

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590237

研究課題（和文）：ストレスと社会行動における PrRP-オキシトシン系の働き

研究課題名（英文）：Roles of the PrRP-oxytocin pathway in the control of stress and social behaviour

研究代表者

尾仲 達史 (ONAKA TATSUSHI)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：90177254

研究成果の概要（和文）：

ストレス刺激のみならず摂食は PrRP 産生ニューロンとオキシトシン産生ニューロンを共に活性化した。社会刺激はオキシトシン産生ニューロンを活性化した。活性化された PrRP 産生ニューロンはストレス修飾作用と摂食抑制作用を、オキシトシン産生ニューロンはストレス緩和作用、摂食抑制作用、社会記憶促進作用をもつことが示唆された。さらに、オキシトシン産生ニューロンの下流にセロトニン産生ニューロンがある可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Not only stressful stimuli but also food intake activated PrRP-synthesizing neurons and oxytocin-synthesizing neurons. Social stimuli activated oxytocin-synthesizing neurons. PrRP-synthesizing neurons were suggested to have stress-modulating and anorexic actions. Oxytocin-synthesizing neurons were suggested to have anti-stress, anorexic and social memory-enhancing actions. Downstream neurons of oxytocin-synthesizing neurons were suggested to be serotonergic.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野： 生理学

科研費の分科・細目： 基礎医学・環境生理学(含体力医学・栄養生理学)

キーワード： オキシトシン、PrRP、不安行動、社会記憶、セロトニン、バゾプレシン

1. 研究開始当初の背景

プロラクチン放出ペプチド PrRP は、プロラクチン産生細胞に発現する GPR10 に対する内因性のリガンドとして同定されたペプチドで、下垂体前葉からプロラクチン放出を促進する因子として名付けられたものである。

しかし、その後の検討で、PrRP は下垂体前葉を制御する他の古典的な視床下部ホルモンとは異なり、正中隆起、あるいは正中隆起に投射するニューロンには存在せず、門脈血中には放出されないことが分かってきた。PrRP の mRNA とペプチドそのものの分布の検討により、PrRP 産生ニューロンは主に延髄背内側

部の孤束核、さらに、延髄腹外側部に存在すること、また、量はさらに少なくなるが視床下部背内側核にも存在することが明らかにされていた。また、延髄においては PrRP 産生ニューロンは全てチロシン水酸化酵素をもつカテコラミン産生ニューロンであることも明らかにされていた。しかし、PrRP 産生ニューロンの生理的働きには不明な点が多かった。

(1) PrRP の生理的な機能に関して、ストレスとの関連を示唆するデータが報告されていた。即ち、PrRP 産生ニューロンが、①水浸拘束ストレス刺激という強度の強い身体的精神的ストレスにより活性化されること、② PrRP を脳室内に投与するとストレス刺激を加えたときと同様に下垂体からの ACTH とオキシトシンの放出が促進されることが報告されていた。これらのデータは、PrRP がストレスに重要な働きをしていることを示唆している。しかし、PrRP の生理的な働きについてはその受容体アンタゴニストが開発されておらず、恐怖刺激においてオキシトシン分泌を担っているという申請者の報告以外は、不明なままであった。

さらに、PrRP が摂食にも関連することを示唆するデータが報告されていた。即ち、① PrRP を外来性に脳室内に投与すると、摂食が抑制されること、②妊娠授乳期などの摂食が亢進するときには PrRP mRNA が減少することが報告されていた。しかし摂食に関して、内因性の PrRP の生理的な働きについては、不明であった。

(2) PrRP 産生ニューロンの下流について、視床下部のオキシトシン産生細胞を示唆するデータが報告されていた。また、視床下部オキシトシン産生細胞が局在する視索上核において PrRP 陽性線維があることが報告されていた。申請者は、条件恐怖ストレス後に観察されるオキシトシンの放出が、オキシトシン細胞が存在する領域に投射する PrRP 産生ニューロンの活性化により誘発されることを示唆するデータを得ていた。これらのデータはオキシトシンが PrRP の下流であることを示唆しており、PrRP-オキシトシン系がストレス時に活性化されることを示唆している。

さらに、オキシトシンを投与すると摂食抑制が起きることと社会行動が増加することが報告されていた。しかし、オキシトシン、あるいは、PrRP-オキシトシン系が、生理的にストレス、摂食、あるいは社会行動を制御しているかどうかは不明なままであった。また、ストレス、摂食、社会行動におけるオキシトシン産生ニューロンのさらなる下流に

ついても不明なままであった。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的の第一は、PrRP 遺伝子欠損動物、あるいは PrRP に対する中和抗体を用いてストレスあるいは摂食における内因性の PrRP の働きを明らかにすることであった。

(2) さらに、オキシトシン受容体遺伝子欠損動物と野生型の摂食と社会行動を解析することで、内因性のオキシトシンのストレス、摂食、社会行動における働きを明らかにすることが第二の目的であった。

(3) また、もうひとつの下垂体後葉ホルモンであるバゾプレシンの社会行動における働きをバゾプレシン産生細胞破壊動物を用いて明らかにすることが第三の目的であった。

(4) PrRP と同様 RFamide ペプチドに属する RFRP のオキシトシン放出における働きと不安行動における働きを明らかにすることが第四の目的であった。

3. 研究の方法

(1) PrRP を視床下部室傍核の局所に微量投与してストレスホルモンであるバゾプレシンあるいは ACTH の放出が促進されるかを検討した。また、内因性の PrRP の働きを検討する目的で PrRP の中和抗体を脳室内投与した動物と PrRP 遺伝子欠損動物の摂食量を測定した。

(2) オキシトシン産生ニューロンが摂食、社会行動により活性化するかどうかを明らかにするために、摂食あるいは社会的刺激を加えオキシトシン産生細胞が Fos 蛋白質を発現させるか、あるいは、尿中のオキシトシン排泄が増加するかを検討した。

(3) バゾプレシン産生ニューロン特異的にジフテリア毒素受容体を発現しているトランスジェニック動物を用い、局所のバゾプレシン産生細胞を破壊して、社会記憶を測定した。

(4) RFRP を投与してオキシトシン放出と不安行動を測定した。

4. 研究成果

(1) ストレスにおける PrRP 産生ニューロンの働きについて、PrRP を視床下部室傍核の局所に投与すると、ストレスホルモンである

ACTH とバゾプレシンの放出が促進された。このデータは、視床下部室傍核がストレス制御における PrRP の作用部位の一つであることを示唆している。脳内の他の部位の働きについては今後の課題である。

摂食することにより急性に PrRP 産生ニューロンが活性化された。さらに、PrRP 遺伝子欠損マウスは、末梢の満腹物質である CCK の摂食抑制作用が減弱しており、一回摂食量が増加していた。中和抗体で PrRP の作用を急性に阻害しても、慢性の PrRP 欠損状態である PrRP 遺伝子欠損動物と同様、摂食量が増加した。これらのデータは、生理的に PrRP が摂食を行ったときに摂食を終了させる脳内のシグナルとして働いていることを示している。さらに、PrRP 遺伝子欠損動物では肥満となり糖代謝異常が生じることも明らかとなり、PrRP がないと糖代謝異常となることが示された。今後、ストレス、摂食の制御を担う PrRP 産生ニューロンの同定、PrRP の作用部位の同定、PrRP 産生ニューロンの上流の同定、が課題と考えられる。

(2) オキシトシンの働きについて、摂食、あるいは社会刺激後に、オキシトシン産生細胞が局在する視索上核における Fos 蛋白質の発現が増加した。さらに、ペットの犬と視線を合わせるということ社会行動を行わせると、尿中のオキシトシン排泄が増加した。これらのデータは、摂食あるいは社会的行動を行うと、視床下部のオキシトシン産生細胞の活動が増加することを示唆している。

さらに、摂食と社会行動におけるオキシトシンの働きについて、オキシトシン受容体遺伝子欠損動物では成熟後に野生型に比べ肥満が生じることを見出した。また、社会記憶が減弱していることが確認できた。これらのデータは、オキシトシンが生理的に摂食抑制作用があり、社会記憶促進作用があるという考えと矛盾しない。また、オキシトシン産生細胞の下流について、セロトニン産生細胞の約半数がオキシトシン受容体を発現しており、オキシトシン投与によりセロトニン放出が促進されることが明らかとなった。さらに、オキシトシン投与による抗不安作用がセロトニン受容体アンタゴニストにより阻止された。これらのデータから、オキシトシン産生細胞の下流にセロトニン産生ニューロンがあり、オキシトシンによる抗不安作用をセロトニンが担っている可能性が考えられた。社会行動における下流にもセロトニンが関与しているかは今後の課題である。

(3) 嗅球のバゾプレシン産生細胞を破壊すると不安行動は変わらず社会記憶が障害された。これに対し物の記憶は障害されていなか

った。これらのデータは嗅球のバゾプレシン産生ニューロンが社会記憶に必須であることを示している。他の部位のバゾプレシン産生細胞の働きについては今後の課題である。

(4) RFRP によりオキシトシン産生細胞が活性化され、オキシトシン放出が増加した。また、RFRP 投与により不安行動の上昇が観察された。PrRP のみならず他の RFamide ペプチドもストレスと神経内分泌制御に関わっていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Kaewwongse M, Takayanagi Y, Onaka T: Effects of RFamide-related peptide (RFRP)-1 and RFRP-3 on oxytocin release and anxiety-related behaviour in rats. *J Neuroendocrinol* **23**(1): 20-27, 2011. 査読有
- ② Tobin VA, Hashimoto H, Wacker DW, Takayanagi Y, Langnaese K, Caquineau C, Noack J, Landgraf R, Onaka T, Leng G, Meddle SL, Engelmann M, Ludwig M: An intrinsic vasopressin system in the olfactory bulb is involved in social recognition. *Nature* **464**(7287): 413-417, 2010. 査読有
- ③ Uchida K, Kobayashi D, Das G, Onaka T, Inoue K, Itoi K: Participation of the prolactin-releasing peptide-containing neurons in caudal medulla in conveying hemorrhagic stress-induced signals to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Neuroendocrinol* **22**(1): 33-42, 2010. 査読有
- ④ Takayanagi Y, Onaka T: Roles of prolactin-releasing peptide and RFamide related peptides in the control of stress and food intake. *FEBS J* **277**(24): 4998-5005, 2010. 査読有
- ⑤ Onaka T, Takayanagi Y, Leng G: Metabolic and stress-related roles of prolactin-releasing peptide. *Trends Endocrinol Metab* **21**(5): 287-293, 2010. 査読有

- ⑥ Yoshida M, Takayanagi Y, Inoue K, Kimura T, Young L, Onaka T, Nishimori K: Evidence that oxytocin exerts anxiolytic effects via oxytocin receptor expressed in serotonergic neurons in mice. *J Neurosci* **29**(7): 2259–2271, 2009. 査読有
- ⑦ Nagasawa M, Kikusui T, Onaka T, Ohta M: Dog's gaze at its owner increases owner's urinary oxytocin during social interaction. *Horm Behav* **55**(3): 434–441, 2009. 査読有
- ⑧ Takayanagi Y, Matsumoto H, Nakata M, Mera T, Fukusumi S, Hinuma S, Ueta Y, Yada T, Leng G, Onaka T: Endogenous prolactin-releasing peptide regulates food intake in rodents. *J Clinical Invest* **118**(12): 4014–4024, 2008. 査読有
- ⑨ Takayanagi Y, Kasahara Y, Onaka T, Takahashi N, Kawada T, Nishimori K: Oxytocin receptor-deficient mice developed late-onset obesity. *NeuroReport* **19**(9): 951–955, 2008. 査読有
- ⑩ Leng G, Onaka T, Caquineau C, Sabatier N, Tobin VA, Takayanagi Y: Oxytocin and appetite. *Prog Brain Res.* **170**: 137–151, 2008.

[学会発表] (計 24 件)

- ① Onaka T, Takayanagi Y: Roles of vasopressin and oxytocin in the control of emotion and social behavior. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Yokohama, March 30, 2010.
- ② Takayanagi Y, Onaka T: Roles of PrRP in the control of energy metabolisms and stress responses. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Yokohama, Mar 29, 2010.
- ③ Takayanagi Y, Takashima A, Onaka T: Secretin facilitates social behaviors via activation of oxytocin receptors. The 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Sep 2–4, 2010.

- ④ Takayanagi Y, Kaewwongse M, Onaka T: Effects of Rfamide related peptides upon oxytocin release in rats. The 7th International Congress Neuroendocrinology (ICN2010), Rouen, France, Jul 14, 2010.
- ⑤ Takayanagi Y, Onaka T: Neurohypophyseal hormones and stress responses or social behavior: analysis with the use of specific destruction of vasopressin neurons. The 87th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Morioka, May 20, 2010.
- ⑥ Takashima A, Takayanagi Y, Saito M, Yamagata T, Momoi M, Onaka T: Roles of secretin and oxytocin in social recognition in mice. The 87th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Morioka, May 20, 2010.
- ⑦ Kaewwongse M, Takayanagi Y, Onaka T: Effects of i. c. v. administration of Rfamide related peptide-1 upon release of stress-related hormones and anxiety-related behavior. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan, Mar 30, 2010.
- ⑧ Takayanagi Y, Nishimori K, Onaka T: Roles of PrRP and oxytocin receptor in stress-induced increase of energy expenditure. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan, Mar 30, 2010.
- ⑨ Takayanagi Y, Onaka T: Role of prolactin-releasing peptide in stress-induced energy expenditure. The 32nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. Nagoya, Sep 18, 2009.
- ⑩ Takayanagi Y, Onaka T: Prolactin-releasing peptide is important for relaying leptin signaling to reduce food intake and body weight. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS2009), Kyoto, Jul 30, 2009.
- ⑪ Kaewwongse M, Takayanagi Y, Onaka T: Effects of i. c. v. administration of Rfamide related peptides on plasma oxytocin concentrations in rats. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS2009),

Kyoto, Japan, Jul 28, 2009.

- ⑫ Onaka T, Takayanagi Y: Oxygen consumption in prolactin-releasing peptide-deficient mice during stressful stimuli. British Society for Neuroendocrinology Annual Meeting 2009 (BSN2009), Edinburgh, UK, Jun 29, 2009.
- ⑬ Takayanagi Y, Onaka T: Role of prolactin-releasing peptide in the control of energy expenditure. The 31st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Neuroscience 2008, Tokyo, Jul 10, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾仲 達史 (ONAKA TATSUSHI)
自治医科大学・医学部・教授
研究者番号：90177254

(2) 連携研究者

高柳 友紀 (TAKAYANAGI YUKI)
自治医科大学・医学部・助教
研究者番号：10418890