

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 22 日現在

機関番号：36301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461567

研究課題名(和文) 社会性行動に性差が認められる自閉症様モデルマウスの解析

研究課題名(英文) Analysis of a mouse model showing autism-related behavioral abnormalities

研究代表者

中島 光業 (Nakajima, Mitsunari)

松山大学・薬学部・准教授

研究者番号：70311404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに私たちは、神経堤由来組織特異的なコンディショナルノックアウトマウスの作製で汎用されているデリターマウス(dTgマウス)の雄が自閉症様の異常行動を示すこと、また、同マウスの雌が統合失調症様の異常行動を示すことを明らかにした。本研究では、このマウスの行動学的雌雄差を規定する要因を明らかにして、ヒトの自閉症で見られる発症率の性差(雄：雌=4：1)に影響を及ぼす要因を明らかにし、もって自閉症病態の本体の解明を本研究の目的とした。今回の研究では、脳内オキシトシン含量の低下が雌dTgマウスで起こり、これが原因となって雌のdTgマウスでは自閉症様の症状が統合失調症様に变化する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Wnt1-cre and Wnt1-GAL4 double transgenic (dTg) mice are used to study neural crest cell lineages, and are achieved utilizing either the Cre/loxP or GAL4/UAS system. In the present study, we demonstrated behavioral abnormalities in dTg mice that are associated with psychiatric disorders, such as increased locomotor activity, decreased social behavior, and an increased frequency in vertical jumping. Of these, the proclivity for vertical jumping was observed only in male dTg mice. In contrast, MK-801 administration induced hyperlocomotion in only the female dTg mice, which was subsequently rescued by treatment with clozapine. Furthermore, the concentrations of prolactin in the sera, and oxytocin in the hypothalamus, were both reduced only in female dTg mice, compared to controls. These results suggest that the phenotype of psychiatric disorders may be influenced by gender-gene interactions.

研究分野：医歯薬学

キーワード：自閉症

1. 研究開始当初の背景

これまでに私たちは、神経堤由来組織特異的なコンディショナルノックアウトマウスの作製で汎用されているデリターマウス (dTg マウス) の雄が自閉症様の異常行動を示すこと、また、同マウスの雌が統合失調症様の異常行動を示すことを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、この dTg マウスの行動学的雌雄差を規定する要因を明らかにすることを通して、ヒトの自閉症で見られる発症率の性差 (雄 : 雌 = 4 : 1) に影響を及ぼす要因を明らかにし、もって自閉症病態の本体の解明、並びに、その治療薬開発に貢献することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

dTg マウス (Rowitch et al., 1999) は、ジャクソンラボより購入 (Jax #003829) した。行動学的解析は、定法に従って行った。聴性脳幹反応 (ABR) 試験では、ABR Workstation (TDT System III) を用いた。ホルモン濃度の測定には市販の ELISA キットを使用した。

4. 研究成果

本研究は、dTg マウスの精神疾患様異常行動に性差が見られる原因を明らかにしようとする研究なので、まず当該マウスの表現型を詳細に評価する必要がある。表に dTg マウスの表現型の結果をまとめて示した。脳の外観では明らかな下丘の肥大が雌雄両マウスで認められたが、下丘が関連する機能である聴覚に関しては雌においてのみ異状が見いだされ、雌特異的な聴覚過敏症状が明らかとなった。その他にも、MK-801 誘発運動量増加や認知能低下など、全体的には雌の dTg マウスに異常行動が多く認められた。

dTg マウスの表現型に性差が見られたこ

とから、性ホルモンが表現型の異常に関与する可能性について検討を始めた。dTg 雌マウスの妊娠・出産については明らかな異

Phenotypes	male	female	comments	references
Nest building	→	→	observed in psychiatric disorder models	Nakajima et al., 2013
Locomotor activity	←	←	positive symptom in schizophrenia	Nakajima et al., 2013; This report
reciprocal social interaction	→	→	deficits in social communication in ASD	Nakajima et al., 2013
social approach	←	←	deficits in social communication in ASD, negative symptom in schizophrenia	This report
Vertical jumping	←	←	restricted patterns of behavior in ASD	This report
Morris water maze	←	←	cognitive symptom in schizophrenia	Nakajima et al., 2013
Hypersensitivity to sound	↑	↑	observed in schizophrenia and ASD patients	Nakajima et al., 2014
MK-801 response	↑	↑	observed in schizophrenia models	This report
Clozapin response	↑	↑	rescue by atypical antipsychotic in schizophrenia	This report
Nurturing behavior	n.d.	→		This report
Prolactin in the sera	↑	→		This report
Oxytocin in the hypothalamus	↑	→	Observed in some schizophrenia models	This report
Oxytocin in the sera	↑	↑		This report

↑ : up regulation; ↓ : down regulation; → : no change; nd: not determined

表 . dTg マウスの雌雄間で異なる表現型

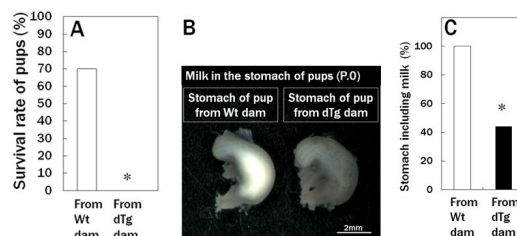


図 1 . dTg 雌マウスの哺育行動の低下

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。出生直後の仔マウスの胃を観察したところ、胃にミルクが見られないマウスが半数以上であった(図1)。ミルクの産生にプロラクチンが関与することから、血清中のプロラクチン濃度を測定した。dTg 雌マウスで有意にプロラクチンの低下傾向が認められた(図2 C, D)。また、Varon が唱える自閉症の極端男性脳理論(The extreme male brain theory of autism)を考慮して、血清中テストステロン濃度を測定したが、dTg マウスでは野生型マウスと同程度の値を示した(図2 A, B)。プロラクチン分泌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(図3 C, D)。オキシトシンと構造が類似するバソプレシン含量についても、dTg 雌マウスで低下傾向が見られたが有意差は認められなかった(図3 A, B)。

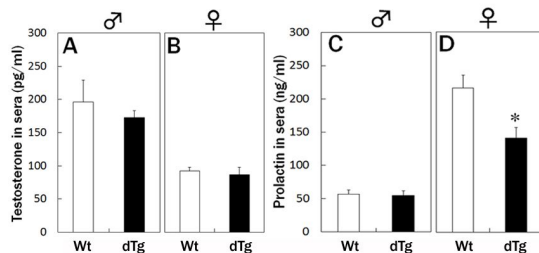


図2．血清中テストステロン・プロラクチンの濃度

脳内オキシトシン含量が低下した理由を明らかにするために、まず、視床下部のオキシトシン産生細胞の存在様式を免疫組織化学で解析した。その結果、雌のdTg マウスと野生型マウスの間に全く違いが認められなかった(data not shown)。そこで次に、末梢血液中のオキシトシン濃度の比較を行った。その結果、雌の血液中のオキシ

トシン濃度は dTg マウスで有意に高まっていることが明らかになった(図4)。

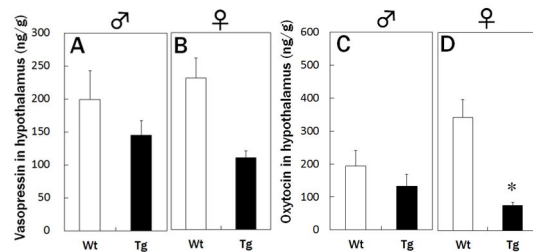


図3．視床下部内バソプレシン・オキシトシンの濃度

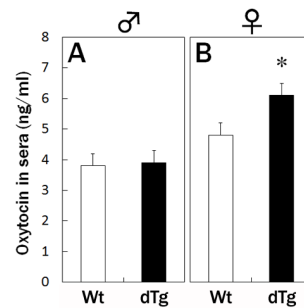


図4．血清中オキシトシンの濃度

これらの結果より、dTg マウスの雌で見られる脳内オキシトシン含量の低下は、オキシトシン産生細胞のオキシトシン産生能の低下に起因するのではなく、オキシトシン産生細胞の樹状突起から脳実質への分泌が低下したことに起因すると考えることができる。また、dTg 雌マウスでは、脳実質へのオキシトシン分泌低下の影響をうけて、下垂体後葉からのオキシトシン分泌が増加し、末梢血液中オキシトシン濃度が上昇したと推測することができる。

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 2件)

中島光業、奥山聡、古川美子 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 愛媛県
病薬会誌 査読なし 117巻2015年
17-19.

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*. 査
読有 566 巻 2014、236-240. doi:
10.1016/j.neulet.2014.02.061.

〔学会発表〕(計 3件)

中島光業、渡部貴司、青木ルイ、清水理
誠、奥山聡、古川美子 精神疾患様異常行
動と聴覚過敏を伴う Wnt1-cre,
Wnt1-GAL4 ダブルトランスジェニックマ
ウスにおける脳内オキシトシン含量の低下
日本神経科学会 2015年7月28-31日 神
戸市

中島光業、西川知沙、宮坂勇輝、吉川欣
亮、森久倫、鶴田桃子、奥山聡、古川美子
Wnt1-cre, Wnt1-GAL4 ダブルトランスジ
ェニックマウスで認められる精神疾患様行
動異常と聴覚過敏 日本神経科学会
2014年9月11-13日 横浜市

中島光業、西川知沙、宮坂勇輝、吉川欣
亮、森久倫、鶴田桃子、奥山聡、古川美子
精神疾患モデルマウスで認められる下丘肥
大と聴覚過敏 日本薬学会 2014年3月
27-30日 熊本市

〔その他〕

ホームページ等：
<http://yakugaku.matsuyama-u.ac.jp/laboratory/labopharmacology.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 光業 (NAKAJIMA MITSUNARI)
松山大学・薬学部・准教授
研究者番号：70311404

(2) 研究分担者

古川 美子 (FURUKAWA YOSHIKO)

松山大学・薬学部・教授
研究者番号：20219108

奥山 聡 (OKUYAMA SATOSHI)
松山大学・薬学部・助教
研究者番号：40550380