

葛藤を処理する脳基盤の発達に脳内タンパク質「X11L」が関与

—意欲や社会性を制御する神経機構の解明に新たな道筋—

本研究成果のポイント

- 発達期のX11Lの機能不全で、消極性は変わらず、積極性を示す行動が選択的に低下
- X11Lを欠損したマウスは、葛藤下、消極的な適応をしやすく、競争にも負けやすい
- 無気力やひきこもりにかかわる脳基盤の解明に有用なモデル動物が出現

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、マウスに遺伝学的手法を駆使してモデルマウスを作製し、葛藤を処理する脳基盤の発達において、重要な役割を果たすタンパク質「X11L^{*1}」を発見しました。理研脳科学総合研究センター（BSI）（利根川進センター長）行動遺伝学技術開発チームの糸原重美チームリーダー、佐野良威研究員、ナイル・マーフィー客員主管研究員（元マーフィー研究ユニットリーダー）ら、BSI研究基盤センター（元リサーチリソースセンター）、および国立大学法人北海道大学薬学研究院の鈴木利治教授との共同研究による成果です。

日々の生活の中、さまざまな感情が生まれます。その感情が相反する場合、例えば彼女（彼）と友達になりたい、だけど恥ずかしくて声をかけづらい、あるいは興味を持って取り組みたい、だけど成功するかどうか不安、といった葛藤が生まれます。葛藤は脳で処理され、結果としてある行動を選択し、例えば恥ずかしいけど話しかけてみよう！失敗するかもしれないけど頑張ってみよう！などと決定します。しかし、この葛藤を処理する脳のメカニズムは十分に分かっていません。

研究チームは、脳だけに存在し、神経活動を制御する種々のタンパク質群と結合するタンパク質「X11L」に着目し、これが欠損すると、葛藤下、消極性は変わらず、積極性だけが低下することを見つけました。実際にモデルマウスは、自分の縄張りに入ってくる侵入者を探索する行動が少なくなり、競争に負けやすくなりました。また、X11Lが欠損した脳内では、情報伝達物質であるモノアミン^{*2}のバランスが崩れていることを見つけました。さらに、X11Lを欠損した脳に、遺伝学的手法によりX11Lを補うようにすると、発達期における前脳（脳の前側の領域）のX11Lが、X11L欠損により引き起こされた積極性と社会性の低下を回復することを明らかにしました。

このように、積極性の低下により、葛藤下で消極的な行動適応をしやすくなるモデル動物は、世界でも類例がなく、X11Lという葛藤処理を行う神経機構の発達にかかわる分子の発見も初めてです。今回の発見が、意欲や社会性を制御する脳機構の解明に新たな道筋を与えると期待されます。また、自閉症や統合失調症における社会行動の低下や興味の喪失に対する治療戦略の探索に有用である可能性が見込まれます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Journal of Neuroscience*』（5月6日号）に掲載されます。

1. 背景

日々の生活の中で、さまざまな感情が私たちの中に生まれます。時として、その感情が相反するものであった場合には、そこに葛藤が生まれます。生まれた葛藤は、脳で処理され、ある行動を私たちは選択していきます。脳で感情がどのように生まれるのか？葛藤は脳でどのように処理されるのか？そしてそれはどのような行動と結びつくのか？という疑問を明らかにすることは、脳科学における一つの大きな挑戦です。

種々ある感情を、できる限り切り分けて解析を行うために、ある特定の感情だけに不全を引き起こすモデル動物の開発や、特定の感情状態を調べることができる解析システムの開発は、この難題に取り組むために非常に有用です。しかしこれまで、感情の制御に異常を示すとされるモデル動物が数多く開発されてきましたが、例えば「非常に不安が強く、恐怖心が強く、うつ様の性格を示し、社会行動は低下し、自発的な行動量も低下する」など、複数の感情状態に異常を持つことが多いのが現状です。研究チームは、脳内だけに存在する X11L というタンパク質に着目し、その脳内生理機能の解明を目指しました。

2. 研究手法と成果

(1) X11L 遺伝子欠損変異マウス(X11L-KO マウス)^{*3}を用いた行動学的な解析

X11L-KO マウスを用いて、従来の行動試験に加え、新たな行動試験を開発し、X11L-KO マウスの行動異常の検出を試みました。

① X11L-KO マウスは競争環境下で負けやすい

X11L-KO マウスと野生型マウス^{*4}を、同じ匹数ずつ一つのケージで飼育し、新たに開発したマウスの行動試験である二つの方法で、食餌制限を行いました。一つ目は、普段一匹のマウスが1日に食べる量よりも少ない量の餌の塊を、同居しているマウスの数の半分の数の塊で与えるという量的な食餌制限(量規制型食事制限)を実施しました(例えば4匹で飼育している場合は2塊)。マウスの匹数に対して餌の塊の数が少ないため、餌取り競争が起きます。この環境では、X11L-KO マウスは野生型マウスに比べて大きく体重を落としました(図 1A)。二つ目は、普段は餌を常時置くところを、1日に90分間だけ、十分な餌を置くという時間的な食餌制限(時間規制型食事制限)を行いました。同居するすべてのマウスが同時に食べられるだけの、大量の餌が十分量置いてあるので、時間規制型食事制限では餌取り競争が起きません。この食餌制限では、X11L-KO マウスと野生型マウスは同じように体重が減りました(図 1B)。次に X11L-KO マウスが野生型マウスとの競争に負けていることを確かめるために、2種類のマウスを同じ匹数ずつの飼育(混合遺伝子型飼育)、X11L-KO マウスだけ、野生型マウスだけという1種類のマウスだけでの飼育(単一遺伝子型飼育)という二つの飼育方法で量規制型食事制限を実施しました。その結果、単一遺伝子型飼育の場合には、体重の減少に差がなく、混合遺伝子型飼育の場合だけ X11L-KO マウスの体重は野生型マウスに比べて大きく減少しました(図 1C)。また、X11L-KO マウスは、身体能力や食欲の低下は起きていませんでした。これらの結果は、X11L-KO マウスが、感情の問題により競争環

境下で負けやすくなっていることを意味します。

② X11L-KO マウスは侵入者に対する探索行動が減少

X11L-KO マウスが野生型マウスとの同居下だけで競争に負けたので、X11L-KO マウスは社会行動に低下のある可能性を考えました。通常、雄マウスは、一匹で飼育しておくで自分の縄張りを形成します。そして、その縄張りに別のマウスが侵入してくると、侵入者への探索や攻撃を行います。X11L-KO 雄マウスは、この探索行動が野生型マウスに比べて 35%程度減っていました(図 2)。この結果は、X11L-KO マウスで社会行動に低下があることを示しました。

③ X11L-KO マウスは興味を引くものに対して誘発される積極性が顕著に低下

社会行動では、接近と回避の欲求に対する葛藤が同時に生まれ、結果として特定の行動が選択されます。例えば、研究チームが実施した実験の場合では、接近の欲求が、「餌を持っている野生型マウスから餌を奪いたい!」、「侵入者を探索しなくては!」という積極性であり、回避の欲求は「餌を奪うために争いたくないな・・・」、「変な奴が急に縄張りに入ってきてちょっと怖い・・・」、「なんか不安・・・」という消極性です(図 3)。X11L-KO マウスの社会行動の低下は、消極性の高まりがある可能性を考え、葛藤下で嫌なものを回避する行動を指標として、高架式十字迷路試験^{*5}などで不安を評価する行動試験を行いました。その結果、X11L-KO マウスで異常は見つかりませんでした。また、X11L-KO マウスで、うつ様の行動や自発的活動量の低下も見つかりませんでした。

次に、X11L-KO マウスは、興味を引くものに接近する積極性が低下している可能性を考えました。野生型マウスは、ビー玉などの新規物体が厚い床敷きの上に置いてあると、床敷きを一生懸命に掘ってビー玉を埋めてしまいます。また、トンネルに餌や土が詰まっていると、一生懸命にそれらを掘り出します。X11L-KO マウスでは、これらの行動が顕著に低下していました(図 4)。これらの結果は、X11L-KO マウスは、興味を引くものに対して本来誘発される積極性が選択的に低下していることを意味します。

(2) 発達期の X11L タンパク質が行動異常の回復に必要

X11L-KO マウスにおける行動異常と X11L タンパク質欠損の因果関係を明らかにするために、遺伝学的な手法を用いて、X11L-KO マウスの前脳(脳の前側の領域)だけで、X11L タンパク質を発現するマウス(レスキューマウス^{*6})を作製しました。レスキューマウスには、X11L タンパク質の発現時期を制御するために、ドキシサイクリンという薬物を投与すると X11L の発現が抑制される、というシステムを導入しました(図 5)。レスキューマウスでは、X11L-KO マウスで観察した積極性の低下が回復しました(図 6)。一方、大人のレスキューマウスにドキシサイクリンを投与して X11L タンパク質の発現を抑制しても、積極性の低下は表れませんでした。これらの結果は、大人になる前の発達期の X11L の存在が、積極性と社会行動を制御する神経回路の発達において重要な役割を果

たしていることを意味します（図 7）。

(3)X11L-KO マウスの脳内のモノアミンシステムの異常

X11L-KO マウスにおける積極性と社会行動の低下の原因の一つを明らかにするために、脳内のモノアミン量を、高性能液体クロマトグラフィー（HPLC）法という手法を用いて調べました。その結果、X11L-KO マウスの前脳のいくつかの領域では、脳内の神経伝達物質「セロトニン」量が増加していることを見いだしました。さらに、モノアミンと呼ばれる種々の物質は、お互いにその量を制御しあっていますが、そのバランスが前脳領域のいくつかの部位で、X11L-KO マウスと野生型マウスで異なっていました。これらの結果は、X11L が特定の感情を制御するモノアミンシステムの発達にかかわる可能性があることを意味します。

3. 今後の期待

これまで、感情を生む脳のメカニズムを明らかにする目的で、さまざまなモデル動物が開発されてきました。しかしそれらの多くが、一つのモデル動物で複数の感情状態の異常を示し、一つ一つを切り分けて解析するのが困難でした。今回の成果で得た X11L-KO マウスは、非常に限定的な感情状態の低下を示します。つまり、嫌なものから逃げる消極性には不全を示さないにもかかわらず、興味を引く対象に対する積極性だけが低下し、その結果、葛藤下では消極的な適応を選択しやすくなりました。このような X11L-KO マウスのユニークな行動は、世界でも類例はなく、感情制御の脳のメカニズムの解明という難題に対し、新たな側面を与えることが期待されます。特に、競争／格差社会など混沌とした社会情勢や、多様なコミュニケーション手段の発達、必要以上に“空気を読む”風潮などにより、複雑化する人間関係と関連して意欲の低下やひきこもりは大きな社会問題となっています。こうした社会問題と密接に関連して精神疾患の罹患率は高まり、脳における感情処理機構の解明と治療法の確立が急がれています。意欲や社会性を制御する脳のメカニズムの解明、そしてそれらを制御する薬物の探索と創薬が、こうした課題の解決に欠かせず、今回の X11L-KO マウス、そして X11L タンパク質が、新たな糸口を与えると期待できます。

<報道担当・問い合わせ先>

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 行動遺伝学技術開発チーム

チームリーダー 糸原 重美 (いとはら しげよし)

研究員 佐野 良威 (さの よしたけ)

Tel : 048-467-9724 / Fax : 048-467-9725

脳科学研究推進部 納富さより (のうどみ さより)

Tel : 048-467-9757/Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272/Fax : 048-462-4715

<補足説明>

※1 X11L

エックスイレブンエル、X11-like の略。Mint2 (ミント 2) と呼ばれることもある。脳にだけ存在するタンパク質の一つ。いろいろなタンパク質と結合できる部位を複数持ち、神経活動を制御するさまざまなタンパク質群と結合する。そのため、複数の機能タンパク質を、適切な場所に適正なタイミングで輸送するという機能を担っている、と考えられている。アミロイド前駆体タンパク質に結合するタンパク質として、北海道大学薬学研究院鈴木利治研究室で単離同定された。北海道大学と理研行動遺伝学技術開発チームとの共同研究により、X11L が、アミロイド前駆体タンパク質の細胞内局在を制御することで、アミロイド前駆体タンパク質からアミロイドβ (ベータ) の産生を調節することを明らかにした (Sano et al., J Biol Chem. 2006 Dec 8;281(49))。

※2 モノアミン

脳において情報の伝達に使われている物質。ドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンなどがある。多くの精神疾患において、モノアミン系を調節する薬物が臨床的に効果を上げていること、脳内のモノアミンによる情報伝達に異常があるモデル動物などで、精神疾患様行動が観察されることなどから、感情の制御と発達において重要な役割を果たしていると考えられている。

※3 X11L 遺伝子欠損変異マウス(X11L-KO マウス)

遺伝学的手法を用いて、体から X11L タンパク質を欠損させたマウス。

※4 野生型マウス

実験の対照群として使用するマウス。ここでは、X11L 遺伝子が欠損していないこと以外

は、X11L-KO マウスとまったく同じ遺伝子を持つマウスと言い換えることもできる。

※5 高架式十字迷路試験

床から 50 cm の高さにある十字型の迷路（一方向のアームには壁がついているが、もう一方のアームには壁がついていない）におけるマウスの行動を試験する。アームはマウス 1 匹分の幅しかなく、高さ 50 cm はマウスにとっては怖さを感じる高さであるため、マウスは壁のないアームを避けて、壁のあるアームに滞在することを好む。しかし、マウスには、新しい環境を探索するという性質もあり、壁のないアームにも行く。この試験において、新しい環境なので探索してみたいという接近の欲求と、怖いので安心な場所にいたいという回避の欲求の葛藤（見だし怖し）の結果として、回避の欲求による行動を主に選択する。その行動を指標として、不安を評価する。不安が強くなると壁のあるアームにより長く滞在するようになる。

※6 レスキューマウス

マウスが元々持っている X11L（マウス X11L）タンパク質は欠損した状態で、脳の前側だけにヒト由来の X11L（ヒト X11L）タンパク質を発現するようにしたマウス。あとから補充した方の X11L タンパク質はドキシサイクリンという薬物の投与で、発現を阻害するようなシステムになっている（図 5）。

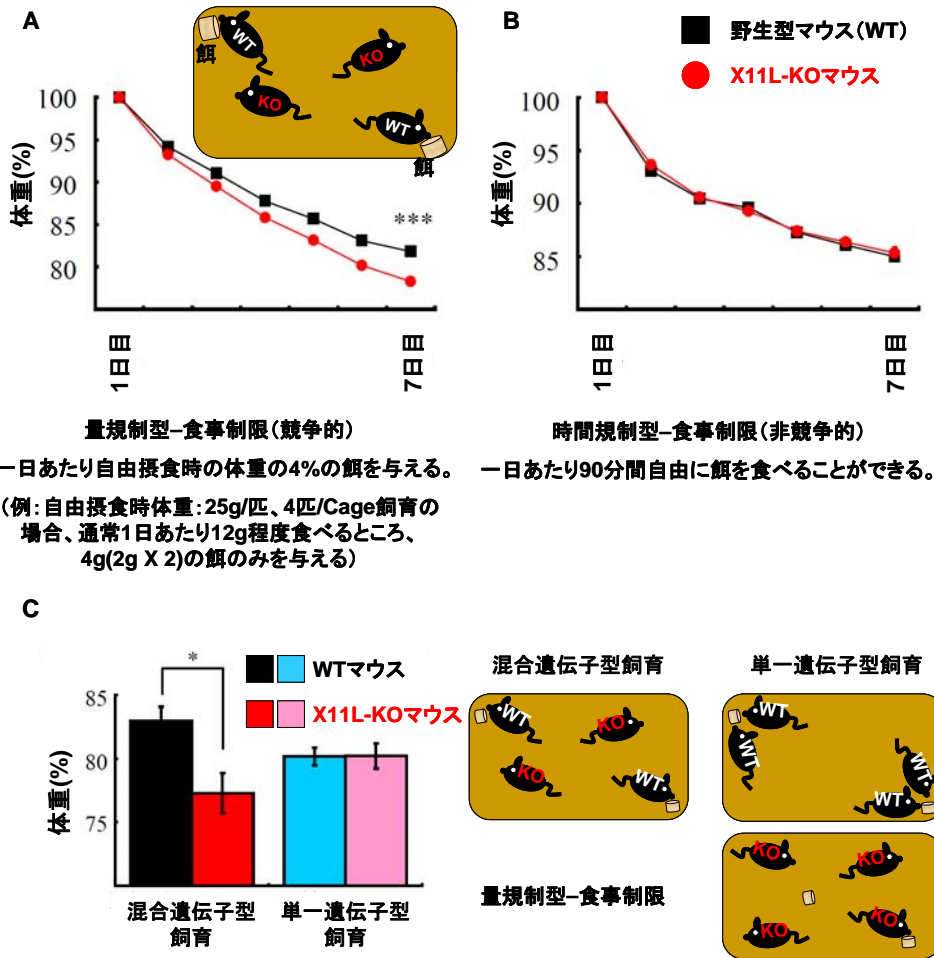


図1 X11L-KO マウスは競争に負けやすい

- A) 餌取り競争が生じる食餌制限（量規制型食事制限）の結果、X11L-KO マウスは同居する野生型マウスに比べて体重が大きく減少した。縦軸は自由摂食時の体重を 100%として割合で表している。
- B) 餌取り競争が生じない食餌制限（時間規制型食餌制限）の結果、X11L-KO マウスと野生型マウスは同じ割合で体重が減少した。
- C) グラフは食餌制限 7 日目の体重を示している。X11L-KO マウスの大きな体重減少は、野生型マウスと同居した飼育方法（混合遺伝子型飼育）で競争的食餌制限を行ったときにだけ観察された。野生型マウスのみ、あるいは X11L-KO マウスのみで飼育した場合（単一遺伝子型飼育）は、体重の減少に差はない。

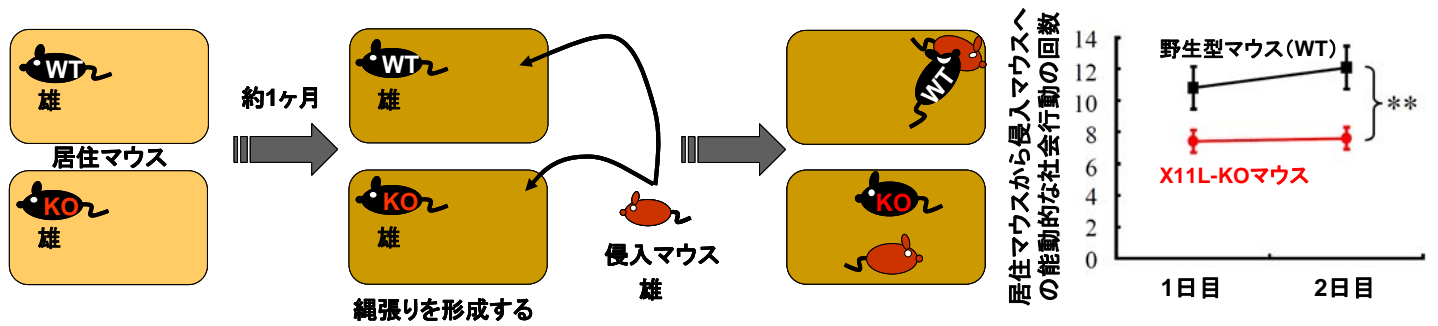


図2 侵入者に対する探索行動

雄のマウスを1匹で飼育しておくで、縄張りを形成する。そこに、侵入者が入ってくると元々そこにいたマウスは侵入者を積極的に探索したり攻撃したりする。X11L-KO 雄マウスでは、この行動が野生型マウスに比べて低下していた。

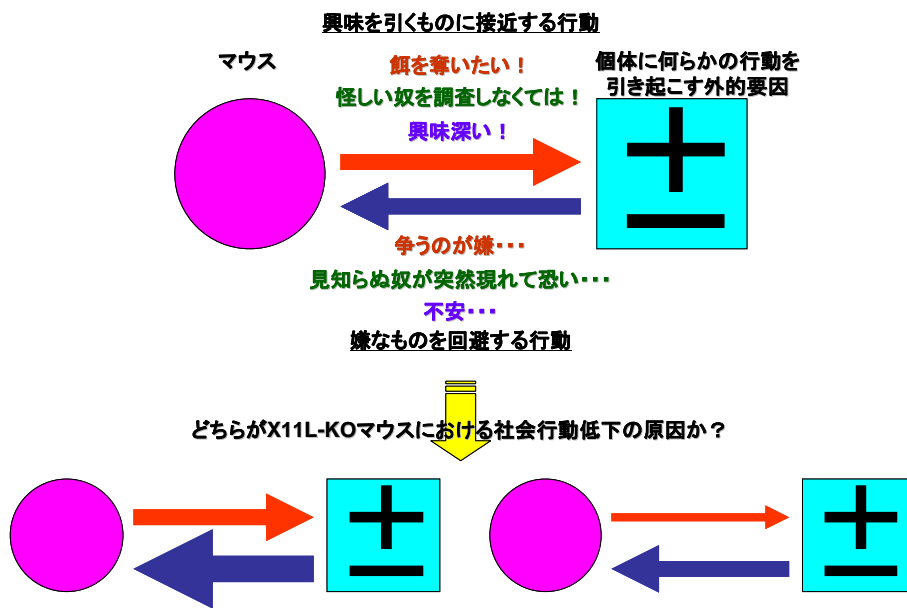


図3 社会行動における葛藤

社会行動では、接近と回避の欲求に対する葛藤が同時に生まれ（上図）、結果として特定の行動が選択される。社会行動が低下している原因として、回避の欲求という消極性が高まっているか（下左図）、接近の欲求という積極性が低下している（下右図）可能性が考えられる。

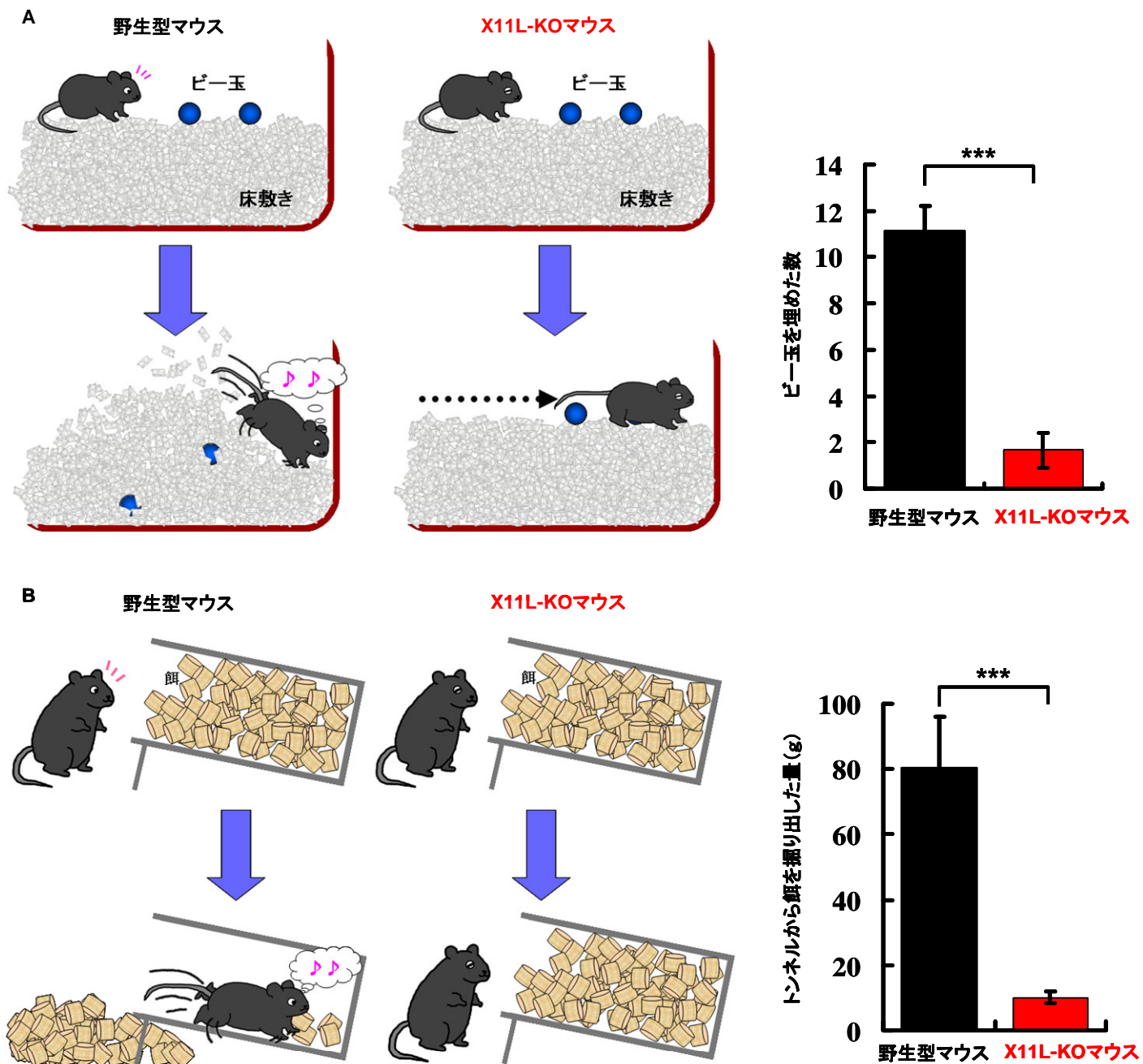


図4 ビー玉埋め試験とトンネル掘り試験

- A) ビー玉埋め試験。野生型マウスはビー玉が厚い床敷きの上に置いてあると、一生懸命に掘ってビー玉を埋める（左図）。X11L-KO マウスでは顕著にこの行動が低下していた（右図）。
- B) トンネル掘り試験。野生型マウスはトンネルに餌が詰まっていると、一生懸命に餌を掘り出す（左図）。X11L-KO マウスでは顕著にこの行動が低下していた（右図）。

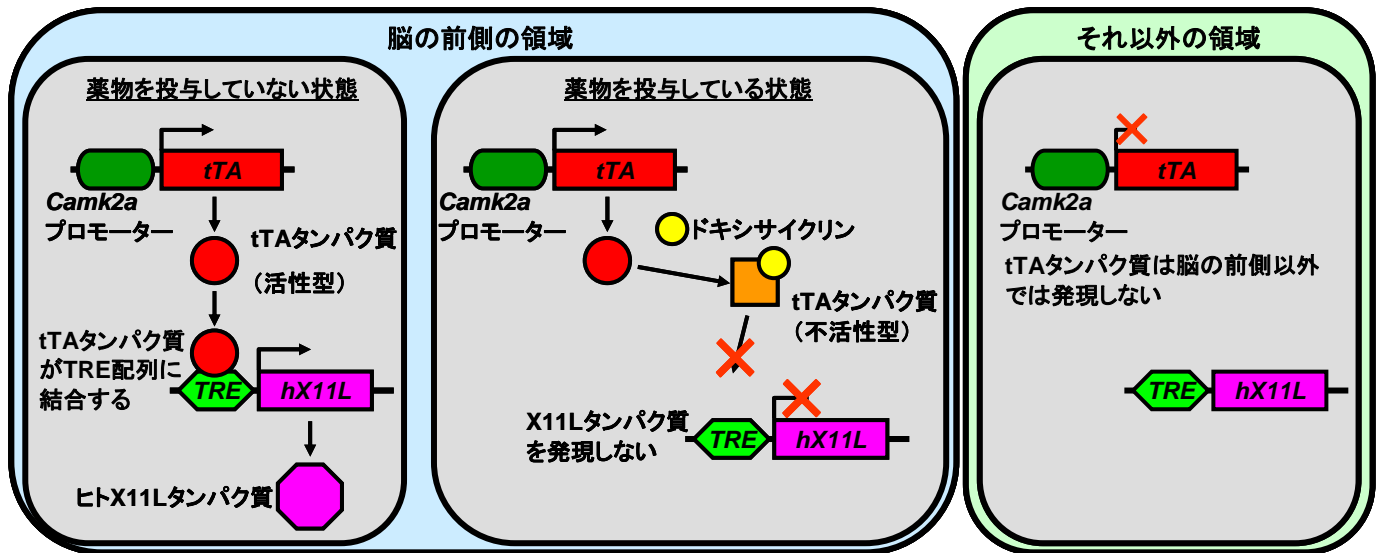
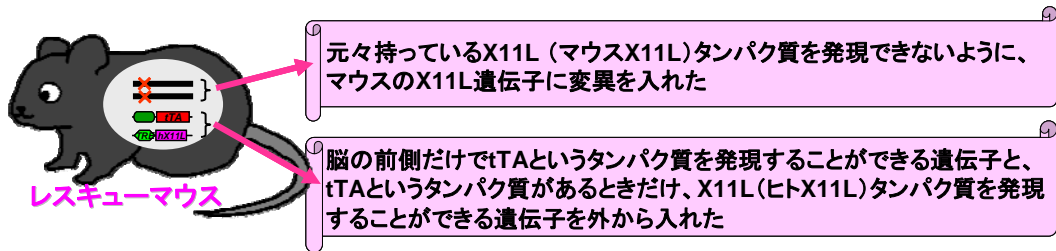


図5 レスキューマウス

マウスが元々持っている X11L (マウス X11L) タンパク質は欠損した状態で、ヒト X11L タンパク質を発現するようにしたマウス。 *Camk2a* という遺伝子のプロモーター (遺伝子の転写を制御する配列のこと) によって、前脳でだけ tTA というタンパク質が発現する。 tTA というタンパク質が TRE という配列に結合することにより、 *hX11L* 遺伝子の発現がオンになり、ヒト X11L タンパク質が発現する (左図)。そこにドキシサイクリンという薬物を投与すると、 tTA タンパク質に結合し、タンパク質の構造が変化することにより不活性型になり、 TRE 配列に結合できなくなる。それにより *hX11L* 遺伝子の発現はオフになり、ヒト X11L タンパク質は発現しなくなる (中図)。前脳以外の領域では、 *tTA* 遺伝子の発現がオンにならないので、 tTA タンパク質は発現しない。それにより、ヒト X11L も発現しない (右図)。

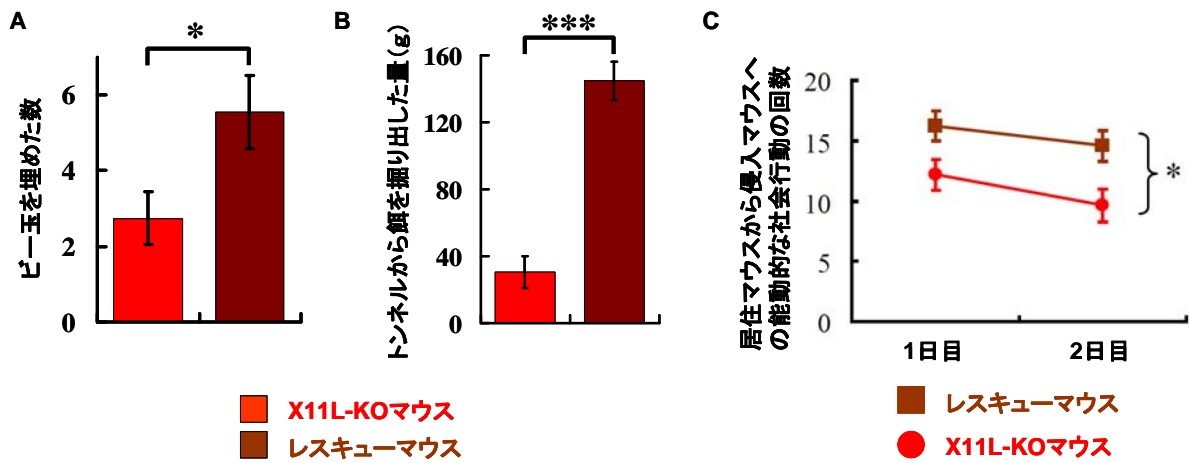


図6 レスキューマウスの行動異常の回復

X11L-KO マウスで観察した行動異常が、X11L-KO マウスの脳に X11L タンパク質を発現させたマウス（レスキューマウス）で回復するかどうかを評価した。A) ビー玉埋め試験、B) トンネル掘り試験、C) 社会行動試験のすべてにおいて、X11L-KO マウスの行動異常がレスキューマウスで回復した。

