

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15837

研究課題名（和文）雄の性行動調節における末梢から脳へのフィードバック神経機構の解明

研究課題名（英文）Neural mechanisms of spinal cord-to-brain feedback in the regulation of male sexual behavior.

研究代表者

越智 拓海 (Oti, Takumi)

岡山大学・理学部・非常勤研究員

研究者番号：00837180

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者はこれまでに、脊髄レベルで雄の性機能を調節する脊髄ガストリン放出ペプチド（GRP）ニューロン系を視床下部室傍核に存在するオキシトシンニューロンが活性化することで性行動が促進されることを見出している。一方で、脊髄から脳へと性行動の完了を伝えるフィードバックメカニズムについてはわかっていなかった。本研究課題では、脊髄GRPニューロンの脳への投射と投射部位におけるGRP受容体発現ニューロンの局在から脊髄-脳神経ネットワークの探索を行っている。その結果、脊髄GRPニューロンが視床室傍核に存在するGRP受容体ニューロンへと投射し、射精情報を脳へと伝える新規の神経ネットワークを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物の行動は、行動欲求（モチベーション）が高まり、それに伴って脊髄や運動器が制御される。しかし、動物が行動を起こした後、その終了はどのように定義されるのか？モチベーションを鎮めるシグナルはどんなものか？はよくわかっていなかった。そのため、雄の性行動を調節する脳-脊髄神経ネットワークの全容を解明することで、行動の起こりから終了までを一貫して理解し、モチベーションに関わる中枢と運動機能に関わる末梢をつなぐ脊髄神経ネットワークを明らかにできると考えている。このような研究は将来、家畜や絶滅危惧種の繁殖、あるいは心因性の性機能障害の病態解明・治療法開発につながると考えている。

研究成果の概要（英文）：We previously reported that oxytocin projections originating from paraventricular nucleus of hypothalamus to spinal cord activate the spinal gastrin-releasing peptide (GRP) neuron system, which regulates male sexual function at the spinal level, and then facilitate male sexual behavior. On the other hand, the feedback mechanisms that convey the completion of sexual behavior from the spinal cord to the brain were not known. In this project, the projection of spinal GRP neurons to the brain and the localization of GRP receptor-expressing neurons at the projection site have been used to explore the spinal cord to brain neural network. As a result, a novel neural network was found in which spinal GRP neurons project to GRP receptor neurons in the paraventricular nucleus of the thalamus and transmit ejaculatory information to the brain.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：ガストリン放出ペプチド 腰髄-視床路 男性性機能 視床室傍核後部

1. 研究開始当初の背景

性行動は脳と脊髄に広くまたがった神経ネットワークにより調節され、脊髄運動ニューロンが陰茎機能を調節する。日本の成人男性の4人に1人が性機能障害、特に勃起障害(ED)に悩んでいる。EDには器質性(陰茎の血管や筋肉などの問題)と心因性(精神的・神経的な問題)の大きく二つが存在する。近年、米国プロゴルファーのタイガー・ウッズ氏が性依存症であることが報道され、話題となった。米国では性依存症が精神疾患として認定されるなど、注目を集めている。また逆に、性的興奮障害なども性機能障害の一つと考えられる。しかしながら、性機能研究は、間脳視床下部領域における性的モチベーションの研究や陰茎機能の研究が主であり、それぞれ独立に研究が進められてきた。そのため、これらを統括する研究はほとんど存在しない。

雄ラットの性行動において、脳(視床下部領域)では、性的モチベーションや好みなどを制御し、末梢(生殖器や運動ニューロン)は、勃起や射精といった性機能を制御する。申請者らは、雄の性行動を司る脳-脊髄神経ネットワークに着目し、脊髄(腰髄)に存在するガストリン放出ペプチド(GRP)ニューロン系が雄優位な神経ネットワークを構築し、勃起や射精などの雄の性機能を制御することを報告している(Sakamoto H *et al.*, *Nature Neuroscience*, 2008 他)。さらに、この脊髄 GRP ニューロン系と脳との機能連関に着目し、間脳視床下部オキシトシンニューロンが脊髄 GRP ニューロン系を遠心性に調節することで雄の性行動を促進することを見出した(Ott T *et al.*, *Current Biology*, 2021)。一方で、脊髄 GRP ニューロンは脊髄(腰髄)から間脳視床領域へと投射する腰髄視床路(LSt)ニューロンとして知られる(Truitt WA & Coolen LM, *Science*, 2002; Sakamoto H *et al.*, *Nature Neuroscience*, 2008)。そのため、射精後、LStニューロンが快感を脳へとフィードバックしていると考えられるが、詳細な投射領域や性行動調節メカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、脊髄 GRP ニューロンが脳のどの領域に投射し、脊髄 GRP ニューロンの脳への求心性投射は雄の性行動をどのように調節するのか?を明らかにし、末梢から中枢までの雄の性行動を調節する(フィードバック)神経ネットワークとその性行動調節メカニズムを明らかにすることを目的とした。これにより、動物の行動全般における末梢 脊髄 中枢のフィードバック機構を明らかにする基盤づくりを行い、性機能研究においても心因性の勃起障害や性依存症などの心因性の性機能障害の病態解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 脊髄 GRP ニューロンの脳への求心性投射の解析

野生型雄ラットの脊髄 L3 - L4 レベルに GRP プロモーター-Cre を組み込んだアデノ随伴ウイルス(AAV-pGrp-Cre)と Cre 依存的に膜移行型 GFP 発現させる AAV-FLEX-palGFP を投与し、脊髄 GRP ニューロン特異的に palGFP を発現させた。このラットの視床領域において palGFP 発現線維の局在を調べた。

(2) 視床・視床下部における GRP 受容体発現ニューロンの局在解析

GRP 受容体プロモーター-ヒトジフテリア毒素受容体(hDTR)-2A-RFP トランスジェニック(GRPR-hDTR-RFP Tg)ラットを用いて、RFP シグナルを指標に実験(1)で palGFP 発現線維が観察された領域における GRP 受容体発現ニューロンの局在を解析した。また、GRP 受容体発現ニューロンが観察された領域において、高感度 *in situ* hybridization (RNAscope) 法を用いて RFP 発現ニューロンにおける GRP 受容体 mRNA 発現を確認した。

(3) 性行動後の GRP 受容体発現ニューロンの活性化

GRPR-hDTR-RFP Tg ラット雄を発情雌と同じケージにいれ、性行動させた。射精に至った雄を射精から 90 分後に灌流固定した。コントロールには雌と同居させなかった雄を用いた。固定後、神経活性化マーカーの c-fos に対する免疫染色を行い、GRP 受容体発現ニューロンが射精を伴う性行動により活性化されるのか調べた。

(4) 逆行性トレーサーを用いた投射元ニューロンの解析

実験(1)~(3)により、脊髄 GRP ニューロンの投射先として同定された視床室傍核後部(PVTp)に緑色蛍光を発する逆光性神経トレーサー(RetroBeads)を投与し、PVTp に存在する GRP 陽性軸索の細胞体の位置を調べた。

4. 研究成果

(1) 脊髄 GRP ニューロンの脳への求心性投射の解析

脊髄 L3 - L4 レベルに AAV-pGrp-Cre と AAV-FLEX-palGFP を投与した雄ラット視床領域において、GFP に対する免疫染色を行った。結果、GFP 陽性を示す線維が PVTp、束傍核(PF)、小細胞性視床中心傍核(SPFp)で観察された。線維分布と脊髄から上行性に投射することから、脊髄 GRP ニューロンは SPFP から PF を通り、PVTp へと投射することが示唆された。さらに GRP に対する免疫染色を行った結果、これら 3 領域の palGFP 発現線維で GRP 免疫陽性が観察された。

(2) 視床・視床下部における GRP 受容体発現ニューロンの局在解析

GRPR-hDTR-RFP Tg ラットを用いて、脊髄 GRP ニューロンの投射線維が観察された PVTp、PF、SPFp における RFP 発現ニューロンの局在を解析した。結果、3 領域ともに RFP 発現ニューロンが観察されたが、PVTp や PF に比べ SPFp では RFP 発現ニューロンの数が少なかった。さらに、*Grpr* mRNA と *hDtr* mRNA に対する *in situ hybridization* を行った結果、PVTp、PF、SPFp 全ての領域で *hDtr* mRNA の発現が観察された一方、*Grpr* mRNA は PVTp、PF では観察されるものの、SPFp ではほとんど観察されなかった。PVTp、PF に存在する *hDtr* mRNA 発現細胞のほとんど全てで *Grpr* mRNA の発現が観察された。これらのことから、PVTp、PF に存在する RFP 発現細胞は GRPR 発現ニューロンであることが確認された。

また、PVTp、PF、SPFp の RFP 発現ニューロンの性差を解析した結果、3 領域全てで RFP 発現ニューロンの数に性差は見られなかった。

(3) 性行動後の GRP 受容体発現ニューロンの活性化

GRPR-hDTR-RFP Tg ラット雄を発情雌と同じケージにいれ、射精を伴う性行動により PVTp、PF の GRPR 発現ニューロンが活性化されるか、神経活性化マーカーの *c-fos* を指標に解析した。その結果、射精を伴う性行動を行った雄の PVTp では性行動させなかった雄に比べて *c-fos* を発現する GRPR 発現ニューロンが多かった。一方で、PF の GRPR 発現ニューロンでは性行動の有無で *c-fos* の発現は変わらなかった。これらのことから、脊髄 GRP ニューロンは射精情報を PVTp に伝えることが示唆された。

(4) 逆行性トレーサーを用いた投射元ニューロンの解析

上記の実験から、脊髄 GRP ニューロンは脊髄から脳へと投射し、視床内では SPFp から PF を通り PVTp へと投射しており、PVTp の GRPR 発現ニューロンに作用することで射精情報を脳に伝える神経ネットワークの存在が示唆された。そこで、作用部位である PVTp に逆行性神経トレーサーを投与し、PVTp に投射するニューロン細胞体を可視化した。PVTp に逆行性トレーサーを投与したラットの脊髄において GRP に対する免疫染色を行った結果、ほぼ全ての GRP 陽性ニューロンで逆行性トレーサー由来の緑色蛍光が観察された。このことから、脊髄 GRP ニューロンの末端領域が PVTp にあることが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Oti Takumi, Sakamoto Hirota	4. 巻 35
2. 論文標題 Neuropeptidergic control circuits in the spinal cord for male sexual behaviour: Oxytocin-gastrin releasing peptide systems	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Neuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.13324	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 Takanami Keiko, Oti Takumi, Kobayashi Yasuhisa, Hasegawa Koki, Ito Takashi, Tsutsui Naoaki, Ueda Yasumasa, Carstens Earl, Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirota	4. 巻 530
2. 論文標題 Characterization of the expression of gastrin releasing peptide and its receptor in the trigeminal and spinal somatosensory systems of Japanese macaque monkeys: Insight into humans	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 2804 ~ 2819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25376	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 Hirooka Asuka, Hamada Mayuko, Fujiyama Daiki, Takanami Keiko, Kobayashi Yasuhisa, Oti Takumi, Katayama Yukitoshi, Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirota	4. 巻 11
2. 論文標題 The gastrin-releasing peptide/bombesin system revisited by a reverse-evolutionary study considering Xenopus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92528-x	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 Oti Takumi, Ueda Ryota, Kumagai Ryoko, Nagafuchi Junta, Ito Takashi, Sakamoto Tatsuya, Kondo Yasuhiko, Sakamoto Hirota	4. 巻 22
2. 論文標題 Sexual Experience Induces the Expression of Gastrin-Releasing Peptide and Oxytocin Receptors in the Spinal Ejaculation Generator in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10362 ~ 10362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms221910362	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 Otubo Akito, Maejima Sho, Oti Takumi, Satoh Keita, Ueda Yasumasa, Morris John F., Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirotaka	4. 巻 22
2. 論文標題 Immunoelectron Microscopic Characterization of Vasopressin-Producing Neurons in the Hypothalamo-Pituitary Axis of Non-Human Primates by Use of Formaldehyde-Fixed Tissues Stored at -25 °C for Several Years	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9180 ~ 9180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22179180	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 Oti Takumi, Satoh Keita, Uta Daisuke, Nagafuchi Junta, Tateishi Sayaka, Ueda Ryota, Takanami Keiko, Young Larry J., Galione Antony, Morris John F., Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirotaka	4. 巻 31
2. 論文標題 Oxytocin Influences Male Sexual Activity via Non-synaptic Axonal Release in the Spinal Cord	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 103 ~ 114.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2020.09.089	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 Kawakami Natsuko, Otubo Akito, Maejima Sho, Talukder Ashraf H., Satoh Keita, Oti Takumi, Takanami Keiko, Ueda Yasumasa, Itoi Keiichi, Morris John F., Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirotaka	4. 巻 529
2. 論文標題 Variation of pro vasopressin processing in parvocellular and magnocellular neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: Evidence from the vasopressin related glycopeptide copeptin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 1372 ~ 1390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25026	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 Oti Takumi, Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirotaka	4. 巻 14
2. 論文標題 Systemic effects of oxytocin on male sexual activity via the spinal ejaculation generator in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communicative & Integrative Biology	6. 最初と最後の頁 55 ~ 60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19420889.2021.1902056	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 Uta Daisuke, Oti Takumi, Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hirotaka	4. 巻 22
2. 論文標題 In Vivo Electrophysiology of Peptidergic Neurons in Deep Layers of the Lumbar Spinal Cord after Optogenetic Stimulation of Hypothalamic Paraventricular Oxytocin Neurons in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3400 ~ 3400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073400	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8件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 越智拓海
2. 発表標題 間脳オキシトシン - 脊髄ガストリン放出ペプチド系による性行動調節メカニズム
3. 学会等名 第49回日本神経内分泌学会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takumi Oti
2. 発表標題 Paraventricular oxytocin-spinal gastrin-releasing peptide neuron system controlling male sexual behavior via non-synaptic axonal release
3. 学会等名 14th WORLD CONGRESS on NEUROHYPOPHYSIAL HORMONES (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 越智拓海, 坂本竜哉, 坂本浩隆
2. 発表標題 オキシトシンによる脊髄射精中枢を介した男性性機能の調節メカニズム
3. 学会等名 第32回日本性機能学会中部総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 越智拓海
2. 発表標題 雄の性機能を司る脳 - 脊髄神経ネットワークと性経験
3. 学会等名 日本動物学会第93回早稲田大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高松 廉、上田涼太、大坪秋人、大野智輝、前嶋 翔、越智拓海、 犬束 歩、尾仲達史、坂本竜哉、坂本浩隆
2. 発表標題 雄ラット扁桃体内側核後背側部・ガストリン放出ペプチド系は性機能制御と性的モチベーションの両方へ関与するか？
3. 学会等名 第34回日本行動神経内分泌研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大坪秋人、上田涼太、高松 廉、大野智輝、前嶋 翔、越智拓海、 犬束 歩、尾仲達史、坂本竜哉、坂本浩隆
2. 発表標題 雄ラット扁桃体内側核後背側部におけるガストリン放出ペプチド系を介した性行動調節メカニズムの解明
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石沙也加、上田涼太、永淵詢大、越智拓海、犬束 歩、尾仲達史、 Valery Grinevich、坂本竜哉、坂本浩隆
2. 発表標題 雄ラット視床下部腹内側核オキシトシン受容体ニューロン系による食欲と性欲のスイッチング機構
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂本浩隆、越智拓海、大坪秋人、川上奈津子、ニエンタンフォン、坂本竜哉
2. 発表標題 オキシトシン放出を調節する1回膜貫通型タンパク質CD38のはたらき
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022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