

特集：広汎性発達障害の神経生物学的機序と治療

111-117

CD38 によるオキシトシンを介したマウスの社会認知行動の研究

東田 陽博, 劉 鴻翔, ロパティナ オルガ*

Key words : CD38, oxytocin, social recognition, nurturing behavior, developmental disorder, mouse

1. はじめに

他人を識別し認知記憶し社会生活を行えるヒトの社会性能力を生物学的に研究することは新しい分野である。15年ほど前から平原ハタネズミ (Prairie vole) が一夫一婦制 (Monogamy) をとり、相手 (妻) とそうでないメスを識別し、同じ巣の中で家族を形成して過ごし、オスも子育てに参加する点が注目され始めた。一方、同種でも、モンタナハタネズミ (Montane vole) は一夫一婦制をとらない。この行動学的な違いをもとに研究が進み、平原ハタネズミは他方に比べ血中や脳中のオキシトシンやバゾプレシン濃度が高く、視床下部等に発現しているそれらの受容体数が多いことが知られるようになった。オキシトシンやバゾプレシンといったペプチドホルモンが社会認知や社会行動に関係があることが指摘されるようになった¹⁾。

さらに、2005年、スイスのKosfeldらにより、健康成人男性へのオキシトシン投与により、「他者への信頼」が増加するという論文が発表された²⁾。このような流れから、信頼・愛着・絆に基づいて

行われる政治や経済を含めた人の行動や社会全体の活動の基盤にオキシトシンやバゾプレシンが重要な役割を果たしていることが知られるようになった³⁾。信頼の神経科学は、経済・政治のみならず、哲学倫理・宗教にまでも影響を持つことが議論されだしたので^{3) 4)}、我々の白ネズミの結果と合わせて解説する。

2. マウスの社会認知行動研究

マウスなどを使い、メスが知り合いのオスと初めて出会うオスとどちらに長く寄り添うかや、オスのメスの尾部への調査時間などで相手の認識度や愛着を行動学的に観察でき、それが、扁桃体を中心とする「社会脳」と呼ばれる脳領域の機能を推測できることが確立されてきた^{1) 5)}。また、子育て行動として仔を腹に抱えて体温を保つこと、授乳、尾部をなめてきれいにすること、仔が巣から離れた場合に子どもを元の巣に運ぶ行動などを指標にペア間、親子間での養育・愛着が研究されるようになった。それだけであれば、実験動物の行動の科学にとどまったのが、ノックアウトマウスにより、一分子 (例えば、オキシトシン遺伝

CD38-dependent and oxytocin-mediated social recognition and behavior in mice

* 金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻脳細胞遺伝子学研究分野 [〒920-8640 石川県金沢市宝町13-1] Haruhiro Higashida, Xiang-Hoan Liu, Olga Lopatina : Department of Biophysical Genetics, Kanazawa University Graduate School of Medicine, 13-1, Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa, 920-8640 Japan

子ノックアウトやオキシトシン受容体ノックアウトマウスに、ウイルスベクターを使って受容体遺伝子の再発現などの研究を行った。)の操作による社会行動の変化が観察できるようになった。それにより、人々は行動の基盤となる分子が存在することを信じざるを得なくなった。

2000年、インゼルらは、オキシトシン遺伝子をノックアウトマウスは、相手を認識し記憶していないことを示すデータを発表した⁵⁾。彼らの実験は、まず、別々のケージで飼い、一度も出会ったことのないオスとメスのマウスを用意し、次に、両者を同一ケージに1分間移した(このときオスとメスは初対面である)。そして、再びオスとメスを引き離して別々のケージで10分間孤立させるといふ出会いの作業を計4回繰り返した。初めてペアであれば、野生型のオスはメスに近づき、相手を調査認識するため、40秒以上臭いを嗅ぎまわりますが、回数を重ねるに従いこの調査時間は減少する。4回目には同じメスだということがすぐに分かるので10秒程度しか調査行動を示さなかった。しかし5回目に別のメスを同じケージに入れると再び長時間の調査行動を行った。これで同一のペアに対する記憶が関与していることがわかる。これに対し、オキシトシン欠損オスマウスでは、第1回目に40秒程度メスの臭いを嗅ぐのは野生型と同じであるが、2回目以降も調査時間が減少することはなく、5回目に別のメスを提示しても調査時間に変わりがなかった。このことから、オキシトシン欠損マウスでは、相手の認識記憶を忘却していると解釈された。東北大学の西森らによって、オキシトシン受容体欠損マウスでも同様のことが生じ⁶⁾、バゾプレシン受容体欠損マウスでも示された⁷⁾。

3. 社会認識行動の生物学基盤研究の必要性

数年前に、長崎で小学生の女兒が同級生の女兒を教室内でナイフで刺殺するという事件が起こった。当時、このような低年齢で女性で、学校という場所で、しかも友達という人間関係の中でなぜそのような触法行為に至ったか人々は理解できず、非常に特別な事件と考えられた。しかし、そ

れ以後、いじめや嫌な体験を要因と考えられる事件が続くようになり、最近では、小泉某が、30年も前に自分のペットを保健所の人により連れ去られたことで、厚生労働省関係者にその恨みを晴らすといった事件があった。それらの背景には共通の社会病理、個人病理が存在することに気づくことになった。対人関係に不安定さを持つ人やフラッシュバックと呼ばれる記憶の繰り返し想起と、想起による古い体験にも関わらず新たな体験となる人達が存在し、不幸にもその人達が思いがけない事件を引き起こしたとも理解できる。

自閉症は、知能レベルが少し低く(IQが70前後で)、こだわりとコミュニケーションができず、社会生活の難しいことを主症状とする病気である。社会認識の記憶のできないことが主因の病気であると考えられる。さらに加えて、IQが低くなく言葉の遅れのない高機能自閉症あるいは、アスペルガー症候群と呼ばれる人達や「性格が頑固である」「身勝手が過ぎる」「変人」や俗に「モンスター」と呼ばれる一群の人々も存在し、現在では自閉症圏病(Autism Spectrum Disorder)と呼ばれるようになった。そして、現在の統計として、世界的には100人に0.6人発病していると言われ、決して稀ではない。日本では100人に1人、最多の数としては名古屋市での調査で3人とまで言われている⁸⁾。「相手を認識し信頼し、愛し、より良い対人関係、家族関係、社会性を身につけるとはどういうことなのか？」普通に行い行われてきたことを新たに思考・研究する必要がある社会状況が出現している。最近、その背景の「相手を信頼し、愛し、絆を持つ」、また、その逆としての「無関心、裏切り、憎しみ、虐待」の生物学的な基盤が見えてきた。

4. オキシトシンとバゾプレシン

オキシトシンとバゾプレシンは9ケのアミノ酸からなるペプチドホルモンで、2ケのアミノ酸しか変わらない。オランダのE. Scharrerらによって、これらのペプチドが視床下部神経で合成され、軸索を下降して下垂体後葉の神経終末から血中に分泌される「神経分泌」という概念が打ち立てられ

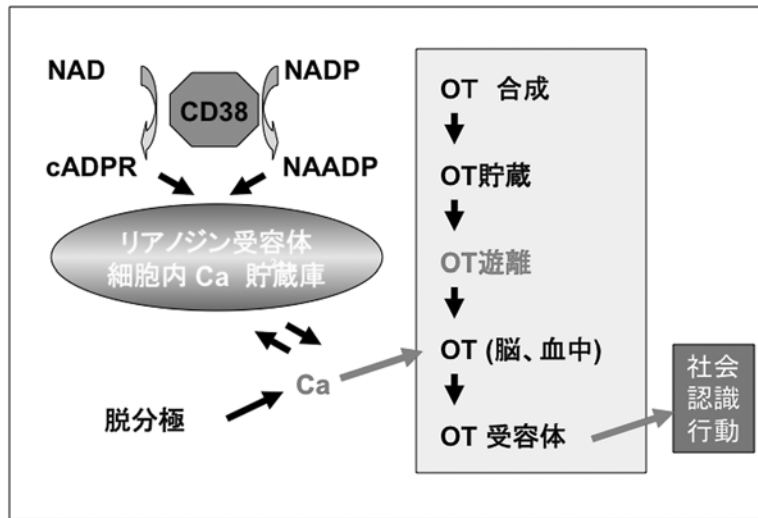


図1 カルシウム増幅によるオキシトシン遊離モデル

た。最近オキシトシンは、細胞体や樹状突起から脳内へも分泌されることが注目されている。ホルモンや神経伝達物質の分泌は、脱分極によるCaの流入による細胞内Ca上昇が契機となって脱分極—分泌連関という生理学上の一つの法則に従って分泌される。しかし、オキシトシンの脳内の分泌には、細胞体の神経興奮が必ず必要ではないことが示され、特殊な分泌であると指摘された⁹⁾。我々はこのパラドックスに対してCD38という分子が関与していることを示した(図1)。すなわち、CD38はTやB細胞表面に発現している。白血球性慢性白血病の悪性度を増強することが知られており、HIV感染のマーカーとして使われている、膜を1回貫通する構造を持つ2型のタンパク質である¹⁰⁾。CD38は2量体で存在すると考えられており、C末側の可容分画は細胞外に突出し、また、内向きにも存在していると考えられている。L字型ドメインに挟まれた部分にNADが結合する。そして、ニコチンアミドの放出とアデニンとリボース間の脱水素反応で環化を生じる。ADPリボシルシクラーゼ活性を持つ。産物のサイクリックADPリボース(cADPR)は、同じCD38で開環化され、ADPリボースが作られる。一方、NADから直接ADPリボースを作るADPグルコオキシダーゼ活性も有する。更に最近、低pH条

件下(リソゾームの中)では、NADPからニコチン酸ADP(NAADP)を作ることも示されるなど多機能分子である。この分子により生成されたcADPRが細胞内リアノジン受容体に働き、小胞に蓄えられていたCaを細胞質へ放出することによるCa上昇がオキシトシン分泌を行うという仮説を世界で初めて提唱した。

5. CD38の機能を知るための CD38欠損マウスでの観察

1. メスのCD38欠損マウスの養育行動障害

CD38欠損マウス(東北大学岡本宏教授らが作出¹¹⁾)は多動であり、不安を感じていないと思われる(文献12の別添図2, 3)¹²⁾。

ホームケージ内で母仔分離というストレスを与えると母親の仔を育てる養育行動に一過性の異常が認められた(文献12の図1)。母マウスをケージ(ホームケージ内)の一つの隅に置き、乳幼仔5匹を別の隅に置いた。野生型ではすぐに子どもに近づき、口でくわえて自分がいた隅(巣)に運び自分の体で温め保護した。これに対しCD38の欠損した母マウスはすぐに行動を起こさず、子どもにも不規則に近づいては離れたり、関心がないように振舞った。子どもを巣に集めようとする時で

も、途中で子どもを落とすなど、行動は途絶えがちで、野生型とは明らかに違う行動を示した。巣の記憶が無いのか、あるいは仔育てに集中していないで、一見、仔育て中のわが子をネグレクトするような行動結果であった。勿論、ストレスのない自分のホームケージ内では、最終的には、分離した仔を巣に戻し授乳養育し子どもはほぼ正常に成長した（文献 12, 別添図 3）。

2. オス CD38 欠損マウスの社会認識記憶喪失

5 回目に別のメスを提示を含めて、CD38 欠損オスマウスは、野生型と同じく第 1 回目に 50 秒程メスの臭いを嗅ぐ。2 回目以降調査時間が減少することはなかった。このオスはメスを執拗に追いかけて回すことから、一見、ストーカー的行動に出ていると言える。オス CD38 欠損マウスは飲料水に混ぜた薬物の臭いや味を識別できたことや電気ショックによる痛みを学習記憶させた受動回避実験の学習能力は正常であった。また、オキシトシンの皮下投与や CD38 の脳内限定発現により行動異常は修復された。このことから CD38 欠損マウスは、オキシトシンあるいはその受容体欠損マウスと同様な社会認識記憶の喪失があると結論づけた¹²⁾。

3. CD38 欠損マウスの血中および脳脊髄液中の低オキシトシン濃度

CD38 がオキシトシンの分泌に影響していると考えられたので、CD38 欠損マウスのオキシトシン濃度を調べた。血中および脳脊髄液の両方とも野生型の約半分程度しかなかった（文献 12 の図 3a-d）。逆に、オキシトシン産生を行う視床下部と血中への放出をする下垂体後葉のオキシトシン含量は増加していた。電子顕微鏡観察では、CD38 欠損マウス下垂体後葉の軸索終末内部に高密度にオキシトシン分泌顆粒が集積していたことから、合成は正常で分泌が障害されていると考えられた。オキシトシンの皮下注射により、脳脊髄液中のオキシトシンは増加することを確認したので、皮下注射後、CD38 欠損マウスオスの回復した行動異常はオキシトシンの脳内濃度上昇によると考えられた。

単離した視床下部神経細胞またはその軸索末端を用いた実験で、ノックアウトマウスの細胞では、細胞外からの脱分極に伴う Ca^{2+} 流入の後、cADPR・リアノジン受容体からの Ca 放出がないため、上昇が低く抑えられていた。これが、オキシトシン分泌低下の原因でないかと考えられた。

4. 新生仔の行動

発達障害のモデルとしては、発達期の CD38 欠損マウスの行動を観察することこそ大切であるので、新生仔の行動を観察した¹³⁾。1 匹の子どもを皿中央におき、移動する量を 2mm 間隔のグリッドを横切る数で定量した。その結果、3 分間に横切るグリッド数が欠損マウスで増加していた。また、四隅においた仔マウスの中央への移動による 4 匹で構成される面積で測定するというやり方で移動度を計時的に測定したところ、欠損マウスの方が面積がより小さかった（よく動いた）。

母子分離をすると仔マウスは超音波で音声を出すことが知られている。そこで、マイクロフォンの下に分離して置いて、仔マウスからの超音波を測定した。超音波の特性に、野生型と欠損マウスでは差は見られなかったが、超音波の発生数は低下していた。すなわち、CD38 欠損マウスは、野生型のように、声により母親を求めるというよりも行動していたと言える。母親を求めているかどうかは判らない。ここで、オキシトシン系信号上の CD38 欠損マウスと、オキシトシン欠損マウスと、オキシトシン受容体欠損マウスの 3 種を比較すると、CD38 欠損マウスは他の 2 種類と同じ性質を示すが、その表現型が強いことがわかった（表 1）。そこで、次にこの点について検討することにした。期待通り、CD38 の酵素的活性は生後直後から減少していた。完全にゼロでないことは cADPR を作る酵素が CD38 以外にも依存することを示唆していた。続いて、血中オキシトシン濃度を測定したところ、驚いたことに、野生型 CD38 欠損マウス両方において、生後 3 週間齢まで変わらなかった。そして、生まれて 4 週間経ち、離乳させた途端、有意な血中オキシトシンの低下が観察されるようになった（図 2）。この現象は、授乳中の仔マウスは、外部からオキシトシンを受

表1 オキシトシン信号系のノックアウトマウスの子ども間の比較

	ノックアウトされた遺伝子の種類		
	オキシトシン	オキシトシン受容体	CD38
発声数	- 80 %	- 95 %	- 38 %
動き	-	+ 500 %	+ 161 %

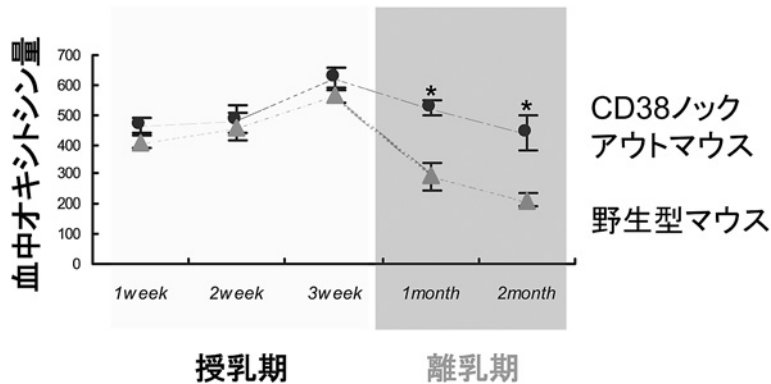


図2 CD38の野生型とノックアウトマウスのオキシトシン血中濃度の発達に伴う変化

けているとしか考えられず、唯一の外からの源としては母乳しか考えられなかった。そこで、仔マウスの食道、胃に残されているミルクかすを集め、そこにオキシトシンがどの程度含まれているかを検査した。結果は、野生型、欠損型両方に含まれていた。

以上の測定結果は、欠損型の新生仔期のマウスの社会行動異常がオキシトシンやその受容体欠損マウスに比較して軽微であったことをよく説明する。

6. ヒトを対象とする信頼の研究

オキシトシンの投与により、人は信頼を増すという衝撃的な結果が2005年前後から出されるようになった。スイス工科の健康な男子学生200人弱を点鼻薬の形状を持つオキシトシン投与と偽薬投与群に分けた。どちらも、ゲームの理論に基づいた実験を行った²⁾。ゲームの中のお金を持つ投資家と、お金を運用する立場の信託者に分け、そ

れぞれ異なる利殖率による返金を受けるゲームを行った。その結果、要点はオキシトシン投与群では、相手を信頼・信用し、全額に近いお金を運用に預ける傾向があるという結果であった。更に最近、同じグループは、ゲームの途中で返金する自由度を得た信託者が、運用益からお金を全く返さない場合も含め、投資家と信託者の間にコミュニケーションを設け、返金がない状態もあることを知らせると、偽薬投与群では、コミュニケーションがあった後では信用しなくなり、投資額の減少がみられたと報告した¹⁴⁾。一方、オキシトシン投与群では、その投資額に変化はなかった。また、ギャンブルとしてのゲームの場合は、偽薬オキシトシン投与両群に、その途中課程のコミュニケーション前後にも、投資額の変化がないという結果を示した¹⁴⁾。結局、社会関係の成り立った投資ゲームにおいて、オキシトシンは、信頼・信用を持ち続けるという結果を示した^{2) 4)}。更に、fNMRによる機能的脳測定によって、扁桃体、中脳、において、オキシトシン投与群でコミュニケーショ

社会認識生物学： 「社会認識・社会行動」分子の神経科学

発達障害を持つ子どもには、「人を認識し記憶し信頼する能力」が希薄になっていると考えられる

人と人にある信頼・愛着・絆の生物学的基礎を解明することで、いま、「子どものこころのひずみ」を科学的に明らかにし、克服への手がかりを得る学問領域を開拓推進する

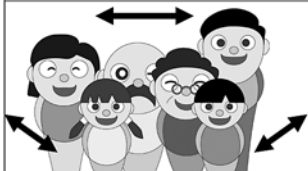
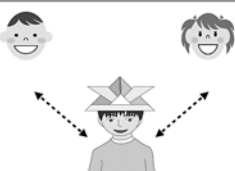
	健常者	発達障害者
		
社会認識分子	正常量 機能している	少ない 機能しない

図3 新しい「社会認識・社会行動」の分子神経科学

ン後、血流（脳活動）の増加（興奮）でなく低下（平静を保つこと）がみられた¹⁴⁾。このようなヒトで恐怖に関与すると考えられる脳部位での活動測定から、オキシトシンが‘先に対する不安や恐怖’を増加させない効果があると考えられた。

7. おわりに

CD38が、オキシトシンの遊離に必要であることを見出した（図1）。すなわちCD38の持つ、リアノジンCaシグナルのセカンドメッセンジャーであるcADPRを産成する能力による分泌過程が、オキシトシン作用に深く関わっていることを示した。人と人の中に形成される信頼や愛、絆、あるいは人間の活動（家庭、社会、経済、政治、宗教までも）の生物学基盤にオキシトシンが重要であることが信じられるようになった^{1) 4)}。また、不信を生じる分子としてジヒドロテストステロンが候補に挙がっている³⁾。「子どものこころのひず

み」研究の中で、人と人の相互間の信頼研究という新しい神経科学領域が広がってきた（図3）。この分子と脳機能をイメージとして見る成果は、哲学者にも影響を与えている⁴⁾。今、広く社会問題化している、ひきこもり、虐待、自閉症などを含む発達障害の理解とその解決が、このような研究の中から開けてくると信じている。

文 献

- 1) Donaldson ZR, Young LJ (2008) Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science* 322 : 900-904.
- 2) Kosfeld M, Heinrichs M, Zak PJ, et al (2005) Oxytocin increases trust in humans. *Nature* 435 : 673-676.
- 3) Zak PJ (2008) The neurobiology of trust. *Sci Am* 298 : 88-92, 95.
- 4) Churchland PS (2008) The impact of neuroscience on philosophy. *Neuron* 60 : 409-411.
- 5) Ferguson JN, Young LJ, Hearn EF, et al (2000)

- Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nat Genet*, 25 : 284-288.
- 6) Takayanagi Y, Yoshida M, Bielsky IF, et al (2005) Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102 : 16096-16101.
 - 7) Storm EE, Tecott LH (2005) Social circuits: peptidergic regulation of mammalian social behavior. *Neuron* 47 : 483-486.
 - 8) Sumi S, Taniai H, Miyachi T, et al (2006) Sibling risk of pervasive developmental disorder estimated by means of an epidemiologic survey in Nagoya, Japan. *J Hum Genet* 51 : 518-522.
 - 9) Ludwig M, Leng G (2006) Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat Rev Neurosci* 7 : 126-136.
 - 10) Malavasi F, Deaglio S, Funaro A, et al (2008) Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. *Physiol Rev* 88 : 841-886.
 - 11) Kato I, Yamamoto Y, Fujimura M, et al (1999) CD38 disruption impairs glucose-induced increases in cyclic ADP-ribose, $[Ca^{2+}]_i$, and insulin secretion. *J Biol Chem* 274 : 1869-1872.
 - 12) Jin D, Liu HX, Hirai H, et al (2007) CD38 is critical for social behaviour by regulating oxytocin secretion. *Nature* 446 : 41-45.
 - 13) Liu HX, Lopatina O, Higashida C, et al (2008) Locomotor activity, ultrasonic vocalization and oxytocin levels in infant CD38 knockout mice. *Neurosci Lett* 448 : 67-70.
 - 14) Baumgartner T, Heinrichs M, Vonlanthen A, et al (2008) Oxytocin shapes the neural circuitry of trust and trust adaptation in humans. *Neuron* 58 : 639-650.