

松大Topics:

精神疾患様異常行動, 聴覚過敏,
そして脳内オキシトシン含量の低下を示すマウスの紹介

松山大学薬学部薬理学研究室 中島 光業, 奥山 聡, 古川 美子

【はじめに】

4年ほど前, 本研究は全くの偶然からスタートした。ある遺伝子のコンディショナルノックアウトマウスを作製しようと考えて, まず神経堤細胞特異的なデリーターマウスとして Wnt1-cre, Wnt1-GAL4 ダブルトランスジェニック (dTg) マウスを入手した。実験を開始するためには, 繁殖して数を増やす必要があった。ところがその過程で, 「このマウスは時々興奮して走り回っていることがある」などの情報が飼育担当者から寄せられた。最初は聞き流していたが, 種々の異常行動の報告が複数回に及んだため, コンディショナルノックアウトマウスを作製するという当初の計画を断念して, dTg マウスの行動学的解析を行うことになった。

【研究結果】

＜雌雄で異なる異常行動＞

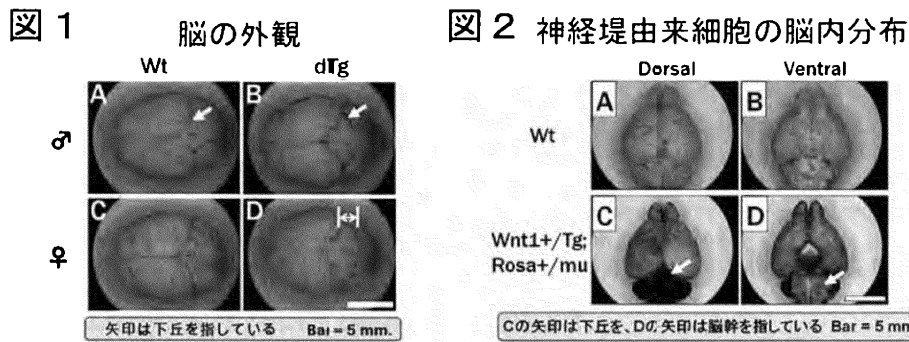
私たちはまず, 営巣行動試験を行った。dTg マウスは, 雌雄ともに巣作り行動が不良であった。多くの精神疾患モデルマウスで営巣行動の低下が報告されていることから, 当該マウスが精神疾患様モデルマウスであることを想定して本腰を入れ行動解析を行うことになった (表参照)。まず, 70cm 四方の塩化ビニル製のアリーナにマウスを置いて 10 分間の運動量を調べたところ (オープンフィールド試験), 雌雄ともに自発運動量の増加が認められた。次に社会性行動を調べるために, 3チャンパー試験を行った。ここでも雌雄ともに, 社会性行動に障害があることが示唆された。ところが, モーリス水迷路試験と MK801 投与試験では雄と雌で結果に違いが生じた。これらの試験では雌で異常行動が認められたのに対して, 雄では異常が認められなかった (Nakajima et al., 2013)。

行動解析の実験がちょうど終る頃になって, dTg マウスの脳の外観に異常があることが判明した。雌雄ともに下丘が明らかに肥大しているのである (図1参照)。下丘は聴覚情報経路の中継点の一つとして知られることから, 聴覚異常を想定して簡易な驚愕反応試験を行ったところ, 20 kHz の音に対して雌で特異的に強い驚愕反応が確認された。さらに, 聴覚脳幹反応 (ABR) 試験を行ったところ, 16kHz を超える周波数域において同様に雌で特異的に強い聴覚脳幹反応が認められた (Nakajima et al., 2014)。

以上の結果より, dTg マウスの雌と雄では異なる行動学的異常が認められることが明らかになった。特に雌については, 統合失調症様モデルマウスであることが示唆された。オープンフィールド試験と MK801 投与試験での自発運動量の上昇は陽性症状に, 社会性行動の障害は陰性症状に, モーリス水迷路試験の成績不良は認知能障害に相当し, 聴覚過敏については統合失調症で高頻度に認められる随伴症状に相当するものと考えられた。そこで次に, 統合失調症に対する治療薬が dTg マウスで効果を示すか否かについて検討した。多元受容体標的化抗精神病薬 (MALTA) であるクロザピンの投与によって, 雌 dTg マウスの自発運動量の増加は是正された。しかし雄に対しては, 有効に作用しなかった。

表

| dTgマウスの特徴-1 (行動解析・病理) | dTgマウスの特徴-2 (哺育行動・ホルモン量) | |
|--------------------------|-----------------------------|---|
| | ♂ | ♀ |
| 1) 営巣行動試験 | ↓ | ↓ |
| 2) オープンフィールド試験 | ↑ | ↑ |
| 3) 社会性行動試験 | ↓ | ↓ |
| 4) モーリス水迷路試験 | → | ↓ |
| 5) MK-801投与試験 | → | ↑ |
| 6) 聴覚過敏 | → | ↑ |
| 7) 下丘肥大 | ↑ | ↑ |
| 8) クロザピンによる症状改善 | × | ○ |



< 雌雄で見られる表現型の違いの原因を探る >

dTg マウスで認められた表現型における雌雄差の原因を明らかにする目的で、dTg マウスの解析をさらに推し進めた。dTg 雌マウスの妊娠・出産については明らかな異常は認められなかったが、哺育行動では著しい低下が認められ、初産における出生一週後の仔の生存率は0%であった。血清中のプロラクチン濃度はdTg 雌マウスで有意に低値を示し、また、プロラクチン分泌促進因子と考えられているオキシトシンの視床下部における含量についてもdTg 雌マウスで有意に低値を示した。

【考察と今後の展望】

今回の研究において、視床下部で産生されるホルモン（オキシトシン・バソプレシン）のdTg マウスでの脳内含量の低下が確認された。dTg マウスは、胎生 8-13.5 日胚の神経堤組織において cre リコンビナーゼと GAL4 転写調節因子を発現するように仕込まれたトランスジェニックマウスであることから、神経堤由来脳組織である中脳と小脳（図2参照）に構造や機能の異常が副作用として起きる可能性は想定範囲内であったが、間脳（視床下部を含む）での異常は想定範囲の外であった。しかし、聴覚を含め、体性感覚や視覚などの感覚情報は、いずれも間脳を経由して大脳皮質一次感覚野に到達する。下丘は一次聴覚野に至る重要な聴覚路の中継点であり、この部位での形態異常（肥大）が引き金となって間脳でのオキシトシン含量の大幅な低下が誘導され、様々な異常行動が誘発されたものと考えている。私たちは、このdTg マウスは感覚情報経路に障害をきたす遺伝子変異が原因となって生じる、感覚障害を伴う精神疾患のモデル動物であると現在推測している。この仮説を立証するには、今後様々な検討が必要である。

オキシトシンノックアウトマウスやオキシトシン受容体ノックアウトマウスについては既に報告がなされており、社会性行動にオキシトシンシグナルが重要な働きをすることが示唆されている（Nishimori et al, 1996; Takayanagi et al., 2005）。また、統合失調症患者や自閉症患者にオキシトシンを投与することで社会性行動障害が改善されることが報告されている（Gordon et al., 2013; Davies et al., 2014; Young and Barrett, 2015）。こうしたことから、dTg 雌マウスの表現型の多くは脳内オキシトシン含量の低下が原因となっていることが推察される。近々に、オキシトシン投与による表現型のレスキュー実験を行いたい。

雄のdTg マウスについては解析が未だ不十分であるが、営巣行動の低下と社会性行動障害、ならびに自発運動量上昇が認められることから、自閉症様のモデルマウスであることを想定している。準備ができ次第、コミュニケーション障害と反復的行動の評価を行いたい。

今回の研究では、一つの遺伝子変異によって雌雄で異なる行動学的表現型が得られた。dTg 雌マウスにおいてオキシトシン含量の有意な低下が認められたが、実は雄においてもオキシトシン含量の低下傾向は見られた。しかし雌の方がオキシトシンの絶対量で高値を示し、また、野生型マウスの値との違いが大きかったことから、表現型の変化が雌で多く現れたと考えることもできる。正常状態でのホルモン濃度の雌雄間での違いが、精神疾患の発症頻度の性差の原因となりうることを暗示しているのかもしれない。

本稿の冒頭でも述べたとおり、本研究は綿密な計画のもとに戦略的に進められたものではない。しかしここまで研究を進めてみると、当該マウスは精神疾患の病態解明に貢献できる可能性を秘めたモデル動物であることが明らかになってきた。

【参考文献】

- 1) Nakajima M, Mori H, Nishikawa C, Tsuruta M, Okuyama S, Furukawa Y., Psychiatric disorder-related abnormal behavior and habenulo-interpeduncular pathway defects in Wnt1-cre and Wnt1-GAL4 double transgenic mice. *J Neurochem.* 2013 ; 124 (2) : 241-249.
- 2) Nakajima M, Nishikawa C, Miyasaka Y, Kikkawa Y, Mori H, Tsuruta M, Okuyama S, Furukawa Y., Dilation of the inferior colliculus and hypersensitivity to sound in Wnt1-cre and Wnt1-GAL4 double-transgenic mice. *Neurosci Lett.* 2014 ; 566 : 236-240.
- 3) Nishimori K, Young LJ, Guo Q, Wang Z, Insel TR, Matzuk MM., Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 ; 93 : 11699-11704.
- 4) 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 U S A.* 2005; 102 : 16096-16101.
- 5) Gordon I, Vander Wyk BC, Bennett RH, Cordeaux C, Lucas MV, Eilbott JA, Zagoory-Sharon O, Leckman JF, Feldman R, Pelphrey KA., Oxytocin enhances brain function in children with autism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 ; 110 : 20953-20958.
- 6) Davis MC, Green MF, Lee J, Horan WP, Senturk D, Clarke AD, Marder SR., Oxytocin-augmented social cognitive skills training in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2014 ; 39 : 2070-2077.
- 7) Young LJ, Barrett CE., Can oxytocin treat autism? *Science.* 2015 ; 347 : 825-826.