

マウスの絶望行動を制御する遺伝子を発見

【ポイント】

1. マウスの絶望行動（諦め）を制御する遺伝子（*Usp46*）を発見した。
2. *Usp46* は脱ユビキチン化酵素をコードしている。
3. *Usp46* は GABA の作用に影響する。

【要約】

名古屋大学大学院生命農学研究科の海老原史樹文教授及び富田滋（大学院生、現愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所 研究員）らの研究グループは、名城大学薬学部（鍋島俊隆教授、間宮隆吉助教、丹羽美苗研究員）、東京都老人総合研究所（青崎敏彦グループリーダー、三浦正己研究員、増田正雄研究員）理化学研究所バイオリソースセンター（阿部訓也チームリーダー）、ジャパン精神薬理研究所（亀山勉所長）との共同研究で、マウスの“行動的絶望”を制御する遺伝子を特定することに成功しました。“行動的絶望”とは、逃避不可能な状況（水槽の中で泳がせたり、尾を固定してぶら下げたりする）で、一定の時間逃避行動をさせると、途中で逃避を諦めて無動状態になることを言います。これらの行動テストは、抗うつ薬の反応性を調べるために古くから利用されているもので、抗うつ薬投与により無動状態になる時間（諦めの時間）が短縮します。この遺伝子は、タンパク質の分解に関わるユビキチン¹をタンパク質から外す、脱ユビキチン化酵素をコードしており、抑制性神経伝達物質である GABA²の働きに影響するものです。

本研究成果は、2009年5月24日18時（英国時間）に Nature Genetics の Article としてオンライン版で発表されます。

【背景】

最近の厚生労働省の調査によりますと、成人の15人に1人はこれまでの人生でうつ病を経験していると言います。うつ病は「心の風邪」と呼ばれるほど身近な病気となり、年間3万人を越す自殺との関連が指摘されています。高齢化の進行やリストラなどのストレス社会の中で、うつ病を始めとする気分障害は益々増加する傾向にあり、早急に解決すべき社会問題となっています。うつ病や躁病などの気分障害の発症には遺伝要因が関与しており、その原因遺伝子を特定するために患者家系の連鎖解析などを用いた研究が行われていますが、遺伝子効果の弱い複数の遺伝子が関与しているために病因遺伝子の特定は難航しています。そのため、モデル動物を用いたアプローチが有効な手法の一つとして考えられています。モデル動物は、糖尿病などヒトの疾患の成因や治療法の開発に利用され成果を挙げていますが、最近の分子生物学の発展と動物行動評価法の開発により気分障害などの“ヒトの心”にかかわる精神疾患の研究にも動物をモデルとして利用することが可能となってきました。

【研究内容】

名古屋大学で育成した近交系マウス³CSは、概日リズム⁴や睡眠に異常が見られます。睡眠や概日リズムの異常はヒトの精神疾患と密接な関わりを持つことが古くから知られているため、CSマウスが精神疾患のモデルマウスとして有益と考えられました。そこでまず、情動性（不安）、活動性、記憶など様々な行動特性を調べ、動物モデルとしてのCSマウスの有用性を評価しました。その結果、抗うつ薬の反応性を調べるテストとして古くから用いられている強制水泳や尾懸垂テストにおいてCSマウスが顕著な異常を示すことを見出しました。強制水泳テストや尾懸垂テストは、それぞれ、マウスを水槽の中で短時間泳がせたり、尾を固定してぶら下げたりして行動を評価するものです。これらのテストを行うと、逃避行動が現れますが、しばらくすると逃避を放棄して無動状態（行動的絶望）になります。この無動状態に陥った時間がヒトにおけるうつ状態の程

度を反映するとされており、抗うつ薬を評価する1つのパラメーターとなっています。CSマウスでは、これらのテストを行ってもほとんど無動状態を示しませんでした。そこで、この行動に影響する遺伝子を特定することを目的として、遺伝解析を行いました。その結果、第5および第4染色体に責任遺伝子が存在することが分かりました。そのうちの一つの第5染色体上の責任遺伝子を明らかにするために、責任遺伝子近辺の染色体領域を様々な長さで含み、それら以外の染色体領域は全て正常なマウスと同一遺伝子組成を持つ17系統のマウス（コンジェニックマウスと呼ぶ）を育成し、正常マウスとコンジェニックマウスを比較することにより原因染色体領域を可能な限り絞り込みました。絞り込んだ領域には4個の遺伝子が存在していましたが、そのうちの一つの遺伝子 *Usp46* (Ubiquitin specific peptidase 46) に3塩基欠損（リシンをコード）の突然変異を見いだしました。突然変異が見つかったからと言って、この遺伝子が責任遺伝子と断定することは出来ません。そこで、正常な *Usp46* 遺伝子を突然変異マウスに遺伝子導入したマウスを作製し、証明実験を行いました。その結果、遺伝子導入マウスでは強制水泳及び尾懸垂テストいずれにおいても、無動時間が正常なレベルに回復しました。これらの結果から、*Usp46* がマウスの無動化を制御する遺伝子であると断定することが出来ました。

次に、*Usp46* が強制水泳や尾懸垂行動以外にどのような行動に影響を及ぼすかを調べたところ、巣作りの低下、抗うつ薬の反応性の低下、GABA 作動薬であるムシモール作用の低下、さらに、GABA 合成酵素である GAD67 の海馬⁵での減少が見られました。これらの異常は全て正常な *Usp46* を導入することにより回復しました。以上の結果から、*Usp46* の突然変異は、GABA 系に影響を与えることより無動時間を短縮していることが明らかになりました。

【成果の意義】

マウスの絶望行動に影響を与える遺伝子の発見は、ヒトの気分障害や統合失調症などの精神疾患の発症メカニズムの解明、新規治療薬の開発に繋がる可能性があります。*Usp46* の異常は GABA 合成酵素である GAD67 の免疫陽性細胞

を減少させますが、ヒトの統合失調症、双極性障害、自閉症などでも、同様に GAD67 が減少することが知られています。また、脱ユビキチン化酵素は、様々な生体機能を制御していると考えられますが、その詳細についてはほとんど分かっていません。従って、本研究の成果は脱ユビキチン化酵素の生理機能の解明に貢献できるものと思われます。

【用語説明】

(1) ユビキチン：76 個のアミノ酸からなるタンパク質で、標的タンパク質の修飾に用いられ、標的タンパク質を分解に導く目印として作用する。

(2) GABA：神経伝達物質の一つで、抑制性伝達物質として働く。

(3) 近交系マウス：全ての遺伝子座がホモ接合体になった個体群で、兄妹交配を 20 世代以上繰り返して育成する。ある近交系の全ての個体は同一の遺伝子組成を持つ。

(4) 概日リズム：約 24 時間の周期を示す内因性のリズム。体内時計により制御される。

(5) 海馬：脳の一領域。タツノオトシゴに似た形をしているのでこう呼ばれる。記憶に関連する領域。

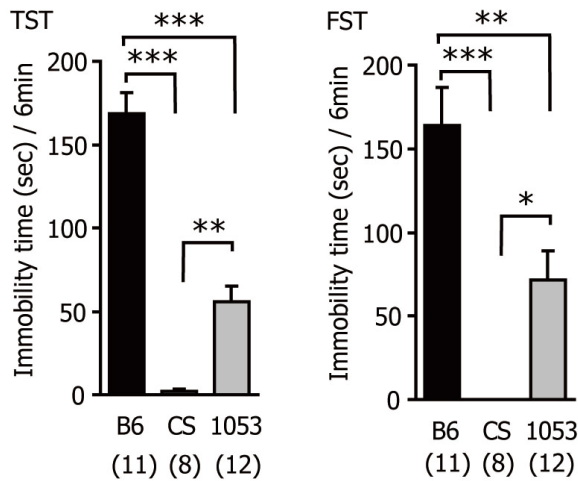
【論文名】

***Usp46* is a quantitative trait gene regulating mouse immobile behavior in the tail suspension and forced swimming tests**

Shigeru Tomida, Takayoshi Mamiya, Hirotake Sakamaki, Masami Miura, Toshihiko Aosaki, Masao Masuda, Minae Niwa, Tsutomu Kameyama, Junya Kobayashi, Yuka Iwaki, Saki Imai, Akira Ishikawa, Kuniya Abe, Takashi Yoshimura, Toshitaka Nabeshima & Shizufumi Ebihara

Nature Genetics **41**, 688 - 695 (2009) Published online: 24 May 2009 | doi:10.1038/ng.344

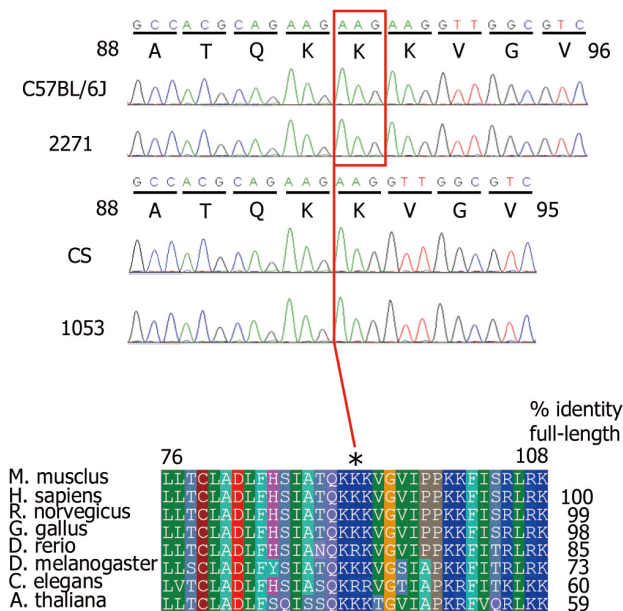
【説明図】



CS マウスはほとんど無動化しない。

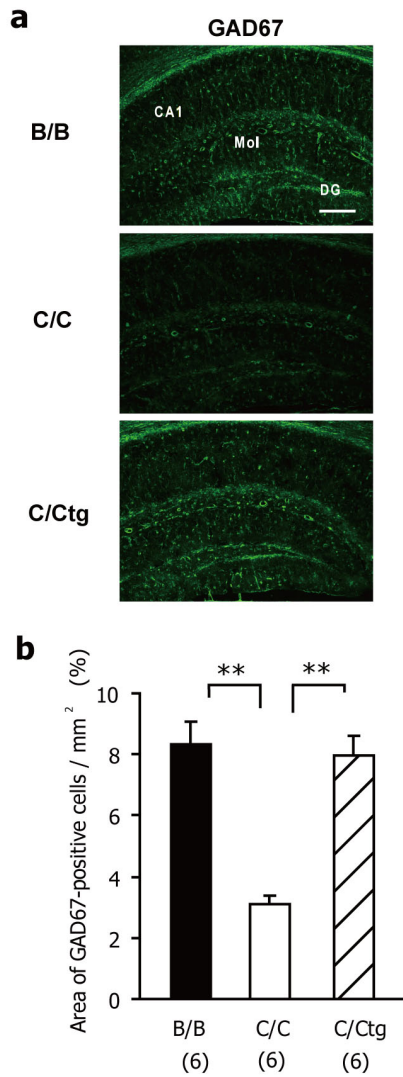
B6 は正常な C57BL/6J マウス、1053 は CS マウスの *Usp46* 遺伝子を持つコンジェニックマウス。1053 が CS よりも無動時間長いのは、CS が *Usp46* 以外にも無動時間を短くする遺伝子を持つため。縦軸は無動時間（秒 / 6 分）。TST : 尾懸垂テスト、FST : 強制水泳テスト。

左図 : *Nature Genetics* **41**, 688 - 695 (2009)より。



USP46 タンパク質のアミノ酸配列のうち K (リシン) が CS と 1053 で欠損している。下の図は、USP46 のアミノ酸配列。上から、マウス、ヒト、ラット、ニワトリ、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエ、線虫、シロイヌナズナ。アミノ酸配列の一致率が種を通して高い。

左図 : *Nature Genetics* **41**, 688 - 695 (2009)より。



上の写真は、GABA 合成酵素である GAD67 の発現を免疫組織化学法により染めたもの。海馬の領域を示す。B/B, C/C はそれぞれ、C57BL/6J, CS の *Usp46* 遺伝子をホモ型で持つマウス。C/C tg は、CS ホモ型の遺伝子に C57BL/6J の *Usp46* を遺伝子導入したマウス。下の図は、GAD67 陽性細胞の少ない C/C マウスの発現が、遺伝子導入により回復することを示す。

左図 : *Nature Genetics* **41**, 688 - 695 (2009)より。