

友達ができない性質は遺伝するのか？～分子メカニズムの解明を目指して～

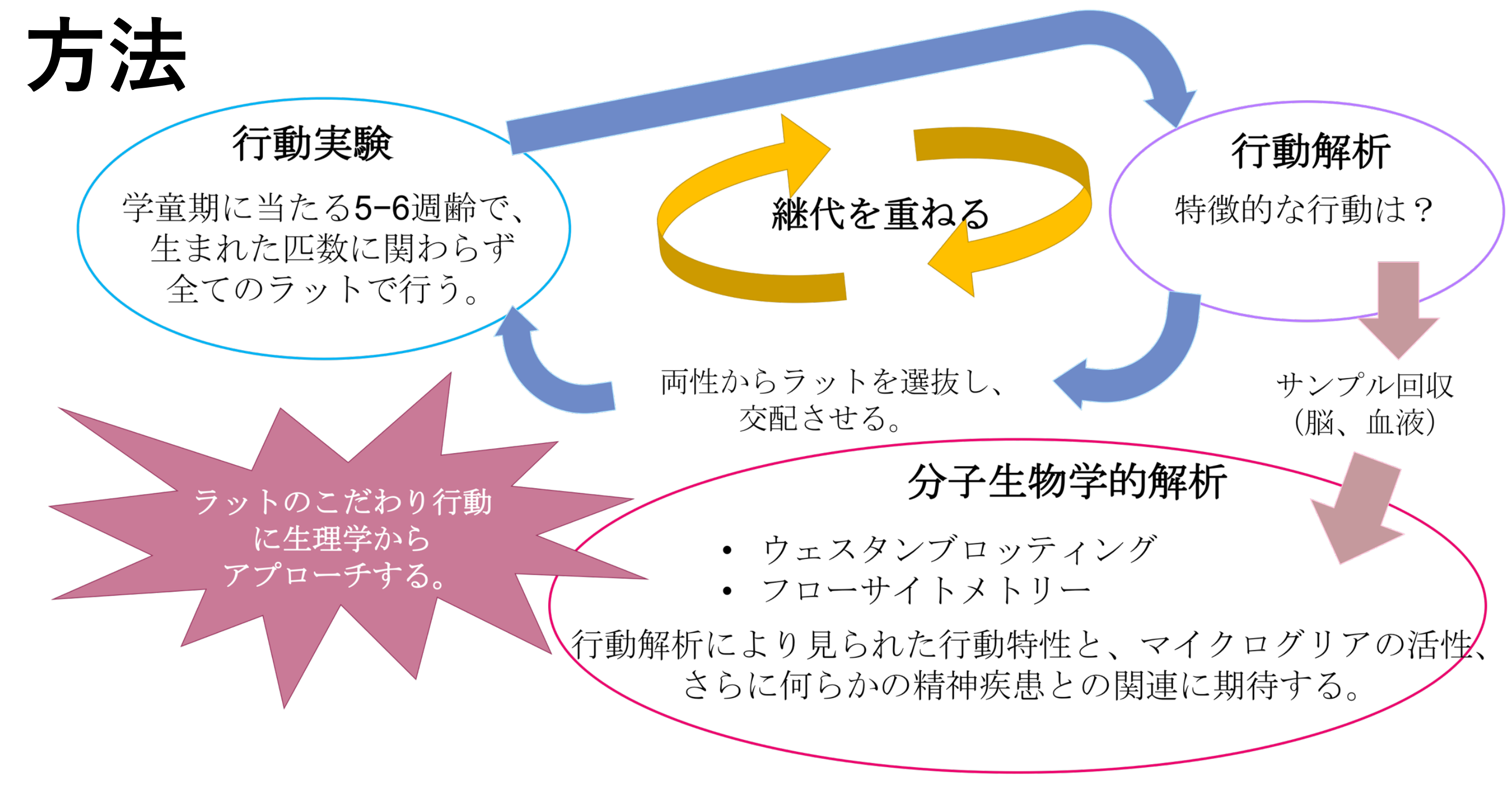
医学科4年 佐藤安里紗 木原奈那子

動機・目的

ウィスターラットは、頭が良く、人の顔を覚えると言われるほど、高度な社会性を持つ。私は、1年次から研究室に所属し、このラットの飼育・繁殖を行ってきた。その中で、ラットには家族ごとにカラーがあり、兄弟内でも人間や外の環境に興味津々で覗き込んでくる個体から、ケージの端で一人ポツンと佇んでいる子まで様々であり、同じ系統のラットの中にも個性があることに気がついた。中でもなかなか友達が作れない個性、同じような行動にこだわる個性などに着目し、その様なラットの行動の裏にある脳内の細胞活性や細胞間の関わりなどを見てみたいと思いこの研究をスタートさせた。



方法



<継代の遂行とそこで見つけた“こだわり行動”>

友達ができないラットを選抜し掛け合わせていけば、“友達ができない家系”を作ることができるのではないかな？

友達ができないラット研究としてスタート

はじめに、60cm四方のフィールド内に4匹のラットを放し、最も他とのコミュニケーションに乏しい“友達ができない”と考えられるラットを両性から選抜し、交配させた。



驚 継代の過程で、Radial Maze で特定のアームに固執する行動を発見。

“友達ができない”両親から生まれた子供の行動を解析すると、いくつかの行動実験で特異な行動が見られた。その一つがRadial Maze(RM)である。この試験では、通常は探索行動として8本のアームにほぼ均等に侵入するものであるのに対し、これらの子供の中には、特定のアームに固執する行動をする個体が存在した。さらに、このRMの試験結果を中心に継代を重ねると、特定のアームに固執する度合いと、固執するラットの割合が増加した。



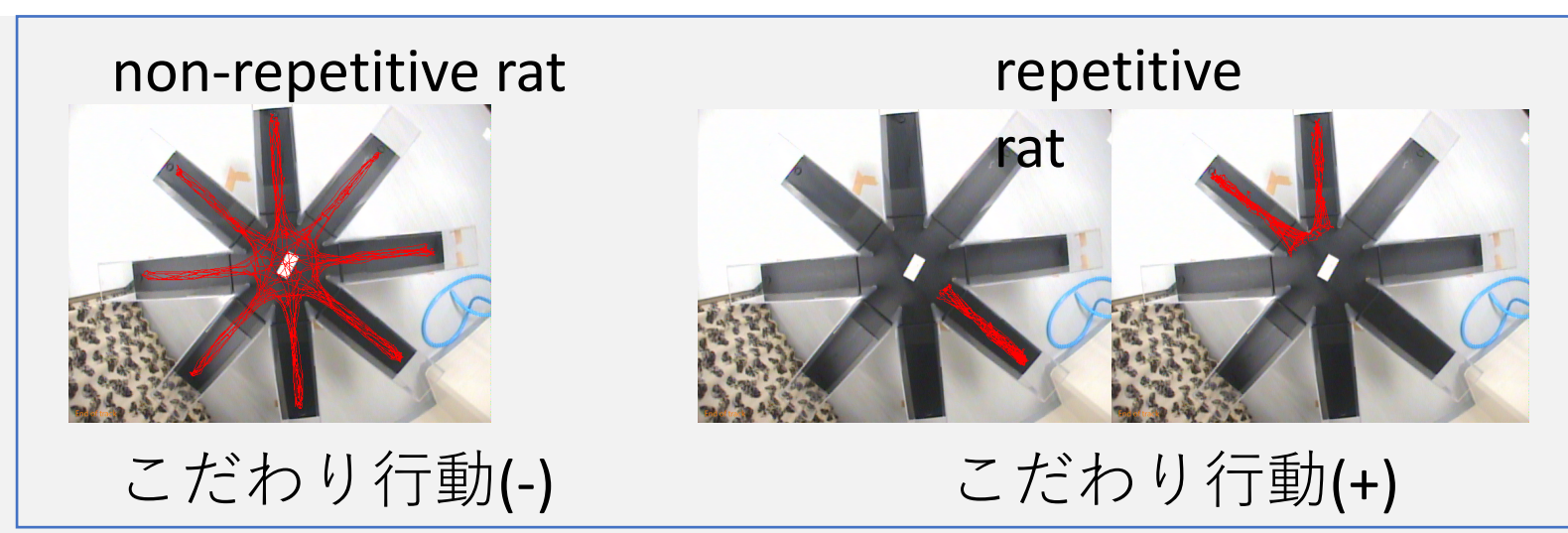
ここで見られた、“こだわり行動”に注目した研究に！

Radial Maze (RM)で特定のアームに固執する行動は通常では見られないものであり、非常に興味深いものであった。本研究ではこの行動を“こだわり行動”として、その意味・分子メカニズムの解明を目指すことにした。

repetitive rat(こだわりラット)の選抜基準

Radial Maze (RM)で以下の2条件を満たしている個体。

- ①主な侵入アーム数が3本以内
- ②各アームに滞在した合計時間の分散値(variance)が8000以上
(*侵入アーム数が3本以内の場合、分散値はほぼ必ず10000以上になる)



考察 ー自閉症スペクトラム (ASD) モデルとしての可能性ー

自閉症スペクトラム (ASD) の特徴

ASD行動異常

- ①限定的・反復的なこだわり行動、限定的な興味
- ②社会性・コミュニケーション障害

ASDの統計

人口の数パーセント (1.5～3%程)
発症に遺伝的側面あり
男児に多く、男児が女児の4倍

ASDの遺伝子異常、脳内の機能異常

シナプス関連遺伝子異常の報告多数

マイクログリアによるシナプス刈り込み不全

↓
シナプス増加
興奮性/抑制性シナプスのバランスの乱れ

repetitive ratの性質

～行動実験～

- ①RMでこだわり行動を示す。
- ②DCTにおいて相手ラットとの距離感が遠く、社会性が乏しい可能性がある。

～repetitive rat 発生頻度～

継代によって、repetitiveな性質が濃縮し、遺伝的な側面が示唆された。オスの割合が高い。

～脳内 分子生物学的実験～

WB

シナプス関連タンパクの発現、特に興奮性シナプスに関するものの発現が対照群と比較し高かった。
フローサイトメトリー
マイクログリアの活性が低いことが示唆された。

結果

<こだわり行動を生むメカニズム及びこだわり行動の意味の探求>

repetitive ratとnon-repetitive ratの間にどのような違いがあるのか？

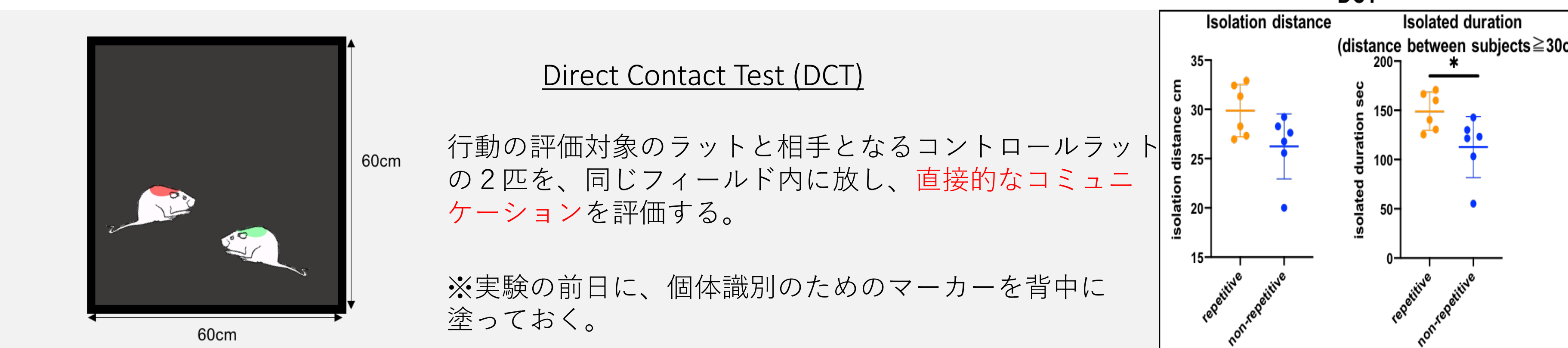
①継代の成果

		repetitive rat	割合
継代家系	male♂	40/122匹	≒33%
	female♀	8/66匹	≒12%
コントロール家系	male♂	3/36匹	≒8%
	female♀	まだ十百分の試行が行えていない。	

継代を進めることで、RMでの偏りの程度、頻度が高まった。またオスでrepetitive ratの発生頻度は、コントロールの家系のものと比して、継代を続けた家系で高く、repetitiveな性質が継代によって濃縮すること、この性質には**遺伝的要素**があることが示唆された。

②行動実験・行動解析 (オスラット)

行動量、不安感、空間認識能力、記憶力などを測る行動実験においては差は見られなかった。一方で、社会性を測る指標として考案したDirect Contact Test (DCT)では、repetitive ratは個体間の距離が大きい傾向があり、2個体が30cm以上離れていた時間は有意に長い。
→repetitive ratは**社会性に乏しい可能性**が示唆された。



③分子生物学的解析 (オスラット)

・Western Blotting

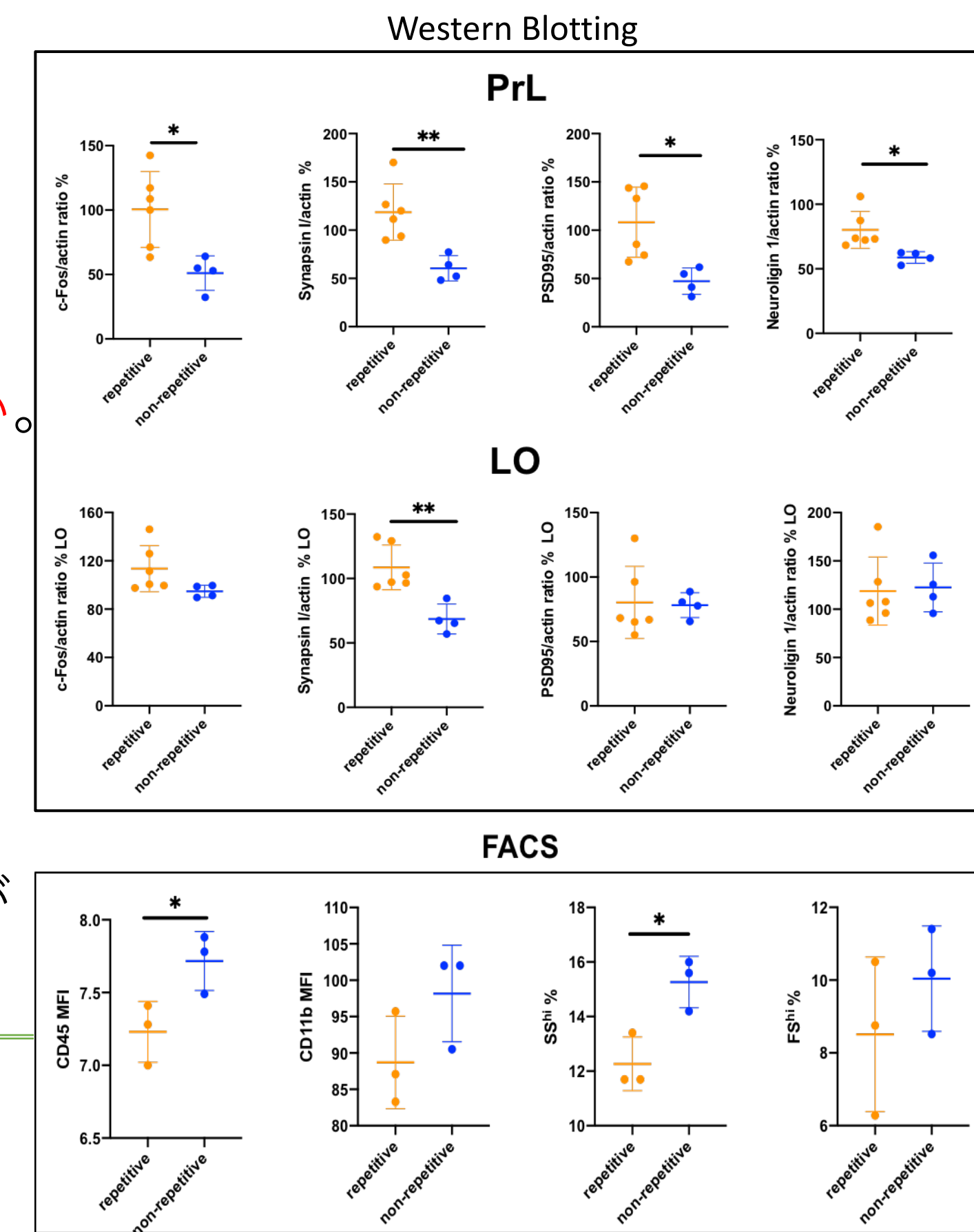
内側前頭皮質(PrL) (※ヒトの前帯状回(ACC)に相当)と外側眼窩前頭皮質(LO)より、脳組織を採取し、各タンパクの発現量を検討した。

→repetitive ratで、**興奮性シナプスマーカーの発現が高い**。興奮性シナプスと抑制性シナプスのバランスの乱れが、行動異常に関係するのか？

・フローサイトメトリー

ラット前頭葉組織の細胞を1細胞単位までに分離し、マイクログリアに着目し解析した。

→repetitive ratは、**マイクログリアの活性が低い可能性**が示唆された。



今後の展望

repetitive ratはASDモデルになりうるか？

A) 社会性・コミュニケーション障害について

➢これまで様々な社会性を評価する方法を検討し、repetitive ratが社会性行動に乏しい傾向は確認できたが、断定するには不十分である。
→**three-chamber test**による社会性の評価を行う。

➢ASDでは、他者の状況や感情を類推し理解する能力や、他者に同情したりする能力に障害が認められるとされる。

→**麻酔仮死ラット**を用いた**同情心**の評価、**麻酔死させたラット**を用いた、**生死の判別実験**を行う。

B) 限定的で反復的なこだわり行動・限定的な興味について

➢RMで特定のアームに留まる行動=ASDで見られる**こだわり行動**か？
→補強することのできる行動実験を検討する。

こだわり行動はマイクログリアの活性低下により引き起こされるのか？

薬剤介入実験

➢成熟後の脳内マイクログリアの活性を変化させることで、RMでの異常行動や社会性に変化が見られるか。

→**クレンプテロール**(選択的β2受容体アゴニスト)...マイクログリアを活性化

ICI118551(選択的β2受容体アンタゴニスト)...マイクログリアを不活性化 の投与実験

