

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03419

研究課題名（和文）積極的な対処行動の制御機構：「オキシトシン積極的な対処行動促進仮説」の検証

研究課題名（英文）Roles of oxytocin in the control of active coping behaviors

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） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：敵対的な状況での積極的な対処行動である社会的敗北姿勢を示すのに視床下部室傍核オキシトシン産生ニューロンとその投射先の視床下部腹内側核のオキシトシン受容体発現ニューロンが促進していることが、活動記録実験、局所ニューロン刺激実験、コンディショナルノックアウトマウスを使用した実験で示唆された。これに対して、親和的な状況における積極的な対処行動である毛繕いには別の領域のオキシトシン受容体発現ニューロンが機能している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

状況に応じて適切な積極的な社会的対処行動をとることは、社会を構成する動物にとって重要なことである。本研究の結果から、視床下部オキシトシンニューロンと様々な領域のオキシトシン受容体発現ニューロンが、積極的な対処行動を促進させていることが示唆された。本研究は社会を構成するための積極的な対処行動を支える生物学的基盤を明らかにするだけでなく、社会的行動に障害をきたす疾患の治療に資する基盤的知見を提供する。

研究成果の概要（英文）：In hostile situations of social defeat stress, oxytocin-producing neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and oxytocin receptor-expressing neurons in the ventromedial hypothalamus were suggested to facilitate social defeat posture, an active coping behavior. In affiliative situations, oxytocin receptor-expressing neurons in different brain regions were activated in parallel with affiliative behaviors. All these data suggest that distinct oxytocin systems play a role in active coping behaviors both in hostile and affiliative situations.

研究分野：生理学

キーワード：オキシトシン ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

社会的ストレスが負荷された時、状況に応じて適切な対処行動を選択することは社会を構成する動物にとって重要である。例えば、攻撃的な同種の社会的強者に出会ったとき、小動物は、行っていた行動を中止し、攻撃の相手との距離が遠ければ逃走し、相手が間近にいて逃げられなければ敗北(服従)姿勢を提示する。優位個体に対し社会的敗北姿勢といった積極的な対処行動をとることで、優位動物からの攻撃行動を減弱させることができる。従って、対処できるような状況の場合、積極的な対処行動をとることは、適応的と考えられる。恐怖のあまり、すくんで何もしないという選択肢を抑え、積極的な社会的対処行動をとるための神経機構は不明である。

一方、親和的状况ではよく知っている親和的な他個体に対し、逃げたり攻撃したりするのではなく、親和的な行動を示すことが集団を形成する動物においては適応的である。実際、マウスはホームケージにおいて、一緒にいるケージメイトに対して毛繕い行動を示す。毛繕いはストレス緩和作用があり、親和的な行動の一つである。この親和的状况において、同種個体に対し親和的社会的対処行動をとるための神経機構も明らかでない。

申請者は、マウスを用い、社会的なストレス負荷に対し積極的な社会的対処行動をとる実験系を確立させた。すなわち、優位動物に対峙させ積極的な対処行動である社会的敗北(服従)姿勢を取らせる実験系を確立させた。また、親和的状况下で毛繕い行動を誘発するという親和的社会的対処行動の実験系も確立させている。

申請者は、敵対的状况下で積極的な社会的対処行動を行っているときその個体のオキシトシン系が賦活化することを見出した。さらに、オキシトシン受容体欠損マウスでは、社会的敗北姿勢が減少していた。従って、オキシトシン系は敵対的状况における積極的社会的対処行動を促進すると考えられるが、その作用機序の詳細は不明なままであった。申請者は、敵対的状况下における積極的対処行動である逃走、社会的敗北(服従)姿勢の神経機序に関し、これまで、逃走、社会的敗北姿勢のとき視床下部室傍核オキシトシン産生ニューロン、視床下部腹内側核のオキシトシン受容体発現ニューロン、そして中脳中心灰白質のオキシトシン受容体発現ニューロンが賦活化することを見出した。そこで、敵対的状况下での積極的対処行動を検討する研究においては視床下部腹内側核と中脳中心灰白質に注目した。

また、親和的状况下で視床下部のオキシトシンニューロンが活性化されるということが報告されている。しかし親和的な積極的対処行動の誘発させる機序については不明なままであった。

2. 研究の目的

本研究は、申請者が確立させた動物実験系を用いて、同種個体に対し、敵対的な状況と親和的状况においてそれぞれに適した積極的な対処行動を選択する神経機構における、オキシトシン-オキシトシン受容体系の働きを解明することが目的であった。敵対的な状況において働くオキシトシン系については、これまでの申請者の実験から視床下部オキシトシン産生ニューロンと視床下部腹内側核のオキシトシン受容体発現ニューロンと中脳中心灰白質のオキシトシン受容体発現ニューロンに焦点を合わせた。

まず、敵対的な状況下で積極的社会的対処行動を選択しているときに活性化されるオキシトシン受容体発現ニューロン、親和的状况下で積極的社会的対処行動を選択しているときに活性化されるオキシトシン受容体発現ニューロンを同定するために Fos 蛋白質発現検討実験を行った。さらに、conditional 受容体欠損マウスを用いて局所のオキシトシン受容体を欠損させて敵

対的状況での積極的対処行動が阻止されるのか、視床下部腹内側核あるいは中心灰白質のオキシトシン受容体発現ニューロンに人工受容体を発現させて刺激した時に積極的対処行動が促進されるのかを明らかにすることを目的とした。

さらに、親和的状況における親和的対処行動において活性化されるオキシトシン受容体発現ニューロンを同定することを目的とした。

3. 研究の方法

C57BL/6J マウス、オキシトシン受容体 Venus ノックインマウス、conditional オキシトシン受容体ノックアウトマウス、オキシトシン受容体-Cre マウスを用いた。

優位個体として、リタイアした雄 CD1 マウスの中から、攻撃性の高いものを選別した。社会的敗北は優位個体のいるケージに実験対象の C57BL/6J マウスをいれることで加えた。入れられた C57BL マウスが、攻撃的で優位なマウスに特異的な社会的敗北姿勢を示している時間、すくみ行動を示している時間を計測した。

親和的状況下における積極的な対処行動として毛繕い行動を注目した。この毛繕い行動はストレス緩和作用があると報告されている。そこで、社会的敗北ストレスを加えられたマウスをケージメイトがいるホームケージに戻し、ケージメイトが社会的敗北を受けたマウスに対して示す毛繕い行動の時間を計測した。

活性化されたニューロンの同定には、神経活動の指標である Fos 蛋白質の発現を Fos 蛋白質に対する特異的な抗体を用いて免疫組織化学的染色法で検出することで行った。オキシトシン受容体発現細胞はオキシトシン受容体遺伝子プロモーター制御下に緑色蛍光蛋白質 Venus を発現するノックインマウスを用いて可視化した。局所のオキシトシン受容体の発現の欠損には、conditional オキシトシン受容体ノックアウトマウスの脳内局所に DNA 組み換え酵素 Cre をウイルスベクターを用いて発現させて行った。これにより積極的対処行動が阻止されるかを検討した。局所のオキシトシン受容体が欠損したことは、アイソトープ標識したオキシトシン受容体リガンドの結合実験で確認した。

4. 研究成果

敵対的状況下における積極的対処行動である敗北(服従)姿勢のときに活性化される視床下部腹内側核のオキシトシン受容体発現ニューロンの分布を検討した。活性化されたオキシトシン受容体発現ニューロンの割合は吻側でより高値を示した。

さらに、Cre 依存性に蛍光蛋白質を発現させる逆行性トレーサーを視床下部腹内側核に投与し、視床下部腹内側部に投射するオキシトシンニューロンの細胞体が何処にあるのかを検討した。その結果、視床下部室傍核オキシトシンニューロンが視床下部腹内側核に投射することが明らかとなった。

次に、視床下部腹内側核のオキシトシン受容体発現ニューロンに活性型人工受容体の hM3Dq を発現させた。このためにオキシトシン受容体 Cre マウスの脳内局所に AAV ウイルスベクターを投与した。人工受容体アゴニスト CNO を投与すると視床下部腹内側核オキシトシン受容体発現ニューロンが活性化することは Fos 蛋白質が発現することで確認した。視床下部腹内側核のオキシトシン受容体発現ニューロンの活動を増加させると、優位個体に対する敗北姿勢が増加した。

次に、視床下部腹内側核のオキシトシン受容体を欠損させると敗北姿勢が減少するのかを検討した。この目的で conditional オキシトシン受容体ノックアウトマウスを用いて脳内局所のオキ

シトシン受容体を欠損させた。オキシトシン受容体が視床下部腹内側核で欠損していることは標識オキシトシン受容体リガンドの結合実験で確認した。視床下部腹内側核のオキシトシン受容体を欠損させると優位個体に対する敗北姿勢が減少した。

これらのデータは、視床下部腹内側核のオキシトシン受容体が敵対的状况における積極的な対処行動の社会的敗北姿勢を促進していること、さらにこの上流は、視床下部室傍核のオキシトシンニューロンであることを示唆している。

次に、中脳中心灰白質のオキシトシン受容体発現ニューロンの働きを検討した。中脳中心灰白質のオキシトシン受容体発現ニューロンにオキシトシン受容体 Cre マウスを用いて活性型人工受容体 hM3Dq を発現させた。人工受容体アゴニストを投与して賦活化するとすくみ行動が減少した。このデータから中脳中心灰白質のオキシトシン受容体発現ニューロンはすくみ行動を抑制している可能性が考えられた。

親和的状况として、社会的敗北を受けた仲間をホームケージで一緒にさせた。すると毛繕いを示した。このとき活性化されるオキシトシン受容体発現ニューロンを検討したところ、帯状回、島皮質、内側扁桃体のほか、前嗅核、外側中隔で活性化された。さらに、前嗅覚、島皮質、外側中隔、内側扁桃体のオキシトシン受容体発現ニューロンの活性化と毛繕いの時間が並行していた。従って、これらの領域が親和的積極的対処行動に関与している可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Okabe Shota, Takayanagi Yuki, Yoshida Masahide, Onaka Tatsushi	4. 巻 26
2. 論文標題 Novel 31-kHz calls emitted by female Lewis rats during social isolation and social inequality conditions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 106243 ~ 106243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.106243	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 -
1. 著者名 Takayanagi Yuki, Onaka Tatsushi	4. 巻 23
2. 論文標題 Roles of Oxytocin in Stress Responses, Allostasis and Resilience	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 150 ~ 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23010150	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 -
1. 著者名 Onaka Tatsushi, Takayanagi Yuki	4. 巻 33
2. 論文標題 The oxytocin system and early life experience dependent plastic changes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 e13049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.13049	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 -
1. 著者名 Usui Naoki, Yoshida Masahide, Takayanagi Yuki, Nasanbuyan Naranbat, Inutsuka Ayumu, Kurosu Hiroshi, Mizukami Hiroaki, Mori Yoshiyuki, Kuro o Makoto, Onaka Tatsushi	4. 巻 33
2. 論文標題 Roles of fibroblast growth factor 21 in the control of depression like behaviours after social defeat stress in male rodents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 e13026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.13026	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 -

1. 著者名 Matsumoto Makiya, Yoshida Masahide, Jayathilake Buddhini Wimarsha, Inutsuka Ayumu, Nishimori Katsuhiko, Takayanagi Yuki, Onaka Tatsushi	4. 巻 33
2. 論文標題 Indispensable role of the oxytocin receptor for allogrooming toward socially distressed cage mates in female mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 e12980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.12980	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 -

1. 著者名 Okabe Shota, Takayanagi Yuki, Yoshida Masahide, Onaka Tatsushi	4. 巻 11
2. 論文標題 Post-weaning stroking stimuli induce affiliative behavior toward humans and influence brain activity in female rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-83314-w	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 -

1. 著者名 Inutsuka Ayumu, Ino Daisuke, Onaka Tatsushi	4. 巻 136
2. 論文標題 Detection of neuropeptides in vivo and open questions for current and upcoming fluorescent sensors for neuropeptides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170456 ~ 170456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2020.170456	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 -

1. 著者名 Okabe Shota, Takayanagi Yuki, Yoshida Masahide, Onaka Tatsushi	4. 巻 10
2. 論文標題 Gentle stroking stimuli induce affiliative responsiveness to humans in male rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66078-7	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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾仲達史
2. 発表標題 オキシトシンと社会的行動：オキシトシンの両方向性作用
3. 学会等名 第17回日本周産期メンタルヘルス学会（招待講演）
4. 発表年 2021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
---------	---------