

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04289

研究課題名(和文)新規野生由来ヘテロジニアスマウス集団を用いた不安障害モデルの確立

研究課題名(英文) Establishing model mouse for anxiety disorders using a novel wild-derived heterogeneous stock

研究代表者

小出 剛 (Koide, Tsuyoshi)

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・准教授

研究者番号：20221955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：野生マウスに由来する8つの近交系統を遺伝的に混合した野生由来ヘテロジニアスマウストックを作製し、従順性に関する選択交配を行い、選択群と非選択群の樹立に成功した。これら選択群及び非選択群について、ゲノムDNAを用いたSNP解析を行い、そのデータを用いて遺伝的解析を行うことで、マウスの従順性に関する遺伝子座は11番染色体上に存在していることを明らかにした。さらに、遺伝子座の絞り込みを行う目的で、高度な従順性を示すイヌのゲノムを用いて報告されている選択領域のデータと比較解析を行い、従順性に関する3つの候補遺伝子を見出した。今後の能動的従順性に関わる分子遺伝学的な基盤の解明に向けた大きな進歩が得られた。

研究成果の概要(英文)：A novel wild-derived heterogeneous stock (WHS) was established by genetically mixing with eight wild strains. We conducted selective breeding for active tameness to humans and selected and non-selected groups were successfully established. By conducting SNP analysis using genomic DNA on these selected and non-selected groups of mice, we performed genetic analysis for active tameness. We found genetic loci relating to active tameness on chromosome 11. In order to narrowing down the loci, we conducted comparative analysis of mouse and dog genome. We found that the data of the selected region showed high degree of overlap with the genomic regions which were selected during the evolution of dog breeds.

研究分野：行動遺伝学

キーワード：野生マウス 不安様行動 多因子疾患 QTL解析 ゲノム 遺伝子マッピング 能動的従順性 家畜化

1. 研究開始当初の背景

不安障害は、過剰で持続する不安や恐怖などを示す精神と身体に強い影響を及ぼす障害であり、その発症頻度の高さから、適切な病態モデルの確立とその遺伝的基盤の解明が求められている。しかし、不安障害の多くは、環境因子に加えて多数の遺伝因子により生じる量的形質であり、実験モデルの確立は難しい。そのため、遺伝的基盤解明に向けた、新たな研究手法の確立が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、野生マウス近交系8系統を計画的に交配することで遺伝的に多様な集団を作製し、それを選択交配することで不安行動の変化を示すモデル集団を新たにつくりだす。そのモデル集団をもとに、不安障害に関わる遺伝子の網羅的な解明を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、WHSを用いて多因子形質の遺伝的基盤解明の新たな方法確立を目指す。そのために、上述の従順性テストと抗不安薬感受性テストに関して、その表現型を指標にした選択交配を行う。毎世代形質の高い個体を選択し、近交化を避けつつ次世代の交配を行う。これにより、世代ごとに表現型が徐々に変化し、最終的にはコントロール群に対して有意に表現型の異なる選択群ができる。ここで選択群内では、その選択された特定の形質に関わるパスウェイのみが共通に変化した個体の集団ができると期待される。選択群とコントロール群に対して、各個体のゲノムSNPs解析と遺伝子発現解析を行うことで、表現型と共にどの遺伝子SNPsが選択され、それによりどのような遺伝子ネットワークが変化したか解明する。

4. 研究成果

(1) 不安に関連した従順性について、系統間で顕著な違いがあることを明らかにした。家畜化には人に対する恐怖や不安の低下が不可欠であるため、従順性の進んだ実験動物は不安低下の格好のモデルとなることが期待されている。我々は、マウスをフィールド内に入れ、そこに挿入した人の手を恐れる反応を測定することでマウスの従順性を調べる方法(従順性テスト)を考案した。野生系統を用いて従順性テストを行った結果、人に対する恐怖反応は実験用系統で低く野生系統で高い傾向があるが、その野生系統の中でも顕著な系統差があることが分かった。さらに、8つの野生系統をもとに交配することで、すべての系統のゲノムを混ぜ合わせた野生由来ヘテロジニアスストック(WHS)の作製を開始した。そのWHSについて、上述の従順性テストの表現型を指標にした選択交配を行った。毎世代形質の高い個体を選択し、近交化を避けつつ次世代の交配を行った。これにより、世代ごとに表現型が徐々に変化し、最終

的にはコントロール群に対して有意に表現型の異なる選択群ができた。

(2) 交配の12世代目において選択群と非選択群で従順性に顕著な差がみられた。選択系と非選択系の集団の個体から抽出したゲノムDNAを用いて、144KマウスGigaMUGAアレイによるゲノムワイドなSNPs解析を行った。すでに、8つの親系統のゲノムSNPsをMegaMUGA arrayを用いて網羅的に解析した結果、ゲノム全体で多数のSNPsの解析が可能であることがすでに分かっており、これらの中で系統特異的SNP情報を用いて遺伝解析が可能となった。これらの集団のマウスを用いたゲノムのSNP解析のデータを用いて遺伝解析を行った結果、従順性に関わる遺伝子座として11番染色体の一部が同定された。さらにイヌゲノムを用いた解析の結果と比較することで3つの候補遺伝子を同定した。本研究成果は国際誌に発表し、マスコミ等でも取り上げられた。

(3) これまでに選択交配をさらに進めて、16~17世代目において能動的従順性が12世代目よりもさらに顕著に選択群と非選択群で異なることを確認した。そこで、能動的従順性に関わる遺伝子を明らかにする目的で脳における遺伝子の発現解析を行った。選択群10個体と非選択群10個体について、脳の海馬を採取してRNAを抽出した後にHiSeq2500を用いて100bpのpaired-endを次世代シーケンサにより解読することで、発現量の比較を行った。発現量の解析にはC57BL/6マウスのゲノム配列に配列断片を張り付けることにより解析した。現在、この発現データについて、詳細な解析を進めており、国際誌への発表を目指している。

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7件)

(1) Takahashi, A., Sugimoto, H., Kato, S., Shiroishi, T., Koide, T.
Mapping of genetic factors that elicit intermale aggressive behavior on mouse chromosome 15: intruder effects and the complex genetic basis.
PLoS ONE, 2015, 10, e0137764. 査読あり
10.1371/journal.pone.0137764

(2) Takahashi, A., Lee, R.X., Iwasato, T., Itohara, S., Arima, H., Bettler, B., Miczek, K.A., Koide, T.
Glutamate input in the dorsal raphe nucleus as a determinant of escalated aggression in male mice.
The Journal of Neuroscience, 2015, 35: 6452-6463. 査読あり

10.1523/JNEUROSCI.2450-14

(3) Hirata, H., Takahashi, A., Shimoda, Y., Koide, T.

Caspr3-deficient mice exhibit low motor learning during the early phase of the accelerated rotarod task.

PLoS ONE, 2016, 11, e0147887. 査読あり
10.1371/journal.pone.0147887

(4) Hirata, H., Umemori, J., Yoshioka, H., Koide, T., Watanabe, K., Shimoda, Y.

Cell adhesion molecule Caspr3 is expressed in the mouse basal ganglia during early postnatal stages.

Journal of Neuroscience Research, 2016, 94: 74-89. 査読あり
10.1002/jnr.23670

(5) Okabe, S., Tsuneoka, Y., Takahashi, A., Ooyama, R., Watarai, A., Maeda, S., Honda, Y., Nagasawa, M., Mogi, K., Nishimori, K., Kuroda, M., Koide, T., Kikusui, T.

Pup exposure facilitates retrieving behavior via the oxytocin neural system in female mice.

Psychoneuroendocrinology, 2017, 79, 20-30. 査読あり

(6) Horii Y, Nagasawa T, Sakakibara H, Takahashi A, Tanave A, Matsumoto Y, Nagayama H, Yoshimi K, Yasuda MT, Shimoi K, Koide T

Hierarchy in the home cage affects behaviour and gene expression in group-housed C57BL/6 male mice.

Sci Rep. 2017 Aug 1;7(1):6991. 査読あり
doi: 10.1038/s41598-017-07233-5.

(7) Matsumoto Y, Goto T, Nishino J, Nakaoka H, Tanave A, Takano-Shimizu T, Mott RF, Koide T

Selective breeding and selection mapping using a novel wild-derived heterogeneous stock of mice revealed two closely-linked loci for tameness.

Sci Rep. 2017 Jul 4;7(1):4607. 査読あり
doi: 10.1038/s41598-017-04869-1.

[学会発表](計 36件)

(1) Koide, T., Matsumoto, Y., Nakaoka, H., Nishino, J., Goto, T. Establishing new mouse resource, wild-derived heterogeneous stock, which is useful for genetic analysis of tameness and other complex traits. 29th International Mammalian Genome Conference. 2015年11月8日~2015年11月11日. Yokohama, Japan.

(2) Yoshimi, K., Kaneko, T., Koide, T., Mashimo, T. CRISPR/Cas9-mediated plasmid knock-in and replacement of genomic region with single stranded oligonucleotides in rodents. 29th International Mammalian Genome Conference. 2015年11月8日~2015年11月11日. Yokohama, Japan.

(3) Matsumoto, Y., Nakaoka, H., Nishino, J., Goto, T., Koide, T. Combination of selective breeding and genome-wide SNP analysis revealed the genetic loci associated with tame behavior in mice. 29th International Mammalian Genome Conference. 2015年11月8日~2015年11月11日. Yokohama, Japan.

(4) Tanave, A., Takahashi, A., Sumiyama, K., Koide, T. Higher expression of PACAP gene is associated with altered behavioral and prolonged physiological responses to stress in wild-derived MSM mice. 29th International Mammalian Genome Conference. 2015年11月8日~2015年11月11日. Yokohama, Japan.

(5) 小出剛、後藤達彦、松本悠貴：野生由来ヘテロジニアスストックを用いた遺伝学的解析の試み 第87回日本遺伝学会大会. 2015年9月24日~2015年9月26日 東北大学、仙台

(6) 松本悠貴、中岡博史、西野穰、後藤達彦、小出剛：選択交配およびゲノムワイド遺伝解析によるマウスの従順性行動に関わる遺伝子座の同定 第87回日本遺伝学会大会. 2015年9月24日~2015年9月26日 東北大学、仙台

(7) 永山博通、松本悠貴、後藤達彦、小出剛：野生由来ヘテロジニアスストックマウスの選択交配によりみられる従順性と不安、新奇探索性、社会生との関連 第23回日本行動神経研究会. 2015年9月18日~2015年9月19日. 仙台市戦災復興記念館、仙台

(8) Koide, T., Imai, Y., Hanzawa, N. : Differences of sensitivity to anxiolytic effect of diazepam in wild-derived mouse strains. 第38回日本神経科学大会. 2015年7月28日~2015年7月31日. 神戸コンベンションセンター、神戸

(9) 堀井康行、長澤達弘、田邊彰、高橋阿貴、下位香代子、小出剛：集団飼育下で社会的順位が最下位の雄マウスは、最上位の個体と比べて不安様・うつ様形質を示す. 第62回日本実験動物学会総会. 2015年5月28日~

2015年5月30日・京都テルサ、京都

(10)田邊彰、高橋阿貴、隅山健太、小出剛：MSM/Ms マウスの不安様行動関連遺伝子の同定とその機能解析。第62回日本実験動物学会総会。2015年5月28日～2015年5月30日。京都テルサ、京都

(11)松本悠貴、西野穰、後藤達彦、小出剛：選択交配およびコンピュータシミュレーションを用いた従順性行動に関わる遺伝子座の同定。第62回日本実験動物学会総会。2015年5月28日～2015年5月30日。京都テルサ、京都

(12)田邊彰、高橋阿貴、隅山健太、小出剛：PACAP 遺伝子発現によるストレス関連行動の調節の遺伝学的解析。第38回日本神経科学大会。2015年7月28日～2015年7月31日。神戸コンベンションセンター、神戸

(13)堀井康行、長澤達弘、田邊彰、高橋阿貴、下位香代子、小出剛：雄マウスの集団飼育下における社会的順位が海馬の神経新生に及ぼす影響。第38回日本神経科学大会。2015年7月28日～2015年7月31日。神戸コンベンションセンター、神戸

(14)永山博通、松本悠貴、後藤達彦、小出剛：A series of behavioral analyses to reveal behavioral and psychological basis underlying tameness in selected population of wild-derived heterogeneous stock (WHS) of mice。日本動物心理学会第75回大会。2015年9月10日～2015年9月12日。日本女子大学、東京

(15)Matsumoto, Y., Nishino, J., Goto, T., Koide, T. : Finding the Genetic Loci Associated with Tameness Using the Combination Method of Selective Breeding and Computer Simulation in Mice. Vth International Wildlife Management Congress 2015。2015年7月26日～2015年7月30日。Sapporo, Japan

(16)Koide T. : Hunting genetic factors associated with high anxiety-like behavior in wild mouse strain. Symposium “神経精神薬理学のホットトピックス：情動を根源から捉えなおす”第46回日本神経精神薬理学会。2016年7月2日～2016年7月3日。Seoul, Korea

(17)Koide T., Tanave A. Poster “Genetic variation and expression diversity of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene in mouse” 30th CINP World Congress of

Neuropsychopharmacology。2016年7月3日～2016年7月5日。Seoul, Korea

(18)Tanave A., Koide T., Sumiyama, K., Takahashi, A. : Poster “High expression of PACAP gene and the molecular mechanism found in wild-mouse strain showing elevated anxiety-like behavior” 30th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology。2016年7月3日～2016年7月5日。Seoul, Korea

(19)Tanave, A., Koide T. : Oral “Expression diversity and genetic variation of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene in mouse”。The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society。2016年7月20日～2016年7月22日。Yokohama, Japan

(20)Nagayama, H., Matsumoto, Y., Goto, T., Koide T. : Poster “Behavioral and neurological bases of tameness in selection groups of wild-derived heterogeneous stock” The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society。2016年7月20日～2016年7月22日。Yokohama, Japan

(21)吉見一人、今井悠二、田邊彰、真下知士、小出剛：Oral “長鎖一本鎖オリゴを用いたノックイン動物作製法の開発” The 88th Annual Meeting of the Genetics Society of Japan 2016年9月7日～2016年9月10日。Mishima, Japan

(22)松本悠貴、西野譲、中岡博史、後藤達彦、小出剛：Oral “Selection mapping および関連解析によるマウス従順性関連遺伝領域の同定” The 88th Annual Meeting of the Genetics Society of Japan。2016年9月7日～2016年9月10日。Mishima, Japan

(23)永山博通、松本悠貴、後藤達彦、小出剛：Oral “野生由来マウスヘテロジニアスストックの選択交配によりみられる従順性の解析” The 63rd Annual Meeting of Japanese Association for Animal Science。2016年5月18日～2016年5月20日。Kawasaki, Japan

(24)田邊彰、小出剛：Oral “野生ハツカネズミの下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド(PACA)遺伝子における正の自然選択” The 63rd Annual Meeting of Japanese Association for Animal Science。2016年5月18日～2016年5月20日。Kawasaki, Japan

(25)松本悠貴、西野譲、後藤達彦、小出剛：Oral “マウスの従順性行動に関わる遺伝子

座とイヌの家畜化との関連” The 63rd Annual Meeting of Japanese Association for Animal Science 2016年5月18日~2016年5月20日 . Kawasaki, Japan

(26)吉見一人、今井悠二、田邊彰、真下知士、小出剛 : Oral “マウス・ラットにおける長鎖一本鎖オリゴを用いた効率的なノックイン”

The 63rd Annual Meeting of Japanese Association for Animal Science . 2016年5月18日~2016年5月20日 . Kawasaki, Japan

(27)小出剛 : Oral “野生由来マウスの活用術”

第25回 日本行動神経内分泌研究会2016年9月13日~2016年9月15日
Atami, Japan

(28)小出剛 : Symposium “動物とヒトの繋がりに関わる行動および遺伝のメカニズム” 2016年度 遺伝研 行動遺伝学研究会「個体の繋がりの分子進化研究」. 2016年10月13日~2016年10月14日 . Mishima, Japan

(29)小出剛 : マウスにおけるタイム行動の遺伝学的・行動学的および神経学的基盤の解明に向けて . 第27回日本行動神経内分泌研究会

2017年4月28日~30日 牛窓研修センター (岡山)

(30)松本悠貴、中岡博史、永山博通、小出剛 : RNA-seq を用いたマウスの従順性に関する遺伝的基盤の解明 第64回日本実験動物学会総会 郡山 2017年5月25-27日

(31)吉見一人、田邊彰、今井悠二、二瓶基子、小出剛 : 長鎖一本鎖 DNA を用いたリピーター配列改変マウスの作製 第64回日本実験動物学会総会 郡山 2017年5月25-27日

(33)Nagayama H, Matsumoto Y, Koide T.: Neurobehavioral study for relationship between sociability and tameness in domesticated mice. 第40回日本神経科学大会 幕張 2017年7月20-23日

(34)Tanave A, Koide T. : Behavioral analysis of fear in PACAP over-expression mice. 第40回日本神経科学大会 幕張 2017年7月20-23日

(35)田邊彰、小出剛 : PACAP 遺伝子改変マウスにおける情動行動および恐怖記憶学習の解析 第47回日本神経精神薬理学会 札幌 2017年9月28-30日

(36)小出剛、永山博通、後藤達彦、松本悠貴 : 野生由来マウス集団の選択交配による高度な従順化とその関連遺伝子座解析 第77回日本動物心理学会 東京 2017年8月30-9月1日

(37)永山博通、松本悠貴、小出剛 : マウスの能動的従順性 (人に対する接触行動) に関する行動特性および神経基盤の解析 第77回日本動物心理学会 東京 2017年8月30-9月1日

〔図書〕(計 3件)

(1)小出剛、ベレ出版、個性は遺伝子で決まるのか、2015年

(2)吉見一人、小出剛 「さまざまなマウス系統 遺伝的多様性と表現型への影響」 29~35 ページ . 羊土社「マウス表現型解析スタンダード」伊川正人、高橋智、若菜茂晴 編集 . 2016年

(3)Arakawa T, Tanave A, Takahashi A, Kakiyama S, Koide T, Tsuchiya T. Automated Estimation of Mouse Social Behaviors Based on a Hidden Markov Model. In: Hidden Markov Models. Methods in Molecular Biology, Volume 1552, pp 185-197, 2017
doi: 10.1007/978-1-4939-6753-7_14.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0件)

取得状況 (計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://mgrl-lab.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

小出 剛 (KOIDE, Tsuyoshi)

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・准教授

研究者番号 : 20221955

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

田邊彰 (TANAVE, Akira)

大学共同利用機関法人情報・システム

研究機構新領域融合研究センター・融合プロジェクト特任研究員

研究者番号 : 30749023

高橋 阿貴 (TAKAHASHI, Aki)

筑波大学・人間系・助教

研究者番号：30581764

堀井 康行 (HORII, Yasuyuki)

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・博士研究員

研究者番号：50601960

(4)研究協力者

なし