

高脂肪食摂取下において強力に作用するマウス2番染色体の2型糖尿病遺伝子の同定

● 堀尾 文彦

中部大学応用生物学部

〈研究の目的と進め方〉

我々は、新規な2型糖尿病モデルマウスSMXA-5系統を開発し、このマウスが高脂肪食摂取時に顕著な糖尿病症状を呈することを見出した。このSMXA-5の有する、高脂肪食摂取時に2型糖尿病を引き起こす原因遺伝子を同定することを目的として、非糖尿病系統であるSM/J系統とSMXA-5の交雑(F2)マウスを用いて遺伝解析(QTL解析)を行った結果、SMXA-5の2番染色体に強力な糖尿病遺伝子座(T2dm2sa)がマッピングされた。このT2dm2saを含む2番染色体領域をSM/Jに導入したSM.A-T2dm2saコンジュニック系統を作出したところ、このマウスは高脂肪食摂取時に明確な糖尿病を発症したので、本研究に用いている。

〈研究開始時の研究計画〉

(1) SM.A-T2dm2saの導入された2番染色体のSMXA-5染色体断片(約120 Mb)をさらに再分化して有するサブコンジュニック系統の作出を試み、それらの系統の糖尿病形質を解析して、T2dm2saの存在領域を狭めていく。そして、その領域からT2dm2saの候補遺伝子を選抜する。
(2) 前記のQTL解析のT2dm2saのマッピング領域を中心に、マウスゲノム情報と候補遺伝子探索サイトを利用してT2dm2saの候補遺伝子を選び出し、その可能性を追求する。
(3) 糖尿病を呈するSM.A-T2dm2sa系統と非糖尿病のrecipient系統であるSM/Jに高脂肪食を摂取させて、両系統から肝臓、脂肪組織、骨格筋を採取してRNAを得、DNAマイクロアレイ解析を行う。この結果より、SM.A-T2dm2saのSMXA-5由来染色体領域中で発現が変化している遺伝子についてT2dm2saの候補遺伝子としての可能性を探る。また、発現が変化している遺伝子全体を対象にして、SM.A-T2dm2saの2型糖尿病の成因を明らかにする。

〈研究期間の成果〉

(1) 6種類のサブコンジュニック系統の作出に成功した。そのうちの3系統の高脂肪食摂取下での糖尿病形質の解析を行い、全てが元系統であるSM.A-T2dm2saと同程度の糖尿病形質を示した。この結果より、T2dm2saの存在領域を60 Mbまでに狭めることができた(成果発表リスト(5))。
(2) 候補遺伝子として、糖新生を制御しているLXR α と、インスリン感受性を制御しているJNK interacting protein 1(JIP 1)を選抜した。前者のORFには、SM.A-T2dm2sa系統とSM/Jの間に差違はなく、後者のORFにはSM.A-T2dm2saに特有なアミノ酸置換が見出された。今後、両遺伝子の候補遺伝子としての可能性を追求していく。
(3) 各組織で発現量が変化している遺伝子の中に、2番染色体のSMXA-5由来領域にある候補遺伝子と考えられるものは今のところ捕まっていない。しかし、遺伝子発現変化の解析からSM.A-T2dm2saの脂肪組織にはマクロファージの浸潤の進展が推定され、このことがインスリン抵抗性の原因になっていることを示唆する興味ある知見が得られた。

〈国内外での成果の位置づけ〉

2型糖尿病モデルSMXA-5マウスは、糖尿病を呈さないSM/JとA/J系統から作出されたりコンビナント・インブレッド系統の一系統であり、両親系統の染色体断片をモザイク上に約半分ずつ有している。このことは、糖尿病を呈さないSM/JもA/J系統も潜在的な2型糖尿病遺伝子を有しており、それらが組み合わさることによって2型糖尿病が発症することを示している。本研究で標的にし、同定を目指している遺伝子はこのような性質を持つものであり、A/J系統に潜在している。我々のこの独創的な着想点は本公募研究が採択される前に海外でも糖尿病専門誌(Kobayashi, M., Horio, F. et al., *Diabetes*, 52, 180-186 (2003))で評価された。この着眼点に基づく本研究の結果の一部も糖尿病専門誌に採択された(成果発表リスト(5))。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

コンジュニック系統を作製して標的の糖尿病原因遺伝子の存在位置を追い詰めていく方法をとっているために研究の進展に時間がかかり、遺伝子の同定にまで至っていない。しかしながら、現在のコンジュニック系統を重要視する戦略を積極的に推進していくことに今後も変わりはない。

〈今後の課題〉

網羅的な遺伝子発現解析などを利用して、候補遺伝子の絞込みに新たな方策を考える必要がある。さらに、in silicoの候補遺伝子探索も今まで以上に進めていく必要がある。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. 0501121950
Kobayashi, M., Io, F., Kawai, T., Nishimura, M., Ohno, T. and Horio, F.: SMXA-5 mouse as a diabetic model susceptible to feeding a high-fat diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68, 226-230 (2004)
2. 0501121957
Kobayashi, M., Ohno, T., Tsuchiya, T. and Horio, F.: Characterization of diabetes-related traits in MSM and JF1 mice on high-fat diet. *J. Nutr. Biochem.*, 15, 614-621 (2004)
3. 小林美里、井尾房代、河合隆博、大野民生、西村正彦、堀尾文彦：リコンビナント・インブレッド系統マウスを用いた2型糖尿病原因遺伝子の探索、*肥満研究*, 10, 81-83 (2004)
4. Horio, F., Teradaira, S., Imamura, T., Anunciado, R.V.P., Kobayashi, M., Namikawa, T. and Niki, I.: The HND mouse, a nonobese model of type 2 diabetes mellitus with impaired insulin secretion. *Eur. J. Endocrinol.*, 153, 971-979 (2005)
5. Kobayashi, M., Io, F., Kawai, T., Kumazawa, M., Ikegami, H., Nishimura, M., Ohno, T. and Horio, F.: Major quantitative trait locus on chromosome 2 for glucose tolerance in diabetic SMXA-5 mouse established from nondiabetic SM/J and A/J strains. *Diabetologia*, in press.