

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月11日現在

機関番号：13601
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21650097
 研究課題名（和文）リコンビナント近交系マウスを利用した雑種強勢と近交退化の分子遺伝学的基盤の解明
 研究課題名（英文）Molecular genetic analysis of hybrid vigor and inbreeding depression utilizing recombinant inbred mouse strains
 研究代表者
 森 政之 （MORI MASAYUKI）
 信州大学・医学系研究科・准教授
 研究者番号：60273190

研究成果の概要（和文）：SM/J と A/J という遺伝的背景が異なる実験用マウス系統を交配して得られた雑種第一世代は繁殖性が両親より優れていることが判明した。このような雑種強勢と称される現象と、その逆の現象である近交退化（血縁個体間の交雑仔に、成長の遅れ、繁殖性の低下や、高率な奇形の発生などが起きる現象）が生じるメカニズムの解明には、これらの2系統マウスから作られたリコンビナント近交系マウスが有用である可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：It was revealed that the hybrid mice from genetically distant SM/J and A/J mouse strains showed superiority to the parental strains in growth and breeding performances. It was suggested that the recombinant inbred mouse strains derived from SM/J and A/J would be a valuable tool for elucidation of the mechanisms of hybrid vigor and inbreeding depression.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	800,000	0	800,000
2010年度	1,100,000	0	1,100,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	330,000	3,330,000

研究分野：実験動物学

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：リコンビナント近交系, 雑種強勢, 近交退化, マウス

1. 研究開始当初の背景

(1) 雑種強勢（Hybrid vigor または Heterosis）とは「血縁的に遠い系統の掛け合わせにより生まれる子供の能力、特に繁殖形質、病気に対する抵抗性や成長速度などの“適応度”がメンデルの遺伝法則に従うことなく両親の平均適応度、時には両親をも超えて良くなる現象」である（Birchler JA *et al.* Heterosis: revisiting the magic. *Trends Genet* 23: 60-66 (2007)）。雑種強勢とは反対に、血縁個体間の交配での継代により生存

性、繁殖性の低下や、奇形の高率な発生などで適応度が低下していく現象が近交退化（Inbreeding depression）である。この二つの不可思議な現象は農業分野では古くから経験的に知られ、イネなどの植物からカイコのような昆虫、ブタなどの家畜に至る様々な生物種において、品質や生産性に優れ、病気や感染などに強い個体の育種に積極利用されて来た。

雑種強勢と近交退化の原因および発現機構に関しては幾つかの仮説が提唱されてい

るが、依然として不明である。雑種強勢では原因遺伝子(群)上の異なる対立遺伝子がヘテロになることが、近交退化は逆に、有害な遺伝子がホモ化することが原因であるとされている。しかしながら、“有害遺伝子”が除去されたために成立したはずの二つの近交系の交雑仔から再び近交化を行なうと近交退化が再出現することを説明できない矛盾や、なによりも現在までに“有害遺伝子”が実証されたことは無い。最も興味深い疑問は①原因遺伝子は何か?②なぜその遺伝子がホモ化/ヘテロ化することで適応度が影響されるのか?である。

(2) 近交退化に関する研究は、その困難さにより全く行なわれていない。雑種強勢に関しては、コメ、トウモロコシ、トマトなどの農業用植物において、交雑試験によりその機序を説明するためのモデルの検証や原因遺伝子の染色体マッピングを行なった報告が散見される(最近の代表例として Semel Y *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 12981-12986 (2006) が、原因遺伝子が同定された報告例は無い。動物においては、わずかに家禽であるウズラ(マウスと異なり完全な近交系ではないが)を用いた発育、組織形態、生化学的検討結果が報告されているのみで、哺乳動物を含めても雑種強勢の原因遺伝子の同定を目指した研究は行なわれていない。

(3) 近交退化による途絶を免れることが示されている哺乳動物は実験動物であるマウス、ラット、ハムスター、ウサギ(1系統のみ)がむしろ例外的である。これらの動物種においては、完全な近交化、すなわち「ゲノム内のほぼ全ての遺伝子座でホモ化が固定された状態」が可能である。特にマウスでは派生経路が明確な近交系が多数確立され、またゲノムの塩基配列、ほぼ全ての遺伝子とその染色体上の配置、遺伝子上の多型的変異、特に single-nucleotide polymorphisms (SNPs) が網羅的に同定され、データとして Web 上で公開されるに至っている。このようにマウスは雑種強勢と近交退化の原因遺伝子同定研究を遂行するための最適のツールである。

(4) リコンビナント近交系は2種類の異なる近交系間の雑種第2代を起源に育成された多数の近交系のセットである。各系統の染色体は両親系統のどちらかに由来する断片のモザイク状で、かつその断片(およびその上に存在する遺伝子)はどちらかの親系統由来のホモ型となっている。SM/JとA/Jを起源系統とする SMXA リコンビナント近交系マウスは成長、耐糖能、脂質代謝 (*Exp. Anim.* 49: 217-224 (2000))、ウレタン誘発肺腫瘍感受

性 (*Cancer Res.* 57: 2904-2908 (1997))、寄生虫感染に対する感受性 (*Parasitol. Int.* 49: 335-338 (2000)) を始めとする様々な特性が次々と明らかとされており、雑種強勢と近交退化の遺伝解析にも有用と考えられる。

2. 研究の目的

SMXA リコンビナント近交系マウスを用いて、遺伝学における解決課題の一つである雑種強勢と近交退化の原因および発現に関する機序の解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) ナショナルバイオリソース「マウス」(理化学研究所)から SM/J、および A/J 系マウス、さらに両系統を起源系統として確立された SMXA リコンビナント近交系マウスを導入した。全ての試験はコンベンショナル条件下で、室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、12 時間明期/12 時間暗期サイクルの設定とした飼育室で行なった。また、マウスには固形飼料 (MF; オリエンタル酵母)、および市水を自由摂取させた。

(2) 以下の交配系を作出し、交雑仔マウスを得た。

- ・起源系統内の交配 (SM/J x SM/J および A/J x A/J)
- ・起源系統間の F_1 交雑仔 ((SM/J x A/J) F_1)
- ・リコンビナント近交系と両起源系統の F_1 交雑仔

(3) マウスは 3 週齢で離乳し、その後、雌雄を分離して 1 ケージ当たり 3~6 匹ずつに分けて飼育し、出生時と 10 週齢時の体重を記録した。さらに自然死まで飼育し、寿命特性を調査した。

(4) 人為的潰瘍性大腸炎誘導への耐性を評価するために、一部のマウスに関して 10 週齢時に 2% のデキストラン硫酸塩 (dextran sulfate sodium; DSS; 分子量 36,000-50,000; MP Biomedicals) を飲料水に添加して 7 日間自由摂取させ、さらに通常の市水での飼育を 7 日間継続した後に大腸のヘマトキシリン/エオジン染色病理切片を作製し、大腸炎の発症率、および重篤度を比較した。

(5) 繁殖性を調査するために、8 週齢から 3 系統の雌マウスと A/J 系統♂を 1:1 で同居させ、自然交配させ、一腹産仔数、出産回数、および生涯総産仔数を計測した。雄側の因子を一定とするために、雄は A/J に固定した。

4. 研究成果

(1) 10 週齢時体重の平均値は SM/J の雌雄では 13.5 g と 15.3 g、A/J の雌雄では 20.1 g と

23.6 g であり、雌雄ともに A/J の平均体重が SM/J の平均体重よりも重かった。(SM/J x A/J) F₁ マウスの雌雄では 19.4 g と 24.2 g であり、SM/J の平均体重、および両親系統の平均体重より有意に高かった。このことは雑種強勢の定義には合致する。しかしながら、(SM/J x A/J) F₁ マウスの平均体重は A/J の平均体重と等しかった。したがって、A/J に由来する遺伝子によるたんなる優性効果と考える事も可能であった。SM/J は体サイズが小さい方向に選抜育種されて確立された近交系であり、体サイズを小さくするための複数の遺伝子を保有することが想定される。逆に A/J はこれらの遺伝子座において体を大きくする対立遺伝子をもつことが想定される。これらの遺伝子の方が雑種強勢のための遺伝子よりも大きな効果をもつかもしれない。

(2) 未経産雌雄マウスを用いて寿命(生存日数)を調査した。平均寿命は SM/J の雌雄で 580 日と 561 日、A/J の雌雄で 572 日と 547 日、(SM/J x A/J) F₁ マウスの雌雄で 593 日と 532 日であり、同一性内の比較では 3 群間で統計的有意差は認められなかった。また、生存曲線のカプラン・マイヤー検定でも 3 系統間で統計的有意差は認められなかった。

(3) 繁殖性の指標として雌マウスの生涯総産仔数を測定した。出産回数は両起源系統が 8 産程度までで出産を停止するのに対し、(A/J x SM/J) F₁ 交雑仔では 13 産に達した個体もあった。A/J は交配が成立しないペアー(出産回数 0)が存在した。この原因は明らかではないが、これらのペアーは生涯総産仔数の解析からは除外した。(A/J x SM/J) F₁ 交雑雌マウスでの一腹平均産仔数はいずれの起源系統での一腹平均産仔数よりも大きく、明らかな雑種強勢が認められた。生涯総産仔数も (A/J x SM/J) F₁ 交雑雌マウスでの平均値がいずれの起源系統での平均値よりも大きく、明らかな雑種強勢が認められた。以上の結果より、これらの形質に関しては、SMXA リコンビナント近交系を用いて雑種強勢の機構の遺伝学的究明が可能と考えられた。

(4) 人為的潰瘍性大腸炎誘導への耐性の調査において、2% の DSS を飲水中から投与した場合、全ての (A/J x SM/J) F₁ 交雑仔と起源系統 (A/J と SM/J) マウスが潰瘍性大腸炎を発症し、しかもその重篤度にも群間で差は認められなかった。DSS 濃度が高すぎたことが理由と考えられ、DSS 濃度を段階的に 0.5~2% として再検討を要すると考えられた。

(5) 一般的な考察として、雑種強勢を観測することが研究開始前の想定よりも困難であった。さらに様々な形質を測定することが必

須である。異なる近交系間の F₁ 交雑仔が高い繁殖性をもつことは多くの研究者に経験的に知られているが、本研究においても繁殖性に強い雑種強勢が観測された。しかしながら繁殖性に関しても、例えば一定期間内に得られる産仔数であっても、雌の成熟日齢、交配成立率、老化速度など、多くの要因が関与するので、単純に数値化できず、解析には困難が伴う。繁殖性の雑種強勢の遺伝的原理・分子遺伝学的メカニズムを解明することは今後の課題であるが、このことが達成できれば、家畜動物の効率的な育種や食料増産、絶滅危惧種の救済など、様々な応用成果が期待できる。

本研究をさらに展開するためには、大規模なマウス集団を作製して解析を継続することが必要と考えられる。雑種強勢および近交退化が現れる寿命などの形質は個体間のバラツキが大きく、遺伝子の効果を検出するためには集団の大規模化が必須である。また、今回は寿命特性の測定には集団飼育したマウス群を用いたが、雑種強勢は観測されなかった。この一因として喧嘩やストレスなどによる影響が考えられ、この可能性を排除するために、マウスを個別飼育して調査することも必須である。全般的に雑種強勢および近交退化形質の解析には長期の観察が必要であり、より短期的に測定可能であり、かつこれらの形質に強く相関する他の形質を模索することも必要と考えられる。

多数のマウスの形質の測定には多大な時間が必要であることから、よりシステムティックな表現型解析法を考案する必要がある。マウス飽和的変異体作製プロジェクトにおいて考案されたスクリーニング法の採用も一法と考えられる。

本研究期間中に、マウス・ラットにおいてゲノム上のエピジェネティックな変化の次世代への遺伝現象が複数報告された。雑種強勢および近交退化の原因解明にもこのような視点を含める必要があると考えられる。

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 8 件)

- ① Wang Y., Sawashita J., Qian Z., Zhang B., Fu X., Tian G., Chen L., Mori M., Higuchi K. ApoA-I deficiency in mice is associated with redistribution of apoA-II and aggravated AApoAII amyloidosis. *Journal of Lipid Research*, 査読有, 52 巻, 2011, 1461-1470, DOI: 10.1194/jlr.M013235
- ② Imanishi H., Yokota M., Mori M., Shimizu A., Nakada K., Hayashi J.

Nuclear but not mitochondrial DNA involvement in respiratory complex I defects found in senescence-accelerated mouse strain SAMP8. *Experimental Animals*, 査読有、60 巻、2011、397-404、DOI: 10.1538/expanim.60.397

- ③ Tomozawa H., Nishio A., Higuchi K., Matsumoto K., Mori M. Genes for difference in eosinophilic phenotype between MES and BN. MES-*Cyba^{mes}* rats are on chromosomes 9, 5, and 1. *Experimental Animals*, 査読有、60 巻、2011、151-160、DOI: 10.1538/expanim.60.151
- ④ Schmelzer C., Okun J., Haas D., Higuchi K., Sawashita J., Mori M., Doring F. The reduced form of Coenzyme Q10 mediates distinct effects on cholesterol metabolism at the transcriptional and metabolite level in SAMP1 mice. *IUBMB Life*, 査読有、62 巻、2010、812-818、DOI:10.1002/iub.388
- ⑤ Qian J., Yan J., Ge F., Zhang B., Fu X., Tomozawa H., Sawashita J., Mori M., Higuchi K. Mouse senile amyloid fibrils deposited in skeletal muscle exhibit amyloidosis-enhancing activity. *PLoS Pathogen*, 査読有、6 巻、2010、e1000914、DOI:10.1371/journal.ppat.1000914
- ⑥ Zhang P., Fu X., Sawashita J., Yao J., Zhang B., Qian J., Tomozawa H., Mori M., Ando Y., Higuchi K. Mouse model to study human A β 2M amyloidosis: Generation of transgenic mouse with excessive expression of human β 2-microglobulin. *Amyloid*, 査読有、17 巻、2010、50-62、DOI: 10.3109/13506129.2010.483116
- ⑦ Schmelzer C., Kubo H., Mori M., Sawashita J., Kitano M., Hosoe K., Boomgaarden I., Doring F., Higuchi K. Supplementation with the reduced form of Coenzyme Q10 decelerates phenotypic characteristics of senescence and induces a PPAR- α gene expression signature in SAMP1 mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 査読有、54 巻、2009、1-11、DOI:10.1002/mnfr.200900155
- ⑧ Zhang G., Fu X., Takeda T., Higuchi K., Mori M. Dysfunction in ABCB1A has only a weak effect on susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis in SAM strains. *Experimental Animals*, 査読有、58 巻、2009、421-425、DOI:10.1538/expanim58.421

[学会発表] (計 3 件)

- ① 森 政之、白内障の分子遺伝学的機序 - 動物モデルを中心に、日本白内障学会 第 49 回総会、2010 年 6 月 25 日、大阪
- ② 森 政之、モデル生物研究の重要性、日本遺伝学会第 81 回大会 公開市民講座「遺伝学と社会の接点 第 2 部：パネル討論会 現代社会における遺伝学の教育と普及のあり方」、2009 年 9 月 16 日、松本
- ③ 樋口京一、森 政之、竹田俊男、老化促進モデルマウス (SAMP) の現状と遺伝的特性、第 56 回 日本実験動物学会シンポジウム「モデルマウスを用いた老化への分子遺伝学的アプローチ」、2009 年 5 月 14 日、さいたま

[その他]

ホームページ等

<http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/department/doctor/grdkarei/i-byota/i/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 政之 (MORI MASAYUKI)
信州大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：60273190

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：