

トピックス

リコンビナント・インブリード系統マウスを用いた2型糖尿病原因遺伝子の探索

名古屋大学大学院生命農学研究科応用分子生命科学

小林 美里, 井尾 房代, 河合 隆博, 堀尾 文彦

名古屋大学大学院医学系研究科附属動物実験施設

大野 民生, 西村 正彦

はじめに

日本人のエネルギー摂取に占める脂肪由来のエネルギー比は増加しており, この増加が肥満やインスリン抵抗性を引き起こし, 糖尿病患者の増加へと導いていることが推定されている。脂肪摂取の過多は現代社会の食生活における改善すべき大きな課題である。しかしながら, わが国で糖尿病患者の90~95%を占めている2型糖尿病は, 遺伝的素因を背景に脂肪摂取の過剰ばかりでなく過食, ストレス, 運動不足といったさまざまな環境因子が加わって発症する極めて複雑な多因子疾患である。それゆえ, 2型糖尿病の原因遺伝子の探索には, 遺伝的に均一な集団を得ることができ, 環境因子を均一に制御することが可能な自然発症モデルマウスおよびラットの交雑系を用いた遺伝解析が有効である。その遺伝解析法として, QTL(Quantitative trait loci: 量的形質遺伝子座)解析が盛んに用いられている。量的形質(Quantitative trait)とは, 体重, 血糖値などの数量化可能な値をとる形質であり, QTL解析はその形質の数値そのものに統計的に有意な連鎖を示す遺伝子座位を連鎖解析法により探索する方法である。すなわち, この解析はある病態に連鎖する遺伝子の位置情報を得る方

法であり, これまでその病態への関与が全く想像されていなかった遺伝子であっても原因遺伝子としての同定へと導くことが可能である。われわれが行なっているリコンビナント・インブリード(RI)系統マウスを用いたQTL解析による糖尿病遺伝子座の解析結果を紹介する。

1. 19種のSMXA RI系統を用いた糖尿病および肥満形質を支配する遺伝子座の染色体マッピング

2型糖尿病のモデル動物を用いたQTL解析は, ラットではGK, OLETF, SDT, そしてマウスではKK, KK-Ay, NSY, NZO, TSOD, THなどで行われている¹⁻⁹⁾。このなかのGKとSDTラット以外はすべてが肥満を呈するモデルである。これらのモデルの糖尿病は単一遺伝子の支配ではなく, 多数の遺伝子に支配されていることからヒトの2型糖尿病の発症機構の解明に適したモデルであると考えられる。それぞれのモデルでのQTL解析から, 染色体上に多数の糖尿病遺伝子座が報告されており, その遺伝子座に存在する糖尿病遺伝子の探索が進められている。われわれは, 糖尿病を発症する一系統を用いるのではなく, 効率的な遺伝解析に最適なSMXA RI系

統群¹⁰⁾を用いて糖尿病遺伝子座のマッピングを行った。RI系統は2つの近交系統間のF2世代を出発点として兄妹交配を20代繰り返すことにより作出された近交系統のセットである(図1)。一般に, RI系統群は10~30以上の系統が存在し, セットとして使用されることにより, 単一遺伝子によるものだけでなく多数の遺伝子によって発症する疾患の原因遺伝子の同定にも有効である。各RI系統は親系統の染色体断片をさまざまな組み合わせでホモ接合体として保有しており, 各染色体の特定の部位が両親系統のどちらに由来しているのかを示すSDP(strain distribution pattern)表が公表されている¹¹⁾。RI系統の利用者は, このSDP表を利用することにより遺伝子型の決定という多大な労力を要することなく, ある表現型を規定する遺伝子座の染色体マッピングを容易に行うことが可能である。現在, SMXA RI系統については染色体の1085カ所について, どちらの親系統のアレルを有しているかが明らかにされ, 非常に充実したSDPが作製されている¹²⁾。SMXA RI系統群のうち入手可能な19系統を用いて, 基本的組成の準精製飼料摂取下で血糖値と耐糖能および肥満度を調べた。肥満度の系統間分布を図2に示した。耐糖能とは糖負荷後の血糖推移を示し, 負荷により上昇した血糖値が2時間後にはどこまで低下するのかわかると糖代謝能力を推し測ることができ, ヒトの糖尿病診断における重要な指標である。各RI系統の肥満, 糖尿病形質値とSDP表を用いてQTL解析を行った結果, 2, 6, 10, 18番染色体上に血糖値と耐糖能, 6番染色体上に肥満度を規定する遺伝子座を検出した。2, 6, 18番染色体の遺伝子座に関してはA/J系統由来のものが, 10番

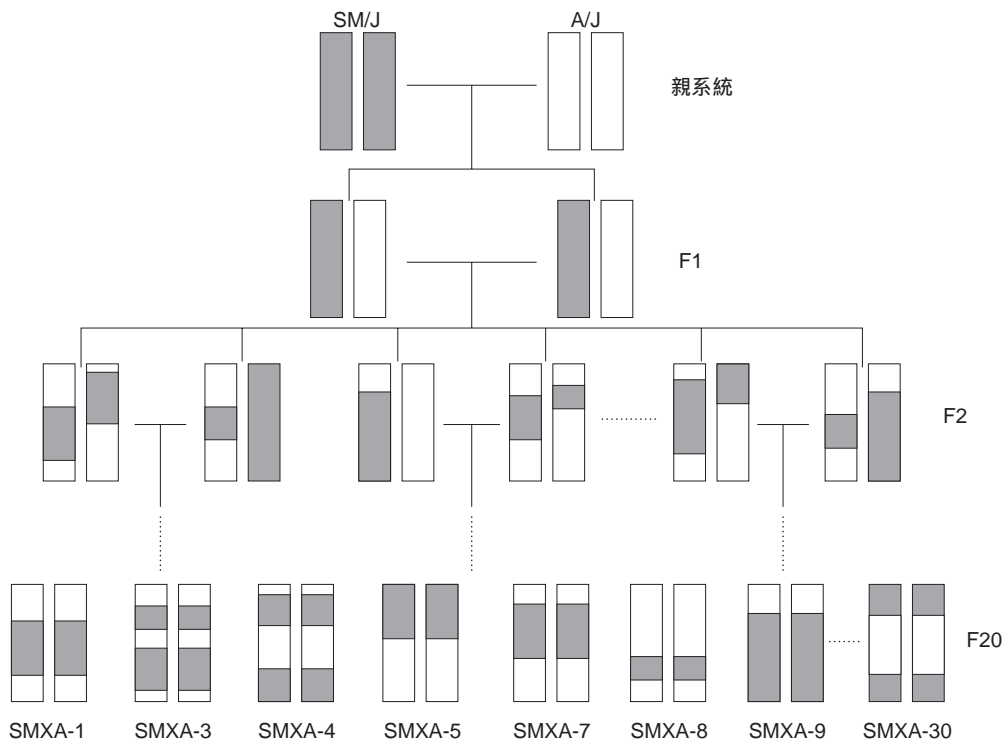


図1 SMXAリコンビナント・インブリード系統
 SM/JとA/J系統の交配から作製された各系統の染色体は、親系統の染色体断片をホモにさまざまな組み合わせで持っている。

染色体の遺伝子座ではSM/J系統由来のものが糖尿病の顕在化あるいは肥満度を上昇させた¹³⁾。この結果は、非糖尿病系統である親系統(SM/J, A/J)にも糖尿病原因遺伝子が潜在しており、それらの組み合わせによって糖尿病が発症することを示し、ヒトの2型糖尿病の発症様式をよく反映していると考えている。さらに肥満についてもSM/J, A/Jともに肥満系統ではないが、RI系統のなかには図2に示すように明らかな肥満を呈する系統が存在し、親系統の遺伝子の組み合わせで肥満が起こることが示された。

2. 高脂肪食負荷時の2型糖尿病遺伝子の交雑系を用いた解析

われわれはSMXA RI系統のなかに、高脂肪食の負荷により糖尿病が顕在化

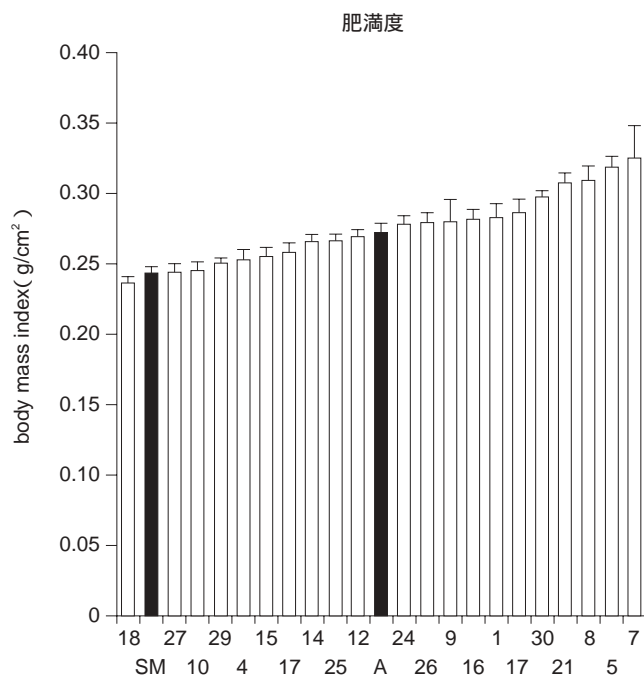


図2 SMXA RI系統群での肥満度の分布

し、肥満感受性であるSMXA-5と、反対に抵抗性であるSM/Jマウスとを見出した¹⁴⁾。そこで、これらの2系統を交配して得たF2マウス(約300匹)に、高脂肪食(30%ラード含有)を与えてQTL解析をした結果、2番染色体の中央部に体重、肥満度、耐糖能、非絶食時血糖値を強力に規定する遺伝子座を検出した¹⁵⁾。この遺伝子座においてA/J由来の染色体断片を保有した場合に、体重、肥満度の上昇、糖尿病形質の悪化が引き起こされる。今までにこの領域の近傍には、TSOD⁸⁾およびBTBRマウス^{16, 17)}で見出されたQTLが報告されている。異なるマウス系統を用いたこれらの独立した研究において、糖尿病形質および肥満に影響を及ぼすQTLに限られた領域に報告されていることは興味深い。それぞれのQTLの原因遺伝子が同一のものであるか否かは、今後の研究によって明らかになるであろう。

おわりに

われわれはマウスRI系統を用いて、糖尿病形質の容易で迅速な遺伝解析を進めることができた。このような遺伝解析法は他の形質に関しても極めて有用なものであり、RI系統が利用されることが望まれる。また、QTL解析による研究は、これまでに糖尿病や肥満の病因、病態への関与が全く想像されていない遺伝子も原因遺伝子として同定することが可能であるため、糖尿病や肥満の新たなカスケードの存在を発掘する可能性を秘めている。

文 献

- 1) Kim JH, Nishina PM, Naggert JK : Genetic models for non insulin dependent diabetes mellitus in rodents. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1998, 9 : 325 345.
- 2) Masuyama T, Fuse M, Yokoi N, et al. : Genetic analysis for diabetes in a new rat model of nonobese type 2 diabetes, Spontaneously Diabetic Torii rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2003, 304 : 196 206.
- 3) Ueda H, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. : Genetic analysis of late-onset type 2 diabetes in a mouse model of human complex trait. *Diabetes* 1999, 48 : 1168 1174.
- 4) Leiter EH, Reifsnnyder PC, Flurkey K, et al. : NIDDM genes in mice : Deleterious synergism by both parental genomes contributes to diabetogenic thresholds. *Diabetes* 1998, 47 : 1287 1295.
- 5) Suto J, Matsuura S, Imamura K, et al. : Genetics of obesity in KK mouse and effects of A(y) allele on quantitative regulation. *Mamm Genome* 1998, 9 : 506 510.
- 6) Suto J, Matsuura S, Imamura K, et al. : Genetic analysis of non-insulin-dependent diabetes mellitus in KK and KK-Ay mice. *Eur J Endocrinol* 1998, 139 : 654 661.
- 7) Suto J, Sekikawa K : A quantitative trait locus that accounts for glucose intolerance maps to chromosome 8 in hereditary obese KK-A(y)mice. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002, 26 : 1517 1519.
- 8) Hirayama I, Yi Z, Izumi S, et al. : Genetic analysis of obese diabetes in the TSOD mouse. *Diabetes* 1999, 48 : 1183 1191.
- 9) Kim JH, Sen S, Avery CS, et al. : Genetic analysis of a new mouse model for non-insulin-dependent diabetes. *Genomics* 2001, 74 : 273 286.
- 10) Nishimura M, Hirayama N, Serikawa T, et al. : The SMXA : A new set of recombinant inbred strain of mice consisting of 26 substrains and their genetic profile. *Mamm Genome* 1995, 6 : 850 857.
- 11) <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/sisetu/SDP.htm>
- 12) Ohno T, Katoh J, Kikkawa Y, et al. : Improved strain distribution patterns of SMXA recombinant inbred strains by microsatellite markers. *Exp Anim* 2003, 52 : 415 417.
- 13) Kobayashi M, Ohno T, Tsuji A, et al. : Combinations of nondiabetic parental genomes elicit impaired glucose tolerance in mouse SMXA recombinant inbred strains. *Diabetes* 2003, 52 : 180 186.
- 14) Kobayashi M, Ito F, Kawai T, et al. : SMXA-5 mouse as a diabetic model susceptible to feeding a high-fat diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004, 68 : 226 230.
- 15) 井尾房代, 河合隆博, 小林美里ほか : 高脂肪食摂取下における糖尿病遺伝子座の染色体マッピング 第2報 . 第57回日本栄養・食糧学会講演要旨集 2003, 105.
- 16) Stoehr JP, Nadler ST, Schueler KL, et al. : Genetic obesity unmasks nonlinear interactions between murine type 2 diabetes susceptibility loci. *Diabetes* 2000, 49 : 1946 1954.
- 17) Stoehr JP, Evers JE, Clee SM, et al. : Identification of major quantitative trait loci controlling body weight variation in *ob/ob* mice. *Diabetes* 2004, 53 : 245 249.