

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目： 若手研究(B)
 研究期間： 2008 ～ 2009
 課題番号： 20780093
 研究課題名 (和文) 高脂肪食誘発性の脂質・糖代謝異常に多面的に作用する疾患遺伝子の同定
 研究課題名 (英文) Searching for susceptible genes acting metabolic disorders induced by a high-fat diet
 研究代表者
 小林 美里 (KOBAYASHI MISATO)
 名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教
 研究者番号： 20456586

研究成果の概要 (和文)：

食事条件によって変動する肥満、血中脂質、血糖値を包括的に解析し、それらの疾患感受性遺伝子の同定を目指し、遺伝解析に有用な染色体置換マウスをモデル動物として用いた。第12番染色体置換マウスの解析から、高脂肪食に対する脂肪肝の感受性のみならず、血中インスリン濃度を決定する遺伝子が第12番染色体上に存在することを明らかにした。また、肝臓を用いた遺伝子発現の網羅的な解析により候補遺伝子として1遺伝子を選抜することができた。

研究成果の概要 (英文)：

To identify susceptible genes for diet-induced obesity, dyslipidemia, and impaired glucose metabolism, we used mouse chromosome substitution strains (consomic) which is a powerful animal model for genetic analyses. Consomic mouse showed that gene(s) on chromosome 12 control susceptibility for high-fat diet induced not only fatty liver but also insulin resistance. In addition, we could select one candidate gene for these traits using gene expression analysis in liver.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：高脂肪食、脂質代謝、脂肪肝、コンソミック、マウス

1. 研究開始当初の背景

肥満、脂質異常症、インスリン抵抗性など複数の代謝異常疾患を合併した病態としてメタボリックシンドロームが提唱され、広く認知されるようになった。これら

の合併する代謝異常には遺伝的な因子だけでなく環境因子(食事)も関与している。そのため、食事因子の影響も考慮した条件下で、肥満、脂質異常症、インスリン抵抗性に単独あるいは多面的な効果を持つ遺

伝子の同定が求められる。

2. 研究の目的

食事条件によって変動する肥満度、血中脂質レベル、血糖値を包括的に解析し、肥満、脂質異常症、糖尿病をそれぞれ単独に、あるいは多面的に誘発する疾患感受性遺伝子を同定する。そのためには、遺伝解析に極めて有用な染色体置換マウスを用いる。コンソミックマウスは背景系統である A/J マウスと特定の染色体のみが異なるため、簡単に表現型を規定する責任遺伝子の存在領域を決めることができる優れた系統である。

3. 研究の方法

(1) 遺伝因子と食事因子との相互作用

A/J マウスの第 12 番染色体を SM/J マウスに置換させたコンソミックマウスを用いた。

図 1 に示すようにコンソミックマウスは、A/J マウスと比較して第 12 番染色体のみが異なる。そのため、コンソミックマウスと A/J マウスの表現型を比較検討することにより、置換している第 12 番染色体上の遺伝子の効果をみる事が可能である。

このコンソミックマウスと対照系統 A/J マウスに通常食、高脂肪食を摂取させ、肥満度、血中脂質レベル、糖尿病形質の表現型を詳細に解析した。これによりコンソミックマウスと対照マウスとで唯一異なる染色体上の遺伝因子と食事因子との相互作用を検討した。

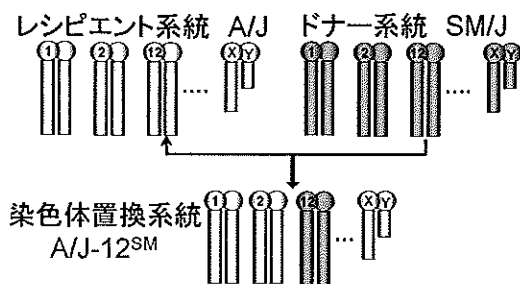


図 1 第 12 番染色体コンソミックマウス

(2) 候補遺伝子の選抜

第 1 2 番染色体置換マウスと A/J マウスとの間での表現型の比較により、効果の観察された形質に注目し、その疾患感受性遺伝子の候補遺伝子を探索するために遺伝子発現量の網羅的解析を行った。(1)の方法により、食事因子との相互作用が確認された染色体を置換したコンソミックマウスと対照の A/J マウスの肝臓を用いて遺伝子発現量の比較

を行い、発現量に違いのある遺伝子を候補遺伝子として選抜した。

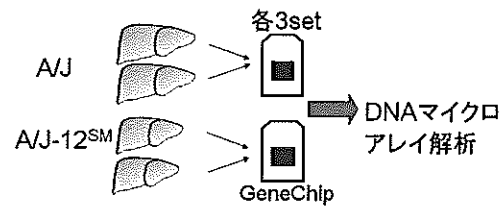


図 2 遺伝子発現量解析の方法

(3) 新たなコンジェニック系統の作製

疾患感受性遺伝子を同定するためには、その責任遺伝子の存在領域を限局する必要がある。そこで、染色体 1 本を置換しているコンソミックマウスから染色体を部分的に置換したコンジェニックマウスの作製を開始した。

4. 研究成果

(1) 遺伝因子と食事因子との相互作用

第 12 番コンソミックマウスと対照系統の A/J マウスを通常食と高脂肪食にて 10 週間飼育したところ、通常食群では両系統の耐糖能、血中脂質、血糖値、肝臓重量、肝臓総脂質量に顕著な差が見られなかった。

一方、高脂肪食の摂取下においては、コンソミックマウスでは肥満の抑制、耐糖能の改善傾向、肝臓脂質蓄積の抑制が観察された。この結果より、高脂肪食誘発性の肥満、2 型糖尿病、脂質代謝異常に関与する遺伝子の存在をマウス第 12 番染色体上に確認した。

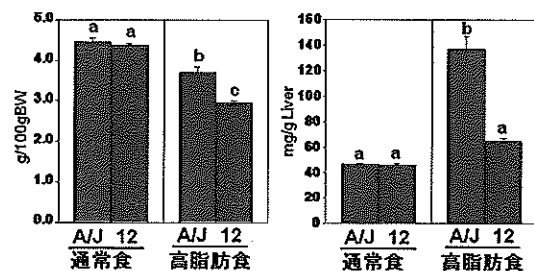


図 3 肝臓重量と肝臓総脂質量 (10 週間)

また、これらの表現型が肥満形質によって引き起こされる二次的な影響か否かを検討するために、次に短期間での実験を行った。その結果、体重、摂餌量、肥満度、各種白色脂肪組織重量においては有意な差は観察されなかった。しかし、肝臓重量、肝臓総脂質量において第 12 番コンソミックマウスは対照の A/J マウスに比較して低値を示した。

この結果から、肥満とは独立して脂質代謝に影響を与える遺伝子の存在が示唆された。

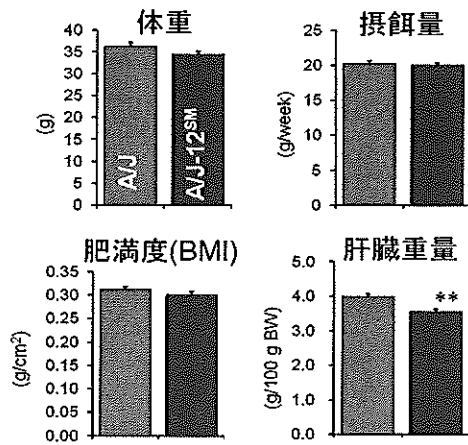
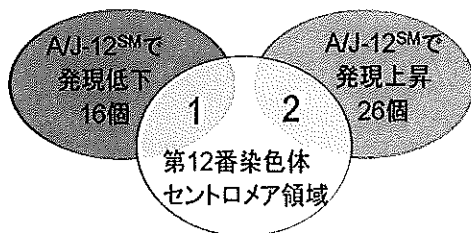


図4 肥満度と肝臓重量 (短期飼育)

(2) 候補遺伝子の選抜

第12番コンソミックマウスと対照のA/Jマウスの肝臓を用いた遺伝子発現変化を網羅的な解析(DNAマイクロアレイ解析)を行ったところ、第12番染色体上の遺伝子の中に2系統間で変動する遺伝子が3つ検出された。これらの遺伝子の発現量をReal-time PCR法にて検証した結果、1つの遺伝子でのみ12番コンソミックマウスでの発現上昇が観察された。

第12番コンソミックマウスを用いた本研究から、高脂肪食に対する脂肪肝の感受性のみならず血中インスリン濃度を決定する遺伝子が第12番染色体上に存在することが明らかとなり、その候補遺伝子として1つの遺伝子を選抜することができた。



第12番染色体のセントロメア側(~52.8Mb)領域に存在する遺伝子→3個

図5 肝臓遺伝子発現量の解析結果

(3) 新たなコンジェニック系統の作製

コンソミックマウスの背景系統A/Jマウスへの戻し交配を行うことにより、新たに第12番染色体のセントロメア側約45Mbを有するコンジェニックマウスを作製に成功した。

今後、このマウスを用いた表現型解析を行うことで、疾患感受性遺伝子の存在領域を局限していく予定である。

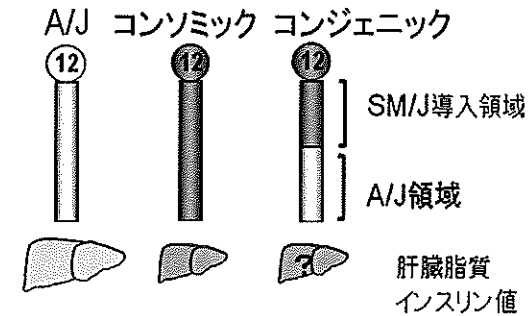


図6 コンジェニックマウスにおける表現型解析による疾患感受性遺伝子の限局法

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 Kobayashi M, Hada N, Hoshino H, Ozawa T, Umeshita K, Nishimura M, Murai A, Ohno T, Horio F. Confirmation of diabetes-related quantitative trait loci derived from SM/J and A/J mice by using congenic strains fed a high-carbohydrate or high-fat diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 査読有, vol. 55:2009: pp257-63.

② Hada N, Kobayashi M, Fujiyoshi M, Ishikawa A, Kuga M, Nishimura M, Ebihara S, Ohno T, Horio F. Quantitative trait loci for impaired glucose tolerance in nondiabetic SM/J and A/J mice. *Physiol Genomics*. 査読有, vol.35: 2008 :pp65-74.

[学会発表] (計4件)

① 小林美里他、マウス第12番染色体に存在する脂肪肝感受性遺伝子の遺伝子発現解析による探索、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月28日、東京大学駒場キャンパス

② 小林美里他、マウス第12番染色体に存在する脂肪肝感受性遺伝子座の解析、第24回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、2010年1月22日、大阪

③ 小林美里他、生活習慣病に関わる遺伝因子

と食事因子、第14回日本フードファクター学会、2009年11月17日、神戸大学六甲台キャンパス

- ④ 田口千恵、小林美里他、コンソミックマウスを用いた第12番染色体上の脂肪肝原因遺伝子の探索、日本農芸化学会2009年度大会、2009年3月28日、福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 美里 (KOBAYASHI MISATO)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教

研究者番号：20456586