

多因子疾患発現機構解明のための 混合遺伝モデルによる複数QTL解析法の開発

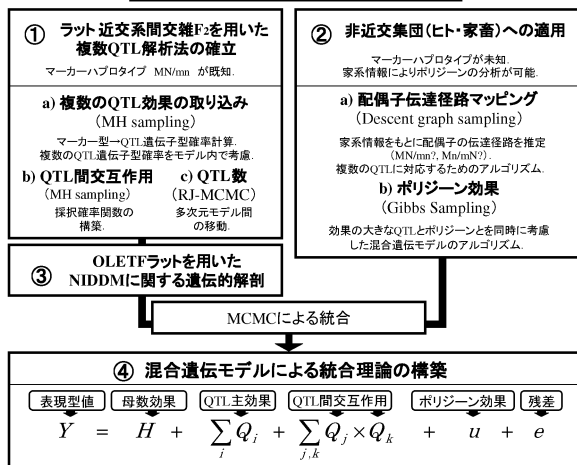
●佐々木 義之 ◆三宅 武 ◆揖斐 隆之 ◆高柳 誠二

京都大学大学院農学研究科

＜研究の目的と進め方＞

医学の分野において、糖尿病や高血圧など、複数の遺伝的要因や環境要因がその発症に複雑に関与している多因子疾患の発現機構の解明が重要な課題となっている。これらの多因子疾患に関与する多数の遺伝子座（QTL）および環境要因は、相互に影響し合っていると予想されるので、従来行われている1つの遺伝子座のみを取り上げたインターバルマッピングなどのQTL解析法では多因子疾患の全容の解明は難しい。そこで、複数のQTL、QTL間の相互作用（エピスタシス）、ポリジーン効果ならびに環境効果を取り上げた混合遺伝モデル（Mixed Inheritance Model）による多因子疾患発現機構解明のための新たなQTL解析法を開発する。研究の進め方の概要を以下に示す。実験家系をもとにした理論的検討（①、③）ならびに非近交集団をもとにした理論的検討（②）をそれぞれ行い、最終的に両者を結合することで混合遺伝モデルによる統合理論の構築（④）を図る。

複数QTL解析法の確立戦略



＜研究開始時の研究計画＞

① ラット近交系間交雑F2を用いた複数QTL解析法の確立： マーカーハプロタイプMN/mnが既知である実験家系を想定し、a)複数のQTL効果の取り込み、b) QTL間相互作用、およびc)QTL数を明らかにできるQTL解析法の確立を行う。

② 非近交系集団（ヒト・家畜）への適用： マーカーハプロタイプは未知であるが、その一方家系情報を用いることができる非近交集団を想定し、a)配偶子伝達経路マッピング、およびb)ポリジーン効果をQTL解析法に取り込むためのアルゴリズムの検討を行う。

③ OLETFラットを用いたNIDDM（Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus）に関する遺伝的解剖： ①で確立された方法論の有効性を、OLETFラット×F344の近交系間交雑家系を用いて実際に複数QTL解析を行い、NIDDMに関与する複数のQTL、およびQTL間エピスタシスの検出を行う。

④ 混合遺伝モデルによる統合理論の構築： Markov chain Monte Carlo (MCMC) アルゴリズムを利用したベイズ推定法に基づいて①から③までの方法論を統合し、混合遺伝モデルによる統合理論の構築を行う。

＜研究期間の成果＞

① ラット近交系間交雑F2を用いた複数QTL解析法の確立
 a)およびb) モデル内に複数のQTLを取り込むためにはモデル内に複数のQTL遺伝子型確率を考慮すればよく、第一段階として、モンテカルロサンプリングに基づく複数QTL解析法であるMonte Carlo-Interaction Mapping (MC-IM) 法を開発した（成果4, 5）。本方法では、近傍のマーカー型から推定されるQTLの遺伝子型確率への重回帰モデルを取り上げ、各QTL効果、QTL間相互作用およびそのポジションを反復推定する。また、エピスタシス効果として、相加的×相加的、相加的×優性、優性×相加的、優性×優性の4つの効果が全て考慮されている。本MC-IM法はQTL間に連鎖がない場合には有効であるが、同一の染色体上に二つ以上のQTLが連鎖して存在している場合の解析法としては適切ではないことが明らかとなった。主な欠点としては、パラメータ推定法として最小二乗法が用いられており、この場合、モデルの直交性が要求されるため、連鎖している2QTLをモデルに取り込むことができないことが挙げられた。また、最適モデル選択法として逐次選択法が用いられており、モデル内に擬陽性QTLが誤って取り込まれた場合に正しいモデルに到達できる可能性が著しく低下してしまう欠点が明らかとなった。そこで、これらの欠点を克服するために、ベイズ推定法に基づく新たな複数QTL解析法であるMultiple QTL with Epistasis Mapping (MQEM) 法を開発した（成果1, 2）。MQEM法で採用されたベイズ推定法ではモデルの直交性は要求されないため、複数のQTLが互いに連鎖している場合でも正しく個々のQTLを検出することが可能となった。

c) MQEM法ではモデル選択法として、多次元モデル間の移動を可能にするReversible Jump - MCMC (RJ-MCMC) アルゴリズムが採用されている。RJ-MCMCは様々なモデルの存在確率を互いに比較してより高いモデルへと移動するサンプリングアルゴリズムであり、可能な全ての複数QTLモデルのうちで最も存在確率の高いモデルを選択することができるようになった。複数のQTLやエピスタシス効果を持つQTLペアを様々な含んだモデルごとに存在確率を求めることができるため、家系内に存在するQTLやQTLペアの個数の期待値を推定することが可能となった。

ここまでの検討に基づいて確立されたMQEM法のプログラム（成果7）を用いてシミュレーション実験を行い、QTLの個数、エピスタシス効果の有無、効果の大きさなどが正しく推定されることを確認した。

② 非近交集団（ヒト・家畜）への適用

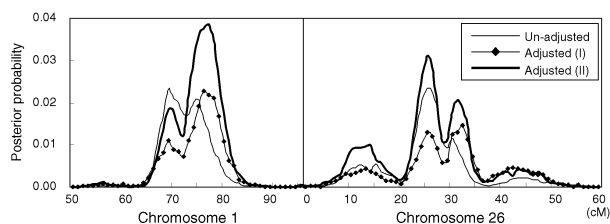
a) 非近交集団は一般に複雑な家系構造を持っているた

め、そのような集団において複数QTLマッピングを行うためには、複数のQTLの各アレルがどのように家系内の個体間で伝達されているかを明らかにするアルゴリズムをQTL解析法に組み込むことが必要となる。計画当初は、任意の家系におけるアレル伝達経路を考慮する際に家系内での同祖性 (IBD status; Identical By Decent status) に基づくアルゴリズムを採用することを検討していたが、このアプローチではQTL分散を用いることが前提となっているため、そのままMQEM法に組み込むことは困難であることが明らかとなった。そこで、MCMCアルゴリズムの一つであるDescent graph samplingに基づく配偶子伝達経路マッピング法について検討を行った。Descent graph samplingは家系内の全構成員についての最適な伝達経路を探索するアルゴリズムであり、これを応用することでIBDの推定も行えるなど、IBDに基づくアプローチ以上の汎用性・柔軟性を備えている。このDescent graph samplingアルゴリズムをMQEM法に組み込み、任意の家系構造に対処できる複数QTLマッピング法を確立することに成功した。しかし、基礎世代に属する個体が多くなり、また、可能なアレル数も増加するため、エピスタシス効果を考慮するまでには至っていないのが現状であり、このことが今後の検討課題の一つである。

b) MQEM法ではモデル内にQTLとしては捉えられないような微少な効果を持つ遺伝子の総和をポリジーン効果として考慮した混合遺伝モデルを採用しており、非近交集団の血統情報を考慮することで、検出対象とする複数のQTL以外のバックグラウンド遺伝子のばらつきを同時に補正し、QTLの検出力を高めることができる。さらに、非近交集団へのMQEM法の適用として、肉牛などの大家畜で広く用いられている半きょうだい (Half-sib, HS) 家系のための複数QTLマッピング法であるMQEM-HSプログラムも開発された (成果6)。

③OLETFラットを用いたNIDDMに関する遺伝的解剖確立されたMC-IM法ならびにMQEM法を用いて、その有効性を確かめるために、OLETFラットと正常F344ラットとのF2交雑子の血糖値データについて複数QTLマッピングを行い、NIDDMに関する遺伝的解剖を試み、関与している遺伝因子の作用機序を明らかにした (成果3)。

④混合遺伝モデルによる統合理論の構築
これまでの検討によって確立されたMQEM法は、計画当初に企図していた混合遺伝モデルに基づくエピスタシス効果を取り込んだ複数QTL解析法の確立が期待通りに実現されており、従来検出が困難とされた主効果は持たないがエピスタシス効果だけを持っているQTLをも速やかに複数検出することができる。現在、実際の非近交集団記録を用いて複数QTLマッピングを開始しており、例として和牛の脂肪交雑の発現を支配するQTLやエピスタシスを検出している (下図)。本MQEM法の確立によって、多因子疾患など複雑な量的形質の遺伝機構、すなわち、集団内で互いに様々な形で関与しあっている複数のQTLを確実に検出する道が開かれたと結論づけられる。



黒毛和種の脂肪交雑の発現に関わるエピスタシス QTL ペアがウシ染色体 1-26 に検出された。

〈国内外での成果の位置づけ〉

複数のQTL解析法の開発に世界中で多くの研究者が取り組んでいるが、本研究グループは、従来検出が困難とされた、主効果は持たないがエピスタシス効果だけを持つQTLをも効率的に検出でき、さらにそれを外交配集団にも適用できる新たな方法を先駆けて確立したという点で、世界的に見ても一歩リードしている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

③のa) において検討課題となった、任意の家系構造に自在に応用でき、しかもエピスタシス効果を考慮する複数QTL解析法は世界的にもまだ確立されておらず、今後も検討の余地があると考えられる。

〈今後の課題〉

任意の家系構造に自在に応用できるように、MQEM法のさらなる発展・拡張に取り組むことを予定している。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 論文
 1. 0602031456
Narita, A., and Sasaki, Y., Detection of multiple QTL with epistatic effects under a mixed inheritance model in an outbred population. *Genetics Selection Evolution*, 36, 415-433 (2004).
 - 2) プロシーディング
 2. 0602031502
Narita, A., Ohno, R., Ibi, T., and Sasaki, Y., Detection of multiple QTL with mixed inheritance model in outbred population. In Proc. 7th. World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., 32, 757-760 (2002).
 3. 0602031507
Miyake, T., Narita, A., Yamada, T., Dolf, G., Gaillard, C., Matsumoto, k., and Sasaki, Y., Multiple QTL mapping with epistatic interactions for non-insulin-dependent diabetes mellitus in rat. In Proc. 28th Int. Conf. Anim. Genet., p.174 (2002).
 4. 0602031510
Miyake, T., Mouri, M., Narita, A., Yamada, T., Dolf, G., Gaillard, C., and Sasaki, Y., Multiple QTL mapping with epistatic interactions using Monte Carlo position sampling. In Proc. 52nd Ann. Meet. Europ. Assoc. Anim. Prod., p.4 (2001).
 5. 0602031513
Miyake, T., Mouri, M., Narita, A., Yamada, T., Gaillard, C., Matsumoto, K., and Sasaki, Y., Application of MC-IM for QTL mapping for Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. In Proc. 52nd Ann. Meet. Europ. Assoc. Anim. Prod., p.19 (2001).
 - 3) ソフトウェア
 6. 0602031517
成田 暁・佐々木義之：半きょうだい家系におけるエピスタシス効果を考慮した複数QTLマッピングプログラム「MQEM-HS」. 京都大学大学院農学研究所動物遺伝育種学研究室コンピュータプログラムライブラリ No.41 (2004).
 7. 0602031520
成田 暁・佐々木義之：品種間交雑家系におけるエピスタシス効果を考慮した複数QTLマッピングプログラム「MQEM (Multiple QTL with Epistasis Mapping)」. 京都大学大学院農学研究所動物遺伝育種学研究室コンピュータ

プログラムライブラリ No.40 (2003).

4) その他顕著なもの

8. 0602031529

三宅 武・山田宜永・中岡博史・成田 暁・佐々木義之.
MCMC法を用いたベイズ推定法に基づく複数QTLマッピング法の特徴と有効性 (ミニレビュー) . *Journal of Animal Genetics* (in press).

9. 0602031523

三宅 武・山田宜永・佐々木義之. 家畜におけるQTL解析法の現状と課題 (ミニレビュー) . *Journal of Animal Genetics*, 32, 43-52 (2004).