

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	マウスの行動表現型解析をツールとした基礎・臨床医学研究との連携
別タイトル	74th Annual Meeting of the Medical Society of Toho University Project Special Lecture Collaboration with basic and clinical medical research using behavioral phenotyping for mice
作成者(著者)	高瀬, 堅吉
公開者	東邦大学医学会
発行日	2021.06.01
ISSN	00408670
掲載情報	東邦医学会雑誌. 68(2). p.36-39.
資料種別	学術雑誌論文
内容記述	総説 招聘講演(第74回東邦医学会総会)
著者版フラグ	publisher
JaLCDOI	info:doi/10.14994/tohoigaku.2021_010
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD21421349">https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD21421349</a>

## 総説

# マウスの行動表現型解析をツールとした 基礎・臨床医学研究との連携

高瀬 堅吉

自治医科大学医学部心理学研究室

**要約**：心理学者はこれまで、ヒトのモデルを提供するために動物を研究対象とし、その研究結果は様々な心理学的問題の理解と介入方法の開発に重要な役割を果たしてきた。本稿では、「マウスの行動表現型解析をツールとした基礎・臨床医学分野との共同研究」を紹介する。基礎医学分野との共同研究では、線維芽細胞において細胞増殖開始過程で誘導される分泌タンパク質として同定され、その後、免疫反応に関与することが明らかとなったST2を過剰発現するマウスを対象に行動表現型解析を行い、抑うつ行動にST2が関与する可能性を明らかにした。また、臨床医学分野との共同研究では、麻酔曝露後のC57BL/6J系統のマウスを対象に行動表現型解析を行い、イソフルランへの曝露がマウスの注意機能を障害すること、デスフルランへの曝露は運動協調機能に軽微な影響を与えることを明らかにした。これらの共同研究は、心理学と基礎・臨床医学研究との連携可能性を示すものである。

東邦医学会誌 68(2) : 36-39, 2021

**KEY WORDS** : behavioral phenotyping, ST2, anesthesia

## 1. はじめに

心理学者はこれまで動物の行動それ自体を研究するだけでなく、ヒトのモデルを提供するために動物を研究対象としてきた。実際、およそ7%の心理学研究で動物が使用され、そのうち95%がマウスやラットなどを対象とし、研究結果は、不安、ストレス、攻撃性、抑うつ、薬物嗜癖、摂食障害、過緊張、アルツハイマー型認知症など、様々な心理学的問題の理解と介入方法の開発に重要な役割を果たしてきた<sup>1)</sup>。これはマウスやラットの遺伝子、形態、生理、行動がヒトに類似する特長による。とりわけ、マウスは遺伝子改変技術が確立されており、遺伝子改変動物を用いた研究結果が豊富である。また、マウスの持つ遺伝子の約99%がヒトにおいて相同遺伝子として存在し<sup>2)</sup>、さらに近交系が確立されていることから、ヒトの行動異常を検討す

るモデル動物として特に優れている。さらに現在ではマウスの実験動物としての特長を理由に全ての遺伝子のノックアウトマウスを作製する国際プロジェクトも立ち上がり、それらを包括したInternational Knockout Mouse Consortium、さらに遺伝子改変マウスの表現型を網羅的に解析するInternational Mouse Phenotyping Consortiumが設立され、ヒトの行動異常への臨床還元を目的とした精力的な研究が進められている。このようなマウスやラットの行動研究では、これまで動物心理学分野で開発されてきた行動テストが利用されている。マウスやラットの各機能の測定に多く用いられる行動テストを表1に示した。ここで示したテスト以外にも行動テストは数多く存在し、現在、実施可能な行動テストの正確な数は把握できないほどである。本稿では、これらの行動テストを用いて行った「マウスの行動表現型解析をツールとした基礎・臨床医学分野との共

表1 マウスの各機能の測定に用いられる行動テスト

テスト名	測定される機能
神経学的反射テスト	神経系機能の状態
視覚的断崖テスト	視覚, 不安
視覚性前肢置き直しテスト	視覚
聴性驚愕反射テスト	聴覚
ブライエル驚愕反射テスト	聴覚
二瓶選択テスト	味覚, 無快楽症
嗅覚性馴化-脱馴化テスト	嗅覚
フォンフレイのフィラメントテスト	触覚
ホットプレートテスト	温痛覚
テイルフリックテスト	痛覚
ロータロッドテスト	運動協調機能, 運動学習
ビームテスト	運動協調機能, 運動学習
ワイアハンゲテスト	筋力, 運動協調機能
垂直棒テスト	筋力, 運動協調機能
オープンフィールドテスト	不安, 活動性
明暗選択テスト	不安
高架式十字迷路テスト	不安
社会的行動測定テスト	社交性
チューブテスト	攻撃性
性行動測定テスト	生殖機能 (性欲)
ブレパルス・インビジョンテスト	感覚運動関門 (注意機能)
潜在制止テスト	注意機能
風味嗜好伝達テスト	味覚及び嗅覚についての記憶
物体認識テスト	物体についての作業記憶
社会的再認テスト	他個体についての作業記憶
Y字迷路テスト	空間作業記憶
放射状迷路テスト	空間作業記憶, 空間参照記憶
モリス水迷路テスト	空間参照記憶
オペラント条件づけテスト	オペラント学習
文脈/手掛かり恐怖条件づけテスト	手掛かり情動記憶/文脈情動記憶
受動的回避学習テスト	情動記憶
条件性味覚嫌悪テスト	味覚についての文脈情動記憶
ポーソルト強制水泳テスト	抑うつ気分
尾懸垂テスト	抑うつ気分

同研究」を紹介し、「心理学と基礎・臨床医学研究との連携可能性」について述べる。

## 2. 基礎医学分野との共同研究

古典的な精神神経免疫学の研究では、細胞性免疫と液性免疫の両方が気分障害に関わることが報告されてきた。しかし、そのメカニズムはいまだ解明されていない点が多い。ST2は自治医科大学の富永眞一博士が、線維芽細胞において細胞増殖開始過程で誘導される分泌タンパク質として同定し、その後、同大学の柳澤健博士との共同研究を通じて膜貫通型の受容体構造をもつST2Lのクローニングに至った。ST2とST2Lはインターロイキン(IL)-1受容体に類似の構造をもつことから、免疫反応に関与することが予想されたが、そのリガンドは不明であった。2005年に

IL-33がST2Lのリガンドであることが報告され、現在ではST2LがIL-33受容体として種々の免疫応答に関与し、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、乾癬の病態に関与することが明らかになっている。また、これまでの研究から、ST2はマクロファージでのIL-33誘導性のIL-6およびTNF- $\alpha$ 産生と、2型自然リンパ球でのIL-33誘導性のIL-5およびIL-13産生を低下させることも報告されている。さらにST2は、精神神経疾患の患者の血清において濃度の上昇が報告されており、行動表現型におけるST2の病態生理学的役割が注目されている。しかしながら、ST2と前述の気分障害との関係はいまだ明らかにされていない。そこで、ST2を全身性に過剰発現させたトランスジェニックマウスを利用して、幅広く行動表現型解析を行うこととした。

ST2 過剰発現マウス (ST2Tg マウス) は、はじめに C3H/HeJ を遺伝的背景として作製された。その後、BALB/c の遺伝的背景に交配した ST2Tg マウスを作製し、これを実験に使用した。行動表現型解析を開始する前に、全身の観察および神経学的反射試験のために、各マウスを清潔なケージで観察した。続く実験 I では、包括的な行動表現型解析を実施して、感覚運動機能、不安様行動、うつ病様行動、社会的行動、学習および記憶機能における ST2 の役割を検討した。実験 II では、うつ病様行動に対する ST2 の役割を確認するために、二瓶選択テスト、強制水泳テストおよび尾懸垂テストから構成されるうつ病テストバッテリーを実施した。全身の観察から ST2Tg マウスの健康状態が概ね良好であることが示され、さらに、すべてのマウスの神経学的反射は正常であった。しかしながら、ST2 の過剰発現は、マウスの社会的相互作用を低下させることが、包括的な行動表現型解析から明らかとなった。そして、2つの確立された行動パラダイムである強制水泳テストと尾懸垂テストの結果から、ST2Tg マウスにうつ病様行動が認められた。一方、ショ糖に対する快樂反応は、野生型マウスと同様に ST2Tg マウスでも観察された。これらの結果は、ST2Tg マウスがヒトの大うつ病に近い状態であることを示唆している。一連の実験を通じて、精神神経疾患における ST2 の役割を評価するための動物モデルを確立することに成功し、抑うつ行動への ST2 の関与を明らかにした<sup>3)</sup>。

### 3. 臨床医学分野との共同研究

麻酔薬は、鎮静作用を有するという臨床的利点だけでなく、認知機能低下などの有害な副作用があることが知られている。これまで、横浜市立大学の後藤隆久博士は、麻酔薬が学習・記憶機能に与える影響を、行動学、電気生理学、生化学的解析を統合した手法で検討し、吸入麻酔薬であるイソフルランが AMPA 受容体のシナプスへの移行阻害を通じて学習・記憶機能を低下させることを、ラットを対象とした実験で明らかにした。この結果は、術後認知機能障害の原因となる分子機構の一端を示唆する知見である。麻酔薬が学習・記憶機能へ与える影響は国外の他の研究グループでも検討され、ミダゾラムを、不快情動体験を想起した直後に導入すると、記憶の再固定化を阻害して不快情動体験想起に伴う自律神経反応が消去されることが、ラットを対象とした実験から明らかにされている。通常、麻酔薬は手術時に患者を鎮静することのみを目的に使用されている。しかし、麻酔薬の作用は単純な鎮静にとどまらず、昨今の動物実験から認知機能に及ぼす影響が確認されている。そして、文脈を違えれば、このような麻酔薬の副作用は、臨床応用可能性を備えた主作用に転じる可能性を有している。例えば、麻酔薬は神経細胞の活動性を抑制するた

め、前述の通り、不快情動体験の想起に伴う過剰な自律神経反応を抑制する可能性が示唆されている。本研究は麻酔薬が持つ潜在的な複数の作用に着目し、麻酔薬を経験したマウスに網羅的行動テストバッテリーを課して、麻酔薬が脳機能に与える影響を網羅的に検討することで、当該薬剤の新たな作用を解明することとした。

既に報告されている網羅的行動テストバッテリーはマウスを対象としている。また、網羅的行動テストバッテリーは、一個体に複数の行動テストを課すため、先行するテスト経験が後続のテストの成績に与える影響(持ち越し効果)が懸念されるが、マウスを対象とした既存の網羅的行動テストバッテリーは、この持ち越し効果が認められないよう、テストの順番やテスト間隔が詳細に検討されている。本研究では研究遂行の迅速化を図るため、従来のラットを対象とした実験からマウスを対象とした実験に切り換え、さらに既存の網羅的行動テストバッテリーを行動ドメインごとに分割することで麻酔薬の潜在的作用を詳細に検討した。

C57BL/6J 系統のマウスを対象として網羅的に7つの行動テストバッテリーを行った結果、イソフルランへの曝露はマウスの注意機能を障害するが<sup>4)</sup>、同じハロゲン化麻酔薬でもデスフルランへの曝露は、運動協調機能に軽微な影響を与えることが示された<sup>5)</sup>。一方、セボフルランへの曝露では、イソフルラン、デスフルランとは、まったく異なる作用が認められている(未発表データ)。

### 4. おわりに

ヒトを対象とした研究では相関関係を示すことは可能だが、因果関係を示すことは困難である。これを補完する形で動物を対象とした実験は存在する。しかし、マウスやラットで展開される行動実験はヒトのそれとは本質的に異なり、必ずしも有用な結果を生み出していない。そこで、より高次の機能を評価可能な霊長類も含めて、ヒトと霊長類とマウスやラットをつなぐ行動指標(トランスレータブル行動指標)の開発が行動異常の介入法開発の加速化に際して求められている。このような背景から、当研究室では表1の行動テストを活用して、基礎・臨床医学分野との共同研究を進めるだけでなく、トランスレータブル行動指標の開発をはじめとして、モデル動物の有用性を拡充する方法論の開発にも取り組んでいる。今後は、心理学の研究手法が基礎・臨床医学分野との共同研究において、ますます活用されることが期待される。

**Conflicts of interest** : 本稿作成に当たり、開示すべき conflict of interest (COI) は存在しない。

## 文 献

- 1) Carroll ME, Overmier JB, editors. *Animal research and human health: Advancing human welfare through behavioral science*. 2001. Washington, DC, American Psychological Association.
- 2) Brown SDM, Hancock JM. The mouse genome. In: J.N Volff, editors. *Vertebrate Genomes*. Basel, S Karger AG, 2006. p. 33-45.
- 3) Kikuchi M, Takase K, Hayakawa M, Hayakawa J, Tominaga SI, Ohmori T. Altered behavior in mice overexpressing soluble ST2. *Mol Brain*. 2020; 13: 74.
- 4) Yonezaki K, Uchimoto K, Miyazaki T, Asakura A, Kobayashi A, Takase K, Goto T. Postanesthetic Effects of Isoflurane on Behavioral Phenotypes of Adult Male C57BL/6J Mice. *PLoS one*. 2015; 10: e0122118.
- 5) Niikura R, Miyazaki T, Yonezaki K, Uchimoto K, Takase K, Goto T. Exploratory analyses of postanesthetic effects of desflurane using behavioral test battery of mice. *Behavioural Pharmacology*. 2020; 31: 597-609.