1. 新しく開発された I 型糖尿病モデルラット (KDP) における 病因遺伝子の遺伝学的解析

横井 伯英 金沢 真雄¹⁾ 北田 一博
田中 彰彦¹⁾ 金澤 康徳²⁾ 須田 成彦¹⁾
伊藤 久雄¹⁾ 芹川 忠夫 米田 嘉重郎³⁾

京都大学医学部 動物実験施設, 東京医科大学 第三内科¹⁾, 自治医科大学 大宮医療センター²⁾,
東京医科大学 動物実験センター³⁾

Genetic Analysis of Autoimmune Type 1 Diabetes in the KDP Rat

Norihide YOKOI, Masao KANAZAWA¹⁾, Kazuhiro KITADA,
Akihiko TANAKA¹⁾, Yasunori KANAZAWA²⁾, Shigehiko SUDA¹⁾,
Hisao ITO¹⁾, Tadao SERIKAWA and Kajuro KOMEDA³⁾

*Institute of Laboratory Animals, Faculty of Medicine, Kyoto University, Third Department
of Internal Medicine, Tokyo Medical College¹⁾, Omiya Medical Center, Jichi
Medical School²⁾, Division of Laboratory Animal Science, Animal Research
Center, Tokyo Medical College³⁾*

Summary

The Long-Evans Tokushima Lean (LETL) rat, characterized by rapid onset of insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus (IDDM), no sex difference in the incidence of IDDM, autoimmune destruction of pancreatic β -cells, and no significant T-cell lymphopenia, is a desirable animal model for human IDDM. The first genetic analysis showed that an MHC-linked gene is involved in the pathogenesis of insulinitis. So far, other genetic factors have not been revealed due to a low incidence (about 20%) of IDDM in this strain. We have established a diabetes-prone substrain of the LETL rat, named Komeda Diabetes-Prone (KDP) rat, showing a 100% development of insulinitis and over 70% incidence of IDDM within 220 days. In this study, we performed the first genome-wide scan for non-MHC IDDM susceptibility genes in the KDP rat and identified a major IDDM susceptibility gene, termed *Iddm/kdp1*, on rat chromosome (Chr) 11. Homozygosity for the KDP allele at *Iddm/kdp1* locus was shown to be essential for the development of severe insulinitis and onset of IDDM. Comparative mapping suggests that homologs of *Iddm/kdp1* are located on human Chr 3 and mouse Chr 16 and would therefore be different from previously reported IDDM susceptibility genes.

緒 言

インスリン依存型 (I 型) 糖尿病 (IDDM) は、複数の遺伝子と環境要因との複合作用により発症する多因子自己免疫疾患と考えられている。MHC class II が最も強い効果を持った遺伝要因であるとされているが、そのみで疾患感受性の全てを説明することはできず、その他の原因遺伝子の同定を目的として、ヒトおよび自然発症動物モデル動物における IDDM の遺伝

解析が行われてきた。これまでに、ヒトにおいては 18 個の染色体領域が¹⁾、NOD マウスにおいては 14 個の染色体領域が疾患に関与すると報告されている^{2,3)}。しかし、それらのほとんどについて原因遺伝子の同定には未だ至っていない。一方、BB ラットでは少なくとも 2 つの遺伝子の関与が報告されている⁴⁾。NOD マウスと BB ラットはヒト IDDM のモデル動物として活用されているが、NOD マウスには発症に性差がある

こと、BB ラットではリンパ球減少症が発症に必須であることなど、ヒト IDDM ではみられない特徴がある。このようなことから、これら2つのモデル動物以外にも新たなモデル動物の開発が切望されていた。

Kawano et al. (1991) によって確立された IDDM のモデル動物 Long-Evans Tokushima Lean (LETL) ラットは、糖尿病発症に性差がみられず、リンパ球減少症がみられないという特徴をもった極めて興味のある動物であるが、その糖尿病の発症率は約20%と低いために、これまで膵島炎に関与する遺伝子の1つが MHC (RT1) と連鎖すると報告されているにすぎない⁵⁾。最近、米田らは、LETL ラットから糖尿病を高発症する新たな系統 Komeda Diabetes-Prone (KDP) ラットを開発した (Komeda, K. et al., submitted)。この KDP ラットは220日齢までに全個体が膵島炎を示し、70%以上が糖尿病を発症する。われわれは、KDP ラットと正常ラットとの戻し交雑仔を用い、この糖尿病の発症について全てのゲノム領域を対象として遺伝学的解析を進め、MHC 領域以外の糖尿病原因遺伝子をマッピングすることに成功し、この原因遺伝子座領域と相同なヒトおよびマウスの染色体領域を特定した。

材料および方法

1) 交配系

LETL および LETO ラットは大塚製薬から分与を受けた。BN/Sea ラットは(株)成和実験動物研究所 (現、セアック吉富 (株)) から導入した。TM/Kom ラットは東京医大・動物実験センターにおいて維持されている。

KDP ラットは LETL ラットから糖尿病を高発症す

るように開発された系統であり、これを交配実験に用いた。(TM×KDP)F₁×KDP, (LETO×KDP)F₁×KDP および (BN×KDP)F₁×KDP という3つの交配系から戻し交雑仔を作出した。ここで、MHC (RT1) は BN ラットが n ハプロタイプ、それ以外のラットはすべて u ハプロタイプである。

2) 糖尿病および膵島炎の判定

Tes-tape による尿糖検査、Glutest E による血糖値の測定を行い、18 週齢までに尿糖陽性 (2~4+) かつ血糖値 200 mg/dl 以上を示した個体を糖尿病と判定した。膵組織標本の作成は常法に従い、膵島炎の程度は5段階で評価した。

3) 遺伝子型のタイピングおよび連鎖解析

遺伝子型のタイピングは、ほぼ全てのゲノム領域を検索できる100個以上の SSLP (Simple Sequence Length Polymorphism) マーカーを用いて行った。これらのマーカーと糖尿病との連鎖解析は、カイ2乗検定によった。連鎖地図の作成には、GENE-LINK computer program⁶⁾を用いた。

4) 比較遺伝子マッピング

ラット第11染色体はマウス第16染色体と相同であると報告されている⁷⁾。そこで、マウス第16染色体の SSLP マーカーをラットに適用し、ラット戻し交雑パネルにおいて多型を示したマーカーについて、各戻し交雑仔をタイピングした。ラット戻し交雑パネルとしては、主に (TM×KDP)F₁×KDP を用いた。同様に、ラットの第11染色体の SSLP マーカーをマウスに適用した。マウスの戻し交雑パネルとしては、(ALY×MSM)F₁×ALY を用いた。また、ヒト第3染色体および第21染色体にマッピングされている遺伝子と相同

Table 1 Phenotypes of backcross progeny for insulinitis and diabetes

Cross	Total	Insulinitis score				
		1	2	3	4	5(Diabetes)
(TM×KDP)×KDP	168	82(49%)	9(5%)	14(8%)	9(5%)	54(32%)
(LETO×KDP)×KDP	191	103(54%)	11(6%)	7(4%)	6(3%)	64(34%)
(BN×KDP)×KDP	57	37(65%)	3(5%)	7(12%)	1(2%)	9(16%)

Insulinitis scores for each animal were graded from 1 to 5 based on the percentages of moderately and severely infiltrated islets. A score of 1 was given to animals with no or slight insulinitis. Those with mild, moderate or severe insulinitis were given score 2, 3 or 4, respectively. Diabetic animals were classified as end stage infiltration and given a score of 5.

Table 2 Associations of markers with diabetes

Locus Chr name	Typed animals	Diabetics		Non-diabetics		χ^2	
		Ho	He	Ho	He		
(TM×KDP) × KDP							
1	<i>D1Nih2</i>	139	25	28	32	54	
	<i>Klk1</i>	43	20	23			
	<i>Bsis</i>	168	26	28	59	55	
	<i>Mt1pa</i>	44	23	21			
	<i>Igf2</i>	162	25	29	55	53	
	<i>Pbpc2</i>	155	23	31	53	48	
	<i>D1Mgh12</i>	168	21	33	56	58	
2	<i>D2Mit6</i>	156	18	36	50	52	
	<i>Cpb</i>	158	19	35	56	48	5
	<i>D2Mit9</i>	114	26	27	34	27	
	<i>Pklr</i>	44	22	22			
	<i>Hsd3b</i>	168	27	27	66	48	
	<i>Cd53</i>	44	23	21			
	<i>D2Nih5</i>	148	28	26	51	43	
	<i>D2Mit16</i>	166	35	19	54	58	4
3	<i>D3Kyo2</i>	42	27	15			
	<i>D3Arb178</i>	158	29	23	59	47	
	<i>D3Mit13</i>	167	22	32	53	60	
	<i>Svp2</i>	165	20	34	54	57	
	<i>Ptp</i>	44	15	29			
	<i>Stn1</i>	42	15	27			
4	<i>Cpa1</i>	166	27	27	54	58	
	<i>D4Cep3</i>	44	21	23			
	<i>Npy</i>	44	20	24			
	<i>Eno2</i>	166	20	34	52	60	
	<i>Kcna</i>	44	16	28			
	<i>Pthlh</i>	44	17	27			
5	<i>D5Mit1</i>	44	21	23			
	<i>D5Mit9</i>	165	26	27	60	52	
	<i>D5Mit11</i>	162	26	28	55	53	
	<i>Glut1</i>	44	19	25			
	<i>D5Mit13</i>	167	25	29	57	56	
6	<i>D6Cep8</i>	165	21	33	61	50	
	<i>D6Kyo3</i>	123	18	27	37	41	
	<i>D6Mit2</i>	44	19	25			

Table 2 つづき

Chr	Locus name	Typed animals	Diabetics		Non-diabetics		χ^2
			Ho	He	Ho	He	
	<i>D6Mit8</i>	163	21	33	55	54	
	<i>D6Mit10</i>	44	18	26			
	<i>Ckb</i>	44	17	27			
7	<i>Igf1</i>	159	23	31	60	45	
	<i>D7Cep1</i>	168	20	34	60	54	
	<i>D7Mit5</i>	44	17	27			
	<i>Myc</i>	44	17	27			
	<i>D7Mit4</i>	168	20	34	57	57	
	<i>D7Mit3</i>	40	14	26			
	<i>D7Mit11</i>	44	18	26			
	<i>Prph</i>	160	23	31	51	55	
8	<i>D8Kyo1</i>	47	26	21			
	<i>D8N228</i>	168	30	24	53	61	
	<i>Ncam</i>	168	33	21	50	64	
	<i>D8N136</i>	167	35	18	56	58	4.2
	<i>D8Mgh4</i>	167	35	19	57	56	
	<i>Rbp2</i>	168	31	23	66	48	
	<i>D8Mgh1</i>	157	26	23	68	40	
	<i>Acaa</i>	54	27	27			
9	<i>D9Mgh5</i>	154	29	25	47	53	
	<i>Cryga</i>	167	34	20	66	47	
	<i>D9Mit3</i>	44	26	18			
	<i>D9Kyo2</i>	154	32	22	54	46	
10	<i>D10Mit10</i>	145	23	31	47	44	
	<i>D10Mit9</i>	44	17	27			
	<i>Syb2</i>	166	21	33	49	63	
	<i>D10Mit8</i>	44	17	27			
	<i>Abpa</i>	44	17	27			
	<i>Asgr1</i>	44	18	26			
	<i>Ppy</i>	165	25	29	53	58	
	<i>D10Mit1</i>	44	20	24			
	<i>D10Mit7</i>	44	20	24			
11	<i>Knq</i>	168	41	13	45	69	19.5
	<i>D11Nih1</i>	168	44	10	48	66	22.9
	<i>D11Mgh3</i>	168	44	10	48	66	22.9
	<i>D11M16Mit4</i>	152	44	10	36	62	28

Table 2 つづき

Chr	Locus name	Typed animals	Diabetics		Non-diabetics		χ^2
			Ho	He	Ho	He	
	<i>D11Nih2</i>	168	45	9	47	67	26.2
	<i>D11Mgh4</i>	168	48	6	47	67	33.9
	<i>Gap43</i>	168	50	4	44	70	43.4
	<i>Mox2</i>	168	51	3	46	68	43.9
	<i>D11M16Mit46</i>	168	52	2	40	74	55.4
	<i>D11M16Mit77</i>	168	46	8	40	74	36.8
	<i>D11Mit2</i>	168	43	11	40	74	29.1
	<i>D11Mgh6</i>	167	37	16	45	69	13.3
12	<i>D12Mit8</i>	40	23	17			
	<i>D12Mit5</i>	44	17	27			
	<i>D12Mit7</i>	160	22	32	42	64	
	<i>D12Mit3</i>	44	17	27			
	<i>D12Mit4</i>	158	20	30	45	63	
13	<i>D13Cep1</i>	43	21	22			
	<i>D13Kyo3</i>	162	28	23	56	55	
	<i>D13Mgh6</i>	142	22	24	39	57	
14	<i>D14Mit2</i>	144	28	26	49	41	
	<i>D14Mgh2</i>	141	21	26	44	50	
15	<i>D15Mgh2</i>	140	22	25	50	43	
	<i>D15Mgh5</i>	167	21	33	58	55	
16	<i>D16Mit2</i>	161	33	20	56	52	
	<i>D16Cep2</i>	174	24	29	45	56	
17	<i>Chrm3</i>	166	29	25	52	60	
	<i>D17Mit3</i>	46	27	19			
	<i>D17Kyo1</i>	44	27	17			
	<i>Rpl35p</i>	163	27	27	57	52	
	<i>D17Mgh1</i>	46	26	20			
18	<i>D18Kyo1</i>	44	18	26			
	<i>D18Mit1</i>	168	19	35	52	62	
	<i>D18Mit2</i>	168	20	34	51	63	
	<i>D18Mit4</i>	167	18	36	50	63	
	<i>Tilp</i>	168	17	37	49	65	
	<i>D18Mgh1</i>	163	19	35	49	60	
	<i>Gja1</i>	168	15	39	53	61	5.3
	<i>Olf</i>	168	15	39	52	62	4.9
	<i>D18Mgh3</i>	167	18	36	47	66	

Table 2 つづき

Chr	Locus name	Typed animals	Diabetics		Non-diabetics		χ^2
			Ho	He	Ho	He	
	<i>D18Mit9</i>	168	17	37	49	65	
19	<i>Hmox1</i>	164	29	25	62	48	
	<i>D19Mit7</i>	141	20	26	57	38	
	<i>D19Kyo3</i>	156	21	31	55	49	
20	<i>D20Mgh5</i>	163	32	21	54	56	
	<i>D20Arb234</i>	163	32	22	53	56	
X	<i>DXMit4</i>	143	26	21	43	53	
	<i>DXMit1</i>	143	27	20	44	52	
(LETO $\times$ KDP) $\times$ KDP							
8	<i>D8N136</i>	190	30	33	55	72	
11	<i>Sst</i>	185	53	11	56	65	23.1
	<i>D11Mgh5</i>	191	61	3	43	84	64.8
	<i>D11Mit2</i>	190	57	6	47	80	48.6
	<i>D11Mit4</i>	189	52	12	43	82	37.2
18	<i>Tilp</i>	189	36	28	63	62	
20	<i>Tnfa</i>	190	26	37	74	53	
(BN $\times$ KDP) $\times$ KDP							
8	<i>D8N136</i>	57	3	6	19	29	
11	<i>Sst</i>	57	8	1	24	24	4.7
	<i>Knq</i>	57	8	1	24	24	4.7
	<i>D11Nih1</i>	57	9	0	22	26	9
	<i>Gap43</i>	57	9	0	22	26	9
	<i>Mox2</i>	57	9	0	22	26	9
	<i>D11Mit2</i>	57	7	2	15	33	6.9
	<i>Sod1</i>	57	7	2	15	33	6.9
	<i>D11Mit4</i>	57	6	3	16	32	
18	<i>Gja1</i>	57	6	3	25	23	
20	<i>D20Rwh1 (RT1)</i>	57	8	1	23	25	5.1
	<i>D20Mgh5</i>	57	8	1	24	24	4.7
	<i>D20Arb548</i>	52	7	2	20	23	
	<i>Prkacn2</i>	57	4	5	24	24	
	<i>D20Mgh1</i>	57	4	5	25	23	

Linkage of markers to diabetes was evaluated by χ^2 tests in 2×2 contingency tables. Only $\chi^2 \geq 4$ values are shown. Ho, homozygote ; He, heterozygote.

なラット遺伝子を GenBank から検索し、その配列中に見いだされたマイクロサテライト領域から新たに SSLP マーカーを開発して、ラット戻し交雑パネルに適用した。

結果と考察

1) 糖尿病および膵島炎の遺伝様式

戻し交雑仔における膵島炎の程度および糖尿病の判定結果は Table 1 に示した。F₁ 個体の中でわずかに膵島炎のみられる個体があったが、糖尿病になる個体はなかった。戻し交雑仔中の糖尿病発症個体の割合は支配系によって異なっていた。TM との交配系では 32%，LETO との交配系では 34%，BN との交配系では 16% であった。これらの結果から、TM および LETO との交配系においては少なくとも 1 つの劣性遺伝子が、一方、BN との交配系においては少なくとも 2 つの劣性遺伝子が糖尿病の発症に関与すると考えられた。

各交配系における戻し交雑仔を膵島炎のスコア 1 (膵島炎なし、あるいはごく軽度) と 2 から 5 (軽度から重度) の 2 つに分類すると、後者に分類される個体の割合は、TM との交配系では 51%，LETO との交配系では 46%，BN との交配系では 35% であった。これらの結果より、TM および LETO との交配系におい

ては 1 つの劣性遺伝子が、一方 BN との交配系においては 1 つ以上の劣性遺伝子が膵島炎の発症に関与すると考えられた。

2) 糖尿病の原因遺伝子 (*Iddm/kdp1*) のマッピング

MHC 領域以外の糖尿病原因遺伝子を探索するために、TM との交配系から作出した戻し交雑仔を用いて全ゲノム領域を対象に連鎖解析を行った (Table 2)。その結果、第 2 (*D2Mit16*)、8 (*D8N161*)、11 (全てのマーカー) 染色体において糖尿病発症個体の遺伝子型のホモ型への偏りが、第 2 (*Cpb*)、18 (*Gja1*, *Olf*) 染色体においてはヘテロ型への偏りが認められた。その中で、特に第 11 染色体上のマーカーについては、糖尿病の発症との間に極めて強い連鎖が認められた。糖尿病発症個体においてはホモ型へ強く偏っていたが、糖尿病を発症しなかった個体においてはヘテロ型への弱い偏りが認められたただけであった。これより、*D11M16Mit46* の近傍に 1 つの劣性の糖尿病原因遺伝子が存在すると考えられた。この遺伝子 (*Iddm/kdp1* と名付けた) が劣性遺伝様式をとると仮定し、糖尿病発症個体を用いた連鎖解析を行うと、*Mox2* と *D11M16Mit46* の間に *Iddm/kdp1* をマッピングすることができた (Fig. 1)。

次いで、TM との交配系で得られた知見を確認する

Fig. 1 Genetic linkage maps of rat Chr 11 including *Iddm/kdp1* locus. Only diabetic animals were used to construct the linkage maps for the TM and LETO crosses, whereas all animals were included in the analysis for the BN cross. *D11M16Mit4*, *D11M16Mit46* and *D11M16Mit77* are mouse Chr 16 markers which were mapped to rat Chr 11.

Table 3 Association of *Iddm/kdp1* genotypes with the frequency and severity of insulinitis

Cross	<i>Iddm/kdp1</i> Genotype	Insulinitis score				Mann-Whitney <i>U</i> test
		1	2	3	4	
(TM×KDP)×KDP	Ho (<i>n</i> =45)	18 (40%)	5 (11%)	13 (29%)	9 (20%)	<i>p</i> <0.005
	He (<i>n</i> =69)	64 (93%)	4 (6%)	1 (1%)	0 (0%)	
(LETO×KDP)×KDP	Ho (<i>n</i> =43)	23 (53%)	7 (16%)	7 (16%)	6 (14%)	<i>p</i> <0.005
	He (<i>n</i> =84)	80 (95%)	4 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	
(BN×KDP)×KDP	Ho (<i>n</i> =22)	13 (59%)	1 (5%)	7 (32%)	1 (5%)	<i>p</i> <0.05
	He (<i>n</i> =26)	24 (92%)	2 (8%)	0 (0%)	0 (0%)	

See Table 1 (legend) for insulinitis scoring. Genotypes for *Iddm/kdp1* locus are described as the genotypes at the closest markers : *D11M16Mit46* for the TM cross, *D11Mgh5* for the LETO cross and *Max2* for the BN cross. Since all diabetic animals were given a score of 5, only non-diabetic animals are listed here. Differences in the frequencies of animals with *Iddm/kdp1* genotypes of KDP homozygous (Ho) and heterozygous (He) were evaluated by Mann-Whitney *U* tests.

ために、LETO および BN との交配系から作出した戻し交雑子を用いて連鎖解析を行った。その結果、いずれの交配系においても第 11 染色体上のマーカーと糖尿病の発症とに強い連鎖が認められ、*Iddm/kdp1* はほぼ同じ領域にマッピングされた (Table 2 and Fig. 1)。かくして、*Iddm/kdp1* は KDP ラットの主要な糖尿病原因遺伝子であることが確かめられた。

3) *Iddm/kdp1* の膵島炎への関与

次に、*Iddm/kdp1* が糖尿病の発症過程のどの段階に関わるかを解明するために、膵島炎への関与を検討した。糖尿病を発症しなかった個体について、膵島炎の程度と *Iddm/kdp1* 近傍の遺伝子型との関連を調べると、中程度から重度の膵島炎を示した個体はほとんど全て KDP アレルのホモ型であった (Table 3)。このことから、*Iddm/kdp1* は膵島炎の進行に大きく関与し、その遺伝様式は劣性であると推察された。したがって、*Iddm/kdp1* は糖尿病の発症過程の中でも、膵島炎が進行する段階 (開始段階を含むかもしれない) に必須の遺伝子であると考えられた。

4) 比較遺伝子マッピング

さらに、ラット第 11 染色体上の *Iddm/kdp1* がマッピングされた領域と相同なマウスおよびヒト染色体領域を特定するために、比較遺伝子マッピングを行った (Fig. 2)。既に報告されているシンテニーの情報から⁷⁾、マウスの第 16 染色体の SSLP マーカーをラットに適用し、そのうちの 3 つをラット第 11 染色体の連鎖

地図上にマッピングした。同様に、ラット第 11 染色体の SSLP マーカーをマウスに適用し、1 つをマウス第 16 染色体の連鎖地図上にマッピングした。マウス第 16 染色体はヒト第 3 染色体および第 21 染色体に相同な領域があると報告されている⁷⁾。そこで、ラット第 11 染色体と相同なヒトの染色体領域を特定するために、ヒト第 3 染色体および第 21 染色体にマッピングされている遺伝子と相同なラット遺伝子をデータベースにて検索し、多型マーカーの開発を行った。これらのマーカーをラット戻し交雑パネルに適用したところ、*Gap43* (ヒト第 3 染色体) と *Sod1* (ヒト第 21 染色体) を共にラット第 11 染色体の連鎖地図上にマッピングすることができた。その結果、*Iddm/kdp1* と相同なヒトおよびマウスの遺伝子は、それぞれ第 3 染色体 p11-q13 領域および第 16 染色体の *Gap43* と *D16Mit46* の間にあると推察された。これまでこれらの領域に IDDM の原因遺伝子がマッピングされたという報告はなく、*Iddm/kdp1* は新たな IDDM の原因遺伝子であると考えられた。

5) MHC (RT1) に連鎖する遺伝子の糖尿病および膵島炎への関与

LETL ラットの膵島炎の発症に MHC と連鎖する遺伝子の関与が報告されている⁵⁾。この知見の確認とその遺伝様式を明らかにするために、BN との交配系から作出した戻し交雑子を用いて、第 20 染色体上のマーカーについてタイピングを行った (Table 2)。

Fig. 2 Comparative maps between rat Chr 11 and homologous regions of the mouse and human. The rat map is a composite map constructed from data obtained in this study. For the underlined loci, the map locations of the human homologs are listed to the left of the mouse map. The reciprocally used markers between the rat and mouse are indicated with bold characters. Distance (cM) from centromere for the mouse loci and the map locations of the human loci are based on the Mouse Genome Database.⁷⁾

MHC の遺伝子型については、糖尿病を発症した 9 個体のうち 8 個体が KDP アレルのホモ型 (u/u) であり、1 個体がヘテロ型 (u/n) であった。この結果から、MHC に連鎖する遺伝子は糖尿病の発症に関与し、その遺伝様式は完全な劣性ではないと推察された。

また、糖尿病を発症しなかった個体のうち *Iddm/kdp1* がホモ型の個体について、膵島炎の程度と MHC の遺伝子型との関連を調べた。遺伝子型が u/u の 8 個体中 7 個体が軽度から重度の膵島炎を示したのに対して、遺伝子型が u/n の場合は 14 個体中 2 個体のみが軽度から重度の膵島炎を示した。したがって、MHC に連鎖する遺伝子は膵島炎の発症に関与し、その遺伝様式も完全な劣性ではないと考えられた。

総 括

本研究では、KDP ラットの IDDM 発症に関与する MHC 領域以外の原因遺伝子の探索を目的として、全ゲノムの領域を対象に遺伝学的解析を行った。3 つの交配系を用いて解析した結果、膵島炎と糖尿病の原因と考えられる遺伝子 (*Iddm/kdp1*) がラットの第 11 染色体上にあること、およびその遺伝様式が劣性であることを明らかにした (Yokoi, N. et al., submitted)。

さらに、*Iddm/kdp1* 遺伝子座領域と相同なマウスおよびヒトの染色体領域を特定するために、比較遺伝

子マッピングを行った。その結果、*Iddm/kdp1* と相同なヒトおよびマウスの遺伝子は、それぞれ第 3 染色体および第 16 染色体にあると推察された (Yokoi, N. et al., submitted)。これまでこれらの領域に IDDM の原因遺伝子がマッピングされたという報告はない。このことは、*Iddm/kdp1* が新たな IDDM の原因遺伝子であることを支持するものである。

本研究の結果から、*Iddm/kdp1* と MHC に連鎖する遺伝子が KDP ラットの膵島炎および糖尿病の発症にどのように関与するかは以下のように考えられる。まず、MHC において u ハプロタイプをもつことが疾患の基盤となる。これだけでごく軽度の膵島炎になることがある。MHC において u ハプロタイプをもつことに加えて、*Iddm/kdp1* 遺伝子座において KDP ラットのアレルがホモ型であれば、重度の膵島炎へと進行し、最終的に糖尿病を発症すると考えられる。*Iddm/kdp1* 遺伝子座が KDP アレルのホモ型であることが、重度の膵島炎および糖尿病の発症に必須であることから、*Iddm/kdp1* 遺伝子は膵島炎の進行過程 (開始段階を含むかもしれない) に関わる非常に重要な分子をコードしていると推察される。

現在、さらにマーカーを開発して *Iddm/kdp1* 近傍の詳細なマッピングを行っている。詳細な連鎖地図および比較遺伝子地図が作成できれば、*Iddm/kdp1* に対

してポジショナルクローニングあるいはポジショナル候補遺伝子アプローチを適用し、遺伝子を同定することができよう。また、詳細な連鎖地図ができれば、*Iddm/kdp1* 遺伝子座における KDP ラットのアレルを遺伝的背景の異なる系統に移したコンジェニック系統の作出が容易になり、それを用いた詳細な膵島炎および糖尿病の発症機構の解析が可能になる。われわれが明らかにした *Iddm/kdp1* はこれまで報告されている IDDM の原因遺伝子の中で最も強い因子の 1 つであると考えられ、その遺伝子を同定することはヒト IDDM の発症機構の解明およびその予防・診断・治療に大きく寄与すると期待される。

文 献

- 1) Tisch, R. and McDevitt, H. : *Cell*, **85**, 291 (1996)
- 2) McAleer, M.A., Reifsnyder, P., Palmer, S.M., Prochazka, M., Love, J.M., Copeman, J.B., Powell, E.E., Rodrigues, N.R., Prins, J.B., Serreze, D.V., DeLarato, N.H., Wicker, L.S., Peterson, L.B., Schork, N.J., Todd, J.A. and Leiter, E.H. : *Diabetes*, **44**, 1186 (1995)
- 3) Wicker, L.S., Todd, J.A. and Peterson, L.B. : *Annu. Rev. Immunol.*, **13**, 179 (1995)
- 4) Jacob, H.J., Pettersson, A., Wilson, D., Mao, Y., Lernmark, Å. and Lander, E.S. : *Nature Genet.*, **2**, 56 (1992)
- 5) Kawano, K., Hirashima, T., Mori, S., Saitoh, Y., Kurosumi, M. and Natori, T. : *Diabetes*, **40**, 1375 (1991)
- 6) Montagutelli, X. : *J. Hered.*, **81**, 490 (1990)
- 7) Mouse Genome Database (MGD) : [http : // www.informatics.jax.org/mgd.html](http://www.informatics.jax.org/mgd.html).