

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870044

研究課題名(和文) ストレスに対する精神神経疾患発症脆弱性におけるオキシトシンの機能的役割

研究課題名(英文) Prenatal oxytocin exposure influences emotional and social behaviors

研究代表者

笠原 好之 (KASAHARA, Yoshiyuki)

東北大学・災害科学国際研究所・助教

研究者番号：20511835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：オキシトシン(OXT)は生食関連の機能を持つホルモンであるが、近年、社会性、ストレス、不安などの脳機能に関わることが明らかになった。ストレスによってOXTの応答が起こるため妊娠期のストレスによるOXT応答が胎児の脳発達に影響を与え、精神神経疾患のリスクとなる可能性が考えられたため、本研究では胎児期のOXT曝露が子の行動に与える影響についてマウスを用いて検証した。胎児期にOXT曝露を受けると成育後に不安行動が増大し、社会行動が減弱した。さらに扁桃体領域におけるOXT発現が減少していた。このことは自閉症などの精神神経疾患の病態機序に胎児期ストレスによるOXT曝露が寄与する可能性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：Maternal stress during pregnancy increases the risk of psychiatric disorders of the offspring. In response to stress, the level of oxytocin is increased. While oxytocin is well known to play important roles in social interactions, including attachment between mother and child, as well as reproductive functions. In this study, we examined the effects of prenatal oxytocin exposure in mice to future emotional and social behaviors. Mice prenatally treated with oxytocin showed significantly increased anxiety behavior, and significantly lower social behaviors, compared with control animals. Interestingly, oxytocin gene expression level in the amygdala was significantly lower in mice prenatally treated with oxytocin. Our results indicated that prenatal oxytocin exposure influences anxiety and social behaviors after growing up, and therefore, increased level of oxytocin evoked by maternal stress needs to be aware as a risk indicator of deteriorating mental health of the offspring.

研究分野：精神神経科学

キーワード：精神神経疾患 神経内分泌 ホルモン ストレス 胎児

1. 研究開始当初の背景

妊娠期の強いストレス（死別、低栄養状態あるいは大規模自然災害等）は統合失調症や自閉症などの精神神経疾患のリスクを増大させることが知られる。(Sullivan et al., 2005 等) 従って妊娠中のストレスによる内分泌応答が疾患脆弱性に寄与する可能性が考えられるものの、この点に着目した研究はほとんどなされていない。オキシトシン (OXT) は視床下部の室傍核および視索上核にて産生される神経ペプチドホルモンであり、従来の生殖関連機能に加え、ストレス応答、うつ病や不安障害、自閉症と言った精神神経疾患、体恒常性の維持など脳機能の制御に強く機能することが明らかになってきている (Kasahara et al., 2013, Takayanagi et al., 2005 等)。ストレスによって血中 OXT 濃度が上昇すること、胎児期の OXT が生後の行動に影響を与えること (Takayanagi et al., 2005)、妊娠ラットに対するストレスによって仔ラットの OXT 系に異常が見られること (Lee et al., 2007) からストレスによる胎児脳の OXT 機能の変化が精神神経疾患の病態に関わると考えられた。

2. 研究の目的

妊娠期の強いストレスは胎児の将来の精神神経疾患発症リスクを上昇させることが知られる。OXT は仔の情動発達に重要であるが、胎児期のストレス負荷による神経内分泌応答が胎児脳の発達に与える影響は未解明である。本研究では胎児期における OXT 機能が将来の精神神経疾患脆弱性に与える影響を検証する。

3. 研究の方法

妊娠 8.5 日から 14.5 日にかけて、妊娠マウスに対して OXT (12 $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$) を一日一回連続的に投与した。仔マウスが成育した後 (10 週齢～)、不安様行動、社会性行動、うつ様行動を測定した。

(1) 不安様行動

不安様行動の解析には高架式十字迷路試験を行った。高架式十字迷路試験は、2本のオープンアーム (25 x 5 cm) および同じ大きさのクローズドアーム (25 x 5 cm, 壁の高さは 17 cm) で構成される十字型の迷路である。マウスを中央のプラットホーム (5 cm x 5 cm) に置き、10 分間自由に探索させることで行う。オープンアームでの滞在時間を不安行動の指標として用いた。

(2) 社会性行動

社会性行動の解析には三部屋式社会行動試験を行った。ボックス (51 x 34 x 22 cm) を三部屋に区切り (各部屋の大きさは 17 x 34 x 22 cm)、仕切りには入り口 (5 x 7 cm) を設け、マウスが自由に各部屋を行き来できるようにする。セッション 1 で

は左右いずれの部屋には何も入れず、マウスを 10 分間順化させるとともに、自由な行動を測定した。セッション 2 では左右いずれかの部屋にはステンレス製のケージに入れたマウスを置き、もう片方の部屋にはステンレス製のケージのみを置く。社会行動を調べたいマウスを中央の部屋に置き、10 分間ボックスの中を自由に探索させる。マウスの入ったケージのある部屋への滞在時間とケージのみがある部屋への滞在時間を測定することで、社会性行動の指標とした。セッション 3 ではセッション 2 において空であったステンレス製のケージに新しいマウスを入れ、セッション 2 からステンレス製ケージに入っていたマウス (familiar) が居る部屋と新しいマウス (unfamiliar) が居る部屋との滞在時間を 10 分間測定し、社会的新奇性の指標とした。

(3) うつ様行動

うつ様行動の解析には強制水泳試験を用いた。強制水泳試験は、深さ 14cm の水で満たした透明アクリル容器 (高さ 25cm x 直径 15cm) でマウスを 6 分間泳がせることで測定した。6 分間の試験のうちマウスが静止した時間を無動時間として計測し、これをうつ様行動の指標とした。

全ての行動試験の終了後、マウスから脳を採取し、前頭前野皮質 (PFC)、視床下部、扁桃体領域を取り出し、mRNA の抽出を行った。また、胎生 15.5 日胚の脳を取り出し、同様に mRNA の抽出を行った。この mRNA から cDNA を合成し、定量 PCR を行い、遺伝子の発現変化を測定した。

4. 研究成果

(1) 不安様行動

高架式十字迷路試験によって不安様行動を解析したところ、胎児期に OXT の曝露を受けたマウスではオープンアームへの滞在時間が有意に短くなっており、不安様行動が増大していた (Fig. 1A)。一方でアームへの総侵入回数には差がなかったことから、運動量や探索行動には変化がなかったと考えられる (Fig. 1B)。

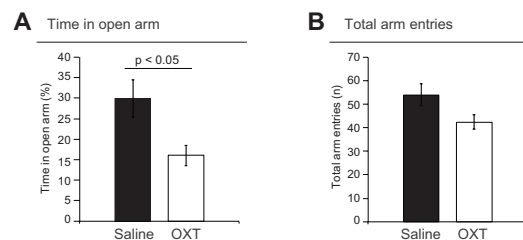


Figure 1. 高架式十字迷路試験

(2) 社会性行動

三部屋式社会行動試験の結果、セッション 1 においては胎児期 OXT 投与による

差は見られず、左右の部屋ともに同等の滞在時間であった (Fig. 2A)。

セッション2において、マウスの入ったステンレスケージのある部屋と空のステンレスケージのある部屋との滞在時間を測定したところ、胎児期に生理食塩水を投与した群では空ケージに比べてマウスの入ったケージのある部屋への滞在時間が有意に長かったのに対し、胎児期に OXT 投与を受けた群では滞在時間に差が見られなかった (Fig. 2B)。

セッション3において、胎児期に生理食塩水を投与されたマウスは familiar なマウスが居る部屋よりも unfamiliar なマウスが居る部屋への滞在時間が有意に長かった。一方で胎児期に OXT 投与されたマウスでは両者に差は認められなかった (Fig. 2C)。

以上のことより胎児期に OXT の投与を受けたマウスでは社会性と社会的新奇性が障害されていると考えられる。

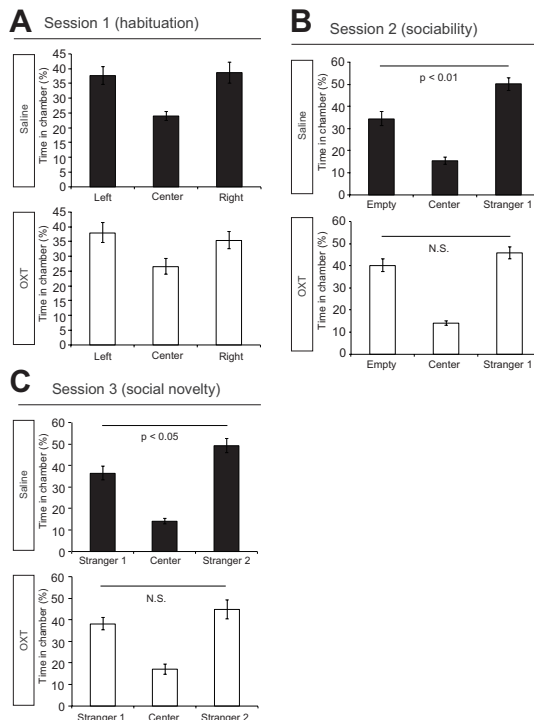


Figure 2. 三部屋式社会行動試験

(3) うつ様行動

強制水泳試験を行った結果、胎児期の OXT 曝露の有無はうつ様行動に影響を与えなかった (Fig. 3)。

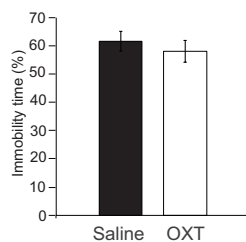


Figure 3. 強制水泳試験

(4) 遺伝子発現変化の解析

定量 PCR 法にて遺伝子発現変化を解析した。その結果、胎児期 OXT 曝露マウスの扁桃体領域では OXT 遺伝子の発現が有意に減少していた。視床下部においては OXT の発現に差は見られなかった (Fig. 4)。

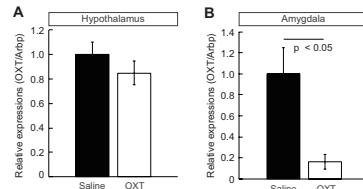


Figure 4. OXT 遺伝子発現変化

<引用文献>

- 1) Sullivan PF. The genetics of schizophrenia. **PLoS Med.**, 2(7): e212 (2005)
- 2) 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(11): 4305-15 (2013)
- 3) Takayanagi Y, Yoshida M, Bielsky IF, Ross HE, Kawamata M, Onaka T, Yanagisawa T, Kimura T, Matzuk MM, Young LJ, Nishimori K. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. **Proc Natl Acad Sci USA** 102(44): 16096-101 (2005)
- 4) Lee PR, Brady DL, Shapiro RA, Dorsa DM, Koenig JI. Prenatal stress generates deficits in rat social behavior: Reversal by oxytocin. **Brain Res.** 1156: 152-67 (2007)

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 4 件)

- 1) Kasahara Y, Arime Y, Hall FS, Uhl GR, Sora I. Region-specific dendritic spine loss of pyramidal neurons in dopamine transporter knockout mice. **Current Molecular Medicine** 15(3): 237-244 (2015) 査読有
- 2) Moriya Y, Kasahara Y, Hall FS, Sakakibara Y, Uhl GR, Tomita H, Sora I. Sex differences in the effects of adolescent social deprivation on alcohol consumption in μ -opioid receptor knockout mice. **Psychopharmacology (Berl)** 232(8): 1471-1482 (2015) 査読有
- 3) Yi KJ, So KH, Hata Y, Suzuki Y, Kato D, Watanabe K, Aso H, Kasahara Y, Nishimori K, Chen C, Katoh K, Roh SG. The regulation of oxytocin receptor gene expression during adipogenesis. **J Neuroendocrinol** 27(5): 335-342 (2015) 査読有

- 4) Kasahara Y, Tateishi Y, Hiraoka Y, Otsuka A, Mizukami H, Ozawa K, Sato K, Hidema S, Nishimori K. Role of the oxytocin receptor expressed in the rostral medullary raphe in thermoregulation during cold conditions. **Frontier in Endocrinology** 25(6): 180- (2015) 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- 1) Yoshiyuki Kasahara, Sachie Suzuki, Yuji Onouchi, Ayaka Yoshida, Chiaki Ono, Yoshie Kikuchi, Zhiqian Yu, Hiroaki Tomita. Pregnant mice exposure to extreme level of oxytocin influences emotional and social behaviors of the offsprings after growing up. 30th CINP WORLD CONGRESS OF NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY, Seoul, Korea [2016/7/3]
- 2) Yoshiyuki Kasahara, Sachie Suzuki, Yuji Onouchi, Ayaka Yoshida, Chiaki Ono, Yoshie Kikuchi, Zhiqian Yu, Hiroaki Tomita. Oxytocin exposure in pregnant mice influences future emotional and social behavior of the offspring. The 2017 Japan-NIH joint Symposium, 星陵オーティトリウム, Sendai Japan [2017/2/16]
- 3) 鈴木祥恵, 尾之内勇治, 笠原好之, 小野千晶, 菊地淑恵, 兪志前, 富田博秋. 胎児期オキシトシン投与時の胎児脳および成体脳における遺伝子発現変化の解析. 第 46 回日本神経精神薬理学会年会. ソウル, 韓国[2016/7/2]
- 4) 尾之内勇治, 鈴木祥恵, 笠原好之, 小野千晶, 菊地淑恵, 兪志前, 富田博秋. 胎児期のオキシトシン曝露による成育後の不安行動、社会行動への影響. 第 46 回日本神経精神薬理学会年会. ソウル, 韓国 [2016/7/2]

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笠原 好之 (KASAHARA Yoshiyuki)
東北大学・災害科学国際研究所・助教
研究者番号：20511835

(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

()