

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03270

研究課題名(和文)動物のヒトへのなつき行動における遺伝子・神経回路および行動学的基盤の解明

研究課題名(英文)Elucidation of genes, neural circuits, and behavioral basis in animal tameness behavior to humans

研究代表者

小出 剛 (Koide, Tsuyoshi)

国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・准教授

研究者番号：20221955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：家畜化に重要な行動要素である人へのなつき行動について、野生由来マウスをもとに選択交配を進め、対象群と比較してなつき行動の高い集団を作製した。この選択群と対象群マウスの脳から採取した海馬を用いて抽出したRNAをもとにRNA-seq解析を行った。その結果、発現の有意に異なる137個の遺伝子を同定した。その中には、神経細胞が活動する際に初期に発現をするc-Fos遺伝子を中心とする遺伝子ネットワークが発現変化していることが分かった。さらに、社会性との関連が示されているオキシトシン受容体遺伝子の発現も変化していた。これらの発現の違いが社会行動やなつき行動に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

家畜動物は、人の生活上、作業を補助する目的で、また安定で安全な食糧の供給のため、更には最近では精神的な伴侶として欠かせないものとなっている。我々は野生マウス由来の集団から動物家畜化に重要な指標の一つである能動的従順性について選択交配することで、遺伝的に人になつたマウス集団を新たにつくりだすことに成功した。本研究では、人になつたマウスを活用して、社会性と能動的従順性の基盤となる遺伝子発現、行動、更には神経ネットワークに迫ることを目的として研究を進めた。家畜化のメカニズムの解明は新たな家畜の開発や改良において欠かせないものであるが、本研究はこうした課題に迫る内容であると言える。

研究成果の概要(英文)：Regarding the tameness behavior to humans, which is an important behavioral index for domestication, selective breeding was conducted using wild-derived heterogeneous stock, and a group with higher tameness than the non-selective group (control group) was established. RNA-seq analysis was performed using RNA extracted from the hippocampus collected from the brains of mice in the selected group and control group. We identified 137 genes with significantly different expressions. It was found that the expression of the gene network centered on the c-Fos gene, which is expressed in the early stage when nerve cells are active, is changed. In addition, the expression of the oxytocin receptor gene, which has been shown to be associated with sociality, was also altered. It was suggested that these differences in expression may affect social behavior and tameness behavior in mice.

研究分野：実験動物学

キーワード：マウス 野生系統 ヘテロジニアスストック 家畜化 遺伝子発現 神経細胞

## 1. 研究開始当初の背景

動物の家畜化は、人類の生活において重要な役割を果たしてきたが、家畜化の遺伝的・神経科学的・行動学的な基盤については未だに不明の点が多い。特に、「家畜化により動物がヒトになつく際に、どのような行動がどのようなメカニズムにより変化するか？」という問題は行動遺伝学として重要な問いである。

動物の家畜化において重要な選択指標にされてきたのが人に対する従順性である。従順性にはヒトが触っても逃げない「受動的従順性」と自らヒトに近づく「能動的従順性」に分けられることが報告されている。研究代表者らは、マウスを用いてこれら二つのタイプの従順性を区別して解析するための行動テストを独自に開発し、野生系統と家畜化の進んだ実験用系統を用いて調べた。その結果、実験用系統は受動的従順性のみについて選択され、能動的従順性については選択を受けてこなかったことが示された。そこで、能動的従順性のメカニズム解明とその行動学的基盤の解明を目指した研究を計画した。

研究代表者らは、8種類の野生系統をランダムに交配して、集団内に膨大な遺伝的多様性を持つ野生由来ヘテロジニアスストックを作製し、その集団に対して従順性に関する選択交配を行うことで、自ら人の手に近づくマウス集団の作出に成功した。更に能動的従順性に関わる遺伝子座の解析を行った結果、少なくとも11番染色体上の二つの近接した遺伝子座が関与していることを示した。これらの遺伝子座は、イヌやラットにおいて従順性と関連した遺伝子座として報告されている領域に対応しており、動物種を超えて共通した遺伝的基盤が関与している可能性が示唆された。またこれらのマウスについて、能動的従順性の上昇とともに他のどのような行動が変化してきたのか解析したところ、社会性との関連が示唆された。

## 2. 研究の目的

本研究では、動物家畜化の重要な指標の一つである能動的従順性について、それに関わる遺伝子、行動学的要因およびその神経回路を明らかにすることを目的とする。今回研究に用いる「能動的従順性を示すマウス集団」の樹立は、研究代表者らが独自に開発したものである。これまでに、能動的従順性に関わる行動、遺伝子、神経メカニズムを解明する試みは世界的にも例がない。そこで、これらの高い能動的従順性を示すマウス集団を用いて、行動、遺伝子、神経メカニズムの解明を目指す。

## 3. 研究の方法

これまでの研究で、選択群(高い能動的従順性を示す集団)とコントロール群(能動的従順性に関する非選択集団)において、社会的親和性テストと居住者 侵入者テストにおいて攻撃行動に違いはないものの、匂いかぎやグルーミングなどの社会的接触は選択群で有意に高いことが分かった。そこで、さらに行動学的特性を調べるための行動実験を実施する。

能動的従順性がどのような神経回路を介して引き起こされるか明らかになれば、そのメカニズムの解明に向けて大きな進歩になる。そこで、能動的従順性テスト後に、神経活動マーカーがどの脳領域で発現誘導されるか調べる。

高い能動的従順性を示すマウスで遺伝子発現はどのように変化しているか明らかにする。高い能動的従順性を示すマウスの脳より抽出したRNAをもとに、RNA-seq法により発現遺伝子の網羅的解析を行う。この結果をもとにして、選択群と非選択群の間でどのような発現遺伝子の違いがあるか調べて、遺伝子ネットワークを比較する。この解析により、能動的従順性に関わる神経細胞における遺伝子発現の違いを明らかにして社会性との関連も検討する。更にすでに完了している遺伝解析の結果を含めて能動的従順性関連遺伝子の同定を進める。

遺伝学的及び分子遺伝学的解析により見出された家畜化に関わる候補遺伝子について、ゲノム編集技術を用いた遺伝子のノックアウトあるいは変異の導入を行う。得られた遺伝子変異マウスについて、能動的従順性について解析し、正常型との違いが生じるか明らかにする。

## 4. 研究成果

**行動学的特性:** 行動実験としては、active tameness test, passive tameness test, stay-on-hand test で得られる9つの行動学的指標について解析した。その結果、active tameness test で得られる接触時間(contacting)と接近行動(heading)、passive tameness test で得られる受容行動(accepting)と接近行動(heading)、stay-on-hand test で得られる滞在時間(staying)において選択交配による有意な上昇がみられた。これらの結果は、能動的従順性における選択交配がこれら複数の行動指標の変化をもたらしたことを示している。また、9つの行動指標について、2つの選択群と2つのコントロール群のデータを用いてクラスター解析を実施したところ、active tameness test で得られる contacting と heading は、コントロール群において有意なク

ラスターに分類されないものの、選択交配が進むと明確なクラスターとして分離された。この結果は、能動的従順性に関する選択交配がこれら二つの指標について選択のターゲットとしていることを明確に示している。

**神経回路**：active tameness test 後に、マウスの脳を還流固定し、その後取り出して凍結切片作成用のブロックを作製した。クライオスタットを用いて切片を作製し、神経活動マーカーである c-Fos の抗体により染色して脳内における発現細胞を同定した。その結果、従順性の選択交配を受けていないコントロール群では、active tameness test を行うことで c-Fos 発現細胞が脳の扁桃体などで有意に増加していることを示唆する結果が得られた。本研究期間では、実験手法の確立と予備的解析にとどまっている。そのため、更に研究を進める必要がある。

**遺伝子発現ネットワーク**：選択群とコントロール群の脳から採取した海馬を用いて抽出した RNA をもとに RNA-seq 解析を行った。その結果、選択群とコントロール群で有意に発現の異なる 137 個の遺伝子を同定した。特に、*Gm20498*, *Zfp738*, *Dusp18*, *Kcnt2*, *Pmvk*, *Slc8a3*, *Gm16165* の 7 つの遺伝子が 2 つの選択群と 2 つのコントロール群で共通して変化していることが分かった。これらの遺伝子が従順性の変化に関わる候補遺伝子として見出された。さらにネットワーク解析を行い、人への従順性行動に関連する可能性のある遺伝子ネットワークの同定にも成功した。特に、神経細胞の発生などに関わるネットワーク及び、行動や神経疾患に関わるネットワークに変化が生じていることが示された。今後、これらのネットワークにターゲットを絞ったメカニズムの解明が期待される。

**ゲノム編集による候補遺伝子の解析**：以前の遺伝学的解析により見出された従順性に関わる候補遺伝子、*Slc6a4* について、野生系統である MSM 由来の多型を導入したマウスを作製した。今回の解析では、多型の導入による能動的従順性の有意な変化は見られなかった。可能性としては、能動的従順性は遺伝子ネットワークにより制御を受けているため、単独の遺伝子の改変では影響が限定されているのではないかと考えた。今後は機能解析のための新たなアプローチを検討する必要がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Matsumoto Yuki, Nagayama Hiromichi, Nakaoka Hirofumi, Toyoda Atsushi, Goto Tatsuhiko, Koide Tsuyoshi	4. 巻 20
2. 論文標題 Combined change of behavioral traits for domestication and gene networks in mice selectively bred for active tameness	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes, Brain and Behavior	6. 最初と最後の頁 e12721
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gbb.12721	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 -

1. 著者名 Miki Yuka, Devi Lalitha, Imai Yuji, Minami Naojiro, Koide Tsuyoshi, Goel Sandeep	4. 巻 32
2. 論文標題 Deletion of the PDZ-binding kinase (Pbk) gene does not affect male fertility in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reproduction, Fertility and Development	6. 最初と最後の頁 893 ~ 893
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1071/RD19445	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

1. 著者名 Tanave Akira, Koide Tsuyoshi	4. 巻 3
2. 論文標題 A role for the rare endogenous retrovirus 4 in development of Japanese fancy mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-0781-z	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Tanave Akira, Koide Tsuyoshi	4. 巻 3
2. 論文標題 A role for the rare endogenous retrovirus 4 in development of Japanese fancy mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-0781-z	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 -

1. 著者名 Tanave Akira, Imai Yuji, Koide Tsuyoshi	4. 巻 2
2. 論文標題 Nested retrotransposition in the East Asian mouse genome causes the classical nonagouti mutation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0539-7	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 -

1. 著者名 NAGAYAMA HIROMICHI, KOIDE TSUYOSHI	4. 巻 69
2. 論文標題 The relationships between tameness and social cognitive skills of domesticated animals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Animal Psychology	6. 最初と最後の頁 127 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2502/janip.69.1.13	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Tsuyoshi Koide, Yuji Imai, Bhim Bahadur Biswa
2. 発表標題 Selective breeding for tameness in mice did not affect morphological features or USV
3. 学会等名 日本動物心理学会 第80回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笠井慎也, 池田和隆, 高田豊行, 城石俊彦, 小出剛
2. 発表標題 野生由来近交系マウス系統におけるアルコール低嗜好性の脳内遺伝子メカニズム
3. 学会等名 第50回 日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Lalithadevi Mallarapu, Akira Tanave, Yuji Imai, Tsuyoshi Koide
2. 発表標題 Effect of ER polymorphisms in maternal behavior of mouse
3. 学会等名 第43回 日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tsuyoshi Koide, Hiromichi Nagayama, Yuki Matsumoto, Tatsuhiko Goto, Yuji Imai
2. 発表標題 テーマネス行動の行動学的、神経科学的、遺伝学的解析
3. 学会等名 第43回 日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naoko Ueda, Ayako Ishii, Yuji Imai, Kazuto Yoshimi, Tsuyoshi Koide
2. 発表標題 The behavioral and morphological analyses of small G protein ARL8B mutant in mouse
3. 学会等名 第43回 日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koide T.
2. 発表標題 Behavioral, neurological and genetic basis of tameness in mice
3. 学会等名 33rd International Mammalian Genome Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koide T.
2. 発表標題 i-GONAD法を用いた野生マウス系統の遺伝子改変の試み
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>マウス開発研究室ホームページ  <a href="http://mgrl-lab.jp/index.html">http://mgrl-lab.jp/index.html</a></p>
--

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	高橋 阿貴  (Aki Takahashi)  (30581764)	筑波大学・人間系・准教授    (12102)	
研究分担者	高浪 景子  (Keiko Takanami)  (70578830)	国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・助教    (63801)	

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