

多因子遺伝性糖尿病・肥満モデルマウスの成因遺伝子の解明

●泉 哲郎 ◆水谷 伸 ◆五味 浩司

群馬大学生体調節研究所・遺伝生化学分野

〈研究の目的と進め方〉

我々は、多因子遺伝性糖尿病・肥満モデル動物TSODマウスの遺伝学的解析により、その血糖値、インスリン・レベル、体重などの量的形質を支配する遺伝子の局在QTLs (quantitative trait loci) を決定した (Hirayama et al., Diabetes 48, 1237-1244, 1999)。すなわち、主として血糖値を支配するNidd4を第11染色体、インスリン・レベル、体重に影響するNidd5を第2染色体、体重に影響するNidd6を第1染色体上に見出した。本研究では、これらQTL遺伝子の実体解明をめざす。またこれとは別に我々は、単一遺伝子性糖尿病マウスModyの原因が、インスリン遺伝子Ins2の変異によることを見出しているが、その病態生理の解明をめざす。

〈研究開始時の研究計画〉

- 1) サブコンジェニック・マウスの作製とQTL存在領域の限定。
- 2) 局在候補遺伝子の解析。
- 3) Modyマウス糖尿病の病態生理的解明。

〈研究期間の成果〉

1) 血糖値、インスリン値、体重などに関する第11、第2、第1染色体上の各QTL領域に原因遺伝子が存在することを確認し、その実体を同定するために、正常体重・耐糖能を示すBALB/cAマウスのQTL領域染色体を、TSODマウスに導入したコンジェニックマウスを作製した。それぞれ11、17、6系統のコンジェニックマウスの表現型を測定した結果、これらマウスが、ほぼ遺伝学的解析から予測される表現型を示し、単一QTLの効果をもつことを確認した。このことは、多因子遺伝性疾患モデルを複数の単一遺伝子性疾患モデルに分離変換することにより、ポジショナル・クローニングと同様の手法で原因遺伝子を同定できることを意味する。最も解析の進んでいる第2染色体上のQTL領域は、体重のみならず、特に脂肪指数 (脂肪重量/体重) に関して、親系統間の差の約50%を説明した。さらに狭い領域を置換したコンジェニックマウスを作製・解析したところ、約9.4 Mbの範囲 (41個の遺伝子が存在) に、脂肪指数に関わる原因遺伝子が存在することを見出した (次頁図参照)。

2) この9.4 Mb領域をBALB/cAマウス由来の染色体に置換したコンジェニックマウスは、摂食量、行動量、体温 (定常時、低温負荷時) などではTSODマウスと差がないものの、脂肪重量、脂肪細胞の大きさが有意に減少しており、本領域遺伝子が、脂肪細胞の分化や代謝に関わっていることが示唆された。遺伝子局在領域をさらに狭めるために、コンジェニックマウスのサブラインを作製し、リコンビネーション部位を決定し、責任遺伝子の局在を5遺伝子が存在する領域にまで狭めている (未発表)。現在、各遺伝子の塩基配列や発現解析を行っており、最終的な遺伝子同定を目指している。

3) Modyマウス膵 β 細胞で、変異プロインスリンのみならず、構成性に分泌される分泌型アルカリフォスファ

ターゼの細胞内輸送が減少していることを見出した。膵 β 細胞の電顕観察からも、変異プロインスリンの細胞内蓄積が、分泌経路オルガネラの機能不全を引き起こし、共存する野生型プロインスリンの分泌不全を引き起こしていることが示唆された。

〈国内外での成果の位置づけ〉

これまで多因子遺伝性糖尿病の遺伝学的解析で遺伝子同定にまで至ったもの、またその解析が、真の意味で国内の研究グループにより先導され、完遂された例は少ない。モデル動物においても、我が国で確立されたものが多いにも関わらず、NODマウス、GKラットのように、肝心の遺伝学的解析は欧米のグループに先行されている。本研究は、我が国で開発されたTSODマウスの解析を通し、ヒト糖尿病や肥満の成因・病態生理的解明の一助とする。私たちは、本研究により、特に脂肪重量に関わる遺伝子の存在を証明し、その局在領域を確実に狭め、近い将来、その実体を補足できると考えている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

狭い目的領域でのリコンビナント個体を得るために、大量のマウスの飼育を必要とし、その交配・繁殖に、労力と時間を要した。また、多因子遺伝子疾患の一般的性質と考えられるが、同一の遺伝的組成を有するマウス個体間でも表現型のばらつきが見られ、表現型の差を確実にとらえる過程で、多数の個体の解析を必要とし、予想より多くの時間がかかった。しかし、体重だけではなく脂肪組織重量などの表現型を併せて測定することにより、新たな知見を得ることができた。

〈今後の課題〉

局在候補遺伝子の同定が最終目標であるが、候補5遺伝子について、まずエクソンおよびエクソン・イントロン接合領域の変異の有無を調べる。また、ノーザンブロット解析による転写産物のサイズ・発現量の解析を中心に行う。コンジェニックマウスの表現型より推測される遺伝子機能に基づき、脂肪組織、脳など有力な組織を中心に、RNAサイズや発現量の変化を調べる。変化が見られた場合は、プロモーターやイントロン領域の変異の可能性も探る。また、親系統に用いた2つの近郊系マウス間に見られる塩基配列の相違が、原因遺伝子であるか、単なるポリモルフィズムかを解析する労力を最小化するために、できるだけSNPなどの解析を通じ、リコンビナント部位を狭めることにも努力する。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Izumi T, Yokota-Hashimoto H, Zhao S, Wang J, Halban PA, and Takeuchi T (2003). Dominant negative pathogenesis by mutant proinsulin in the Akita diabetic mouse. Diabetes, 52, 409-416.
2. Mizutani S, Gomi H, Hirayama I, and Izumi T (2006).

Chromosome 2 locus *Nidd5* has a potent effect on adiposity in the TSOD mouse. *Mammalian Genome*, in press

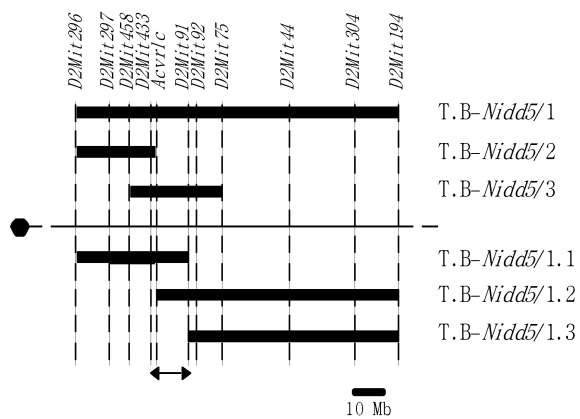


図1

第2染色体コンジェニックマウスの解析により、体重・脂肪重量に関わる量的形質遺伝子の局在を明らかにした。