

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18700398
 研究課題名 (和文) 新規糖尿病モデルSDTラットの分子遺伝学的解析
 研究課題名 (英文) Genetic analysis of the SDT rat, a novel animal model of diabetes mellitus
 研究代表者
 横井 伯英 (YOKOI NORIHIDE)
 神戸大学・大学院医学研究科・科学技術研究員
 研究者番号：70311610

研究成果の概要：非肥満性糖尿病の新たな動物モデルである Spontaneously Diabetic Torii (SDT) ラットにおける糖尿病の原因遺伝子の同定を目標として、糖尿病に関与する遺伝子が存在する染色体領域を組み込んだラット系統を作製し、当該遺伝子が糖尿病の発症、インスリン分泌や糖の処理能力などに関与することを明らかにした。また、SDT ラットにおける膵臓の炎症・線維化を引き起こす主要な遺伝子が存在する染色体領域を同定した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,200,000	0	1,200,000
2007 年度	1,200,000	0	1,200,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	300,000	3,700,000

研究分野：分子遺伝学

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：糖尿病、動物モデル、ラット、遺伝子、遺伝学、炎症、線維化

1. 研究開始当初の背景

これまで多くの研究が行われているにも関わらず、多因子性のヒト糖尿病の原因遺伝子やその発症機構はほとんど明らかでない。そこで遺伝的にも環境的にも統御可能な動物モデルを用いた解析が有力な手段となる。Spontaneously Diabetic Torii (SDT) ラットは、1997年に鳥居薬品研究所において確立された非肥満性糖尿病の新たな動物モデルである。糖尿病合併症としてこれまでの動物モデルではほとんど認められなかった網膜症が認められるのが特徴であり、糖尿病研究者の間で注目されている。組織学的解析から

膵臓における出血・炎症に伴って膵β細胞が破壊されることが糖尿病発症の原因と考えられているが、原因遺伝子および病態発症機構は全く不明である。

研究代表者はSDTラットの糖尿病の原因遺伝子を同定し、その発症機構を解明することを目標として研究を遂行している。これまでに第一段階としてSDTラットについての遺伝学的解析を終了した。ここでは、正常系統であるBNラットとSDTラットの交配から作出した戻し交雑仔を用いて糖負荷試験時の耐糖能を指標に遺伝解析を行い、ラット第1、2およびX染色体に耐糖能関連遺伝子座

(Gisdt1-3) を同定した。

2. 研究の目的

本研究では、これまでに染色体上の位置を同定した各耐糖能関連遺伝子座の病態生理的役割を解明し、それらの原因として有力な候補遺伝子を同定することを目的とする。具体的には、

- (1) 各耐糖能関連遺伝子座についてのコンジュニック系統の作出と解析
- (2) マイクロアレイ解析と位置的候補遺伝子アプローチを組み合わせた候補遺伝子解析を行う。

3. 研究の方法

- (1) 各耐糖能関連遺伝子座についてのコンジュニック系統の作出と解析

ラット第1および第2染色体上に存在する耐糖能関連遺伝子座 (Gisdt1, 2) の領域を絞り込み、それらの病態生理的役割を解明するため、SDT ラットの遺伝的背景に BN ラット由来の各耐糖能関連遺伝子座を組み込んだコンジュニック系統を作製する。また、その逆に BN ラットの遺伝的背景に SDT ラット由来の各耐糖能関連遺伝子座を組み込んだコンジュニック系統を作製する。その後、完成したコンジュニック系統について糖尿病の発症の有無の観察および糖負荷試験による表現型解析を行い、各耐糖能関連遺伝子座の病態生理的役割を解明する。

- (2) マイクロアレイ解析と位置的候補遺伝子アプローチを組み合わせた候補遺伝子解析

完成したコンジュニック系統についてマイクロアレイ解析を行い、各耐糖能関連遺伝子座に位置する候補遺伝子を抽出し、これらの遺伝子についてリアルタイムPCR法による発現量の定量的解析およびシーケンス解析による遺伝子変異の検索を行う。

4. 研究成果

- (1) 耐糖能関連遺伝子座についてのコンジュニック系統の作出と表現型解析

ラット第1および第2染色体上に存在する耐糖能関連遺伝子座 (Gisdt1, 2) の病態生理的役割を解明するため、SDT ラットの遺伝的背景に BN ラット由来の各耐糖能関連遺伝子座を組み込んだコンジュニック系統、および BN ラットの遺伝的背景に SDT ラット由来の各耐糖能関連遺伝子座を組み込んだコンジュニック系統を作出し、糖尿病の発症や耐糖能について表現型解析を行った。その結果、親系統の SDT や BN ラットと比較してコンジ

ュニック系統は糖尿病の発症、インスリン分泌や耐糖能などに相違が認められたことから、各耐糖能関連遺伝子座の病態生理的役割の一端が明らかになった。これらの成果は下記(2)の候補遺伝子の検索において有用な情報を提供するだけでなく、SDT ラットの糖尿病発症のメカニズムを解明する上で貴重な手がかりとなるものである。

- (2) マイクロアレイ解析と位置的候補遺伝子アプローチを組み合わせた候補遺伝子解析

完成したコンジュニック系統についてマイクロアレイ解析を行い、上記(1)の表現型解析の結果とともに総合的に検討し、各耐糖能関連遺伝子座に位置する候補遺伝子を抽出した。今後、これらの遺伝子についてリアルタイムPCR法による発現量の定量的解析およびシーケンス解析による遺伝子変異の検索を行う予定である。責任遺伝子が同定されれば、SDTラットの糖尿病発症メカニズムの解明が進展するだけでなく、ヒト糖尿病における魅力的な候補遺伝子となる。

- (3) 膵臓の炎症・線維化を引き起こす主要遺伝子座の同定とコンジュニック系統による確認

F344ラットとSDTラットの交配から作出したF2仔を用いて糖尿病発症および耐糖能について遺伝解析を行い、ラット第3、8、13、14染色体上に糖尿病発症および耐糖能と関連する遺伝子座 (Dmsdt1-4) を同定した。そのうち、優性で作用する主要な遺伝子座Dmsdt1についてF344ラットを遺伝的背景とするコンジュニックおよびコンソミック系統を作出したところ、膵臓に炎症・線維化が認められた。このことから、本遺伝子座はSDTラットの主病変である膵臓の炎症・線維化を引き起こす主要遺伝子座であると考えられた。今後、責任遺伝子が同定されれば、SDTラットの糖尿病発症メカニズムの解明が大きく進展し、さらにヒト糖尿病における魅力的な候補遺伝子となる。

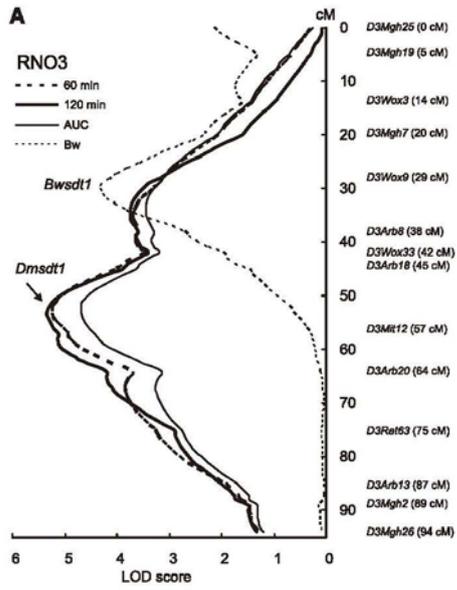


図1 量的形質に関する LOD スコアプロット (第3染色体)

耐糖能に関連する遺伝子座 *Dmsdt1* と体重に関連する遺伝子座 *Bwsdt1* が同定された。

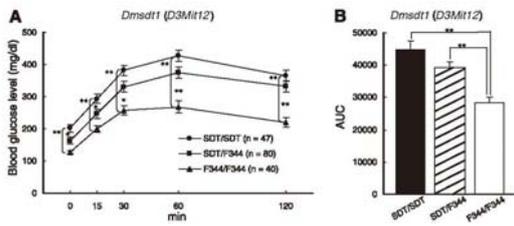


図2 *Dmsdt1* の遺伝的効果

Dmsdt1 遺伝子座において SDT ラットのアレルが優性で作用することがわかった。

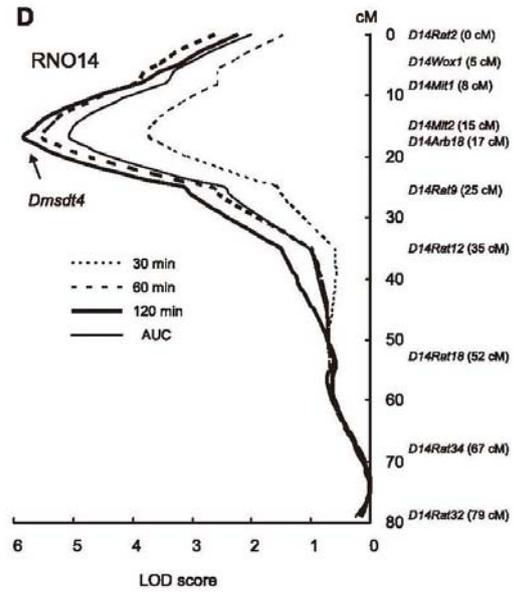


図3 量的形質に関する LOD スコアプロット (第14染色体)

耐糖能に関連する遺伝子座 *Dmsdt4* が同定された。

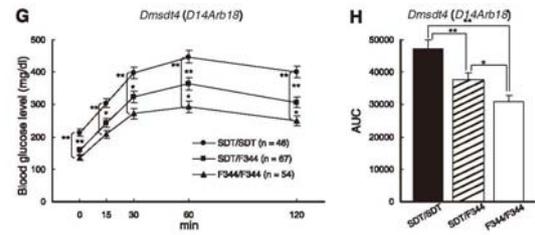


図4 *Dmsdt4* の遺伝的効果

Dmsdt4 遺伝子座において SDT ラットのアレルが相加的に作用することがわかった。

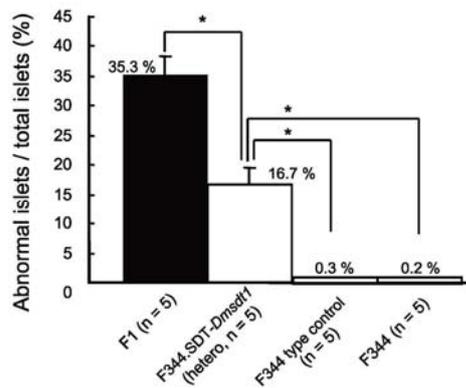


図5 Dmsdt1 コンジェニックラット

(F344.SDT-Dmsdt1) における異常膵島の割合

Dmsdt1 コンジェニックラットの膵島においてヘモジデリン沈着および線維化が比較的高い頻度で認められることがわかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 1 件)

1. Fuse, M., Yokoi, N., Shinohara, M., Masuyama, T., Kitazawa, R., Kitazawa, S., Seino, S. Identification of a major locus for islet inflammation and fibrosis in the Spontaneously Diabetic Torii rat.

Physiol. Genomics 35:96-105, 2008. (査読有り)

〔学会発表〕 (計 2 件)

1. 金 星仁、横井伯英、森本浩史、篠原雅巳、清野 進. 自然発症糖尿病モデルSDTラット由来コンジェニック系統の表現型解析. 第23回日本糖尿病・肥満動物学会 (岡山) 2009年2月13日

2. 布施雅規、横井伯英、篠原雅巳、清野 進. 糖尿病モデルSDTラットの糖尿病発症に関する遺伝学的解析—F2交配系を用いた検討—. 第50回日本糖尿病学会 (仙台) 2007年5月25日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横井 伯英 (YOKOI NORIHIDE)

神戸大学・大学院医学研究科・科学技術研究員

研究者番号：70311610

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者