

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06722

研究課題名（和文）雄の性機能を司るガストリン放出ペプチド系が脳において性行動を制御する機構の解明

研究課題名（英文）The mechanism of gastrin-releasing peptide system regulates male sexual functions and sexual behavior in rat brain.

研究代表者

前嶋 翔 (Maejima, Sho)

近畿大学・医学部・助教

研究者番号：10773286

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：雄ラットの性行動の制御中枢である内側視索前野や雌フェロモンの受容に関わる内側扁桃体におけるガストリン放出ペプチド（GRP）の機能を調べた。受容体アンタゴニスト投与や毒素受容体標的細胞破壊法によりGRP受容体発現ニューロンの機能を低下させて解析を行い、性行動および勃起や射精などの性機能が著しく減衰し、雌の匂いに対する指向性が低下することを明らかにした。組織学的解析を行ったところ、視交叉上核や内側扁桃体に分布するGRPニューロンは、内側視索前野に投射していた。以上から、脊髄において雄の性機能を司るGRPが、脳では性機能制御に加えて性行動の制御に関与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、脳におけるガストリン放出ペプチド（GRP）系が、雄の性行動を促進的に制御し、勃起や射精などの末梢性の性機能の調節にも関与することが明らかになった。GRP系はこれまで、消化管ホルモンとしてだけでなく、脊髄レベルで性機能の調節に関わることや、痒みを特異的に伝達する因子として機能することが報告されており、本研究による成果は脳内GRP系の新たな生理機能を示すものである。また、末梢において性機能を司るGRPが中枢においても同様の機能を有するという事実は、心因性勃起障害の発生機構やその治療法の確立などへの応用が期待でき、社会的貢献度も高いものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The function of gastrin-releasing peptide (GRP) in the medial preoptic area, the control center of sexual behavior, and the medial amygdala which is involved in female pheromone reception in male rats was examined. Loss of function of GRP receptor-expressing neurons by receptor antagonist administration or toxin receptor-targeted cell disruption significantly attenuated sexual behavior and sexual functions, such as erection and ejaculation, and also decreased sexual preference to female odors. Histological analysis revealed that GRP neurons distributed in the suprachiasmatic nucleus and medial amygdala projected to the medial preoptic area. These results suggest that GRP systems, which regulates male sexual function in the spinal cord, is involved in the control of male sexual behavior in rat brain.

研究分野：神経内分泌

キーワード：性行動 性機能 神経ネットワーク ガストリン放出ペプチド

1. 研究開始当初の背景

ガストリン放出ペプチド (GRP) は、末梢組織において胃酸や消化管ペプチドの分泌を促すことで代謝調節に機能すると同時に、中枢神経系にも発現する生理活性ペプチドである。腰髄の GRP ニューロンは、間脳視床領域へと上行性に投射する「脊髄-視床路ニューロン」として知られており、我々の研究グループはこれまでに、「ラット脊髄 GRP ニューロン群が雄優位な性的二型を示し、勃起や射精といった雄の性機能を脊髄レベルで支配する」という新たな機能を報告している (Sakamoto *et al.*, 2008, Nature Neuroscience)。一方で、GRP が脳において性行動に関与するかについての報告はなかったが、我々は最近、GRP 受容体 (GRPR) を発現するニューロンが雄ラットの性行動の制御中枢である内側視索前野 (mPOA) において雄優位な細胞集団を形成していること、mPOA の GRPR 発現ニューロンの神経活性が射精を伴う性行動によって上昇することを明らかにしている (未発表データ)。これらの知見は、脳内 GRP 系が性行動の制御に深く関与することを示唆しているが、脳内 GRP 系の活性が実際に性行動を刺激するかは、その分子基盤も含め明らかでない。

2. 研究の目的

我々の先行研究において明らかになっている「脊髄で性機能を制御する GRP ニューロンが脳へ投射している」という知見に基づき、中枢神経系における GRP 系の性行動ならびに末梢性機能制御における生理的役割を明らかにすることを目的とする。これまで性行動や末梢性機能に関わる生理活性物質についての研究は、脳内の神経活性への作用のみに注視したもの、あるいは末梢器官 (生殖器等) での作用のみに注視したものが大半であり、両者の直接的な機能連関にフォーカスした研究は皆無である。性行動および末梢性機能の制御における GRP 系の役割を明らかにするだけでなく、「脳へ投射する脊髄の神経ペプチドが末梢-中枢の両者へ作用することで生理機能を発揮する」という新たな概念を提唱したい。

3. 研究の方法

(1) mPOA への GRPR アゴニストおよびアンタゴニスト投与が性行動におよぼす影響

雄ラットの両側 mPOA へ薬物投与用のカニューレを留置し、GRPR のリガンドである GRP あるいは阻害剤を投与してその後の行動を観察し、性行動を起こすまでの時間、交尾中の各種パラメーターなどの測定を行った。実験終了後には色素を投与して脳を固定し、組織切片を作製・観察して mPOA が正確に染色された個体のみを解析に用いた。

(2) mPOA および MeA における GRPR 発現ニューロン破壊が性行動と性機能におよぼす影響

研究分担者の坂本が作出した GRPR 発現ニューロンにおいてヒトジフテリア毒素受容体 (hDTR) と赤色蛍光タンパク質 (mRFP) を発現する遺伝子改変ラット (Grpr-promoter-hDTR-mRFP ラット: GhTR ラット) は、ジフテリア毒素を投与することで GRPR 発現ニューロン特異的な細胞死を誘導することが可能である。本遺伝子改変ラットの mPOA あるいは MeA にジフテリア毒素を微量投与して GRPR ニューロンを脱落させ、その後の性行動を観察した。実験終了後の個体から脳を摘出して切片を作製し、mRFP の発現の有無を指標として正確に mPOA あるいは MeA において GRPR 発現ニューロンが脱落していた個体のみを解析に用いた。

(3) 脳内 GRP 系の活動性にかかわる神経回路の同定

GRP ニューロンや GRPR 発現ニューロンの活動性にかかわる神経回路について解析するため、GRP ニューロンあるいは GRPR 発現ニューロンにおいて組み換え酵素 Cre を発現する遺伝子改変動物を導入した。感染細胞において Cre 依存的に膜移行型緑色蛍光タンパク質 (palGFP) を発現させるアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを GRP ニューロンや GRPR 発現ニューロンが分布する視交叉上核や MeA に投与することで当該ニューロンの細胞体および軸索を可視化し、その分布や投射先を観察した。

4. 研究成果

(1) mPOA への GRPR アゴニストおよびアンタゴニスト投与が性行動におよぼす影響

雄ラットが雌の背後から乗駕する行動であるマウント、ペニスの挿入を伴うマウントであるイントロミッション、および射精を雄の性行動の指標とし、それぞれの観察時間内における回数および行動を開始するまでの時間 (潜時) を測定した。アゴニストである GRP の投与によって、各行動の回数に変化は見られなかったが、潜時が短縮される傾向が見られた (次頁図 1)。一方、

アゴニストの投与はイントロミッションの回数を有意に減少させ、各行動の潜時を延長させる傾向が見られた。したがって GRP が増加することで性行動が亢進し、一方で内因性の GRP を阻害することで性行動が抑制されることが示され、脳内において GRP 系が性行動を促進的に制御していることが明らかになった。

(2) mPOA および MeA における GRPR 発現ニューロン破壊が性行動と性機能におよぼす影響

GhTR ラットの mPOA にジフテリア毒素 (DT) を投与して GRPR 発現ニューロンを破壊し、実験(1)と同様のパラメーターを指標としてその影響を解析した。その結果、生理食塩水を投与された対照群では全ての行動に投与前後で変化が生じなかったのに対し、DT 投与群ではマウント潜時が有意に延長され、観察時間内におけるマウント回数が著しく減少した(図2)。加えてイントロミッションと射精が完全に消失したことから、mPOA の GRPR 発現ニューロンを破壊すると、性行動に対するモチベーションが低下することが考えられた。ラットの性行動は雌のフェロモンを受容することが契機となるため、GRPR が高発現し、フェロモン受容に関与するとされる脳領域である MeA へ DT を投与してその影響を解析したところ、性行動に有意な変化は認められないものの、雌の匂いに対する性的指向性が低下した。これらの結果から、mPOA の GRPR 発現ニューロンは性行動自体の制御に、MeA の GRPR 発現ニューロンは雌のフェロモン受容に関与することが示唆された。

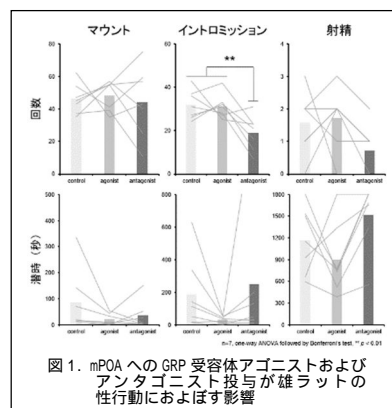


図 1. mPOA への GRP 受容体アゴニストおよびアンタゴニスト投与が雄ラットの性行動におよぼす影響

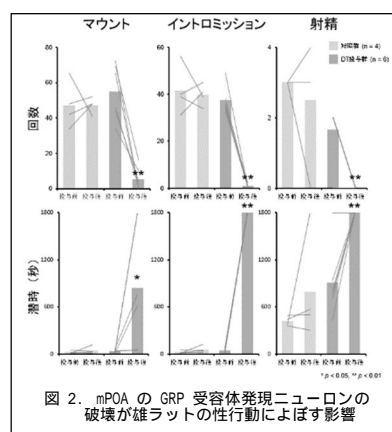


図 2. mPOA の GRP 受容体発現ニューロンの破壊が雄ラットの性行動におよぼす影響

(3) 脳内 GRP 系の活動性にかかわる神経回路の同定

(1)および(2)の結果から、脳 GRP が mPOA と MeA に分布する GRPR 発現ニューロンへ作用することで性行動や雌のフェロモン受容とその処理に関与している可能性が示された。そこで、両脳領域の受容体に作用する GRP が脳に由来するものか、あるいは脊髄 (GRP は脊髄において勃起や射精などの末梢性機能に関与することが報告されている) に由来するものかを調べるため、まずは mPOA に逆行性蛍光神経トレーサーである Retrobeads を投与して mPOA に投射する神経の細胞体を蛍光標識した。その結果、GRP が高発現する視交叉上核 (SCN) および内側扁桃後背側核に著しい陽性反応が見られた一方で、脊髄の神経細胞は標識されなかった(図3)。ラットに比べて遺伝子改変技術が進んでいるマウスを用いて、GRP ニューロンおよび GRPR 発現ニューロンに Cre を発現する遺伝子改変マウスに、AAV ベクターを投与することで Cre 依存的に palGFP を発現させて GRP ニューロンや GRPR 発現ニューロンの投射先をトレースしたところ、ラットと同様に脊髄 GRP ニューロンは mPOA や MeA には投射しておらず、脳内の GRPR 発現ニューロンは主として mPOA にのみその軸索末端を分布していた。以上の結果から、脳および脊髄の GRP 系に直接的なつながりはなく、GRP は脊髄において末梢性機能を支配する一方で、脳においては神経ペプチドとして機能することで性行動を促進的に制御していることが示唆された。

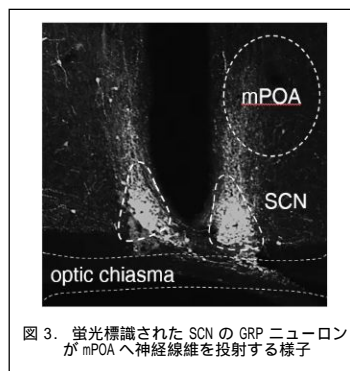


図 3. 蛍光標識された SCN の GRP ニューロンが mPOA へ神経線維を投射する様子

<<研究成果のまとめ>>

本研究により、脊髄において勃起や射精などの雄の末梢性機能を司る GRP 系が、脳では雌のフェロモン受容とその情報処理、およびそれに続く性行動を促進的に制御していることが明らかとなった。また、遺伝子改変動物と薬理遺伝学的手法により、GRP ニューロンの活性を時空間特異的に制御する実験系を確立しつつある。今回の研究では脳-脊髄の機能連関について解明するには至らなかったが、脳に発現する GRP 系の新たな生理機能を提示することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kobayashi Aoshi, Hamada Mayuko, Yoshida Masa-aki, Kobayashi Yasuhisa, Tsutsui Naoaki, Sekiguchi Toshio, Matsukawa Yuta, Maejima Sho, Gingell Joseph J., Sekiguchi Shoko, Hamamoto Ayumu, Hay Debbie L., Morris John F., Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hiroataka	4. 巻 8
2. 論文標題 Vasopressin-oxytocin?type signaling is ancient and has a conserved water homeostasis role in euryhaline marine planarians	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabk0331
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abk0331	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 Otubo Akito, Maejima Sho, Oti Takumi, Satoh Keita, Ueda Yasumasa, Morris John F., Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hiroataka	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
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 Sagoshi Shoko, Maejima Sho, Morishita Masahiro, Takenawa Satoshi, Otubo Akito, Takanami Keiko, Sakamoto Tatsuya, Sakamoto Hiroataka, Tsukahara Shinji, Ogawa Sonoko	4. 巻 438
2. 論文標題 Detection and Characterization of Estrogen Receptor Beta Expression in the Brain with Newly Developed Transgenic Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 182-197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2020.04.047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inutsuka Ayumu, Maejima Sho, Mizoguchi Hiroyuki, Kaneko Ryosuke, Nomura Rei, Takanami Keiko, Sakamoto Hiroataka, Onaka Tatsushi	4. 巻 5
2. 論文標題 Nanobody-based RFP-dependent Cre recombinase for selective anterograde tracing in RFP-expressing transgenic animals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03944-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanehisa Kensho, Koga Keisuke, Maejima Sho, Shiraishi Yuto, Asai Konatsu, Shiratori-Hayashi Miho, Xiao Mei-Fang, Sakamoto Hirotaka, Worley Paul F., Tsuda Makoto	4. 巻 13
2. 論文標題 Neuronal pentraxin 2 is required for facilitating excitatory synaptic inputs onto spinal neurons involved in pruriceptive transmission in a model of chronic itch	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-30089-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 前嶋 翔、野村 黎、高浪景子、坂本竜哉、坂本浩隆
2. 発表標題 内側視索前野の性的二型核に発現するガストリン放出ペプチド系は雄ラットの性的活性を制御する
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

〔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
研究分担者	坂本 浩隆 (Sakamoto Hirotaka) (20363971)	岡山大学・自然科学学域・准教授 (15301)	

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
---------	---------