

## 1. 研究題目

# 情動行動にかかわる遺伝子の同定とその発現機序

Detection and Mapping of Genes Related to Emotional Behaviors in Mice

2. 研究代表者名：中島 裕夫 Hiroo Nakajima

役職： 助手 Assistant Professor

所属機関名： 大阪大学大学院医学系研究科予防環境医学専攻  
遺伝医学講座 放射線基礎医学

Department of Radiation Biology and Medical Genetics,  
Graduate School of Medicine, Osaka University

共同研究者： 野村大成 Taisei Nomura, 招聘教授 Guest Professor

菊谷理絵 Rie Kikuya, 教務補佐員 Teaching Assistant

足立成基 Shigeki Adachi, 特任研究員 Designated Researcher

## 3. 和文アブストラクト

最近、怒りやすい、切れやすいといった人間の情動行動が社会問題となっている。このような情動行動になぜ個人差があるのか、また、発生の度合いになぜ個人差があるのか、このような疑問に対して、生活環境や教育環境の影響が指摘されているが、個々の人間の気質には遺伝的要因が大きく関与していると考えられる。しかしながら、その遺伝子の同定、作用機序などの解明には、モデルとなる実験動物が乏しかったため殆んどなされていないのが現状である。この、怒りやすい、切れやすいといった情動行動を示すマウス系統を見つけたので、その源となる遺伝子を遺伝的背景の良くわかっているマウスを用いて同定することが本研究の目的である。マウスで遺伝子の同定に成功すると、まだ、機能的に良くわかっていない人間の遺伝子群の中から同じ遺伝子を見つけ出すことが可能となり、究極的には、その情動行動の発生機序を解明し、交通社会の安全性に資することができる。

## 4. 英文アブストラクト

Recently, people who lack self-control of emotional behaviors (especially, aggressiveness and restless) are gradually increasing and it is being a big problem in social life (in workers, car drivers, students, teachers, *etc.*). It seems that these behaviors are also implicated in genetic background.

In this study, we tried to detect and map genes related to emotional behaviors in congenic aggressive mouse strain established between B6 and C3H. It is expected that this attempt lead to elucidation in mechanisms and genes related to emotional behaviors in human being.

### 5 - 1. 研究目的

攻撃性、冒険心や恐怖心といった人間の感情に強く関与する遺伝子の存在が最近わかってきている。脳内ドーパミン受容体遺伝子、セロトニン分泌に絡む遺伝子、モノアミンオキシダーゼ(MAOA)遺伝子などが恐怖、スリル、攻撃性等の度合いや、

ストレスに対するうつ病罹患率等を決めているのではないかとされている。しかし、人間における行動を司る遺伝子の同定は、特異的な臨床症状を示す遺伝病遺伝子の同定と比べて非常に困難を極める。その原因は人間の行動パターンの多様性と、生後獲

得される理性が遺伝的に発現される行動を調整していることにある。また、人間は、近交系（遺伝的背景が同一）ではなく雑種である事も遺伝子の同定を困難にしている。従って、本能的に行動を発現し、遺伝的に背景がよく解り、さらにその遺伝子発現を自由に動物間の交配で発現させたり、消失させたりすることの可能なマウスを用いる研究は、人では困難である行動に関係した遺伝子の同定を容易にするものである。

そこで、現有の限られた遺伝的背景を持つ C57BL/6J と C3H/HeJ のコンジェニックマウス系統の BH1, BH2, BH3, BH4, BH5, BH6, BH7 の中で、自発運動量およびクレンメによる尾部への刺激に対する反応を見る予備実験を行った結果、攻撃性の強いマウス系統、接触刺激に対して過敏反応を示すマウス系統、逆に、接触反応に鈍感なマウス系統、従順なマウス系統が選別された。それぞれのコンジェニックマウス系統における種々の遺伝的な要因は、B6 系統もしくは C3H 系統のどちらかの性質を引き継いでいることになるので、コンジェニックマウスの遺伝発現の性質を比較することで、目的とする遺伝子がどちらの系統から来たのかを同定することが可能である。選別された情動行動の異なるコンジェニック系統の既知の遺伝子との連鎖性を比較することで、何番の染色体上にその情動行動に関係した遺伝子が連鎖しているか、また、Genchip を用いて情動行動のちがいによって発現量に差を示す遺伝子の検索を試みた

## 5 - 2 . 研究経過

### 5 - 2 - 1 . 情動行動の系統差選別とマッピング

1. C57BL/6J, C3H/HeJ, BH1, BH2, BH3, BH4, BH5, BH6, BH7 それぞれの系統のマウスを自発運動測定器 (SCANET CV-10, 東陽産業株式会社)の中へ入れ、新環境における探查行動運動量を 1 分ごとの積算運動量として 30 分間計測し、経時的変化を測定した。
2. 止血用クレンメ (20 g 圧クリップ) を尾部にはさみ、その後の自発運動量

の変化を 1 と同様に 30 分間計測し、経時的変化を測定した。

3. 同時に、クレンメに対する攻撃反応(噛み付き)の積算時間を計測した。

統計学的解析に耐えるサンプル数を確保し、グラフを完成させるとともに、クレンメ刺激に過敏な群と鈍感な群、攻撃性の高い群(噛み付き)と低い群の選別を行い、それぞれの行動に関する遺伝子の染色体マッピングを試みた。

### 5 - 2 - 2 . 過敏動物馴化実験

最もクリップを速く外し、かつ、最もクレンメ装着後の自発運動量が多い(刺激に対して過敏反応する)BH2 系統の同腹仔を 2 群に分け、一群に毎日 3 ~ 10 分間マウスを撫で回す馴化处理を 17 日間(総処理時間 98 分)行った。そして 5 - 2 - 1 と同様の実験を行い、馴化处理を行わなかった対照群に認められる止血クレンメによる尾部への刺激に対する過敏反応が馴化处理群では消失するか否かを検討した。

### 5 - 2 - 3 . GeneChip による解析

情動行動の異なった系統間 (C57BL/6J, C3H/HeJ, BH1, BH2, BH3, BH4, BH5, BH6, BH7) または、過敏反応を示すマウス系統 (BH2) の同腹仔の馴化处理群と非処理群間の脳における特異的な遺伝子発現量の差異を検出するために、それぞれのマウスの全脳組織から mRNA を抽出し、マウス用 GeneChip array (MG-U74、Affymetrix) を用いて、種々の遺伝子発現量を測定した。そして、過敏反応を示す系統間で共通に増幅、もしくは減少発現している遺伝子を検索した。また、馴化处理を行う事で発現量に変化した遺伝子と過敏反応する系統間で発現量の変化が認められる遺伝子の共通性についても検討した。

## 5 - 3 . 研究成果

### 5 - 3 - 1 . 情動行動の系統差選別とマッピング

それぞれの系統のマウス尾部に止血用クレンメをはさみ、それを外すまでの時間を

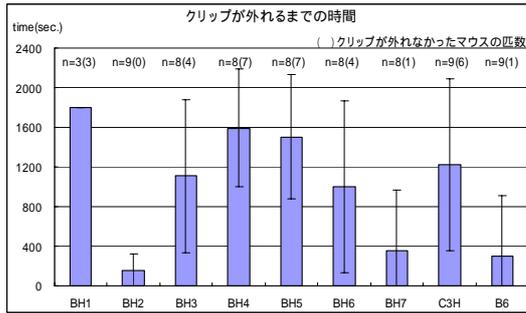


図 1

示したものが、図 1 である。これを見ると、すぐクレムをを外す系統 (BH 2, BH 7, B6) と外すのに時間がかかる、もしくは外さないマウスの系統 (BH 1, BH 3, BH 4, BH 5, BH 6, C3H) に分けられることが明らかである。このように、すぐ外すという行動に関する遺伝的要因は B6 から、外さないという遺伝的要因は C3H から引き継がれていることがわかった。

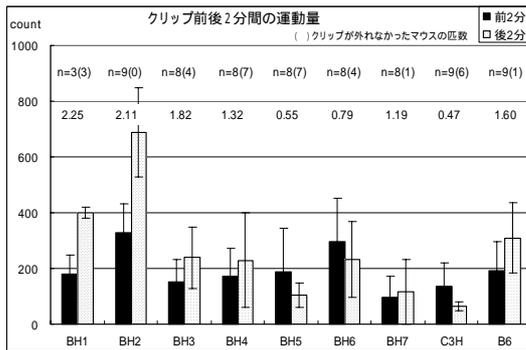


図 2

また、クレムをはさむ前の 2 分間 (黒色棒グラフ) とはさんだ後の 2 分間 (白色棒グラフ) におけるマウス運動量の変化を見たのが図 2 である。これによると、クレムをはさむと同時に過敏に反応して運動量が上がる系統 (BH 1, BH 2, BH 3, BH 4, BH 7, B6) と萎縮して運動量が逆に減ってしまう系統 (BH 5, BH 6, C3H) に分かれることがわかる。この場合でも運動量が上がる遺伝的影響は、B6 系統から、下がる遺伝的影響は C3H 系統から引き継がれていることがわかる。さらに、BH 2 系統では、クレムを速く外すが運動量も多い。一方、BH 7 は、同じように速くクレムを外すが、クレム刺激に対しては過敏に反応せず、運動量もほとんど変化しない。しかし、クレム

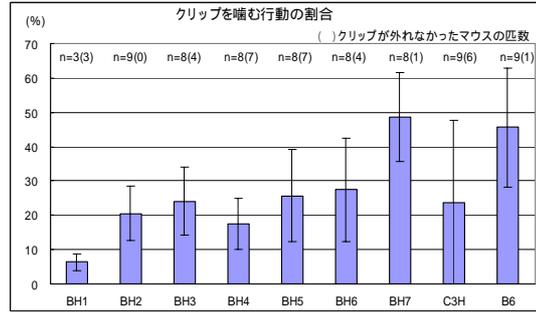


図 3

が外れるまでの噛み付き時間の割合 (噛み付いていた時間 ÷ クレムをはさずまでに要した時間 × 100) は非常に高い (図 3)。

図 1 のクレムを外す行動パターン (BH2, BH7 は B6 型、BH1, BH4, BH5, は C3H 型、BH3, BH6 は中間型) を基に linkage test を行った結果、中間型が存在する事から 2 つ以上の遺伝子が考えられ、実際に 4 番、11 番、15 番と 3 本の染色体上に連鎖の可能性が認められた。

また、クレム前後 2 分の運動量比変化パターン (図 2) を基に linkage test を行くと、6 番染色体上に、そして、図 3 の噛み付き行動パターンでは、4 番染色体上にそれぞれの行動にかかる遺伝子の連鎖の可能性が示唆された。

### 5 - 2 - 2 . 過敏動物馴化実験

図 4 および図 5 は、それぞれ非処理群 (対照群) と馴化処理群におけるクレム刺激前後 30 分間の運動量の変化グラフである。31 分 (矢印) のクレム刺激に対して馴化していない群は、過敏に反応して運動量が増加した (図 4)。一方、馴化処理群ではクレム刺激に対する反応がほとんど認められなかった (図 5)。

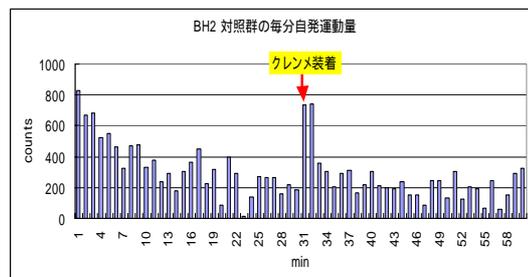


図 4

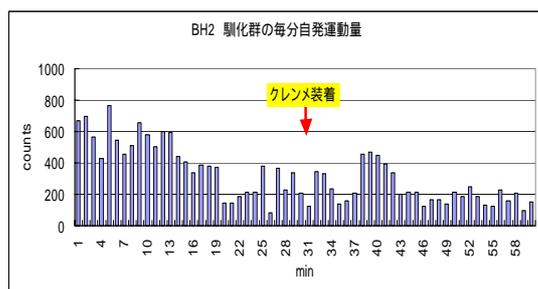


図 5

### 5 - 3 - 3 . GeneChip による解析

C3H 系統と比較してクレンメを非常に速く外す系統 (BH2, BH7, B6) (図 1) とクレンメ刺激に過剰反応する系統 (BH1, BH2, B6) (図 2) で共通して発現している遺伝子を検索し、馴化処理群と非処理群の間で同様に变化した共通遺伝子の存在の確認と同定を試みた。その結果、過敏反応するいずれのマウスでも、同一の染色体上に連鎖している 1 つの酵素蛋白遺伝子が 1.6 倍増幅発現している事がわかった。この染色体上の位置は、5 - 3 - 1 の図 2 の linkage test で示唆された連鎖位置の範囲内であった。また、マウスの胎仔脳内で発現が始まり、成体小脳のニューロンで発現している酵素蛋白をコードしている遺伝子の発現量が、馴化処理する事で馴化処理していない群の発現量の約 19% まで減少している事がわかった。そして、この遺伝子は、5 - 3 - 1 (図 1) での linkage test で示唆された染色体上の同じ範囲内に連鎖していた。

### 5 - 4 . 今後の課題と発展

それぞれの系統で、特異的な遺伝子発現量の変化が観察された。しかし、いずれも、現在のところ遺伝子産物と情動行動との間において明確な因果関係を示す知見は得られていない。今後は、同定された遺伝子産物の情動行動とのかかわりについて調べなければならない。

また、どこでどのように発現しているかわからない未知の遺伝子の増減を検出するために、本実験では GeneChip 用のサンプル mRNA を全脳組織からまとめた抽出をおこなった。原理的には、脳組織全体からの

mRNA 抽出であっても、発現遺伝子の相対的増減の検知には大きな影響はないと考えられる。しかし、大量の常時発現 mRNA に標的 mRNA が薄められ、検出シグナル感度を下げている可能性は否めない。今後、情動行動発現に大きく関わっている前頭前野、扁桃体、海馬などからの mRNA 抽出を行う必要があると考えられる。

ヒトで直接行うことができないこれらの研究によりマウスで同定される遺伝子の特徴は、そのまま、ヒトに外挿することが可能であるために、今後ともこの種の研究は極めて重要かつ必要な研究と考えられる。

### 5 - 5 . 発表論文リスト

Furitsu, K., Ryo, H., Yeliseeva, K.G., Thuy, L.T.T., Kawabata, H., Krupnova, E.V., Trusova, V.D., Rzhetsky, V.A., Nakajima, H., Kartel, N., and Nomura, T. Microsatellite mutations show no increases in the children of the Chernobyl liquidators. *Mut. Res.*, 581, 69-82, 2005.

Nomura, T., Nakajima, H., Ryo, H., Li, L.Y., Fukudome, Y., Adachi, H., Gotoh, H., and Tanaka, H., Transgenerational transmission of radiation- and chemically-induced tumors and congenital anomalies in mice: studies of their possible relationship to induced chromosomal and molecular changes. *Cytogenet. Genome Res.*, 104, 252-260, 2004

Nomura, T., Nakajima, H., Hongyo, T., Ryo, H., Li, L.Y., Kurooka, M., Baskar, R., Syaifudin, M., Si, X.E., Maeda, M., Kaba, R., Mori, K., Fukudome, Y., Koo, J. Y., Wani, K. M. Y., Kitagawa, Y., Tsuboi, R., Hiramatsu, K. and Matsuzuka, F. A novel SCID biotechnology for biomedical studies in human. In: *Radiobiology and Bio-medical Research* (Eds. K.P. Mishra), pp200-208, 2004.