

論文の内容の要旨

論文題目 *Grin1^{Rgsc174/+}* 変異がマウス社会性行動に与える影響

氏名 宇治田和佳

【背景】

社会を形成する動物が生きていくうえで、相手に対する自分の立場を認識し、相手との関係性に応じて適切な行動を取ることは重要である。社会性とは、社会の中で他者と良好な関係を築く能力や性質のことであり、社会性に応じて行われる行動を社会性行動という。ヒトにおいて社会性行動に問題が生じると、社会生活が立ち行かなくなる。ヒトにおける社会性行動異常を呈する疾患に統合失調症や自閉スペクトラム症などがある。その原因候補因子にはオキシトシンやドーパミンなど様々な物質があるが、近年注目されているものとして *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) 受容体が挙げられる。

NMDA 受容体は、イオンチャネル型グルタミン酸受容体の一種であり、脳の発達や学習・記憶などの脳機能に関わることが知られている。しかしながら NMDA 受容体の社会性行動への影響については未だ詳細が明らかになっていない。

マウス社会性行動の解析には、社会的相互作用と社会的優位性に関する行動や情動が指標として用いられる。社会的相互作用とは2匹のマウスが対峙したときに相手に対して示す行動を指し、社会的優位性は他者との優劣関係の結果生じる行動を指す。既存のマウス社会性行動試験では、マウスを飼育環境から実験環境に移し、短時間の行動実験を行うことから、マウスが日常的に示す社会性行動を検出できていない。マウス社会性行動をより詳細に理解するためには、新奇環境で短時間の行動解析に加えて、マウスにとって慣れた環境における長期間行動解析が必要である。

【目的】

本研究の目的は、NMDA 受容体のマウス社会性行動への関与を明らかにすることである。GRIN1 は NMDA 受容体を構成する必須サブユニットであるため、*Grin1* の変異や発現変化は NMDA 受容体の機能に影響する。そこで *Grin1* 変異マウス (*Grin1^{Rgsc174/+}* マウス) を用い、これまであまり解析が進んでいないマウスにとって慣れた環境 (以下、長期飼育環境) 下で検出される社会性行動に焦点を当て、社会的相互作用と社会的優位性の行動解析を行った。

【方法】

*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスを用いて、長期飼育環境で見られるマウスの社会性行動を解析した。*Grin1^{Rgsc174}*は、化学変異原 ENU によって点変異が生じたマウスのうち、高活動性を示すマウスからスクリーニングされた系統である。

<実験 1>

長期飼育環境下におけるマウス複数匹の行動を検出し、社会的相互作用の解析を行った。*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスと野生型マウスを3匹ずつ実験装置に入れ、7日間飼育し、複数匹のマウスの位置情報 (XY 座標) を自動的に取得した。社会的相互作用の行動指標として、孤立行動、対峙相手からの逃走行動と、不安様行動を検出し、解析した。また攻撃行動の有無を調べるため、実験前後の体重の比較と、外観変化 (怪我や激しい脱毛の有無) の確認も行った。

<実験 2>

社会的優位性指標の一つである競争優位性を解析した。競争優位性の解析には IntelliCage を用い、競争課題を行った。IntelliCage は長期飼育環境下におけるマウス複数匹の行動を記録できるコンピュータ制御型行動解析装置で、4つの水飲み場を兼ねたオペラント式チャンバーから構成され、各マウスのコーナーチャンバーアクセス回数や滞在時間を記録する。*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスと野生型マウスを8匹ずつケージに入れ、新奇探索行動、長期飼育環境下の活動量の測定と、水 (報酬) を巡った競争に勝つかどうか (競争優位性) を評価した。この課題は *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスと野生型マウスが水 (報酬) を争う「highly competitive condition」と、*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスと野生型マウスを2つのケージに分け同系統間で水 (報酬) を争う「less competitive condition」の2状態から構成される。競争優位性の行動指標として、水 (報酬) を巡った競争開始から3分間のコーナーチャンバーアクセス回数と占有時間を解析した。また競争課題の馴化期間中に、活動量と新奇探索行動の解析も行った。

【結果】

<実験 1>

*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスは長期飼育環境下で孤立行動が有意に増加していた。*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスの孤立行動の経日変化の有無を検討したところ、野生型マウスは孤立行動の経日変化を示したのに対し、*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスでは変化が認められなかった。また、*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスは長期飼育環境下で逃走行動が有意に増加していた。対峙相手ごとに逃走行動を比較したところ、興味深いことに *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスでは野生型マウスと対峙した際の逃走行動が有意に増加しており、相手依存的に行動を変化させていることが明らかになった。また *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスは長期飼育環境下で不安様行動が増加傾向にあった。*Grin1^{Rgsc174/+}*マウス

の体重は実験前後で変化せず、また他のマウスから激しい攻撃を受けた形跡（胴体・尾の損傷や著しい脱毛）は確認されなかった。

<実験 2>

競争課題では「highly competitive condition」において、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは競争開始直後 3 分間のコーナーチャンバーアクセス回数と占有時間が有意に減少していた。一方、「less competitive condition」では、競争開始直後 3 分間のコーナーチャンバーアクセス回数と占有時間は群間で有意差が見られなかった。また、競争中（3 時間）の合計コーナーチャンバーアクセス回数と占有時間は群間に有意差がなく、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスが水に対するモチベーションを失っていないことが示された。これらの結果から、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは水(報酬)に対する競争に弱い、つまり競争優位性が低下していることが明らかになった。また *Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは長期飼育環境での活動量が増加していた。*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスの新奇探索行動は、IntelliCage 投入直後では増加傾向にあったが、投入から 30 分以降に野生型マウスよりも減少した。

【考察】

Grin1^{Rgsc174/+}マウスの社会性行動は先行研究間で異なる結論が示され、統一した見解が得られていなかった。この理由として、既存の新奇な環境で短時間行う社会性行動試験を実施したため、実験環境やバッテリーテストの順番の違いが、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスの表現型に影響したことが考えられる。本研究で長期飼育環境下における社会性行動解析を実施したことにより、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは日常的に社会性行動に異常を示していることが明らかとなった。

長期飼育環境下における社会的相互作用の行動解析では、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは孤立行動、逃走行動が増加していたことから、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは他者と集団を形成する性質や、他者と接触する性質が低下していることが示された。また孤立行動の経日変化の解析により、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは野生型マウスと比べ、集団への親和性が低いことが示された。これらの結果から、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは社会的相互作用が低下していることが示された。また *Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは長期飼育環境下で環境に慣れているにもかかわらず不安様行動が増加傾向にあったことから、野生型マウスに対して不安を示していることが示唆され、社会的相互作用の低下の一因となっている可能性が考えられた。また、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは野生型マウスに対してのみ逃走行動が有意に増加しており、相手依存的に行動を変化させていることが明らかになった。このことから *Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは対峙した相手を認識していることが示唆された。実験前後で両群共に体重の減少は認められず、実験終了時に *Grin1*^{Rgsc174/+}マウスが激しい攻撃を受けた形跡が確認されなかったため、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは攻撃を受けているわけではなく、社会性行動に *Grin1* が関わることを示された。

IntelliCage を用いた競争課題の解析からは、*Grin1*^{Rgsc174/+}マウスは競争優位性が低下して

いることが明らかになった。不安が強い個体は、集団内での社会的優位性が低下することが知られており、*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスも長期飼育環境下における不安様行動が増加傾向にあったことから、競争優位性の低下も *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスの不安亢進が一因となっている可能性が考えられる。また、実験 1 によって *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスが野生型マウスに対して逃走行動を示すことが明らかになったが、競争課題時の水(報酬)を争う場面でも同様の現象が起きていた可能性がある。つまりコーナーチャンバーに群がる野生型マウスを避けて、*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスはセッション開始直後のコーナーチャンバーで水を飲むことができなかったと推察される。また *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスは新奇探索行動が野生型マウスよりも増加傾向にあったが、時間経過とともに減少した。これは、先行研究で報告されていた *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスは新奇探索行動が高いという性質が、本研究では同居していた野生型マウスの存在により抑制されたことが考えられる。

*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスは社会的相互作用と競争優位性が低下していたことから、社会的優位性が低下していることが示唆された。また *Grin1^{Rgsc174/+}*マウスの行動異常は、新奇環境だけでなく長期飼育環境でも観察されたことから、これらの行動異常は一過的に生じたものではなく、マウスの本質的な性質（表現型）であることが支持された。

【結語】

本研究によって、*Grin1^{Rgsc174/+}*マウスの社会的相互作用や、競争優位性に影響が生じることが示された。従って NMDA 受容体がマウス社会性行動に関与することが明らかになった。今後、GRIN1 や NMDA 受容体が社会性に与える影響の作用機序を明らかにすることで、社会性低下の原因解明の一助となり、社会性に問題が生じる疾患の早期診断や治療法開発など医療への貢献が期待される。