパミン欠損株では、オスでは運動量が減少しており、雌雄同体では運動量が増加している。TGF ホモログ DAF-7 の変異体では、ドーパミン欠損による運動量の減少が抑制されていることを見出した。また、DAF-7 の下流では SMAD ホモログ DAF-3 が働いていることを明らかにした。雌雄同体においては、ドーパミンによる制御には TGF 経路の影響がなく、TGF 経路による

運動量の制御はオス特異的であることを明らかにした。

多発性嚢胞腎遺伝子 *lov-1* と *pkd-2* は、オスの神経細胞に発現し生殖行動に働くことが明らかになっている。*lov-1* と *pkd-2* 変異体を解析し、これら遺伝子がオスではドーパミン依存的に、雌雄同体ではドーパミン非依存的に運動量の制御を行うことを明らかにした。従来、*lov-1* と *pkd-2* はオスのみで働くと考えられていたが、この結果は雌雄同体においても機能を持つことを示唆している。

(3) 精子による運動量の制御

spe-26 変異体は精子形成に異常があり、精母細胞が機能的な精子に分裂しないで停止する。*spe-26* 変異体の雌雄同体を用いて、運動量に対する精子の影響を調べた。*spe-26* 雌雄同体では、野生型と比較して、速度が大きく角速度が低い測定点が多く、運動速度の増加、角速度の減少、高運動量状態の増加が見られた(図2)。さらに、野生型と *spe-26* 変異体を精子が十分に発達していない L4 ステージで試験した場合には、このような行動の違いは観察されなかった。他に、*fog-2* などいくつかの精子異常変異体についても調べた。その結果、いずれの変異体でも、高運動量状態の増加が見られた。これらの結果は、機能的な精子が存在することが自発運動量を抑制することを示唆している。

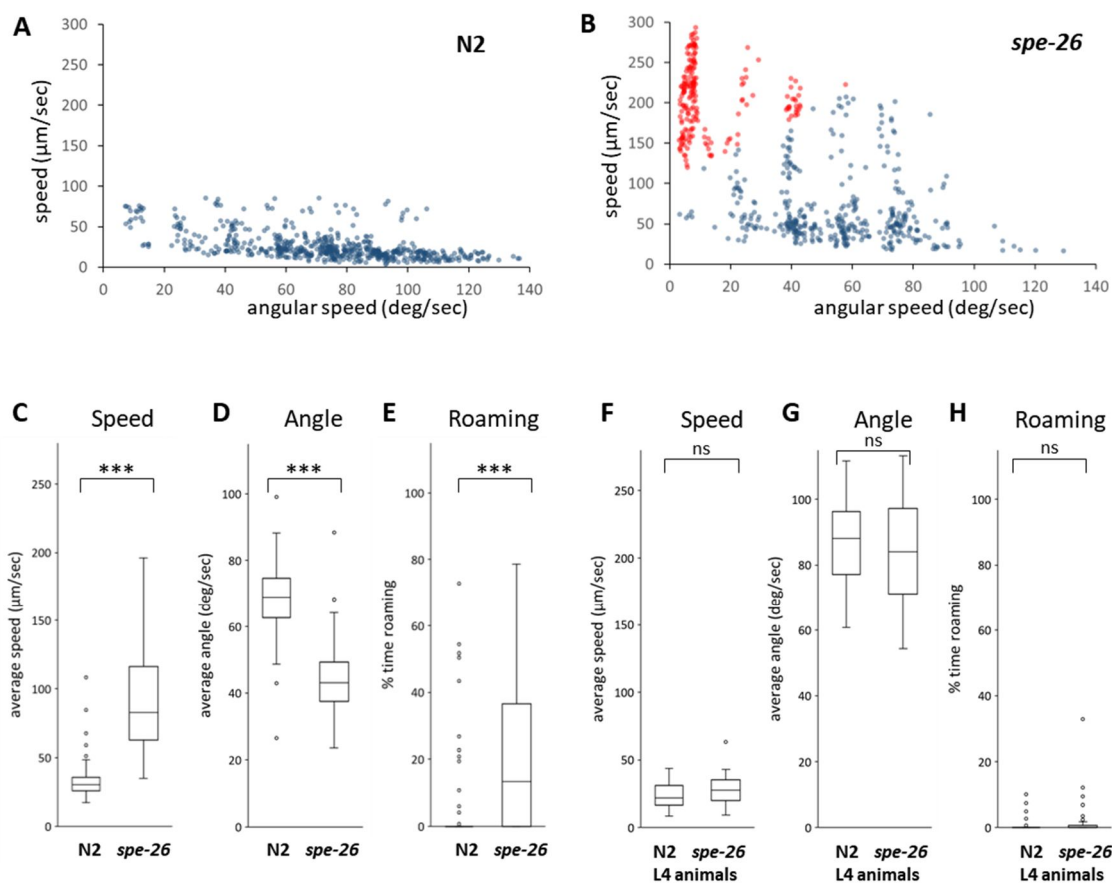


図2 .精子異常変異体の自発運動

精子異常変異体の運動量増加を精子によって抑制できるか調べるため、雌雄同体をオスと交尾させ、精子が導入された場合の運動量を調べた。行動解析のために、*spe-2* の6雌雄同体について、オスと交尾したものと交尾させてないものの行動を記録した。交尾後の *spe-26* 変異体では、交尾していない *spe-26* 変異体に比べて、速度が速く、角速度が低いデータ点が少なく、運動量が減少し、角速度が上昇し、高運動量状態が減少していた(図3)。これに対して、野生型の雌雄同体では、交尾によって移動速度と角度に有意な変化は見られなかった。これらの結果は、交尾が精子欠損動物の運動量の増加を抑制することを示している。

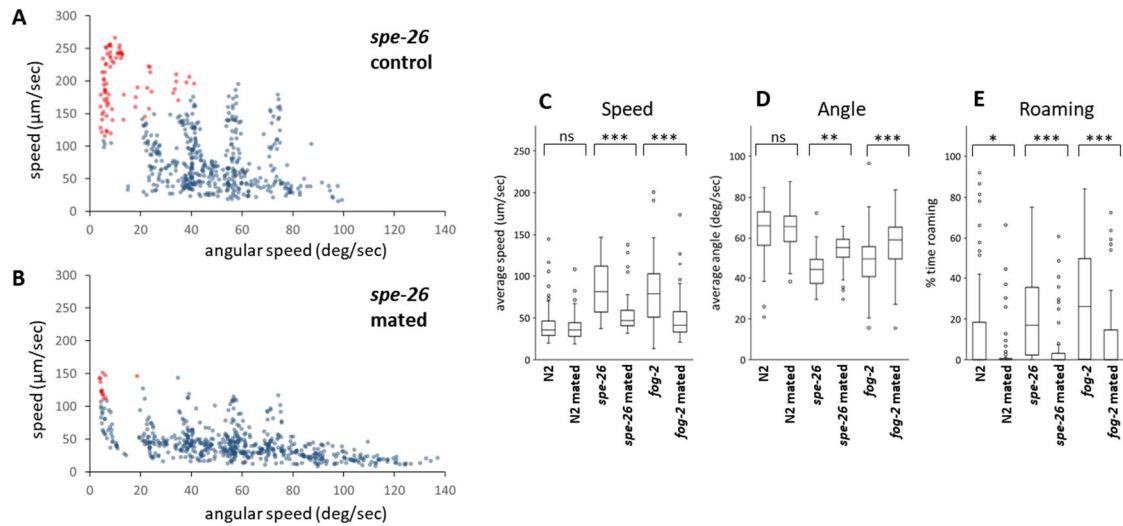


図3 . 精子異常変異体とオスの Mating

C. elegans は雌雄同体とオスが存在する種であるが、他の近縁種である *C. remanei* や *C. brenneri* はオスとメスの種である。これらのオスメス種において、交尾が運動量を調節しているのかも調べた。行動解析の結果、これらの種のメスは、線虫の雌雄同体よりも高い運動速度を示すことが明らかになった。さらに、*C. remanei* と *C. brenneri* のメスでは、オスとの交尾後に速度の低下、角速度の増加、高運動状態の減少が見られ、これは *C. elegans* の精子異常変異体の雌雄同体 (実質的なメス) でオスと交尾した後に観察されたのと同様であった (図4)。これらの結果は、メスの行動が交尾後に変化することを示唆している。

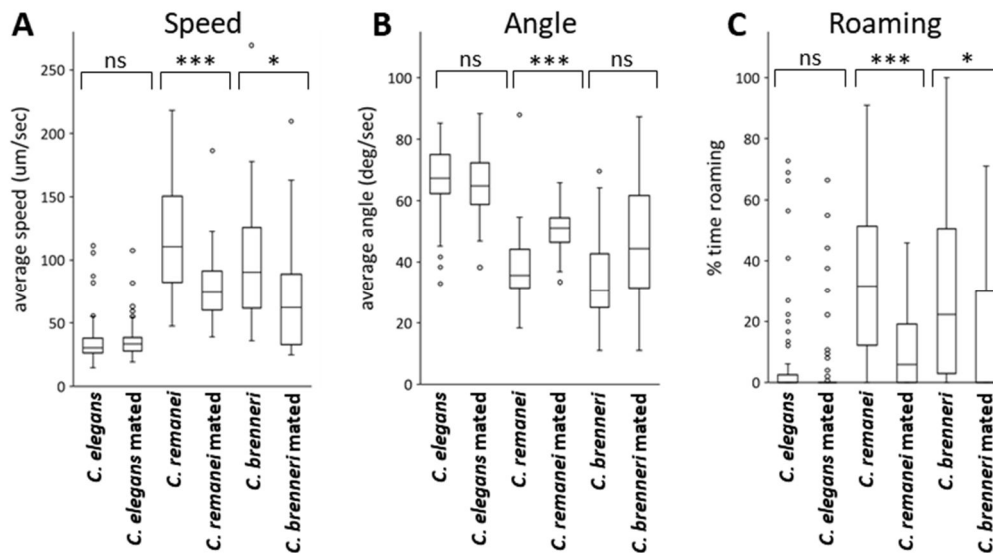


図4 . オス メス種の線虫の自発運動

既に報告していたように、*C. elegans* のオスは雌雄同体よりも自発運動量が多い。雌雄同体は餌があれば子を残すことができるのに対して、オスは子を残すのに交配相手 (雌雄同体) が必要である。オスの方が運動している時間が長いのは、交配相手を探すに有利であり、このような自発運動の性差は適応的である。機能的な精子を作れない雌雄同体は、実質的なメスであり、子を残すのにオスが必要である。精子異常変異体の雌雄同体の運動量が増加しているのは、交配相手を探すのに有利な変化であると考えられる。また、精子異常変異体の雌雄同体が交尾後には運動量が低下しているのも、交配相手を探す必要がなくなっているからと考えることができる。本研究では、雌雄同体 (メス) では精子によって運動量が低下することを示し、生殖に適応的な行動変化のメカニズムを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Chen KS, Menezes K, Rodgers JB, O'Hara DM, Tran N, Fujisawa K, Ishikura S, Khodaei S, Chau H, Cranston A, Kapadia M, Pawar G, Ping S, Krizus A, Lacoste A, Spangler S, Visanji NP, Marras C, Majbour NK, El-Agnaf OMA, Lozano AM, Culotti J, Suo S, Ryu WS, Kalia SK, Kalia LV	4. 巻 16
2. 論文標題 Small molecule inhibitors of α -synuclein oligomers identified by targeting early dopamine-mediated motor impairment in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Neurodegeneration	6. 最初と最後の頁 77
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13024-021-00497-6	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 該当する

1. 著者名 Suo Satoshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Sperm function is required for suppressing locomotor activity of <i>C. elegans</i> hermaphrodites	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0297802
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0297802	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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 周防論
2. 発表標題 Hermaphrodite behavior is modulated by mating
3. 学会等名 線虫研究の未来を創る会 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 周防論
2. 発表標題 線虫 <i>C. elegans</i> 雌雄同体の行動の精子による制御の解析
3. 学会等名 第45回分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoshi Suo
2. 発表標題 Sperm regulates behavioral states in hermaphrodites
3. 学会等名 23rd International C. elegans Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 周防諭
2. 発表標題 Sperm regulates locomotor behavior of hermaphrodites
3. 学会等名 線虫研究の未来を創る会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 周防諭、丸山敬
2. 発表標題 C. elegansでは貯蔵された精子によって雌雄同体の行動が変化する
3. 学会等名 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 周防 諭, 原田 一貴, 丸山 敬, 坪井 貴司
2. 発表標題 C. elegansにおいてTGF 経路はドーパミンによる性特異的な運動量の制御に關与する
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Suo, S., Harada, K., Matsuda, S., Kyo, K., Wang, M., Maruyama, K., Awaji, T., Tsuboi, T.
2. 発表標題 Sexually dimorphic dopaminergic signaling regulates behavioral states of <i>C. elegans</i>
3. 学会等名 International <i>C. elegans</i> Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 周防 諭、原田 一貴、松田 翔吾、姜興起、王 旻、丸山 敬、淡路 健雄、坪井 貴司
2. 発表標題 ドーパミンは線虫 <i>C. elegans</i> の運動量の性差を生み出す。
3. 学会等名 Neuro2019 日本神経科学会大会・日本神経化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 周防諭
2. 発表標題 Internal sperm regulates locomotor behaviors of <i>C. elegans</i> hermaphrodites.
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

埼玉医科大学薬理学教室
<http://www.saitama-med.ac.jp/uinfo/yakuri/index.html>

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	坪井 貴司 (Tsuboi Takashi) (80415231)	東京大学・大学院総合文化研究科・教授 (12601)	

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