

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：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790236

研究課題名(和文) セクレチン-オキシトシン系が担う社会的記憶の神経基盤の解明

研究課題名(英文) Roles of secretin-oxytocin system in the control of social recognition/ memory.

研究代表者

高柳 友紀 (Takayanagi, Yuki)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：10418890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：セクレチンは視索上核のオキシトシン産生細胞を活性化し、脳内におけるオキシトシンの分泌を促進した。また、セクレチンを視索上核に投与すると社会的記憶が促進された。しかし、内側扁桃体のオキシトシン受容体の阻害あるいはオキシトシン受容体の遺伝子欠損マウスでは、セクレチンによる社会的記憶促進効果が抑制された。一方で、オキシトシンを投与するとセクレチン受容体遺伝子欠損マウスの社会的記憶が改善した。これらの結果は、セクレチン-オキシトシン神経回路が社会的記憶を促進することを示唆した。

研究成果の概要(英文)：Secretin activated oxytocin neurons of the supraoptic nucleus and facilitated oxytocin release centrally. Local application of secretin into the supraoptic nucleus facilitated social recognition/ memory. The facilitative effects of secretin upon social recognition/ memory were inhibited by an oxytocin receptor antagonist injected into the medial amygdala or in oxytocin receptor-deficient mice. Furthermore, oxytocin treatment restored social recognition/ memory in secretin receptor-deficient mice. All these results suggest that newly defined secretin-oxytocin system plays a critical role in regulating social memory/ recognition.

研究分野：生理学・神経科学

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：オキシトシン セクレチン 社会的記憶 視索上核 内側扁桃体

1. 研究開始当初の背景

ヒトが社会生活を営むためには、適切な社会行動をとることが必須である。適切な社会行動を行うには、以前に会ったことがある相手かどうかを認知できる機能、即ち、社会的記憶が必須である。社会行動に障害がある自閉症あるいは統合失調症の患者は、この社会的記憶が障害されている。しかし、社会的記憶の分子機構は明らかでない。

オキシトシンは自閉症の患者に投与するとその症状が改善され、実験動物でもオキシトシンがないと社会的記憶に障害を示すことが示されている。さらに、我々はオキシトシン受容体遺伝子欠損マウスが社会的記憶の障害を示すことを明らかにしてきた。一方で、セクレチンも自閉症の患者に投与するとその症状が改善すること、セクレチン受容体遺伝子欠損マウスも社会的記憶が障害されていることが報告されている。しかし、社会行動におけるオキシトシンとセクレチンの関係はほとんど不明なままであった。

2. 研究の目的

(1)セクレチンがオキシトシン産生細胞を活性化し、オキシトシンの分泌を促進するかを明らかにする。

(2)セクレチン-オキシトシン系が社会的記憶を促進するかを明らかにする。

(3)社会的記憶にどのセクレチン-オキシトシン系が働くかを同定する。

3. 研究の方法

(1)セクレチンがオキシトシン産生細胞を活性化し、オキシトシンの分泌を促進するかを明らかにするため、

セクレチンをラットの脳室内に投与し、神経活動マーカーである c-Fos の免疫組織化学法を用いて、どこのオキシトシン産生細胞が活性化するかを評価した。

視索上核のオキシトシン産生細胞にセクレチン受容体が発現するのかを、免疫組織化学的に解析した。

ラットの視索上核を単離し、セクレチンを添加するとオキシトシンの分泌が増加するかを検討した。

in vivo マイクロダイアリス法により、ラットの視索上核にセクレチンを投与すると、内側扁桃体におけるオキシトシンの分泌が増加するかを検討した。

(2)セクレチン-オキシトシン系が社会的記憶を促進するかを明らかにする。新しい個体と見知った個体を区別できるかどうかを社会的記憶として評価する。すなわち、新しく出会った個体に対して長い時間探索をする齧歯類の性質を利用して試験を行う。

セクレチンをラットの脳室内に投与して、

社会的記憶が促進されるかを検討した。また、セクレチンが社会的記憶の獲得あるいは想起のどちらに働くのかを検討した。

セクレチンによるラットの社会的記憶促進が、オキシトシン受容体のアンタゴニストの脳室内投与によって阻害されるかを検討した。

社会的記憶の障害を示すオキシトシン受容体遺伝子欠損マウスに対して、セクレチンを投与したときの社会的記憶を検討した。

社会的記憶の障害を示すセクレチン受容体遺伝子欠損マウスに対して、オキシトシンを投与したときの社会的記憶を検討した。

(3)社会的記憶にどのセクレチン-オキシトシン系が働くかを同定するため、

セクレチンをラットの視索上核に投与して、社会的記憶が促進されるかを検討した。また、同時にオキシトシン受容体のアンタゴニストを内側扁桃体に投与すると、セクレチンによる社会的記憶の促進が阻害されるかを検討した。

オキシトシン産生細胞を時期部位特異的に破壊するためのツールとして、オキシトシン産生細胞特異的にヒトジフテリア毒素受容体を発現するトランスジェニックラットを作製してきた。このラットについて、デジタル PCR を用いてトランスジーンのコピー数を検討した。

4. 研究成果

(1) セクレチンを脳室内に投与すると、視索上核のオキシトシン産生細胞で c-Fos の発現が増加した。

セクレチン受容体遺伝子欠損マウスではセクレチン受容体遺伝子座に ガラクトシダーゼ遺伝子が挿入されており、本研究ではヘテロ接合体を用いた。薄切片片に対して、X-gal 染色とオキシトシンに対する免疫組織染色を行い、オキシトシン産生細胞に X-gal が共局在していることを確認した。

視索上核片にセクレチンを添加すると、オキシトシンの分泌が増大した。

さらに、視索上核にセクレチンを投与し、in vivo マイクロダイアリス法によって内側扁桃体におけるオキシトシンの分泌を測定したところ、その増大が認められた。

これらの結果は、セクレチンがセクレチン受容体を介して直接、視索上核のオキシトシン産生細胞を活性化し、脳内におけるオキシトシンの分泌を促進していることを示唆している。また、視索上核のオキシトシン産生細胞の内側扁桃体への投射は知られておらず、内側扁桃体におけるオキシトシンの分泌は細胞体樹状突起に由来するものである可能性が考えられる。

(2) セクレチンを脳室内に投与すると、社

会的記憶が促進された。また、記憶獲得前あるいは後にセクレチンを投与すると、記憶獲得前に投与したときにだけ、社会的記憶の促進が認められたため、セクレチンは獲得時に必要であることが示唆された。

脳室内にセクレチンとオキシトシン受容体アンタゴニストを投与すると、社会的記憶の促進は見られなくなった。

オキシトシン受容体遺伝子欠損マウスにセクレチンを脳室内投与したが、社会的記憶の障害は改善しなかった。

セクレチン受容体遺伝子欠損マウスにオキシトシンを脳室内投与したところ、社会的記憶が正常に回復した。

これらの結果は、セクレチンによる社会的記憶の促進はオキシトシン系を介する可能性を示している。

(3) セクレチンを視索上核に投与すると、社会的記憶を促進した。また、内側扁桃体にオキシトシン受容体アンタゴニストを投与すると、セクレチンによる社会的記憶促進作用が阻害された。よって、セクレチンが視索上核オキシトシン産生細胞を活性化し、視索上核から分泌されたオキシトシンが内側扁桃体に働いて社会的記憶を制御していることが示唆された。

オキシトシン産生細胞特異的ヒトジフテリア毒素受容体トランスジェニックラットについての解析を行った。既に得ていた6ラインについて、トランスジーンのコピー数をデジタルPCRで同定し、多コピーのラインを同定した。今後、このラットを用いて視索上核のオキシトシン産生細胞を破壊し、社会的記憶に対する影響の解析を進める。

本研究の成果は、セクレチン-オキシトシン系が社会的記憶を促進することを示す新たな知見である。今後、この神経回路を明確にしていくことは、社会行動障害のある疾患の病態解明と治療につながると考えられ、重要な課題である。

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5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*, in press 査読有

高柳友紀、尾仲達史: オキシトシン、ウロコルチン. *日本臨牀 増刊号 最新肥満症学 基礎・臨床研究の最前線* **1059**: 224-230, 2014. 査読無

Kasahara Y, Sato K, Takayanagi Y, Mizukami H, Ozawa K, Hidema S, So KH, Kawada T, Inoue N, Ikeda I, Roh SG, Itoi K, Nishimori K: Oxytocin receptor in the hypothalamus is sufficient to rescue normal thermoregulatory function in male oxytocin receptor knockout mice. *Endocrinology* **154**: 4305-4315, 2013. 査読有
DOI: 10.1210/en.2012-2206

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, *Journal of neuroendocrinology* **25**: 455-465, 2013. 査読有
DOI: 10.1111/jne.12019

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* **28**: 777-784, 2013. 査読無

[学会発表](計5件)

高柳友紀: 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17日, 鹿児島大学(鹿児島)

尾仲達史: 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(招待講演), 2013年9月19日, 長井記念館(東京)

Yoshida M: The medial amygdala-medullary prolactin-releasing peptide neuron pathway mediates neuroendocrine responses to conditioned fear stimuli. 10th World Congress on Neurohypophysial Hormones (WCNH 2013), 2013年7月18日, ST George's Bristol (Bristol, UK)

吉田匡秀: 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・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会 (Neuro2013), 2013年6月22日, 国立京都国際会館(京都)

高柳友紀: 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(招待講演), 2012年9月28日, 北九州国際会議場(福岡)

[図書](計1件)

Wang Y, Takayanagi Y, Onaka T, Springer, *Advances in Cognitive*

Neurodynamics (III), 2013, 753-757

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.jichi.ac.jp/usr/pys1/admnpys1/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

高柳 友紀 (TAKAYANAGI, Yuki)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：10418890