

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659110

研究課題名(和文) 思春期社会行動の神経回路：下垂体後葉ホルモン仮説の検証

研究課題名(英文) Neural mechanisms for social behavior: roles of neurohypophyseal hormones

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) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：オキシトシン - オキシトシン受容体系は社会行動を制御する神経機構とその発達に重要であることが示唆されている。オキシトシン産生ニューロンは視床下部のほか分界条床核にも局在する。また、オキシトシン受容体はバゾプレシンによっても活性化される。そこで、本研究は局所のオキシトシンあるいはバゾプレシン産生細胞を破壊する方法を確立させることを目指した。この方法を用い、嗅球のバゾプレシン産生細胞を破壊することができた。

研究成果の概要(英文)：Oxytocin-oxytocin receptor systems play important roles in the control of social behaviors. Oxytocin-synthesizing neurons are localized not only in the hypothalamus but also in the bed nucleus of stria terminalis. However, it is not clear which oxytocin-synthesizing neurons are involved in social behaviors. On the other hand, oxytocin receptors can be activated by oxytocin and vasopressin. We tried to establish a method for destroying local oxytocin- or vasopressin-synthesizing neurons. We successfully destroyed vasopressin-synthesizing neurons in the olfactory bulb.

研究分野：医学

科研費の分科・細目：生理学・環境生理学(含体力医学・栄養生理学)

キーワード：下垂体後葉ホルモン

1. 研究開始当初の背景

オキシトシン - オキシトシン受容体系は社会行動の制御に重要であることが示されている。例えば、オキシトシンを欠損したマウスとオキシトシン受容体を欠損したマウスはともに、社会行動異常を示す。すなわち、オキシトシンあるいはオキシトシン受容体欠損マウスは社会記憶の障害があり、仔を母親から離れたときの母親を呼ぶ鳴き声が少なく、母性行動も低下している。このデータは、オキシトシン - オキシトシン受容体系が社会行動に重要であることを示している。

さらに、オキシトシン - オキシトシン受容体系は社会行動を制御する神経機構の発達にも重要であることが示されている。例えば、胎生期にオキシトシン受容体が刺激されないと社会行動異常（攻撃行動の増加）が生じることが示唆されている(PNAS 2005)。すなわち、オキシトシン欠損動物は、遺伝的にオキシトシンを持たない母親から生まれてきた場合には攻撃行動が多くなるが、オキシトシンを持っている heterozygotes の母親から生まれた場合は、オキシトシン欠損動物においても攻撃性は高くない。これに対し、オキシトシン受容体欠損動物においては、母親の遺伝型に関わらず攻撃性が高くなっている。これらのデータは、胎生期にオキシトシン受容体が賦活化されないと攻撃性が高くなることを示している。従って、オキシトシン受容体が活性化されることが社会行動を司る神経系の発達に大きな影響を与えらる。

オキシトシン産生細胞は、視床下部のほか、分界条床核にも存在することが示されている。また、オキシトシン受容体はオキシトシ

ンのほか、バゾプレシンによっても活性化されることが示されている。どこの脳部位のオキシトシン産生細胞あるいはバゾプレシン産生細胞が社会行動あるいはその発達に関与しているかわかっていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、社会行動を支配するオキシトシン産生ニューロンあるいはバゾプレシン産生ニューロンの局在を明らかにするために、社会行動で活性化されるオキシトシン産生ニューロンあるいはバゾプレシン産生ニューロンを同定し、さらに、局所のバゾプレシンあるいはオキシトシンを産生するニューロンを選択的に破壊する方法を確立させることであった。

3. 研究の方法

動物は C57/BL マウスあるいは Wistar ラットを用いた。社会的刺激としては、被験動物に比べて若い動物への暴露を用いた。ニューロンが活性化されているかどうかは、c-Fos 蛋白質の発現で検討した。

局所のオキシトシンあるいはバゾプレシン産生細胞を破壊する目的で、バゾプレシンあるいはオキシトシンのプロモーターの制御下で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ラットを用いた。

ジフテリア毒素受容体に対する抗体は、ジフテリア毒素受容体の一部のペプチドを人工合成してウサギに投与することで、作成した。

4. 成果

社会的刺激を加えた時に、活性化されているバゾプレシン産生ニューロンとオキシトシ

ン産生ニューロンを Fos 蛋白質の発現検索により検討した。出会ったことのない同種の個体を、ホームケージに入れることで社会的刺激とした。バゾプレシン産生ニューロンとオキシトシン産生ニューロンは、視床下部のほか、分界条床核に存在する。社会的刺激を加えると、視床下部室傍核のほか、分界条床核のバゾプレシン産生ニューロンとオキシトシン産生細胞が活性化されることが示唆された。

そこで、次に、どのバゾプレシン産生ニューロンとオキシトシン産生細胞が社会行動に関与しているかを、局所破壊により検討することを計画した。この目的で、バゾプレシンのプロモーターの下流にジフテリア毒素受容体遺伝子を組み込んだトランスジェニックラットを用いて、バゾプレシン産生細胞を時期場所特異的に破壊するための方法を検討した。即ち、ジフテリア毒素を投与して、選択的にバゾプレシン産生細胞を破壊するための方法を検討した。ジフテリア毒素を脳室内投与して、バゾプレシン産生細胞が破壊されているかどうかを検討する目的で尿量、飲水量を測定し、尿崩症を呈するかどうかを検討した。さらに、実験終了後にバゾプレシンに対する免疫組織化学的検索を行いバゾプレシン産生細胞が減少しているかどうかを確認した。ジフテリア毒素を投与することにより、バゾプレシン産生細胞数を大きく減少させ尿崩症症状を誘発させる方法を開発することができた。

オキシトシン産生ニューロンを選択的に破壊するために、オキシトシンのプロモーターの下流にジフテリア毒素受容体遺伝子を組み込んだトランスジェニックラットを作成した。産生した複数のラインの中から、破壊

に有効なラインを選別する目的で、オキシトシンとジフテリア毒素受容体の免疫組織化学的検討を行った。一部のラインにおいて、オキシトシン産生細胞に選択的にジフテリア毒素受容体が存在していることを確認した。さらに、挿入されたコンストラクトの数を同定した。

嗅球にもバゾプレシン産生ニューロンが存在する。そこで、バゾプレシン - ジフテリア毒素受容体トランスジェニックラットをもちいて、嗅球にジフテリア毒素を局所投与することでバゾプレシン産生ニューロンを破壊することを試みた、ジフテリア毒素を嗅球の局所に投与することで、嗅球におけるバゾプレシン免疫陽性細胞が減少した。この動物における社会記憶の成績を検討したところ、対照動物に比べ、低下していた。しかし、餌を匂いにより探させるテストでは差がなかった。従って、嗅覚機能が低下しているわけではないと考えられた。また、アーモンドの匂いを用いた学習は行うことができた。このデータは、嗅球のバゾプレシン産生ニューロンが社会記憶に選択的に必須であることを示唆している。

今後、視床下部と分界条床核のオキシトシン産生ニューロンとバゾプレシン産生ニューロンを破壊して、これらのニューロンが思春期の社会記憶と社会行動において果たす役割を検討する予定である。

5 . 主な発表論文等

{ 雑誌論文 } (計 11 件)

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*. 査読有 In press

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 審査無 2014。(印刷中)

尾仲達史：オキシトシンの働きと老化。最新医学 審査無 69 巻, 5 号, 2014, pp.1021-1031

Yamashita M, Takayanagi Y, Yoshida M, Nishimori K, Kusama M, Onaka T: Involvement of prolactin-releasing peptide in the activation of oxytocin neurons in response to food intake. *J Neuroendocrinol*. 査読有 Vol.25, No.5, 2013, pp.455-465, DOI: 10.1111/jne.12019

尾仲達史：ストレスと摂食。ストレスアンドヘルスケア 審査無 210 巻, 2013, pp.1-4

尾仲達史, 高柳友紀：母性行動と下垂体ホルモン。精神科治療学 審査無 28 巻, 6 号, 2013, pp. 777-784

Onaka T, Takayanagi Y, Yoshida M: Roles of oxytocin neurons in the control of stress, energy metabolism, and social behaviour. *J Neuroendocrinol*. 査読有 Vol. 24, No. 4, 2012, pp.587-598, DOI: 10.1111/j.1365-2826.2012.02300.x.

Tobin V, Schwab Y, Lelos N, Onaka T, Pittman QJ, Ludwig M: Expression of exocytosis proteins in rat supraoptic nucleus neurons. *J Neuroendocrinol*. 査読有 Vol. 24, No.4, 2012, pp.629-641, 2012. doi: 10.1111/j.1365-2826.2011.02237.x

尾仲達史：オキシトシン・バゾプレシンの働きについて。ベビーサイエンス 審

査無 12 巻, 2012, pp. 13-15

尾仲達史, 高柳友紀, 吉田匡秀：オキシトシンとストレス緩和作用。Clinical Neuroscience 審査無 30 巻, 2 号, 2012, pp. 212-215

高柳友紀, 尾仲達史：プロラクチン放出ペプチド (PrRP)。Clinical Neuroscience 審査無 30 巻, 2 号, 2012, pp. 176-177

[学会発表](計 11 件)

高柳友紀, 尾仲達史：社会的記憶の制御におけるセクレチン-オキシトシンシステムの役割。第 91 回日本生理学会大会, 2014 年 3 月 16-18 日, 鹿児島

尾仲達史：心身ストレスとその機序。生体機能の理解にもとづく災害ストレス支援の推進事業第 1 回シンポジウム, 2013 年 11 月 12 日, 東京

尾仲達史, 高柳友紀, 吉田匡秀：下垂体後葉ホルモンとストレス・摂食・社会行動。創薬薬理フォーラム第 21 回シンポジウム, 2013 年 9 月 19-20 日, 東京

Onaka T, Takayanagi Y, Yoshida M: Stress and energy metabolisms: roles of PrRP and oxytocin. The 36th Naito Conference on "Molecular Aspects of Energy Balance and Feeding Behavior" Sep. 10-13, 2013, Sapporo

尾仲達史：ストレス, 摂食そして社会行動：最近注目されるオキシトシンの働き。第 54 回日本心身医学会総会ならびに学術講演会, 2013 年 6 月 26-27 日, 横浜

吉田匡秀, 高柳友紀, 尾仲達史：恐怖記憶の想起による神経内分泌反応には内側扁桃体-延髄 PrRP 産生ニューロン経路が関与する。第 36 回日本神経科学大会

(Neuro2013), 2013年6月20-24日, 京都

高柳友紀, 山下雅子, 草間幹夫, 尾仲達史: エネルギー代謝とストレスにおけるPrRP-オキシトシン系の働き. 第39回日本神経内分泌学会学術集会, 2012年9月28-29日, 北九州

高柳友紀, 山下雅子, 草間幹夫, 尾仲達史: PrRP-オキシトシン系による摂食調節. 第89回日本生理学会大会, 2012年3月29-31日, 松本

尾仲達史, 高柳友紀, 吉田匡秀: 摂食とストレスと社会記憶におけるオキシトシンの働き. 第117回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2012年3月26-28日, 山梨

尾仲達史: オキシトシンとストレス・摂食・社会行動. 第2回金沢大学子どものごころサミット, 2012年3月16-18日, 金沢

Onaka T: Roles of oxytocin and vasopressin in the control of social behavior. Satellite symposium of the 7th Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology (AOSCE) Congress, March 8-9, 2012, Penang, Malaysia

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