

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25年5月27日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500381

研究課題名（和文）マウスのセンダイウイルス感染抵抗性／感受性における系統差の責任遺伝子同定

研究課題名（英文）Identification of genes responsible for resistance/susceptibility to Sendai virus infection in the strain difference in mice.

研究代表者

安居院 高志（AGUI TAKASHI）

北海道大学・大学院獣医学研究科・教授

研究者番号：00212457

研究成果の概要（和文）：実験用マウスの主要な感染症であるセンダイウイルス感染において系統差が存在することが知られている。抵抗性系統 C57BL/6 (B6) と感受性系統 DBA/2 (D2) を用いてセンダイウイルス感染における QTL 解析を行ったところ、3 つの感染抵抗性／感受性に関わる QTL が得られていた。本研究ではこれらの領域をそれぞれ入替えた B6 及び D2 をバックグラウンドに持つ 6 系統のコンジェニックマウス、更には epistatic interaction が見られた 2 つの領域を同時に有する B6、D2 バックグラウンドの系統 2 系統、総計 8 系統のコンジェニック系統の作製を行い、それらに対してセンダイウイルス感染実験を行うことにより、QTL 解析において単独でも有為な抵抗性を示した SeV1 領域及び epistatic interaction を示した SeV2 と SeV3 は D2 バックグラウンドにおいて抵抗性をもたらし、確かにこの領域に抵抗性／感受性遺伝子が存在することを証明できた。

研究成果の概要（英文）：It is known that there is strain difference in the laboratory mice in the resistance/susceptibility to Sendai virus infection. It is, further, known that three QTLs are identified to be responsible for the resistance/susceptibility to Sendai virus infection, based on the QTL analysis using C57BL/6 (B6) and DBA/2 (D2) mice as a representative of the resistant and susceptible strains, respectively. In this research, we produced 6 congenic strains, in which 3 QTLs were introgressed into B6 and D2 mice, respectively. Further, we produced 2 congenic strains, in which 2 QTLs showing epistatic interaction were simultaneously introgressed into B6 and D2 mice, respectively. Using these 8 congenic strains, we conducted infection experiments with Sendai virus. We obtained results that these three introgressed QTLs invested resistance to D2 mice, thus confirming that genes responsible for resistance to Sendai virus infection should exist in these three QTLs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：実験動物学

キーワード：センダイウイルス、マウス、感染抵抗性因子、コンジェニックマウス、QTL

1. 研究開始当初の背景

センダイウイルスはマウスに肺炎を起こす病原体で、実験用マウスコロニーでは最も感染事故の多い病原体の一つである。従来より、マウス系統により感染抵抗性/感受性が異なることが知られていたが、その機序は不明であった。

2. 研究の目的

我々は抵抗性及び感受性系統の代表格である C57BL/6 (B6) 及び DBA/2 (D2) 系統を用い、両系統の交配により作製したバッククロス個体群を用いた quantitative trait locus (QTL) 解析により、3つの QTLs (SeV1, 2, 及び 3) の相互作用により両系統の抵抗性及び感受性の形質をほぼ説明できることを明らかにした (A. Y. Simon et al. Multigenic control of resistance to Sendai virus infection in mice. Infect. Genet. Evol., 9, 1253-1259, 2009, 図 1)。本研究はこれら QTLs 中に存在する責任遺伝子を同定することを目的としている。

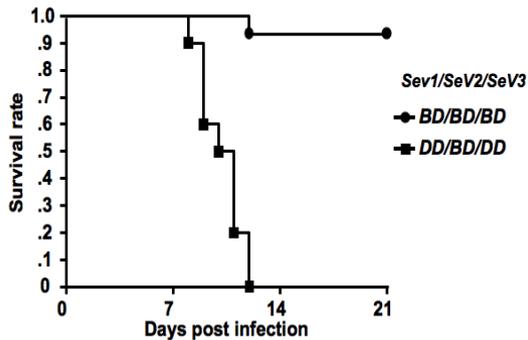


図 1 B6 と DBA/2 より作製したバッククロス個体において、特有の *SeV1*、*SeV2* 及び *SeV3* の遺伝子型を持つ個体のセンダイウイルス感染後の生存曲線 (Kaplan-Meier plot)。生存率は人道的エンドポイントの観点から、40%の体重減少を示すか否かで測定した。B: B6 アレル、D: DBA/2 アレル。(A. Y. Simon et al., Infect. Genet. Evol., in press より。)

3. 研究の方法

責任遺伝子同定のためには、まず B6 及び D2 マウス間で、これら領域 (QTLs) を互いに単独に入れ替えたコンジェニックマウスを作製し、これらの領域 (QTLs) の保有の仕方によって抵抗性/感受性の表現型を再現できるかどうかを確認する必要がある。

コンジェニックマウスの作製には両系統を交配して作出した F1 マウスをそれぞれの親系統に戻し交配を行い、作出された戻し交配 N2 のゲノムを解析し、該当するドナー系統ハプロタイプを有し、更にレシピエント系統の遺伝背景を最も保存している N2 を選抜し次世代に用いるという、いわゆるスピードコンジェニックの手法を用いた。この交配を 6~7 世代繰り返すことによって、目的の QTL のみを有するコンジェニック系等作製することができた。更に、QTL 解析において epistatic interaction を示した *SeV2* と *SeV3* については、両 QTL を同時に有するコンジェニックを作製するために、単独で QTL を有するコンジェニックを 2 回交配して F2 マウスを作製し、この中から *SeV2* と *SeV3* をともに有するコンジェニックを選抜した。

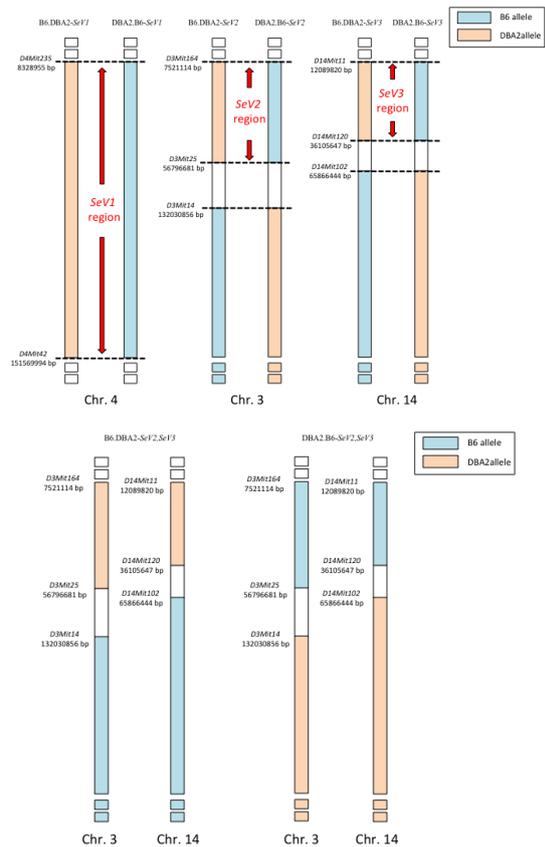


図 2 作製されたコンジェニックマウスのゲノム構造

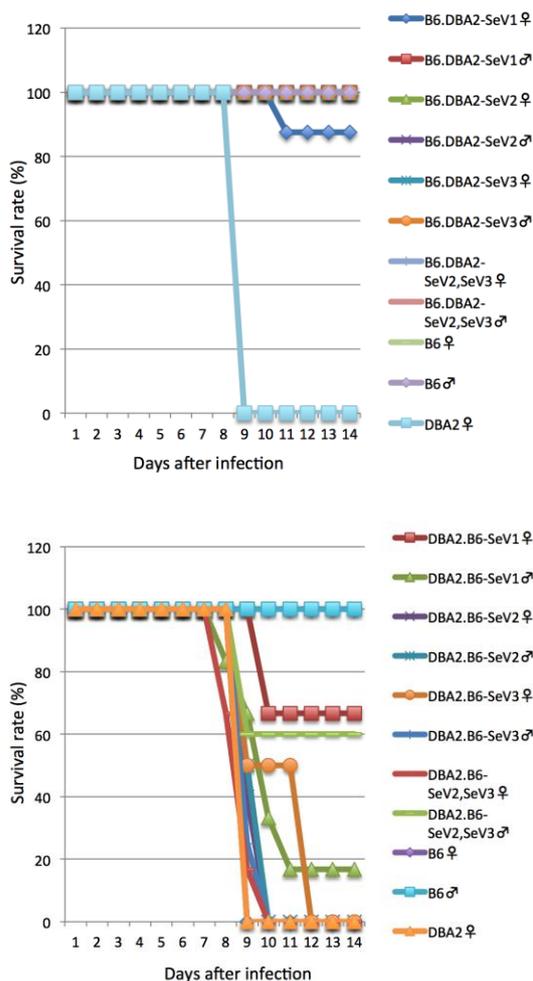


図 3 コンジェニック系統を用いたセンダイウイルス感染実験。上図：B6 バックグラウンドコンジェニック。下図：D2 バックグラウンドコンジェニック。

4. 研究成果

これらの3つの領域(QTLs)をB6バックグラウンド及びD2バックグラウンドでそれぞれ単独に入れ替えた6系統、更にはepistatic interactionが見られた2つの領域をともに有するB6、D2バックグラウンドの系統2系統、総計8系統x2=16系統のコンジェニック系統の作製

を行い、全ての系統の作製を終了することができた(図2)。

まず、B6バックグラウンドのマウスにおいては、QTL解析において単独で有意な抵抗性/感受性を示したSeV1をD2由来のものと置き替えたコンジェニックにおいて、メスのみが弱く感受性を示した。他のコンジェニックではバックグラウンドのB6と変わりなかった。一方、D2をバックグラウンドとしたコンジェニックではSeV1を入れ替えたコンジェニックでは雌雄共に、QTL解析でepistatic interactionが見られたQTL、SeV2とSeV3をともに有するコンジェニックではオスにのみその効果が見られた。コンジェニックではQTL解析の統計データに比べQTLの効果が薄れているが(特にB6バックグラウンドにおいて)、これは検出限界以下のepistatic interactionのあるSeV2/SeV3以外の複数の遺伝子座がそれぞれの近交系に多数存在し、コンジェニック化することによりそれらのinteractionの全てが失われたためと推察される。それにも拘らずコンジェニック系統において3つのQTLの効果が薄れたとはいえ確認されたことは、これらのQTL領域にセンダイウイルスの抵抗性/感受性を規定する遺伝が確かに存在していることを示唆している。今後これらコンジェニック系に同じ遺伝学的背景を有する親系統を再度交配し、そのF1を同じ親系統に戻し交配することによって該当する領域内に組換えを生じたバッククロス個体を選別し、そのバッククロス個体からサブコンジェニックを作製する。これらサブコンジェニック系を用いて感染実験を行うことでこの領域を狭めることができる。最終的には狭められた領域内に存在する遺伝子を調べることにより、責任遺伝子の同定が可能である。

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2件)

① Asano, A., Torigoe, D., Sasaki, N., and Agui, T. Epitope mapping of the nucleocapsid protein of Sendai virus and application of antigenic epitopes for the ELISA-based diagnosis of Sendai virus infection. J. Vet. Med. Sci. in press 査読有

② Simon, A.Y., Sasaki, N., Ichii, O., Kajino, K., Kon, Y., and Agui, T. Distinctive and critical roles for cellular immunity and immune-inflammatory response in the immunopathology of Sendai virus infection in mice. Microbes Infect.

13: 783-797, 2011 査読有

[学会発表] (計1件)

① Ayo Yila Simon, Nobuya Sasaki, Osamu Ichii, Kiichi Kajino, Yasuhiro Kon and Takashi Agui. Distinctive and essential roles of cellular immunity, lung injury and immune/inflammatory response to Sendai virus infection in mice. 第7回北海道実験動物研究会学術集会、2010年7月17日、北海道大学大学院獣医学研究科講堂(札幌市)

[図書] (計0件)

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安居院 高志 (AGUI TAKASHI)

北海道大学・大学院獣医学研究科・教授

研究者番号: 00212457