

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293049

研究課題名(和文) ストレス・エネルギー代謝による社会行動の修飾：PrRP-オキシトシン仮説の検証

研究課題名(英文) Roles of the PrRP-oxytocin system in the control of stress and social behavior

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：延髄PrRP産生ニューロン-視床下部オキシトシン産生ニューロン回路は摂食時に賦活化され摂食を終了させていることを報告してきた。本研究はストレス刺激、特に社会的なストレス刺激を負荷した時の生理的な働きについて検討した。PrRP-オキシトシン回路は、侵害刺激を用いた条件恐怖と社会的敗北とで活性化された。条件恐怖刺激ではPrRPはすくみ行動を抑制し、社会的敗北ではオキシトシンは社会的敗北姿勢を促進している可能性を見出した。従って、PrRP-オキシトシン系の働きはストレス刺激の種類により異なる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：I have previously shown that the medullary prolactin releasing peptide (PrRP)-producing neuron-hypothalamic oxytocin-producing neuron system is activated by food intake and that activation of the PrRP-oxytocin system terminates food intake. In the present study, I investigated physiological roles of the PrRP-oxytocin system in the control of conditioned fear or social stress-related responses. The PrRP-oxytocin system was activated following conditioned fear and social defeat stimuli. PrRP deficiency facilitated freezing behavior during conditioned fear stimuli, suggesting inhibitory roles of PrRP in conditioned fear-induced freezing behavior. On the other hand, oxytocin receptor deficiency attenuated defeat posture during social defeat stress, suggesting facilitative roles of oxytocin in the social defeat posture. All these data are consistent with a view that the PrRP-oxytocin system plays different roles in the control of stress responses dependent upon stressful stimuli used.

研究分野：行動神経内分泌

キーワード：PrRP オキシトシン ストレス

1. 研究開始当初の背景

社会的行動、ストレス体験、肥満は相互に影響を及ぼす可能性が疫学的に示されている。しかし、その適切な動物モデルはなく、その神経機構は不明なままであった。一方、申請者は、摂食することが延髄 PrRP 産生ニューロン-視床下部オキシトシン産生ニューロンを活性化すること、さらに、この系の活性化が摂食の終了をもたらすこと、PrRP あるいはオキシトシン系が障害されていると肥満が生じることを報告してきた。また、PrRP 産生ニューロン、あるいはオキシトシン産生ニューロンはいくつかのストレス刺激で活性化されることが申請者からも含めて報告されていた。しかし、この PrRP-オキシトシン系が、侵害ストレス刺激とは異なる脳部位を活性化させると報告されている社会的なストレス刺激で、活性化されるのかは不明であった。また、PrRP-オキシトシン系のストレス反応における生理的役割についても明らかではなかった。さらに、PrRP 産生ニューロンは延髄と視床下部、オキシトシン産生ニューロンは視床下部と大脳辺縁系の複数の箇所に存在しているがその個別の働きを検討するための実験的手法が確立していなかった。

2. 研究の目的

肥満はストレス反応を変化させ、さらに、社会行動も変容することが疫学的に知られている。しかしこの神経機構は不明なままであった。一方、申請者は PrRP-オキシトシン系は摂食により活性化され摂食を終了する働きがあり、欠損すると肥満が生じることを、動物実験を用いて示してきた。また、PrRP 産生ニューロン、オキシトシン産生ニューロンは様々なストレス刺激で活性化されること、オキシトシンが不安緩和作用、向社会行動誘発作用をもつことが申請者を含め複数の研究者から報告されている。従って、PrRP-オキシトシン系がエネルギー代謝とストレス反応、社会行動の相互作用に参与している可能性が考えられた。そこで、本研究では、PrRP-オキシトシン系が、ストレス反応、特に社会的なストレス刺激に対する反応に参与しているか、関与しているのであればその生理的働きは何かを明らかにすることを目的とした。ストレス反応を誘発させるストレス刺激としては、古条件恐怖刺激と社会的敗北刺激を用いた。

また、PrRP 産生ニューロンは、延髄孤束核、延髄腹外側核、視床下部背内側核に存在する。オキシトシン産生ニューロンは、視床下部室傍核、視索上核、境界条床核に存在する。これらのうちのどの領域の PrRP 産生ニューロンあるいはオキシトシン産生ニューロンがエネルギー代謝調節、ストレス反応調節、社会記憶促進作用を担っているのかは分っていない。これを解決するには、局所の PrRP 産生ニューロンあるいは局所のオキシトシン産生ニューロンを破壊する方法を開発する

ことが有効と考えられる。しかし、その方法は確立していなかった。そこで、局所の PrRP 産生ニューロン、あるいはオキシトシン産生ニューロンを破壊する方法の開発も目指した。

3. 研究の方法

ストレス負荷としては、条件恐怖刺激あるいは社会的敗北刺激を用いた。条件恐怖刺激としては、床がグリッドでできたケージにおいてフットショックを加え、間隔をあけて、同じケージに戻すという、テスト環境を条件刺激とする文脈性の条件恐怖を用いた。社会的敗北刺激としては、体重が大きく攻撃性が高い社会的強者に短時間暴露させるという刺激を用いた。

特異的抗体を用いて免疫組織化学的に検出した Fos 蛋白質の発現を神経活動の指標とした。

内側扁桃体の破壊は NMDA を局所投与することで行った。局所の PrRP 産生ニューロン産生ニューロンの破壊には、PrRP 産生ニューロン選択的にヒト型 IL2 受容体を発現している遺伝子改変ラットを用いた。この PrRP-IL2R 遺伝子改変ラットの脳内局所にヒト IL2 受容体に特異的なイムノトキシンを局所微量投与した。PrRP 産生ニューロンが破壊されているかは PrRP に対する選択的抗体を用いた免疫学的検出法で検討した。

オキシトシン産生ニューロンの選択的破壊には、オキシトシン産生ニューロン選択的にヒト型ジフテリア毒素受容体を発現している遺伝子改変ラットを用いた。標的とする脳内局所にジフテリア毒素を微量投与した。オキシトシン産生ニューロンが破壊されているかはオキシトシンに対する選択的抗体を用いた免疫学的検出法で検討した。

順行性トレーサー法としては、オキシトシン産生ニューロン特異的に組み換え酵素 Cre を発現しているマウスを用い、Cre 依存性に膜移行性蛍光蛋白質を発現するアデノ随伴ウイルスを局所投与する方法を用いた。

4. 研究成果

条件恐怖刺激を加えると、内側扁桃体のニューロンと延髄 PrRP 産生ニューロン、オキシトシン産生ニューロンに Fos 蛋白質の発現が増加した。従って、内側扁桃体、PrRP-オキシトシン系が活性化すると考えられた。この条件恐怖刺激による PrRP-オキシトシン系の活性化は、予め内側扁桃体を破壊しておくことで阻害された。これらのデータは、条件恐怖は内側扁桃体を介して PrRP-オキシトシン系を活性化することを示唆している。

さらに、PrRP 欠損動物においては、条件恐怖刺激によるオキシトシン産生ニューロンの活性化が阻害され、すくみ行動が増大していた。従って PrRP-オキシトシン系は条件恐怖刺激におけるすくみ行動を抑制している可能性が考えられた。

オスマウスを攻撃的な社会的強者のオス動物のテリトリーの中に入れられると、入れられたオス動物は社会的強者から攻撃をうけ、種特異的な敗北姿勢を示す。この社会的敗北姿勢を示した動物において、延髄の PrRP 産生ニューロンと視床下部のオキシトシン産生ニューロンに Fos 蛋白質が発現していた。従って、社会的敗北刺激により PrRP-オキシトシン系が活性化されると考えられた。

オキシトシン受容体欠損動物においては、社会的敗北姿勢をとる時間が、野生型の対照群に比べ優位に短縮していた。従って、オキシトシンは定型的な社会的敗北姿勢をとることを促進している可能性が考えられた。

社会的敗北時にオキシトシン産生ニューロンの活動が増加するというデータは、脳内において社会的敗北によりオキシトシンが放出されている可能性を示す。オキシトシンは、オキシトシン受容体に作用すると考えられている。そこで、オキシトシン受容体を発現しているニューロンのうち、社会的な敗北刺激によってその神経活動が活動している細胞の分布を検索した。その結果、視床下部のオキシトシン受容体産生ニューロンと中脳のオキシトシン受容体産生ニューロンの一部が、社会的な敗北刺激によりその神経活動を増加させることが見いだされた。さらに、視床下部と中脳に、オキシトシン免疫陽性の線維が存在していることを見出した。これらのデータは、社会的敗北刺激により、PrRP 産生ニューロン-オキシトシン産生ニューロン-オキシトシン受容体産生ニューロン系が活性化される可能性を示している。さらに、オキシトシン系は種特異的な社会的敗北姿勢に対し促進的作用を持つ可能性が考えられた。

さらに、中脳に投射しているオキシトシン線維の起始細胞体の局在を検討した。視床下部室傍核内に順行性トレーサーを投与する実験を行った。オキシトシン産生細胞選択的に DNA 組み換え酵素 Cre を発現するマウス (OT-Cre マウス) の視床下部室傍核内に、Cre 依存性に緑色蛍光タンパク質を発現させるアデノ随伴ウイルスベクターを投与した。これにより視床下部室傍核の局所のオキシトシン産生ニューロンを選択的に緑色蛍光タンパク質で標識した。この実験により、視床下部室傍核のオキシトシン産生ニューロンの一部が中脳に投射している可能性を見出した。

また、局所のオキシトシン産生ニューロン、あるいは、PrRP 産生ニューロンを選択的に破壊できる遺伝子改変動物のラインを用いて、これらのニューロンを選択的に破壊する方法の確立を行った。オキシトシン産生ニューロンに選択的にジフテリア毒素受容体を発現している遺伝子改変ラットの脳内局所にジフテリア毒素を投与することでオキシトシン産生ニューロン数が選択的に減少した。従って、局所のオキシトシン産生ニューロン

が選択的に破壊されたと考えられた。さらに、PrRP 産生ニューロンを時期場所特異的に破壊するために、PrRP 産生ニューロン選択的にヒト型 IL2 受容体を発現しているラットに、イムノトキシンを局所投与した。すると、イムノトキシンの微量投与により視床下部、あるいは延髄の PrRP 産生ニューロン数が減少した。

今後、これらの方法を用いて、時期、場所特異的にオキシトシン産生ニューロン、あるいは、PrRP 産生ニューロンを破壊することで、局所のオキシトシン産生ニューロンと PrRP 産生ニューロンのストレスと社会行動における働きの解明に寄与すると思われる。

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 11 件)

Takayanagi Y, Yoshida M, Takashima A, Takanami K, Yoshida S, Nishimori K, Nishijima I, Sakamoto H, Yamagata T, Onaka T* : Activation of supraoptic oxytocin neurons by secretin facilitates social recognition. *Biol Psychiatry*. 81(3): 243-251, 2017. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.11.021. 査読有

尾仲達史, 犬束歩, 高柳友紀, 吉田匡秀 : パゾプレシン受容体とオキシトシン受容体の種類. *Clinical Neuroscience* 35(4): 376-377, 2017. 査読無し

尾仲達史 : オキシトシンと妊娠・出産・育児の関係—オキシトシンの働き—その古典的な機能と新しい機能. *助産雑誌* 70(9): 709-714, 2016. 査読無し

Okabe S, Yoshida M, Takayanagi Y, Onaka T : Activation of hypothalamic oxytocin neurons following tactile stimuli in rats. *Neurosci Lett*. 600: 22-27, 2015. doi: 10.1016/j.neulet.2015.05.055. 査読有

Onaka T, Okabe S, Takayanagi Y, Yoshida M.: Noxious or Non-Noxious Inputs to Oxytocin Neurons: Possible Roles in the Control of Behaviors. *Interdisciplinary Information Sciences* 21 (3) : 189-195, 2015. https://www.jstage.jst.go.jp/article/iis/21/3/21_2015.B.03/_article 査読有

尾仲達史 : エイジングとホルモン(4)—オキシトシン. *Hormone Frontier in gynecology* 22(2) : 131-139, 2015. 査読無し

尾仲達史 : オキシトシンと社会的行動. *Clinical Neuroscience* 33(2): 177-181, 2015. 査読無し

尾仲達史、吉田匡秀、高柳友紀：不安・恐怖とオキシトシン。アンチ・エイジング医学 11 (1)：24-33, 2015. 査読無し

Yoshida M, Takayanagi Y, Onaka T：The medial amygdala - medullary PrRP-synthesizing neuron pathway mediates neuroendocrine responses to contextual conditioned fear in male rodents. Endocrinology. 155(8):2996-3004, 2014. doi: 10.1210/en.2013-1411. 査読有

尾仲達史：ストレス・摂食・社会行動の相互作用：オキシトシンの働き。心身医学 54(7): 643-656, 2014. 査読無し

尾仲達史：オキシトシンの働きと老化。最新医学 69(5): 1021-1031, 2014. 査読無し

〔学会発表〕(計 18 件)

尾仲達史：オキシトシンの多様な働きをどう理解するか？ 第 14 回 GPCR 研究会. 2017 年 5 月 12-13 日、日本科学未来館（東京都江東区）(基調講演 6)(抄録集 P22) 招待講演

尾仲達史、Naranbat Nasanbuyan、吉田匡秀、高柳友紀、犬束歩：社会的敗北とオキシトシン。第 27 回日本行動神経内分泌研究会、牛窓研修センター・カリヨンハウス（岡山県瀬戸内市）2017 年 4 月 28-30 日（一般口頭発表）(要旨 p.12)

尾仲達史：オキシトシンとストレス、エネルギー代謝、社会行動。第 90 回日本内分泌学会学術総会。ロームシアター京都・京都勤業館みやこめっせ。2017 年 4 月 20-22 日、(日本内分泌学会雑誌 93: 216, 2017.) 教育講演

高柳友紀、吉田匡秀、尾仲達史：社会行動におけるオキシトシンの働き。第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会、長崎大学坂本キャンパス(長崎市) 2017 年 3 月 28 日-30 日、3S17-4 (抄録集 pp.101) シンポジウム口演

吉田匡秀、高柳友紀、犬束歩、尾仲達史：遺伝子改変動物とウイルスベクターを用いたオキシトシンシステム特異的な機能調節。第 94 回日本生理学会大会、静岡県浜松市・アクトシティ浜松、2017 年 3 月 28-30 日(3PS17B2-5). Yoshida M, Takayanagi Y, Inutsuka A, Onaka T: Transgene expression and site-specific ablation in oxytocin system by making use of transgenic animals and virus vectors. The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, March 28-30, 2017, Hamamatsu, Japan. (J. Physiol. Sci. 67(Suppl. 1): S26, 2017.) シンポジウム口演

尾仲達史：オキシトシンと母性行動・社会行動。第 32 回東京母性衛生学会学術セミナー「もっと身につけよう！助産スキル」、東京

(帝京科学大学千住キャンパス) 2017 年 2 月 25 日。(東京母性衛生学会誌 33(Suppl.2): S11-12, 2017.) 招待講演

Okabe S, Takayanagi Y, Yoshida M, Inutsuka A, Onaka T: Do stroking stimuli induce a pleasant sensation in rats. 日本動物心理学会第 76 回大会、札幌市 北海道大学 学術交流会館、2016 年 11 月 23-25 日、(P-25-09)

尾仲達史：神経内分泌入門・基礎編「オキシトシンをめぐる最近の話題」第 43 回日本神経内分泌学会学術集会 (The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroendocrine Society) アクトシティ浜松 コンgressセンター、2016 年 10 月 14 日-15 日、招待講演

高柳友紀、尾仲達史：エネルギー代謝とストレスにおけるオキシトシンの働き。第 43 回日本神経内分泌学会学術集会 (The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroendocrine Society) アクトシティ浜松 コンgressセンター、2016 年 10 月 14 日-15 日、シンポジウム口演

尾仲達史：オキシトシンとストレス感受性。第 9 回脳・神経・内分泌系から運動の意義を考える会、岩手県民情報交流センター(アイーナ) 盛岡市、2016 年 9 月 22 日、招待講演

尾仲達史：幸せホルモンとエイジング。第 10 回見た目のアンチエイジング研究会、2016 年 7 月 17 日、東京都文京区本郷、東京大学伊藤国際学術研究センター、招待講演

尾仲達史、高柳友紀、吉田匡秀、岡部祥太：恐怖あるいは親和的刺激に対する神経内分泌系と行動における反応：オキシトシンの働き。第 93 回日本生理学会大会、札幌コンベンションセンター、2016 年 3 月 22-24 日 (S15-4). Onaka T, Takayanagi Y, Yoshida M, Okabe S.: Neuroendocrine and behavioral responses to fear-related or affiliative stimuli: roles of oxytocin. The 93rd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Sapporo Convention Center, March 22 (Tue) - 24 (Thu), 2016. シンポジウム口演

Onaka T, Takayanagi Y, Yoshida M, Okabe S: Noxious or Non-Noxious Inputs to Oxytocin Neurons: Possible Roles in the Control of Behaviors. Parvo- and Magnocellular Symposium in Sendai, Sendai, Japan, 17 Sep, 2015. 招待講演

高柳友紀、吉田匡秀、尾仲達史：オキシトシンによる情動・社会行動の制御。第 92 回日本生理学会大会。神戸(神戸国際会議場・展示場) 2015 年 3 月 21-23 日(S67-3) Takayanagi Y, Yoshida M, Onaka T: Roles of oxytocin in the

control of emotional and social behaviors. The 92nd Annual Meeting of the Physiology Society of Japan, Kobe, Japan, 21-23 March, 2015. (J Physiol Sci 65(Suppl.1): S101, 2015.) シンポジウム発表

尾仲達史、吉田匡秀、高柳友紀：条件恐怖ストレスの神経内分泌反応における内側扁桃体の働き. 第 92 回日本生理学会大会. 神戸 (神戸国際会議場・展示場) 2015 年 3 月 21-23 日 (S65-2) Onaka T, Yoshida M, Takayanagi Y: Roles of the medial amygdala in the control of neuroendocrine responses to conditioned fear stimuli. The 92nd Annual Meeting of the Physiology Society of Japan, Kobe, Japan, 21-23 March, 2015. (J Physiol Sci 65(Suppl.1): S99, 2015.) シンポジウム発表

尾仲達史：神経内分泌系の条件恐怖反応の神経回路. 平成 26 年度生理学研究所研究会「感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻」, 愛知県岡崎市生理学研究所, 2014 年 10 月 7-8 日、招待講演

尾仲達史：ストレスと下垂体後葉ホルモン. 第 6 回耳鼻咽喉科心身医学研究会. 慶應義塾大学 (東京都新宿区信濃町) 2014 年 10 月 4 日、特別講演

Onaka T, Yoshida M, Takayanagi Y : Lesions of vasopressin neurons by use of vasopressin-DTR transgenic rats. Satellite meeting of ICN 2014 in Sydney“Recent and Future Trends in Neuroendocrinology-from Asia and Oceania to Global-”Novotel Sydney Manly Pacific, Sydney, 16th Aug. 2014. 招待講演

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.jichi.ac.jp/usr/pys1/admnpys1/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者
尾仲 達史 (ONAKA, Tatsushi)
自治医医科大学・医学部・教授
研究者番号：90177254

(2)研究分担者
()
研究者番号：

(3)連携研究者
()
研究者番号：

(4)研究協力者
高柳 友紀 (TAKAYAHAGI, Yuki)
吉田 匡秀 (YOSHIDA, Masahide)
犬束 歩 (INUTSUKA, Ayumu)
岡部 祥太 (OKABE, Shota)