活動量の調節に関わる神経機能の行動遺伝学的研究

Bihavioral Genetic Study of Neural Function associated with Spontaneous Locomotor Activity

（日本遺伝学会推薦）

代表研究者　国立遺伝学研究所　小出　剛

National Institute of Genetics　Tsuyoshi KOIDE

共同研究者　国立遺伝学研究所　城石俊彦

National Institute of Genetics　Toshihiko SHIROISHI

（英文サマリー）

A general activity is basic trait related to the survival strategy and regulated by complex genetic mechanisms. In this study, we focused on the behavioral difference between MSM/Ms and C57BL/6, which belongs to Mus musculus molossinus, and Mus musculus domesticus, respectively. We tried to reveal the quantitative trait loci involved in the difference of general activity between these strains. For analyzing the genetic mechanism, we used the consomic strains established from MSM/Ms and C57BL/6. The consomic strains were established by replacing any one chromosome of C57BL/6 with corresponding chromosome of MSM/Ms. In these strains, the traits of B6-6CMSM, which carries chromosome 6 derived from MSM was dramatically different in the behavior. To map the quantitative trait loci related to the general activity on chromosome 6, F2 population made between C57BL/6 and B6-6CMSM were analyzed for the traits. In the result, we obtained two candidate regions. It was reveled that the one associates with emotionality and general activity and the other associates with general activity. In addition to the genetic analysis, we investigated the dopamine function by measuring extracellular dopamine in striatum. By administrating inhibitor

of dopamine transporter, we found that the synaptic release of dopamine in striatum of B6-6CMSM was elevated comparing with C57BL/6.

（本文）

研究目的

動物の行動の中で、移所活動はテリトリーの確保、餌の確保、交配相手の探索などの場面において重要な役割を果たしている。このように自然界では、移所活動量は種の生存戦略と密接に関わっており、生存上重要な行動要素と考えられる。また、ヒトにおいても活動量の個人差は顕著であり、極端に高くなっても逆に低くなっても社会生活上支障をきたす場合が多々あり、その適切なコントロールは非常に重要な問題となる。しかしながら、このような移所活動量の違いが生じる遺伝的機構についてはほとんど研究が行われていないのが実情である。一方で、脳の線条体領域で細胞外に放出されたドーパミンが動物の自発活動に関与していることは良く知られており、線条体でのドーパミン制御の機構解明が移所活動の遺伝的機構解明につながると期待されている。そこで、本研究では、マウス系統に見られる移所活動量の多様性に着目し、その系統差をもたらす遺伝的基盤の解明を行い、さらにそこに関わるドーパミン作動性神経シナプスでのドーパミン量調節に関わる機構を明らかにすることを目的とする。

研究経過

移所活動の系統差は多数の遺伝的要因により制御されている量的形質であることがすでに分かっている。我々は、ヨーロッパ産マウスである Domesticus group に主に由来する C57BL/6 系統と日本産野生由来マウスから樹立された近交系統である MSM との間で顕著な行動形質の違いが見られることを示してきた。このような違いには、２系統間での多数の遺伝的要因の違いが関与していると予想される。複雑な遺伝様式を示す形質の背景にある遺伝的機構の解析を目的として、C57BL/6 系統の各染色体を対応する MSM 由来の染色体と置換した系統群であるコンソミック系統群が国立遺伝学研究所の城石俊彦教授らのグループにより樹立された。これらの系統を用いた解析を行うことにより、量的形質の違いに関わる遺伝子が存在する染色体を速やかに同定することが可能となる。

これまでに、一連のコンソミック系統を用いた解析から、MSM 系統に由来する３番染色体を有する系統(B6-3MSM)は自発活動性が高く、第６染色体を有する系統(B6-6CMSM)は逆に自発活動性が低いことが分かってきた。（図１）

B6-3MSM については、C57BL/6 系統と交配し得られた F1 雄を再び C57BL/6 系統に戻し交配することで、第３染色体上の組換え体を得て、大きく３つの領域に分けた。その領域について現在ホモ化を進めており、それができた段階で再び各系統の自発活動性を測定することで、その形質に関わる遺伝子が存在する領域を詳細に解析する予定である。

B6-6CMSM については、同様に C57BL/6 系統に戻し交配し、多数の組換え体を得ることに成功している。同時に、F2 マウスを用いた QTL 解析を行った結果、自発活動性に関わる遺伝子は、第 6 染色体の動原体近傍と遠位部位の 2 箇所に独立に存在することが判明した。現在、さらに狭い領域を有するサブコンソミック系統を用いた解析を進めており、候補遺伝子の絞込みを行っている。(図２)

一方、この B6-6CMSM が示す低い自発活動性の神経科学的な原因を明らかにする目的で、活動性の制御に関わる脳の線条体領域におけるドーパミン放出量の測定をマイクロダイアリシス法により行った。線条体領域における細胞外ドーパミン量を連続的に測定し、マウスにおける活動期である夜間と昼間の量を比較した。夜間においてはマウスの活動性が上昇するものの、ドーパミン量の顕著な差は見られなかった。また、低い自発活動性を示す B6-6CMSM と C57BL/6 系統の間で顕著な細胞外ドーパミン量の違いは見出されなかった。しかし、シナプス間隙に放出された余剰のドーパミンを再度細胞内に取り込む働きをしているドーパミントランスポーターを阻害する働きを持つ薬剤である methylphenidate hydrochrochloride を 10mg/kg の濃度で腹腔内投与すると、B6-6CMSM の線条体におけるドーパミン量が C57BL/.6 よりも優位に高いことが判明した。この結果は、B6-6CMSM の低い自発活動性が脳内のドーパミン系の違いにより生じていることを示唆しており、その結果として、ドーパミン放出量が高くなるように制御されていることを示している。

考察

今回の研究では、コンソミック系統を用いることで、マウス系統間での自発活動性の違いに関わる遺伝的要因が効率よくマッピングでき、さらにポジショナルクローニングに向けた有効な系となることを示している。ゲノム全体の約２／３にわたる染色体を有するコンソミック系統を解析したところ、自発活動性などの行動表現型に関わる遺伝子座はゲノム全体に分散して多数存在することが明らかになった。このことは、自発活動性という表現型一つをとってみても、その遺伝的制御のメカニズムは非常に複雑で、多数の遺伝子の相加的及び相乗的な効果の積み重ねとして一つの表現型が作られてゆくことを示唆している。その中でも特に顕著な効果を持つ染色体として第３染色体と第６染色体が見出された。MSM 系統に由来するこれらの染色体には、それぞれ活動量を上昇させる遺伝子と抑制する遺伝子が存在していると考えられる。第６染色体については、すでに遺伝子の存在する領域が 2 箇所に分かれて存在していることを QTL 解析により明らかにした。このことは、一つの行動表現型に関わる遺伝子がゲノム上に多数の染色体に分かれて存在しているだけでなく、一つの染色体上においても複数の遺伝子が複雑に影響を及ぼしている他因子の複雑な遺伝的基盤を形成していることを示している。

自発活動性を実際に制御する神経科学的機構については、これまで線条体領域におけるドーパミン系が主要な役割を果たしていることが示唆されてきた。例えば、ドーパミントランスポーターやドーパミン受容体を改変したターゲティングマウスを用いた解析では、

活動量が顕著に影響を受けることを示している。今回、微小透析プローブを脳内に埋め込み細胞外ドーパミンの定量化を行った結果は、夜間の活動期と昼間の休息期にでは、その量に有意な差は無く、ドーパミン量が活動量を直接的に反映していない結果を示している。このことは、おそらくもっと局所的な神経回路におけるドーパミン量の制御が活動量の調節に関与している可能性を示している。他の可能性としては、線条体以外の脳領域において活動量を制御するためのドーパミン調節機構が存在することも考えられる。我々が今回、methylphenidate hydrochrochloride をマウスに投与することで、ドーパミンの細胞外への放出量比較を行った。その結果は、活動量が低い B6-6CMSM では逆にドーパミン放出量が高いという結果を示している。この現象を説明する一つの可能性としては、活動量が低い B6-6CMSM 系統のマウスにおいては、ドーパミン受容以降の経路の反応性が C57BL/6 系統よりも低く、そのため、フィードバックにより過剰のドーパミンを放出するような機構が働いていることが考えられる。残念ながら、今回の研究では、それ以上の機構を明らかにすることはできなかった。今後さらに詳細に活動量調節の機構を明らかにするためには、第３染色体や第６染色体上に存在する遺伝子を明らかにし、その機能についても解明してゆくことが不可欠である。すでに我々のサブコンソミック系統の作成は非常に狭い領域のところにまで及んでおり、近い将来原因遺伝子の同定が可能になるものと期待している。

研究発表

口頭発表

国際学会

Nishi, A., Takahashi, A., Shiroishi, T., Koide, T.: Analysis of quantitative trait loci that influence diversity of behavioral traits between C57BL/6 and MSM/Ms. 19th International Mouse Genome Conference, November 4-8, 2005. Strasbourg, France

Takahashi, A., Nishi, A., Shiroishi, T., Koide, T.: Genetic Analysis of emotionality in B6-MSM consomic mouse strains. 19th International Mouse Genome Conference, November 4-8, 2005. Strasbourg, France

Umemori, J., Nishi, A., Shiroishi, T., Koide, T.: A study of genetic factors responsible for difference in spontaneous activity between inbred strains of mouse. 19th International Mouse Genome Conference, November 4-8, 2005. Strasbourg, France

国内学会

小出剛　野生由来マウス系統の遺伝的多様性を活用した行動の遺伝学的解析　シンポジウム「行動遺伝学の最前線」企画責任者：小出剛、山元大輔　第 77 回日本遺伝学会　2005 年９月 27-29　東京

西明紀、高橋阿貴、城石俊彦、小出剛　マウス系統 C57BL/6 と MSM の行動特性の系統差に関わる量的形質遺伝子座の解析　第 77 回日本遺伝学会　2005 年 9 月 27-29　東京

高橋阿貴、城石俊彦、小出剛　B6-MSM コンソミックマウス系統を用いたオープンフィールド行動の遺伝学的解析　第 65 回日本動物心理学会　2005 年 10 月 8-9 日　千葉

梅森十三、湯浅茂樹、小出剛　遺伝的不適合により生じる神経発達異常　第 28 回日本分子生物学会　2005 年 12 月 7-10 日　福岡

高橋阿貴、西明紀、城石俊彦、小出剛　B6-MSM コンソミックマウス系統を用いたオープンフィールド行動の解析　第 28 回日本分子生物学会　2005 年 12 月 7-10 日　福岡

誌上発表

1) Ogasawara, M., Imanishi, T., Moriwaki, K., Gaudieri, S., Tsuda, H., Hashimoto, H., Shiroishi, T., Gojobori, T., Koide, T.: Length variation of CAG/CAA triplet repeats in 50 genes among 16 inbred mouse strains. Gene, 349, 107-119, 2005.

2) Esumi, S., Kakazu, N., Taguchi, Y., Hirayama, T., Sasaki, A., Hirabayashi, T., Koide, T., Kitsukawa, T., Hamada, S., Yagi, T.: Monoallelic yet combinatorial expression of variable exons of the protocadherin-a gene cluster in single neurons. Nature Genetics, 37, 171-176, 2005.

3) Taguchi, Y., Koide, T., Shiroishi, T., Yagi, T.: Molecular evolution of Cadherin-related neuronal receptor/protocadherin • (CNR/Pcdh•) gene cluster in Mus musculus subspecies. Mol. Biol. Evol. 22, 1433-1443, 2005.

4) Takahashi, A., Kato, K., Makino, J., Shiroishi, T., Koide, T.: Multivariate analysis of temporal descriptions of open-field behavior in wild-derived mouse strains. Behavior Genetics. In press

Figure legend

Fig1. General activity for three days in home cage for females and males. All data are presented as means ± SEM. Asterisk indicate significance at <0.05in comparison with

C57BL/6. Each consomic strains is presented as the substituted chromosome number.

Fig.2. QTL analysis for the general activity in the home cage and the light-dark box performance.