

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22300146

研究課題名（和文） 遺伝子転写量の系統差からみた行動個人差モデルの遺伝的基盤

研究課題名（英文） Genetic basis of difference in gene expression in the mouse model for behavioral diversity

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

研究成果の概要（和文）：染色体の6番・15番・17番について、それぞれ活動性、社会行動、それに不安様行動に関わる遺伝子をほぼ一つあるいは少数の候補にまで絞り込むことに成功した。これらのいずれにおいても発現量の詳細な解析を行い、その発現量と行動形質との関連を調べた。特に、17番染色体の不安様行動関連遺伝子においては、この発現量調節にかかわる反復配列の同定に成功し、培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイによりその働きを明らかにした。また、この発現量の違いがタンパク質量の違いにも結び付いており、遺伝子発現とその機能との関連を詳細に明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We successfully mapped locus for each of chromosome 6, 15, and 17, for home-cage activity, social behavior, and anxiety-like behavior, respectively. In each of the locus, we found a strong candidate gene, and analyzed gene expression level. In the case of the candidate gene for anxiety-like behavior on chromosome 17, we found that repeat sequence associate with regulation of the expression by conducting luciferase assay using cultured cells. Furthermore, we confirmed that the difference of gene expression of the candidate gene resulted in different level of the protein product in the mice, thus possibly associate with the difference in anxiety-like behavior.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,100,000	1,830,000	7,930,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	13,400,000	4,020,000	17,420,000

研究分野：実験動物学

科研費の分科・細目：実験動物学

キーワード：野生由来マウス・行動・コンソミック系統・遺伝子発現量・多様性

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、行動形質を順遺伝学的に解析する試みを進めてきた。特に、実験用系統であ

る C57BL/6(B6)と日本産野生マウス由来系統である MSM/Ms (MSM)を用いて解析することで、両系統間には、活動性、不安様行動、

痛覚感受性、社会行動、攻撃行動などについて顕著な系統差があることを示した。このような行動に関わる遺伝的要因を体系的に探索する目的で、コンソミック系統を用いて行動表現型に関わる遺伝的要因を染色体レベルでマッピングした。その結果、自発活動性、攻撃行動、それに不安様行動と痛覚感受性に関与する遺伝因子を有する染色体として、それぞれ6番、15番、17番染色体の同定に成功した。更に、染色体レベルから遺伝子座レベルへ領域を絞り込む目的で、一連のサブコンソミック系統（染色体の部分的領域のみをもつ）を作成し、それらについて行動表現型を解析した。このような解析から、6番染色体上の活動量に関わる複数の遺伝子座、15番染色体上の攻撃行動に関わる複数の遺伝子座、17番染色体上の不安様行動（図2）と痛覚感受性に関わる遺伝子座を詳細にマッピングすることに成功した。さらに、高精度の組換え体を用いたサブコンソミックマウスの解析とその領域に存在する遺伝子の発現解析を行うことで、遺伝子発現量の差と行動形質との関連が明らかになりつつあった。

2. 研究の目的

これまでの研究から、顕著な行動の違いを示す6番、15番、17番染色体コンソミック系統由来の詳細なサブコンソミック系統を用いて、その原因遺伝子座のマッピングを進めてきた。これまでに、その一部の領域については、原因遺伝子を同定できるほどに領域を狭めているが、それ以外にも行動に関わる遺伝子座は同じ染色体上にも多数見つかっており、今後更に詳細なサブコンソミック系統を作成して行く必要がある。そこで、この3本の染色体について、詳細なサブコンソミックを用いた行動解析により行動関連遺伝子座の高精度なマップを作成する。このようにして絞り込んだ染色体上の複数の遺伝子座について、そこに存在する遺伝子の脳における発現量を解析し、系統間での発現量比較マップを作成する。次に、既に分かっている遺伝子については、その発現量の系統差をもたらす原因を明らかにする。また、このような発現量の系統差が実際に行動の系統差の原因になっているか否か明らかにする。

3. 研究の方法

以下のような4つの内容で研究を進めた。

①詳細な行動関連QTLマップの作成：染色体の6番・15番・17番に焦点を絞り、多数の高精度のサブコンソミック系統を作出し、その行動を解析することでマッピングする。
②発現比較プロファイルマップの作成：B6とMSM系統の脳の各部位よりRNAを抽出し、各ゲノム領域に存在する遺伝子の発現比較を行う。また、ゲノムワイドな発現の系統間比

較解析も同時に行う。

③発現調節機構の系統差：遺伝子発現に系統差を示す遺伝子の発現調節に関わる領域を、ゲノム多型解析とin vitroアッセイ法を組み合わせることで行う。

④発現操作による行動改変：以上の情報をもとに、遺伝子導入などの手法を用いて遺伝子発現を操作することで行動改変を目指す。

4. 研究成果

詳細な遺伝学的解析を進めた結果、染色体の6番・15番・17番のいずれにおいても、それぞれ活動性、社会行動、それに不安様行動に関わる遺伝子をほぼ一つあるいは少数の候補にまで絞り込むことに成功した。これらのいずれにおいても発現量の詳細な解析を行い、その発現量と行動形質との関連を調べた。

特に、17番染色体の不安様行動関連遺伝子においては、この発現量調節にかかわる反復配列の同定に成功し、培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイによりその働きを明らかにした。また、この発現量の違いがタンパク質量の違いにも結び付いており、遺伝子発現とその機能との関連を詳細に明らかにした。現在、トランスジェニック作製に成功し、その表現型解析の準備を進めているところであり、その結果が得られ次第論文としてまとめる予定である。

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10件）

1) Takahashi, A., Schilit, A.N., Kim, J., Debold, J.F., Koide, T., Miczek, K.A. Behavioral characterization of escalated aggression induced by GABA(B) receptor activation in the dorsal raphe nucleus. *Psychopharmacology*, 224: 155-166, 2012. DOI: 10.1007/s00213-012-2654-8. (査読有)

2) Koide T., Goto, T., Takano-Shimizu, T. Genomic mixing to elucidate the genetic system of complex traits. *Experimental Animals* 61: 503-509, 2012. DOI: 10.1538/expanim.61.503 (査読有)

3) Koide T., Ikeda K., Ogasawara M., Shiroishi T., Moriwaki K., and Takahashi A. A new twist on behavioral genetics by incorporating wild-derived mouse strains. *Experimental Animals* 60: 347-354, 2011. DOI: org/10.1538/expanim.60.347. (査読有)

4) Ishii A., Koide T., Takahashi A., Shiroishi T., Hettlinger T.P., Frank M.E.,

Savoy L. D., Formaker B. K., Yertutanol S., Lionikas A. and Blizard D. A. B6-MSM consomic mouse strains reveal multiple loci for genetic variation in sucrose octaacetate aversion. *Behavior Genetics* 41: 716-723, 2011. DOI: 10.1007/s10519-011-9464-3. (査読有)

5) Sugimoto H., Okabe S., Kato M., Koshida N., Shiroishi T., Mogi K., Kikusui T., Koide T. A role for strain differences in waveforms of ultrasonic vocalizations during male-female interaction. *PLoS ONE* 6: e22093, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0022093. (査読有)

6) Kubota T, Miyake K, Hirasawa T, Nagai K, Koide T. Novel etiological and therapeutic strategies for neurodiseases: Epigenetic understanding of gene-environment interactions. *J Pharmacol Sci* 113: 3-8, 2010. DOI: 10.1254/jphs.09R20FM. (査読有)

7) Takahashi A, Tomihara K, Shiroishi T, Koide T. Genetic mapping of social interaction behavior in B6/MSM consomic mouse strains. *Behavior Genetics* 40: 366-376, 2010. DOI: 10.1007/s10519-009-9312-x. (査読有)

8) Dowse H., Umemori J., Koide T. Ultradian Components in the Locomotor Activity Rhythms of the Genetically Normal Mouse, *Mus musculus*. *J Exp. Biol.* 213:1788-1795, 2010. DOI: 10.1242/jeb.038877. (査読有)

9) Tanaka N., Waki K., Kaneda H., Suzuki T., Yamada I., Furuse T, Kobayashi K., Motegi H., Toki H., Inoue M., Minowa O., Noda N., Takao K., Miyakawa T., Takahashi A., Koide T., Wakana S., Masuya H. SDOP-DB: A comparative standardised-protocol database for mouse phenotypic analyses. *Bioinformatics* 26(8):1133-1134, 2010. (査読有)

10) Nishi A., Ishii A., Takahashi A., Shiroishi T., Koide T. QTL analysis of measures of mouse home-cage activity using B6/MSM consomic strains. *Mammalian Genome* 21: 477-485, 2010. DOI: 10.1007/s00335-010-9289-z. (査読有)

[学会発表] (計35件)

2012年

1. 小出剛: 野生から愛玩化マウスへ: その遺

伝的基盤解明に向けて (ワークショップ) 第84回日本遺伝学会大会ワークショップ「モデル動物の特徴を活かした行動遺伝学の新たな展開」2012年9月24-26日, 福岡

2. 田邊彰, 高橋阿貴, 城石俊彦, 小出剛: 野生由来マウス系統の高い不安様行動に関する遺伝的・分子的解析 (口頭), 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18-21日, 名古屋

3. 平田晴菜, 梅森十三, 小出剛, 渡邊和忠, 霜田靖: 神経細胞接着分子 Caspr3 は発達期の脳基底核に発現する (ポスター), 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18-21日, 名古屋

4. 後藤達彦, 小出剛: マウスの従順性行動に関わる遺伝的影響 (ポスター), 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18-21日, 名古屋

5. 高橋阿貴, 小出剛: 背側縫線核 GABAB 受容体の活性化が引き起こす過剰な攻撃行動: グルタミン酸と GABA の役割 (ポスター), 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18-21日, 名古屋

6. 田邊彰, 石井亜矢子, 城石俊彦, 高橋阿貴, 小出剛: 日本産野生由来マウス系統 MSM における高い不安様行動の分子遺伝学的解析, 第82回日本実験動物学会総会 (口頭) 2012年5月24-26日, 別府

7. 小出剛: マウスにおける社会的親和性の遺伝学的解析 (シンポジウム), 第82回日本実験動物学会総会シンポジウム「動物の社会行動解析からヒトの精神疾患を考える」2012年5月24-26日, 別府

8. Tanave, A., Takahashi, A., Shiroishi, T., Koide, T.: Genetic and molecular analysis of high anxiety-like behaviors in wild-derived mouse strains. 14th Annual Meeting for International Behavioural and Neural Genetics Society. Boulder, USA, May 15-19, 2012.

9. Ishii, A., Nishi, A., Shiroishi, T., Takahashi, A., Koide, T.: Genetic dissection of clustered QTLs related to strain difference of home-cage activity. 14th Annual Meeting for International Behavioural and Neural Genetics Society. Boulder, USA, May 15-19, 2012.

10. 高橋阿貴, 小出剛: 野生マウス系統 MSM の過剰な攻撃行動に関する遺伝的基盤 (ポスター), 第72回日本動物心理学会大会, 2012年5月12-13日, 西宮

11. Koide, T., Kikusui, T., Sugimoto, H.: Genetic basis of strain difference in waveforms of male ultrasonic vocalization. 1st Workshop of Mouse Ultrasonic Communication. Paris, France, April 16-17, 2012.

2011年

1. 菊水健史, 小出剛: マウス求愛歌の行動学的解析 (シンポジウム) 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
2. 菅野康太, 小久保博樹, 相賀裕美子, 高橋阿貴, 小出剛, 石浦章一: ドーパミントランスporter発現制御候補因子 Hesr1/2 ノックアウトマウスの行動解析 (ポスター), 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
3. 後藤達彦, 石井亜矢子, 西明紀, 高橋阿貴, 城石俊彦, 小出剛: 時間依存的な自発活動量のマウス系統差に関わる多因子の遺伝学的解析 (ポスター), 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
4. 小出剛, 高橋阿貴, 城石俊彦, 田邊彰: MSM-B6 コンソミック系統を用いた不安様行動の分子遺伝学的解析 (ポスター), 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
5. 杉本大樹, 高橋阿貴, 小出剛: アセチルコリン受容体調節因子 Lynx1 の社会行動への関与 (ポスター), 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
6. 高橋阿貴, Klaus Miczek, 小出剛: 背側縫線核 GABAB 受容体の活性化による過剰な攻撃行動の詳細な行動学的・神経学的解析 (ポスター), 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
7. 田邊彰, 高橋阿貴, 荒川俊也, 柿原聡, 木村真吾, 杉本大樹, 城石俊彦, 富原一哉, 土谷隆, 小出剛: 隠れマルコフモデルを用いたマウス社会行動解析ソフトウェアの開発 (ポスター), 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14-17日, 横浜
8. 小出剛: 野生由来マウス系統を用いた行動遺伝学 (シンポジウム) 第58回日本実験動物学会総会, 2011年5月25-27日, 東京
9. 杉本大樹, 菊水健史, 城石俊彦, 小出剛: マウス交配行動時の超音波発声の役割 (口頭発表), 第58回日本実験動物学会総会, 2011年5月25-27日, 東京
10. 高橋阿貴, 城石俊彦, 小出剛: 日本産野生由来マウス系統 MSM の過剰な攻撃行動とセロトニン受容体 mRNA の系統差 (口頭発表), 第58回日本実験動物学会総会, 2011年5月25-27日, 東京
11. Sugimoto, H., Okabe, S., Kikusui, T., Koide, T.: A role of strain difference in waveforms of male ultrasonic vocalization for social behavior. 13th Annual Meeting for International Behavioural and Neural Genetics Society. Rome, Italy, May 10-14, 2011.
12. Koide, T., Tanave, A., Sugimoto, H., Takahashi, A.: Wild-derived stock of mice,

a useful resource for studying genetic basis of anxiety-like behavior. 13th Annual Meeting for International Behavioural and Neural Genetics Society. Rome, Italy, May, 10-14, 2011.

2010年

1. 石井亜矢子, 西明紀, 高橋阿貴, 城石俊彦, 小出剛: 時間依存的な自発活動量の系統差に関わる多因子の遺伝学的解析 (ポスター発表) 第33回日本分子生物学会年会, 2010年12月7-10日, 神戸
2. 小出剛: 時間依存的な活動量に関わる遺伝的要因の解析 (シンポジウム口頭発表) 第17回日本時間生物学会学術大会 シンポジウム「サーカディアンリズムの修飾遺伝子」, 2010年11月20-21日, 東京
3. Takahashi, A., Shimamoto, A., Boyson, C.O., DeBold, J.F., Koide, T., Miczek, K.A. GABA(B) receptor modulation of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus: escalation of aggression in mice. (ポスター、英語) Neuroscience, San Diego, USA, October 11-16, 2010.
4. Umemor J., Uno T., Mori A., Yuasa S., Koide T.: Dysmyelination and tremor caused by genetic incompatibility in mice (ポスター、英語) Neuroscience, San Diego, USA, October 11-16, 2010.
5. Ishii, A., Nishi, A., Shiroishi, T., Takahashi, A., Koide, T.: Consomic analysis of genetic factors related to temporal difference of home-cage activity between B6 and MSMM. 24th International Mammalian Genome Conference, Crete, Greece, October 17-21, 2010.
6. 小出剛, 石井亜矢子, 西明紀, 田邊彰, 城石俊彦, 高橋阿貴: マウス行動の多様性を生み出す遺伝-環境要因 (ワークショップ口頭発表) 第82回日本遺伝学会大会ワークショップ, 2010年9月20-23日, 札幌
7. 梅森十三, 宇野毅明, 湯浅茂樹, 小出剛: 遺伝的不適合マウスにおけるエピジェネティック異常 (口頭、日本語), 第82回日本遺伝学会, 2010年9月20日, 札幌
8. 杉本大樹, 高橋阿貴, 城石俊彦, 小出剛: アセチルコリン受容体モジュレーター Lynx1 のマウス攻撃行動への関与, 第33回日本神経科学会, 2010年9月4日, 神戸
9. 梅森十三, 宇野毅明, 湯浅茂樹, 小出剛: Epigenetic abnormality of genetic incompatibility mouse, Genic mice (口頭、英語), 第33回日本分子生物学会年会, 2010年9月3日, 神戸
10. Takahashi, A., Shimamoto, A., Boyson, C.O., Koide, T., DeBold, J.F., Miczek, K.A. GABAB receptor modulation of serotonin

neurons in the dorsal raphé nucleus escalates aggression in mice, 第 33 回日本分子生物学会年会、2010 年 9 月 3 日 神戸
11. Tanave A., Ishii A., Shiroishi T., Takahashi A., Koide T.: Genetic study of anxiety-like behaviors characteristic of wild mice 第 33 回日本神経科学会, 2010 年 9 月 2 日, 神戸

12. 杉本大樹, 菊水健史, 城石俊彦, 小出剛: マウス交配時の超音波発声の役割 (ポスター発表) 第 57 回日本実験動物学会, 2010 年 5 月 12-14 日, 京都

[図書] (計 1 件)

小出剛・山元大輔編, 裳華房, 「行動遺伝学入門」動物とヒトの”ところ”の科学, 2011, 217 ページ

[その他]

ホームページ等

<http://www.nig.ac.jp/labs/MGRL/>

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

梅森 十三 (UMEMORI JUZO)

藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・助教

研究者番号: 20462913

杉本大樹 (SUGIMOTO HIROKI)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号: 70515866