

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007 年度 ～ 2008 年度  
 課題番号：19700376  
 研究課題名（和文） マウス亜種間コンソミック系統群の遺伝子発現プロファイルに基づく多因子肥満症の解析  
 研究課題名（英文） Mouse inter-subspecific consomic strains for the study of obesity-related traits  
 研究代表者：高田 豊行（TAKADA TOYOYUKI）  
 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構（新領域融合研究センター及びライフサイエンス統合データベースセンター）・新領域融合研究センター・融合プロジェクト 特任研究員  
 研究者番号：20356257

研究成果の概要：亜種レベルの異なる進化的起源を有するマウス近交系統間の遺伝的差異に注目して、汎用実験用マウスである C57BL/6J 系統と日本産野生マウス由来の MSM/Ms 系統を使用して樹立された「亜種間コンソミック系統」を使用して、多因子肥満症に関連した表現型の収集をおこなった。複数のコンソミック系統の雄個体を用い、高脂肪食負荷などによる飼育をおこない、特定の染色体を置換した系統で顕著に脂肪蓄積が認められることを確認した。肥満が認められた系統についてはアフィメトリクス社製 GeneChip による遺伝子発現解析をおこない、コンソミック系統の遺伝的背景である C57BL/6J 系統と比較した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

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：モデルマウス、野生由来系統、染色体置換、遺伝子発現、肥満症

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病、高脂肪血症、高血圧などの多因子疾患の発症メカニズムの多くは、従来考えられていた突然変異などのアミノ酸置換を伴う蛋白質機能の欠失による機能低下だけでは説明できず、いわゆる細胞内環境の恒常性を維持するために必要な転写産物とその発現の制御機構の破綻が関与することが明らかになってきた。特に、「生活習慣病」と表現される多因子疾患は、両親から受け継いだ遺伝子発現制御系の弱い効果の不和合性の集合体が、環境要因により重篤な影響を受け、

正常なシステムの破綻を引き起こすために起こる疾患であると考えられることができる。実験用近交系マウスである C57BL/6J (西ヨーロッパ産亜種; *Mus musculus domesticus*) 系統と MSM/Ms (日本産亜種; *Mus musculus molossinus*) 系統には、約 100 万年におよぶ地理的隔離に由来した大きな遺伝的差異とそれに起因する表現型の多様性が存在する (Moriwaki K, Shiroishi T, Yonekawa H.: Japan Scientific Societies Press, Tokyo/Karger, Basel 1994)。これら二つの系統間の遺伝的差異は一塩基多型 (SNPs) で

約 1%に相当することが明らかとなっており (Abe et al. Genome Res., 2004)、これら進化的起源を異にする C57BL/6J と MSM/Ms の遺伝的多型が遺伝子発現に関わる転写因子のみならず、転写制御に必要不可欠なシス・トランス領域にも数多く存在すると考えられる。

わが国では、野生マウス由来の近交系の持つ遺伝的多様性に注目して研究をおこなっているグループは極めて少なく、これは世界的に見ても同様である。しかしながら、標記近交系統を用いた単因子疾患の原因遺伝子同定や修飾遺伝子の探索、さらには、多因子疾患の責任遺伝子の候補領域の同定など、これらの近交系を用いた研究による多くの成果が報告されている。特に多因子疾患の責任遺伝子探索にブレイクスルーをもたらすと考えられているコンソミック系統については、遺伝的に近い関係にある C57BL/6J と A/J 系統によるもの (Singer et al. Science, 2004) が報告されているのみである。本研究計画に使用する亜種間コンソミック系統は、遺伝的距離の大きな系統間差異に着目して樹立されたものであり、世界的に見ても例が無く、上記 C57BL/6J -A/J コンソミック系統と比較して遺伝的不和合性を引き起こしうる遺伝子多型の検出感度が増大すると考えられ、全く新規の肥満症感受性遺伝子群を検出できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究は「亜種レベルの異なる進化的起源を有するマウス近交系統間の遺伝的差異に注目して、肥満症とこの発症を基盤とした糖尿病、高脂肪血症、高血圧などの「生活習慣病」に対し、遺伝的不和合性に基づく遺伝子発現ネットワークの変化を病態の発症に結びつける」というアプローチから研究をおこなう。肥満症に関与する遺伝子のクローニングについては、効果の強い単一遺伝子の変異については複数同定 (Perusse et al. Obesity Res. 2005) されているが、これらが原因で起こる疾患はごく少数の特殊な家系に当てはまるのみであり、残りのほとんどが多因子であり、高脂肪食、運動不足などの生活習慣と、弱い影響を及ぼす因子群の相互作用により病態へと変化するものと考えられている。特に近年、内臓脂肪の過剰な蓄積が脂肪毒性、インスリン抵抗性、レプチン抵抗性などによる代謝システムの破綻を招き、病態の進行に重要な意義を持つことが明らかになっていることから (Matsuzawa Y. FEBS Letters 2006)、肥満症における内臓脂肪の過剰な蓄積に関与する遺伝的要因の解明は非常に重要であり、近年問題になっているメタボリックシンドローム発症機構の理解に大きく貢献する情報を与えると考えられる。

## 3. 研究の方法

汎用実験用マウスである C57BL/6J 系統と日本産野生マウス由来の MSM/Ms (MSM) 系統を使用して樹立された「亜種間コンソミック系統」を使用して、効果的に肥満症関連表現型を変動させる飼育条件の検討をおこなう。具体的には脂肪蓄積を中心とした複数の肥満症関連表現型を効果的かつ効率的に検出するため、通常餌 (粗脂肪率 4.6%、3.47kcal/g) に加えて、高脂肪餌 (粗脂肪率 32%、5.07kcal/g) による飼育をおこない、脂肪代謝に関連した表現型の収集をおこなう。特に内臓脂肪に着目し、その蓄積が少ない系統と多い系統を数系統選び、複数の時間軸に沿った脂質代謝関連の生化学パラメータなどを比較する。次に、いくつかの系統については、代謝関連臓器の収集をおこない、遺伝子発現解析用試料を収集、遺伝子発現解析をおこなう。肝臓から RNA を抽出した。アフィメトリクス社製 GeneChip を使用した遺伝子発現解析をおこない、発現変動遺伝子をプロファイルした。遺伝子発現データを用い *in silico* 解析をおこない「亜種間の染色体置換による代謝関連ゲノムネットワークの破綻」がいかに関与しているかを解析し、個体の肥満症関連表現型の変化に影響を与え、多因子性肥満症の基盤になっているかを検証する。

## 4. 研究成果

遺伝的背景となっている C57BL/6J 系統と染色体供与系統である MSM/Ms 系統、および複数のコンソミック系統に関して、オス個体を使用した摂餌による肥満に関連した表現型スクリーニングをおこなった。代謝関連形質として、脂肪蓄積、血中の臨床生化学パラメータ (コレステロール、中性脂肪、各種酵素など) についてデータを収集した。いくつかの系統については、糖負荷試験も実施した。この結果、エネルギー代謝関連形質において、重要な脂肪蓄積について詳細な表現型解析を実施して遺伝的背景である C57BL/6J 系統と比較し顕著な違いを示すコンソミック系統を見出した。B6-Chr15<sup>MSM</sup> 系統など数系統は脂肪蓄積に抵抗性を示すことが判明した。B6-Chr9<sup>MSM</sup> 系統など数系統が高脂肪食に依存した顕著な肥満形質を呈することが明らかになった。一部の系統について、体系的な表現型解析をおこない、系統毎の表現型データを収集・解析するとともにコンジュニック (サブコンソミック) 系統を作製している。残念ながらすべての系統の雌雄について同様の観察をおこなうことができなかったが、コンソミック系統群の肥満につながる脂肪蓄積の多様性にかかわると考えられる因子が、複数の染色体領域に存在することを確認した。これは作出した亜種間コンソミック系

統が表記表現型を始めとしたメタボリックシンドロームの発症機構に対して優れた遺伝解析系であることを示唆するものである。また、各種の餌により環境条件を変化させた研究がおこなえることも示唆された。これらのコンソミック系統について、アフィメトリクス社製 GeneChip を使用した遺伝子発現解析をおこない、発現変動遺伝子をプロファイルした。発現変動の観察について、GeneChip のハイブリダイゼーションの結果は GCRMA によりプレプロセッシングをおこないそれから得られた Raw データを直接比較した。高脂肪食負荷をおこなったオス個体の肝臓については、以下に示す結果が得られた。コンソミック系統の遺伝的背景である C57BL/6J 系統と比較して2倍以上の発現増加が観察されるプローブは1,391種、2倍以上の発現低下が観察されるプローブは1,414であった。また、5倍以上の発現増加が観察されるプローブは83種、5倍以上の発現低下が観察されるプローブは41種であった。これらの遺伝子群の全染色体における分布を調査したが特定の領域で発現の変化が集中するような現象は観察されなかった。次に Gene ontology にもとづくクラスタリングをおこなったところ、C57BL/6J 系統と比較して発現増加が観察される遺伝子については、Lipid biosynthesis、Cholesterol biosynthesis、Alcohol metabolism、Sterol metabolism などエネルギー代謝に係ると考えられるものに加えて、増殖因子も観察された。一方、発現低下の観察される遺伝子については、特徴的な機能推定が可能なものは観察できなかった。今後は、これら遺伝子の相互作用などを観察するための実験をおこない、多因子性の肥満とこれが関与するメタボリックシンドロームを始めとした疾患の発生機序解明につなげていきたい。また、コンジュニック系統の解析を詳細におこない肥満を規定する遺伝子(群)の同定へとつなげていきたい。

#### 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2件)

1. Takada, T., Mita, A., Maeno, A., Sakai, T., Shitara, H., Kikkawa, Y., Moriwaki, K., Yonekawa, H. and Shiroishi, T.: Mouse inter-subspecific consomic strains for genetic dissection of quantitative complex traits. *Genome Res.*, 18: 500-508, 2008. 査読[有]
2. Takada, T., Shitara, H., Matsuoka, K., Kojima, E., Ishii, R., Kikkawa, Y., Karasuyama, H., Kohno, K. and Yonekawa,

H.: A novel hairless mouse model on an atopic dermatitis-prone genetic background generated by receptor-mediated transgenesis. *Transgenic Res.*, 17: 1155-1162, 2008. 査読[有]

[学会発表] (計6件)

1. Takada, T., Mita, A., Maeno, A., Moriwaki, K., Yonekawa, H., Shiroishi, T. Mouse inter-subspecific consomic strains uncovers additive and non-additive genetic effects on complex traits. 22th International Mammalian Genome Conference, 2008. 11.2-5, Prague, Czech Republic.
2. Takada, T., Mita, A., Moriwaki, K., Yonekawa, H., Shiroishi, T. Mouse inter-subspecific consomic strains for the study of energy metabolism-related traits. CBI Annual Meeting 2008 International Symposium, 2008. 10.22-24, Tokyo, Japan.
3. 高田豊行, 三田晃彦, 森脇和郎, 米川博通, 城石俊彦: マウス亜種間コンソミック系統群を用いた肥満関連表現型の遺伝解析. 日本遺伝学会, 2008, 9.3-5, 名古屋.
4. 高田豊行, 三田晃彦, 森脇和郎, 米川博通, 城石俊彦: マウス亜種間コンソミック系統群を用いたエネルギー代謝関連形質の遺伝解析. 第55回日本実験動物学会総会, 2008, 5.15-17, 仙台.
5. Takada, T., Ebata, T., Narita, T., Shin-I, T., Abe, K., Sakaki, Y., Toyoda, A., Sagai T., Mita, A., Moriwaki, K., Kohara, Y. and Shiroishi, T. Whole genome shotgun sequencing of M. M. Molossinus-derived MSM/Ms and detection of vast amount of SNPs against C57BL/6. 21th International Mammalian Genome Conference, 2007. 10.28-11.1, Kyoto, Japan.
6. 高田豊行, 三田晃彦, 前野哲輝, 森脇和郎, 米川博通, 城石俊彦: マウス亜種間コンソミック系統群を用いたエネルギー代謝関連形質の遺伝解析. 日本遺伝学会, 2007, 9.19-21, 岡山.

[図書] (計1件)

高田豊行, 城石俊彦 (秀潤社)

マウスの比較ゲノム, 日本産マウス系統のゲノム解読とコンソミック系統の樹立. 細胞工学別冊, 比較ゲノム学から読み解く生

命システム（監修，藤山秋佐夫）、2007 年、  
97-104（8 ページ）。

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高田 豊行 (TAKADA TOYOYUKI)

大学共同利用機関法人情報・システム研究機  
構(新領域融合研究センター及び  
ライフサイエンス統合データベースセンター)・新  
領域融合研究センター・融合プロジェクト 特任研  
究員

研究者番号：20356257

### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号：