

平成 22 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006 ～ 2009
 課題番号：18590225
 研究課題名（和文） ラットの雌雄性指向性決定の神経機序
 研究課題名（英文） Neuroendocrine mechanism for determination of sexual orientation in the rat
 研究代表者
 近藤 保彦（Kondo Yasuhiko）
 日本医科大学・医学部・講師
 研究者番号：00 192584

研究成果の概要（和文）：性的に成熟した雄ラットは、雄ラットと発情雌ラットの匂いを同時に提示すると、発情雌の匂いをさかんに探索し、発情雌ラットは逆のパターンを示す。これは、匂いの選好性における性差であり、性指向性を反映したものと考えられる。本プロジェクトでは、このラットの匂い選好性が鋤鼻器よりもむしろ嗅上皮からの感覚入力に依存していることを示した。また、その脳内神経回路においては、視索前野が重要な役割を果たし、嗅上皮からの信号は、複数の経路を経て視索前野に到達することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：When being given a pair of odors of sexually active males and estrous females, sexually mature male rats show vigorous exploration toward the estrous odors while receptive female rats palpably prefer for sexual male odors to estrous odors. This sex difference in olfactory preference may reflect their sexual orientation. Our earlier studies of this project showed that those sexual dimorphic olfactory preferences are based on sensory signals received by the olfactory epithelium (OE) but not by the vomeronasal organ (VNO) which is believed to be involved in pheromonal perception. In the brain, we elucidated that olfactory preference of male rats is critically regulated in the medial preoptic area that receives olfactory signals through multiple pathways, including the amygdala nuclei.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	¥900,000	¥0	¥900,000
2007 年度	¥900,000	¥270,000	¥1,170,000
2008 年度	¥900,000	¥270,000	¥1,170,000
2009 年度	¥900,000	¥270,000	¥1,170,000
年度			
総計	¥3,600,000	¥810,000	¥4,410,000

研究分野：医歯薬学

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：性行動、性分化、生殖、性指向性、哺乳類

1. 研究開始当初の背景

これまで性的同一性障害や性自認といった問題は、日本の社会の表面にあまり現れることはなかったが、昨今では、さまざまな形で新聞やテレビニュースとして取りあげられるようになってきた。さらに、これまではタブー視されてきた同性愛者についても、HIVの感染予防の観点からも、日本の社会においても無視できない割合で存在することが認識されるようになってきた。しかしながら、これらの現象の生物学的な基盤に関する研究は、いまだ不明な点が多い。神経系やホルモンがこれらの行動をどのように規定しているのか、脳の構造的性差と機能的・行動的性差の関係はどのように相関し、因果関係が存在するのか、解明されねばならない問題が山積している。我々の目指す最終目標は、これらの問題を自然科学・生物学的視点から見つめなおす点にあり、それらを正しく理解することによって社会における彼らに対する差別や誤解を解消することにある。

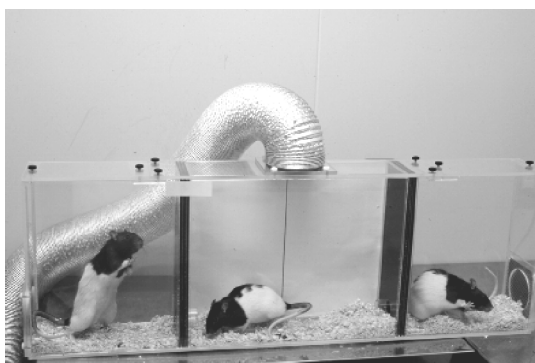


図 1. 匂いの選好性テスト装置

2. 研究の目的

動物の生殖における方向性、すなわち異性個体に対して接近と交尾を試みるという現象は、性的指向性 (sexual orientation) と呼ばれる。我々は、まず、性指向性のラットにけるモデルを構築した (Xiao et al., 2004)。実験装置は、3連の小部屋からなり、各部屋は蛇行する通風孔でつながれている (図 1)。左右の部屋には刺激用の動物を、中央の部屋には被験動物をおく。中央部屋の天井にあるダクトより陰圧を加えることによって、左右の刺激動物の匂いを風流によって提示する。すると被験動物は、他個体の匂いを探索しようと、刺激の流入口に鼻を突っ込む Nose-poking という行動を示す。異性個体の匂いが提示された場合、この Nose-poking の量は、性的動機づけのレベルと相関することが知られており、したがって左右の流入口に対する Nose-poking の総時間を比較することによ

って、その動物の刺激動物に対する匂い選好性を決定することができる。左右の刺激動物として性的に成熟した正常雄および発情雌とした場合、被験動物が正常雄に選好性を示したら雌型性指向性、発情雌に選好性を示したら雄型性指向性と定義することができる。

本研究プロジェクトでは、この嗅覚選好性を調節している神経系を明らかにすることにある。これまでの研究によって、フェロモン受容器である鋤鼻器に始まる神経系が雄ラットの性行動を調節していることが知られてきたが、性行動の調節系と嗅覚選好性の調節系がどこまで一致しており、どこが違うかを本研究で明らかにするため、以下で報告するいくつかの実験を行った。

3. 研究の方法

研究の主たる方法は、脳(および感覚器)にさまざまな処置を加えた後に、前述した嗅覚選好性を①発情雌と性的に活発な雄、②発情雌と卵巣摘除雌、③性的に活発な雄と去勢雄という3通りのペアで提示し、それらに対する nose-poking の量を比較すること、そして発情雌と一緒にしたときの性行動を比較することで行った。このような刺激提示をした場合、性的に成熟した正常雄ラットは、①②では発情雌の匂いを、③では去勢雄の匂いに対して強い選好性を示すことが分かっている。

ラットの化学感覚系には、味覚、嗅覚のほか、鼻腔内の鋤鼻器官で受容されるフェロモン感覚が存在するが、我々の装置で測られる嗅覚選好性は嗅上皮で受容される嗅覚と鋤鼻器で受容されるフェロモン感覚のどちらに依っているかを調べるため、最初の実験として雄ラットの嗅上皮を硫酸亜鉛で破壊した群 (OEx)、鋤鼻器を外科的に取り除いた群 (VN0x) を作り、それぞれの処置の偽手術 (Sham) 群と比較した。

2番目には、性行動を制御している鋤鼻器神経系が嗅覚選好性の制御にもかかわっているのかを調べるため、扁桃体内側核 (MeA)、扁桃体皮質核 (CoA)、視索前野 (POA) に神経毒であるイボテン酸を注入してこれらの領域を破壊した。

さらに3番目として、POA のオレキシン受容体含有ニューロンを選択的に破壊するため、POA および分界条床核 (BnST) にオレキシンと結合させたサポリン毒素を注入し、その効果を検討した。実験群として、POA の他、分界条床核 (BnST) 破壊群も設けた。

4. 研究成果

鋤鼻器の切除 (VN0x) は、刺激動物を雄雌のペアにした場合、発情雌と卵巣摘除雌のペアにした場合、去勢雄と性的に活発な雄にした

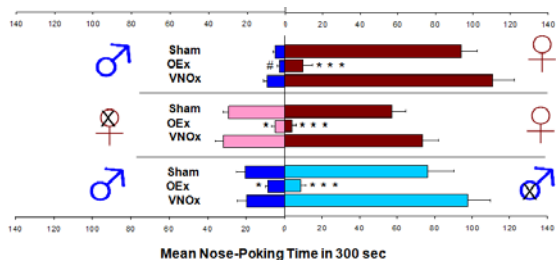


図 2. 嗅上皮破壊 (OEx) および鋤鼻器破壊後 (VNOx) の嗅覚選好性

場合とも、Sham 群と全く同様な選好性を示したのに対し、嗅上皮を破壊 (OEx) した群では正常な動物が好む発情雌臭や去勢雄臭に対する nose-poking が有意に抑制され、選好性が消失することが分かった (図 2)。

そこで我々は、さらにこれらの動物に発情雌臭を提示し、脳の活性部位の違いがどこにあるかを Fos 免疫組織化学法によって確認した。我々が観察したのは、鋤鼻器の一次感覚野である副嗅球僧帽細胞層 (MTL) およびそれらの介在ニューロンが存在する副嗅球顆粒細胞層 (GCL)、MTL の投射先である扁桃体内側核 (MeA) および嗅上皮からの入力を主嗅球を介して受け取る扁桃体皮質核 (CoA)、さらには MeA と CoA の主たる投射先である視索前野 (POA) である。

興味深いことに副嗅球の MTL は、OEx、VNOx どちらの処置後においても Sham 群とほとんど変わらず、匂いに激によって興奮を高めることが分かった。これに対して、その介在ニューロンを含む GRL は、OEx および VNOx 両方によって有意に活動を低下させた。これは、副嗅球という鋤鼻器の一次感覚野においてすでに嗅上皮からの感覚情報との情報の収斂が行われていることが示唆される。MeA と CoA の活動も GRL とほぼ平行であったのに対し、POA の活動は、嗅覚選好性に対する抑制作用と同様に OEx 群においてのみ低下が観察された。

つづいて、これらの神経系が嗅覚選好性に関わる直接の証拠を得るため、イボテン酸による破壊の効果を検討したところ、POA 破壊によって嗅覚選好性は完全に消失することが分かった。しかしながら、嗅覚・鋤鼻神経系における POA の上流である MeA および CoA の破壊は、嗅覚選好性に対してマイルドな阻害効果しか得られなかった。そこでさらに MeA と CoA の破壊を組み合わせると、nose-poking の減少量は POA 破壊に匹敵したものの、依然、雌の匂いに対して選好性を示すことが分かった (図 3)。これらのことから、これらの嗅覚選好性は、POA において制御されていること、そして POA に対する感覚信号の入力は、1 通りではなくいくつかの経路を

通って POA に到達することが示唆された。

さらに我々は、視床下部外側野から POA に投射するオレキシン神経が性行動に重要ではないかと考え、POA および BnST のオレキシン受容体含有ニューロンをオレキシンと結合させたサポリン毒素 (Orex-Sap) によって破壊した効果を検討した。POA の Orex-Sap 破壊は、性行動を完全に停止させ、BnST の Orex-Sap 破壊は射精潜時の実を有意に長くした。しかしながら、これらの破壊は嗅覚選好性にまったく影響を与えなかった。この実験結果から、性行動も嗅覚選好性も POA において制御されているが、これらの制御系は独立したものであることが示唆された。

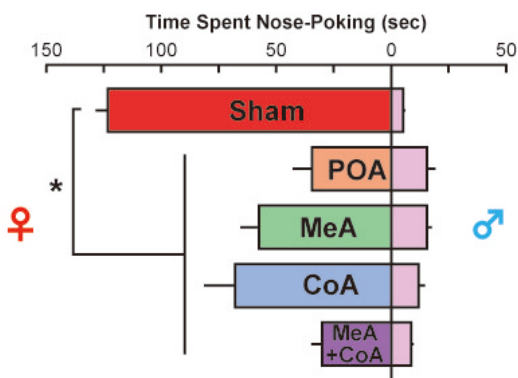


図 3. 扁桃体・視索前野破壊が嗅覚選好性に及ぼす効果

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 8 件)

- 1) Mizuno, T., Yotsuyanagi, S., Kondo, Y., Komatsu, K., Ishiura, Y., Nakamura, Y., Nagasaka, Y., Yokoyama, O. and Namiki, M. Dehydroepiandrosterone alleviates copulatory disorder induced by social stress in male rats. *Journal of Sexual Medicine* 3: 612-618, 2006 (Erratum: *Journal of Sexual Medicine* 3: 1090, 2006).
- 2) Orikasa, C., Kondo, Y. and Sakuma, Y. Transient transcription of the somatostatin gene at the time of estrogen-dependent organization of the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. *Endocrinology* 148: 1144-1149, 2007.
- 3) Kawaguchi, M., Irie, K., Morohoshi K., Watanabe, G., Taya, K., Morita, M., Kondo, Y., Imai, H. and Himi, T. Maternal isobutyl-paraben exposure alters anxiety and passive avoidance

- test performance in adult male rats. *Neuroscience Research* 65: 136-140, 2009.
- 4) Orikasa, C., Kondo, Y., Usui, S. and Sakuma, Y. Similar numbers of neurons are generated in the male and female rat preoptic area in utero. *Neuroscience Research* (in press), 2010.
 - 5) 近藤保彦. 性的動機づけ (性欲) 評価のための動物実験. *アニテックス* 20: 18-22, 2008.
 - 6) 近藤保彦. 幼若期の生育環境と性衝動—動物モデルからの検討. *現代性教育研究月報* 26, 8-9, 2008.
 - 7) 近藤保彦・佐久間康夫. 性指向性の決定機構. *Clinical Neuroscience* 27: 1126-1127, 2009.
 - 8) 近藤保彦・佐久間康夫. オキシトシン. *実地医家のための Key Word 解説*. *Medical Forum CHUGAI* 13: 45, 2009.
- [学会発表] (計 36 件)
- 1) 近藤保彦・肖凱・佐久間康夫. 成熟後も維持される雄ラット性指向性の性ホルモン依存性. 学術フロンティア「脳機能の性差形成機構」公開シンポジウム (早稲田), 2006.
 - 2) 近藤保彦. 雄マウスにおける射精後性行動抑制メカニズム. 第 15 回神経行動薬理若手研究者の集い, ミニシンポジウム「性を主題とした神経・行動・薬理研究」(千葉), 2006.
 - 3) 近藤保彦. 性成熟後に見られる雄セト性指向性の柔軟性. ワークショップ「日本における行動神経内分泌学研究の動向」. 日本動物心理学会第 66 回大会 (京都), 2006.
 - 4) 近藤保彦・浦川将・佐久間康夫. 生育環境とストレス反応性・性行動. シンポジウム「ストレスと性機能障害」第 17 回日本性機能学会中部総会 (福井), 2007.
 - 5) 近藤保彦. 幼若期の生育環境と性衝動—動物モデルからの検討. 第 52 回日本性研究会議 (東京), 2007.
 - 6) Kondo, Y. and Sakuma, Y. Sex difference in hormonal and neural regulation of olfactory preference for conspecifics in the rat. The physiological society of Japan Symposium for “New perspectives on hormonal bases of reproductive behavior.” (Tokyo, Japan), 2008.
 - 7) 近藤保彦. 他個体の社会信号受容に影響する心理学的因子. 日本心理学会第 72 回大会シンポジウム「こころに作用するホルモン」(札幌), 2008.
 - 8) Kondo, Y. and Sakuma, Y. Male rat sexual preference can be reversed by estrogen action in adults. Session 7: Steroid Hormones and Sex Differences in Brain and Behavior. US/JAPAN Neurosteroid Symposium 2008 (Gifu, Japan), 2008.
 - 9) Kondo, Y. Factors in recipient for chemosensory communication of rodent. JAPAN/CHINA Joint Symposium for “Strategies to Reduce Risks on the Brain Development Contingent to Urbanization” (Tsukuba, Japan), 2008.
 - 10) 近藤保彦. セロトニン神経と雄性行動. 第 2 回日本医科大学・早稲田大学 共催シンポジウム「セロトニンと人間」, 2008.
 - 11) Kondo, Y. Gonadal steroid action on sexual preference in adult rat brain. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010) JES-Sponsored Symposium “Brain Sex Differentiation and It’s Plasticity” (Kyoto, Japan), 2010.
 - 12) Kondo, Y., Sobukawa, A., Katou, M., Sakuma, Y. and Saito, T.R. Olfactory conditioning of copulatory behavior in male mice. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Pittsburgh, PA), 2006.
 - 13) Orikasa, C., Kondo, Y. and Sakuma, Y. Sexually dimorphic expression of somatostatin gene in the developing rat preoptic area. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Pittsburgh, PA), 2006.
 - 14) Yamada, K., Horibe, S., Kondo, Y. Effects of opiate antagonist on mating-induced conditioned place preference in female rats. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Pittsburgh, PA), 2006.
 - 15) Urakawa, S., Kondo, Y., Mitsushima, D. and Sakuma, Y. Sexual behavior in male rats reared in conventional and enriched environment. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Pacific Grove, CA), 2007.
 - 16) Dhungel, S., Urakawa, S., Kondo, Y. and Sakuma, Y. Medial amygdala and preoptic area regulate conspecific odor preference in male rat. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Pacific Grove, CA), 2007.
 - 17) Kondo, Y., Saeki, T., Takahashi, Y., Tanaka, M., Nishimori, K., Saito, T.R. and Sakuma, Y. Oxytocin is required for

- developing ultrasonic vocalization in mouse mating. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Groningen, Netherland), 2008.
- 18) Orikasa, C., Kondo, Y., Urakawa, S., Usui, S. and Sakuma, Y. Generation of the somatostatin neurons in the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. Society for Behavioral Neuroendocrinology (Groningen, Netherland), 2008.
 - 19) Dhungel, S., Kondo, Y. and Sakuma, Y. Conspecific olfactory preferences of male rats carrying lesions of the medial amygdala or the preoptic area. Poster Session in US/JAPAN Neurosteroid Symposium 2008 (Gifu, Japan), 2008.
 - 20) Dhungel, S., Urakawa, S., Kondo, Y. and Sakuma, Y. Functional differences of the medial amygdala and medial preoptic area in regulation of conspecific odor preferences. JAPAN/CHINA Joint Symposium for "Strategies to Reduce Risks on the Brain Development Contingent to Urbanization" (Tsukuba, Japan), 2008.
 - 21) Orikasa, C., Kondo, Y., Usui, S. and Sakuma, Y. Ontogeny of somatostatin neurons in the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. The 36th International Congress of Physiological Science (Kyoto, Japan), 2009.
 - 22) Dhungel S., Urakawa, S., Kondo, Y. and Sakuma, Y. Olfactory preference of male rats after destruction of the medial amygdala or the medial preoptic area. The 36th International Congress of Physiological Science (Kyoto, Japan), 2009.
 - 23) Kondo, Y., Kromkhum, P., Tanaka, M., Nishimori, K., Saito, T.R. and Sakuma, Y. The necessity of oxytocin in development of male mouse ultrasonic vocalization in response to female odor. The 36th International Congress of Physiological Science (Kyoto, Japan), 2009.
 - 24) Dhungel S., Kondo, Y., Masaoka, M. and Sakuma, Y. Dual pathways of olfactory input to the preoptic area regulating conspecific odor preference of male rats. Society for Neuroscience, the 40th Meeting (Chicago, IL), 2009.
 - 25) Orikasa, C., Kondo, Y., Usui, S. and Sakuma, Y. Sex steroids and the establishment of the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. Society for Neuroscience, the 40th Meeting (Chicago, IL), 2009.
 - 26) 折笠千登世・近藤保彦・佐久間康夫. ラット視索前野性的二型核に発現するソマトスタチンの性差. 日本神経科学学会第29回大会発表(京都), 2006.
 - 27) 堀部晨、近藤保彦、岩崎庸男、山田一夫. 雌ラットの性行動による条件性場所選好に及ぼすナロキソン投与の効果. 日本動物心理学会第66回大会(京都), 2006.
 - 28) 近藤保彦・曾布川亜弓・加藤雅裕・佐久間康夫・斎藤徹. 雌マウス性行動における嗅覚条件付け. 日本動物心理学会第66回大会(京都), 2006.
 - 29) 浦川将・近藤保彦・佐久間康夫. 豊かな飼育環境によってもたらされる雄ラット社会行動の変化. 日本動物心理学会第66回大会(京都), 2006.
 - 30) ドウンゲル スニル・浦川将・近藤保彦・佐久間康夫. 雄ラットの性指向性調節における扁桃体内側核および内側視索前野の役割. 第84回日本生理学会大会発表(大阪), 2007.
 - 31) 浦川将・近藤保彦・西野仁雄・佐久間康夫. 豊かな環境は雄ラット性行動時の社会的接触を減少させる. 第84回日本生理学会大会発表(大阪), 2007.
 - 32) 浦川将・近藤保彦・美津島大・西野仁雄・佐久間康夫. 幼少期における豊かな環境飼育はオープンフィールドでの雄ラット性行動を減弱する. 日本神経科学学会第30回大会(Neuro2007)(横浜), 2007.
 - 33) ドウンゲル スニル・浦川将・近藤保彦・佐久間康夫. Functional diversity of the medial amygdala and the preoptic area in controlling sexual preference of male rats. 日本動物心理学会第67回大会(東京), 2007.
 - 34) 浦川将・近藤保彦・美津島大・下鶴倫人・佐久間康夫. 豊かな環境飼育は新奇環境下での雄ラット性行動亢進を減弱する. 日本動物心理学会第67回大会(東京), 2007.
 - 35) 近藤保彦・佐伯知香・高橋弥生・田中実・西森克彦・齊藤徹・佐久間康夫. 雄マウスの交尾時超音波発声の発達におけるオキシトシンの役割. 日本動物心理学会第68回大会(水戸), 2008.
 - 36) 川口真以子・諸星佳織・渡辺元・田谷一善・森田昌敏・近藤保彦・今井秀樹・氷見敏行. Maternal ibobutyl-paraben exposure alters anxiety, learning performance, and social recognition in adult rats. 第36回日本神経内分泌学会(小倉), 2009.

[図書] (計3件)

- 1) 近藤保彦 (領域別執筆責任者). 心理学検定模擬問題集「神経・生理領域」(日本心理学諸学会連合 心理学検定局編). 実務教育出版, 2009.
- 2) 近藤保彦 (領域別執筆責任者). 心理学検定重要キーワード集「神経・生理領域」(日本心理学諸学会連合 心理学検定局編). 実務教育出版, 2009.
- 3) 近藤保彦・小川園子・菊水健史・山田一夫・富原一哉編. 脳とホルモンの行動学—行動神経内分泌学への招待. 西村書店, 2010,

[その他]

- 1) 小川園子・近藤保彦・山田一夫・菊水健史. 日本における行動神経内分泌学研究の動向. 日本動物心理学会第66回大会ワークショップ企画, Oct 13, 2006.
- 2) 近藤保彦・小川園子・菊水健史・山田一夫. 社会行動を制御するホルモンダイナミズム. 行動神経内分泌研究会キックオフシンポジウム・第33回日本神経内分泌学会サテライトシンポジウム企画, Oct 28, 2006.
- 3) 近藤保彦・富原一哉. 心理学における神経内分泌学. 日本心理学会第70回大会ワークショップ企画, Nov 3, 2006.
- 4) 近藤保彦・富原一哉. 初期経験がつくる「こころ」と「脳」の発達. 日本心理学会第71回大会ワークショップ企画, Sep 19, 2007.
- 5) 近藤保彦・和田博美. こころに作用するホルモン. 日本心理学会第72回大会シンポジウム企画(札幌), Sep 19, 2008.
- 6) 近藤保彦. 人と人をつなぐホルモン. 神奈川健生クラブ10周年記念の集い「招待講演」, 2008.
- 7) 高瀬堅吉・近藤保彦・富原一哉. 男のこころ、女のこころ—その生物学的基盤を探る. 日本心理学会第73回大会ワークショップ企画, Aug 26, 2009.
- 8) 近藤保彦. ホルモンと匂いが織りなす人間模様—社会行動の生物学的基礎. 第24回北海道大学心理学コロキウム・日本認定心理士会北海道・東北支部第21回研修会, Sept 17, 2009.
- 9) 小川園子・近藤保彦・和田博美・富原一哉・山田一夫・菊水健史. 周生期・周産期の内分泌かく乱は心と行動に何をもたらすのか? 日本動物心理学会第69回大会ワークショップ企画, Sept 25, 2009.

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
近藤 保彦 (Kondo Yasuhiko)
日本医科大学・医学部・講師
研究者番号: 00 192584
- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし