

令和 4 年 5 月 1 日現在

機関番号：14501  
研究種目：挑戦的研究（萌芽）  
研究期間：2019～2021  
課題番号：19K22809  
研究課題名（和文）いわゆる「運動神経の良さ」を明らかにする

研究課題名（英文）What is "good motor skills"?

研究代表者

森山 英樹（MORIYAMA, Hideki）

神戸大学・保健学研究科・教授

研究者番号：10438111

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、いわゆる「運動神経の良さ」の遺伝要因と環境要因の関与を明らかにすることを目的とした。協調能力の優れるあるいは劣るマウス同士を交配させる選抜交配実験により、「運動神経の良さ」が遺伝することを実証した。網羅的解析により、協調能力を司る遺伝子の同定を試みた結果、小脳と大脳皮質に責任遺伝子の候補遺伝子を見出した。遺伝子導入実験により責任遺伝子の機能解析を行い、小脳における責任遺伝子が協調能力に関与することが明らかになった。また、エンリッチ環境での飼育実験結果から、協調能力の向上と「運動神経の良さ」の責任遺伝子の発現に環境要因も関与することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

いわゆる「運動神経の良さ」は、運動経験など環境により培われる能力とされてきた。本研究により、これまで後天的に備わると考えられてきた「運動神経の良さ」に遺伝要因が関与していることが初めて明らかになった。さらに本研究結果は、一般に広く使われている「運動神経の良さ」という事象を科学的に解明しようとする新しい学問領域の潮流を拓くものであり、スポーツ分野や医療分野への波及効果も期待できる。

研究成果の概要（英文）：The goal of this study was to identify genetic and environmental factors underlying "good motor skills". Our results from selective breeding for motor coordination demonstrate the heritability of "motor skills". Comprehensive genomic and gene functional analyses identified candidate genes responsible for "good motor skills" in the cerebellum and cerebral cortex. Additionally, environmental enrichment induced better motor coordination and increased responsive gene expression, indicating that environmental factors contribute to "good motor skills".

研究分野：スポーツ科学、体育、健康科学およびその関連分野

キーワード：運動神経の良さ 協調性 遺伝要因 環境要因

## 1. 研究開始当初の背景

運動をうまく行うためには、筋力や持久力などの身体能力と、体を思うように動かす(協調)能力がバランスよく備わっていることが求められる。前者は生まれ持った素質である遺伝の影響を大きく受け、多くの責任遺伝子が見出されている。一方で、一般に「運動神経の良さ」とよばれる後者は、運動経験により培われる能力とされ、遺伝の影響は顧みられてこなかった。ところが、協調能力は二卵性双生児よりも、遺伝学的に同一である一卵性双生児の共通性が高いという事実がある。また運動神経が良いことと対極の不器用さのある発達性協調運動障害では、先天的に脳に何らかの異常があると考えられている。これらのことから、これまで信じられてきたことに反して、「運動神経の良さ」にも遺伝が影響している可能性があるという着想を得た。

## 2. 研究の目的

本研究では、協調能力を司る遺伝子を同定するとともに、運動経験を積むことの協調能力への影響を調べることで、いわゆる「運動神経の良さ」の遺伝的要因と環境要因の関与を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 遺伝的要因

協調能力に優れる/劣るマウス系統の樹立

「運動神経の良さ」の責任遺伝子を同定するために、選抜交配実験を行った。近交系マウスよりも遺伝的に多様な B6D2F2 ハイブリッドマウスを選抜交配の創始集団とした(第0世代:G0)。約150匹の B6D2F2 マウスの協調能力をロータロッドテストにより評価した。ロータロッドテストの結果から、協調能力に優れるあるいは劣るマウスを雄雌各13匹選抜し、それぞれ無作為に交配した。G0 マウスの仔が8週齢になった時点で、ロータロッド試験により協調能力を評価し選抜したうえで、協調能力に優れるあるいは劣るもの同士で交配させた。同様の選抜交配を第4世代(G4)まで実施し、協調能力に優れる(high motor coordination: HMC)あるいは劣る(low motor coordination: LMC)マウス系統を樹立した。

網羅的解析による「運動神経の良さ」の責任遺伝子の同定

協調能力の責任遺伝子を同定するために、RNA-seq と QTL (quantitative trait loci) 解析を行った。選抜交配実験の G4 マウスを対象に、協調能力に優れるあるいは劣るマウスの小脳と大脳皮質の遺伝子発現を RNA-seq により網羅的に解析した。発現変動遺伝子とエンリッチメント解析により、HMC と LMC 系統間の遺伝子発現の相違を比較した。次に、HMC および LMC 系統の G4 マウス各40匹の尾から DNA を抽出し、108 個の SNP (single nucleotide polymorphism) マーカーを用いて、遺伝子マッピングを行った。遺伝子マッピングの結果を用いて QTL 解析を行い、協調能力に関与する遺伝子座の同定を試みた。最後に、RNA-seq 解析より得られた発現変動遺伝子を QTL 領域にマッピングし、協調能力の責任遺伝子の候補遺伝子を同定した。

責任遺伝子の発現とタンパク質局在

RNA-seq と QTL 解析により同定した責任遺伝子の小脳および大脳皮質での発現を qPCR により確認した。さらに、責任遺伝子がコードするタンパク質の脳内での局在を免疫組織化学染色により評価した。

遺伝子導入実験による責任遺伝子の機能解析

同定した候補遺伝子が協調能力の責任遺伝子であるか確認するために、遺伝子導入実験を行った。マウスの小脳または大脳皮質において、アデノ随伴ウイルス (Adeno-associated virus: AAV) を用いて、責任遺伝子をノックダウンまたは過剰発現させた。AAV 注射4週後に、ロータロッドとバランスビームにより協調能力を評価した。

### (2) 環境要因

運動経験が「運動神経の良さ」に与える影響を明らかにするために、エンリッチ環境 (environmental enrichment: EE) での飼育実験を行った。4週齢の B6D2F1 マウスを通常ケージで飼育する通常飼育 (control) 群と、通常ケージの4倍広いケージ内にホイールやトンネルなどの玩具を配置した環境で飼育するエンリッチ環境 (EE) 群に分け、12週齢まで飼育した。飼育開始から2週間ごとにロータロッドとバランスビームにより、協調能力を評価した。飼育期間終了後、大脳と小脳を採取し、「運動神経の良さ」の責任遺伝子の発現を qPCR 解析により評価した。

## 4. 研究成果

### (1) 遺伝的要因

### 協調能力に優れる / 劣るマウス系統の樹立

G0 の B6D2F2 マウス約 150 匹の協調能力をロータロッドテストにより評価した結果、マウス個体間で協調能力にばらつきがあった (図 1A)。協調能力に優れるマウス 13 匹と劣るマウス 13 匹それぞれを交配した。そして、それらの仔をロータロッドテストにより評価した結果、G1 マウスにおいて、協調能力に系統間で明らかな差が生じていた (図 1B)。そこで、同様の選抜交配実験を G4 まで継続した結果、G4 では HMC 系統は LMC 系統よりも約 2 倍、協調能力が高く、協調能力に優れるあるいは劣るマウスの系統を樹立することに成功した (図 1C)。また、HMC 系統と LMC 系統の協調能力の遺伝率をそれぞれ算出した結果、HMC 系統では 40%、LMC 系統では 20% であり、中程度の遺伝率を示した。さらに、HMC 系統と LMC 系統間の遺伝的距離を算出した結果、両系統間が遺伝的に有意に異なることが示された (図 1D)。以上の結果から、選抜交配実験により、協調能力に優れるあるいは劣るマウス系統の樹立に成功し、これまで環境により培われる能力とされてきた協調能力が遺伝することを初めて実験的に明らかにした。

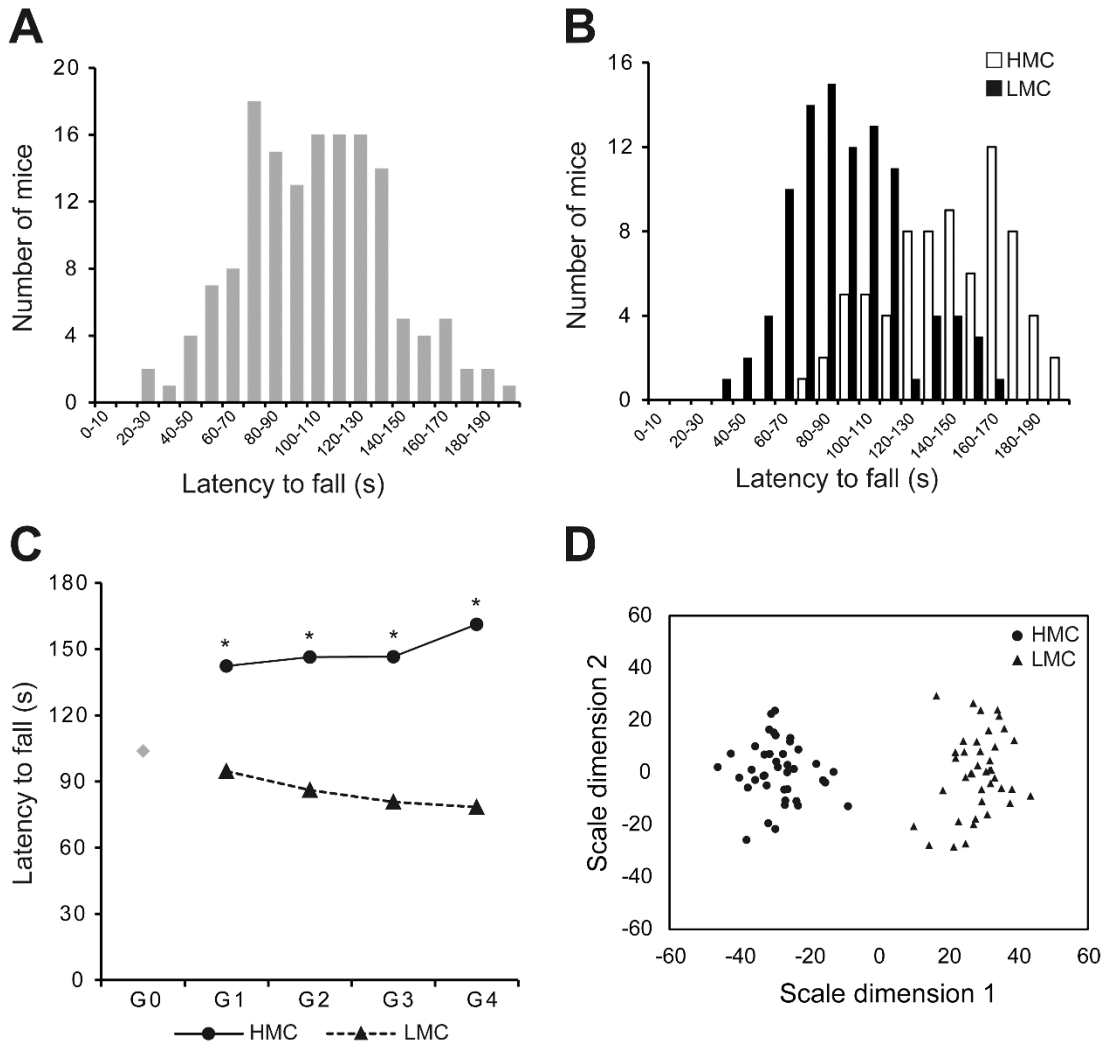


図 1 選抜交配実験の結果

(A) G0 マウスのロータロッドテストの結果を示すヒストグラム。(B) G1 マウスの HMC および LMC 系統におけるロータロッドテストの結果を示すヒストグラム。(C) G0 から G4 のロータロッドテストの結果。\*  $P < 0.05$  vs. LMC 系統。(D) HMC および LMC 系統間の遺伝的距離を示す MDS (multi-dimensional scaling) プロット。

### 網羅的解析による「運動神経の良さ」の責任遺伝子の同定

第 4 世代の HMC 系統と LMC 系統の小脳および大脳皮質における遺伝子発現を RNA-seq 解析により比較した。その結果、小脳では、HMC 系統と LMC 系統間で 80 個の遺伝子発現が変化していた (HMC > LMC : 39 個、HMC < LMC : 41 個、調整  $P$  値  $< 0.05$ ) (図 2A)。大脳皮質では、両系統間で 61 個の遺伝子発現が変化していた (HMC > LMC : 24 個、HMC < LMC : 37 個、調整  $P$  値  $< 0.05$ ) (図 2B)。発現変動遺伝子を対象に、エンリッチメント解析を行った結果、小脳ではシナプス形成および長期抑圧、小脳および大脳皮質ともにリボソーム関連経路の遺伝子が多く変化したことが示された。次に、HMC 系統と LMC 系統の遺伝子マッピングの結果から QTL 解析を行った。その結果、5 つの染色体上に有意な QTL が検出され、これらの染色体上にある遺伝子が協調能力に関与

することが示唆された。最後に、RNA-seq 解析により得られた発現変動遺伝子を 5 つの QTL 上にマッピングした。その結果、小脳では 7 個、大脳では 6 個の発現変動遺伝子が、QTL 信頼区間内に位置していることが明らかになった。それらのうち、先行研究による遺伝子機能を考慮し、小脳では遺伝子 A を、大脳皮質では遺伝子 B を「運動神経の良さ」の責任遺伝子の候補とした。

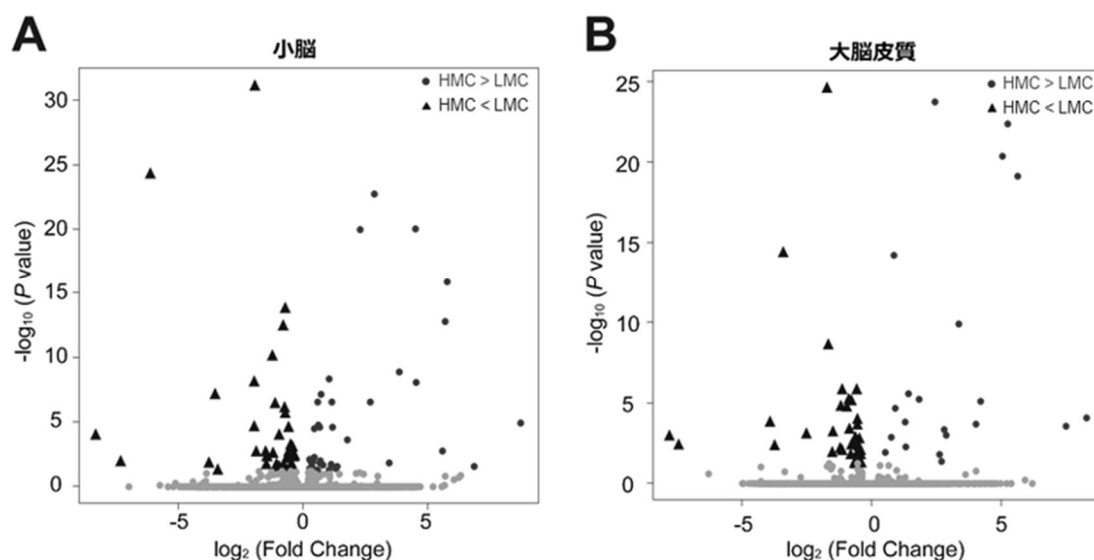


図 2 発現変動遺伝子を示すボルケーノプロット

#### 責任遺伝子の発現とタンパク質局在

遺伝子 A と遺伝子 B の発現に系統間で差があるか qPCR 解析により評価した。その結果、遺伝子 A は HMC 系統において、対照群である B6D2F1 系統および LMC 系統よりも、小脳と大脳皮質での発現が高かった (図 3A)。遺伝子 B は、大脳皮質では、B6D2F1 系統および LMC 系統よりも、HMC 系統において発現が高かったが、小脳では HMC 系統と LMC 系統間の差のみ検出された (図 3B)。最後に、2 つの責任遺伝子がコードするタンパク質の脳内での局在を免疫組織化学染色により確認した。その結果、タンパク質 A は、qPCR の結果と一致して、小脳において染色濃度が増加していた。またタンパク質 B も同様に、大脳皮質において、染色濃度が増加していた。

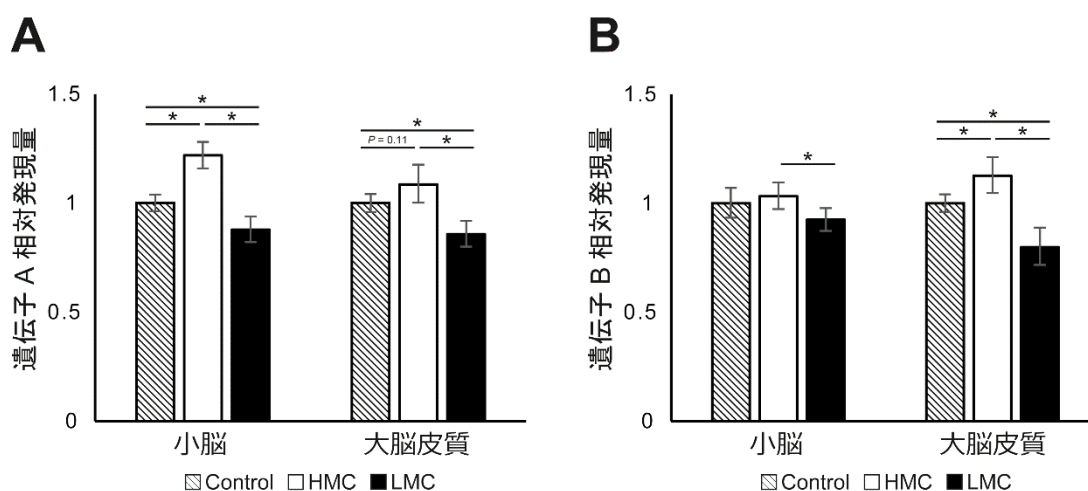


図 3 HMC、LMC 系統の小脳および大脳皮質における遺伝子 A と遺伝子 B の発現量

#### 遺伝子導入実験による責任遺伝子の機能解析

shRNA 発現 AAV を用いて、小脳と大脳皮質において、遺伝子 A と遺伝子 B をノックダウンした。その結果、小脳での遺伝子 A 発現は 4 割程度減少したのに対し、大脳皮質における遺伝子 B のノックダウンの成功率が低かったため、遺伝子 A の機能解析を優先的に行った。小脳における遺伝子 A のノックダウンは、ロータロッドとバランスビームの成績を著しく悪化させた。以上の結果から、小脳における遺伝子 A が協調能力に関与することを実証した。

## (2)環境要因

運動・感覚・認知的かつ社会的な刺激が豊富な生育環境であるエンリッチ環境でマウスを飼育した結果、飼育開始4~8週時点において、協調能力が向上した(図4A、B)。8週間の飼育期間終了後、エンリッチ環境群の小脳と大脳重量は、わずかに増加していた。さらに、小脳重量はバランスビームの成績と相関しており、環境要因による協調能力の向上には小脳の神経解剖学的変化が関与している可能性が示された。また、遺伝要因の実験で同定された2つの責任遺伝子の発現が、エンリッチ環境での飼育により変化するか検証した。その結果、遺伝子Bの発現量には変化がなかったが、小脳における遺伝子Aの発現が増加しており(図4C、D) 遺伝子Aは環境要因の影響も受けることが明らかになった。

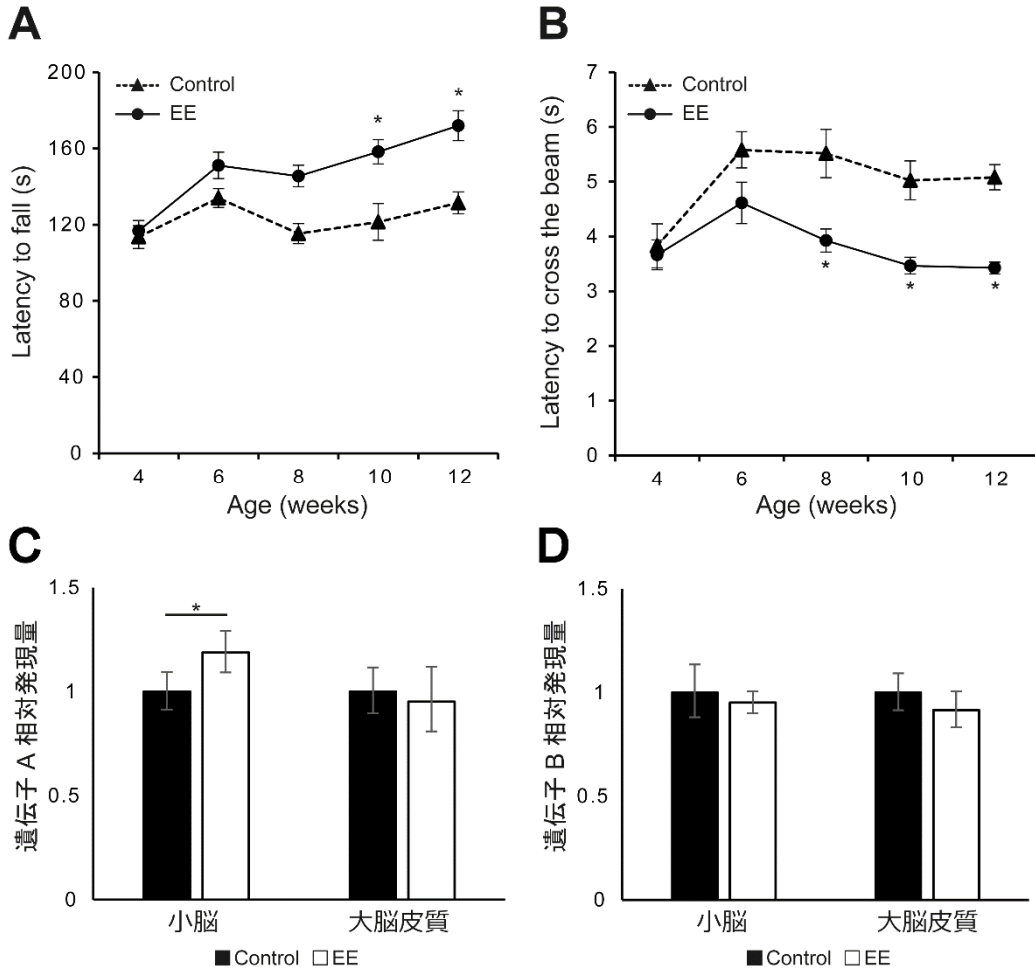


図4 エンリッチ環境実験の結果

(A) ロータロッドテストおよび(B) バランスビームの成績。\*  $P < 0.05$  vs. Control。小脳と大脳皮質における(C) 遺伝子Aと(D) 遺伝子Bの発現量。

本研究により得られた知見から、いわゆる「運動神経の良さ」に、従来いわれてきた環境要因に加えて、遺伝要因も関与することが明らかになった。また、「運動神経の良さ」の責任遺伝子を同定することにも初めて成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 森山英樹, 井上翔太	4. 巻 38
2. 論文標題 「運動神経」とは何か	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Inoue S, Wakimoto Y, Li C, Hatakeyama J, Takamura D, Wakigawa T, Tsubaki T, Kinoshita S, Tajika R, Kimura Y, Akisue T, Moriyama H
2. 発表標題 Environmental enrichment improves motor coordination and increases brain weight in healthy young mice
3. 学会等名 Virtual ISPRM 2021 Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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	前島 洋 (MAEJIMA Hiroshi) (60314746)	北海道大学・保健科学研究院・教授  (10101)	
研究分担者	亀岡 正典 (KAMEOKA Masanori) (60281838)	神戸大学・保健学研究科・教授  (14501)	

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