

氏名(本籍)	益山 拓(鹿児島県)
学位の種類	博士(獣医)
学位記番号	獣医博甲第148号
学位授与年月日	平成16年3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学位論文題目	非肥満性2型糖尿病モデル Spontaneously Diabetic Torii (SDT) ラットにおける糖尿病発症メカニズムの遺伝学的ならびに病態生理学的解析
審査委員	主査 岩手大学 教授 谷口和之 副査 帯広畜産大学 教授 山田純三 副査 岩手大学 教授 津田修治 副査 東京農工大学 教授 神田尚俊 副査 岐阜大学 教授 阿閉泰郎

論文の内容の要旨

Spontaneously Diabetic Torii (SDT) ラットは非肥満性糖尿病を自然発症する新しい近交系ラットである。SDT ラットの糖尿病は、雄で20週齢ごろから認められ、その累積発症率は40週齢までに100%に達する。しかしその成因についてはほとんど解明されていないため、遺伝学的ならびに病態生理学的に SDT ラットの糖尿病発症メカニズムを解明するために本研究を行った。

1. 遺伝学的解析: SDT ラットにおける糖尿病発症の遺伝的支配を非糖尿病系統のラットとの交配実験により検討するため、交雑 F1 世代ならびに戻し交配 N2 世代を作出した。F1 世代は全例正常な耐糖能を示し、50週齢までは糖尿病を発症しなかった。N2 世代では、糖尿病発症は25週齢までに1.9%の個体に認められた。その個別耐糖能は正常から異常まで広範にわたったことから、SDT ラットの糖尿病ならびに耐糖能低下は、多遺伝子によって劣性遺伝している事が判明した。次に、耐糖能低下に連鎖する染色体領域を同定するため、N2 世代における耐糖能低下個体と正常耐糖能個体を用い、全ゲノム領域を調べた。その結果、第1、2番およびX染色体に原因遺伝子の存在が示唆された。さらに、SDT ラットの糖尿病発症に重要な染色体領域を決定するために、N2 全個体を用いた量的形質遺伝子座 (QTL) 解析を実施した。その結果、各々の染色体に耐糖能低下と強く連鎖する QTL 領域が証明された。さらに、これら3つの QTL 領域は、比較遺伝子地図の構築によりヒト染色体の4つの領域に相同であることが推定され、それらの染色体領域には糖代謝に関連した複数の候補遺伝子が存在すること、また既知のヒト糖尿病原因遺伝子座は存在しないことが判明した。

2. 病態生理学的解析：SDT ラットの耐糖能低下と膵島の組織学的変化について経時的に検索した。糖尿病発症以前には、SDT ラットの体重、摂餌量、肥満指数 (BMI) および空腹時血糖値は対照 SD ラットとほぼ同等であったが、空腹時血中インスリン濃度ならびに膵インスリン含量は有意に低下していた。糖尿病発症後は、著しい高血糖、低インスリン血症を認め、体重および BMI の低下が認められた。膵臓の病理組織学的変化は、糖尿病発症以前の膵島のうっ血と出血などの毛細血管異常に始まり、その後、膵島内およびその周囲に炎症性細胞の浸潤ならびに線維化が起こり、さらに進行性の線維化によって膵島は結合組織に置換されて萎縮し、 β 細胞はほぼ消失した。以上の結果から、SDT ラットの糖尿病ならびに耐糖能低下は、膵インスリン分泌能力の絶対的減少に起因し、その背景には、膵島内毛細血管異常を契機にはじまる進行性の線維化と β 細胞の脆弱性の両者が関与しているものと示唆された。

以上より、SDT ラットの非肥満性 2 型糖尿病は、インスリン分泌能力の減少に対して責任のある複数の遺伝子から SDT ラット対立遺伝子間の相乗作用によって遺伝的に誘発されると考えられた。しかも遺伝学的解析により検出された 3 つの QTL 領域は、新たなヒト糖尿病原因遺伝子を含む新しい候補領域であると思われた。本研究により、SDT ラットがヒト非肥満性 2 型糖尿病の成因解明のための新しいモデル動物として有用であり、さらにヒト糖尿病の新たな原因遺伝子同定に寄与できることが明らかになった。

審 査 結 果 の 要 旨

Spontaneously Diabetic Torii (SDT) ラットは非肥満性糖尿病を自然発症する新しい近交系ラットである。SDT ラットの糖尿病は、雄で 20 週齢ごろから認められ、その累積発症率は 40 週齢までに 100% に達する。しかしその成因についてはほとんど解明されていないため、申請者は、遺伝学的ならびに病態生理学的に SDT ラットの糖尿病発症メカニズムを解明するために本研究を行った。

1. 遺伝学的解析：SDT ラットにおける糖尿病発症の遺伝的支配を非糖尿病系統のラットとの交配実験により検討するため、交雑 F1 世代ならびに戻し交配 N2 世代を作出した。F1 世代は全例正常な耐糖能を示し、50 週齢までは糖尿病を発症しなかった。N2 世代では、糖尿病発症は 25 週齢までに 1.9% の個体に認められた。その個体別耐糖能は正常から異常まで広範にわたったことから、SDT ラットの糖尿病ならびに耐糖能低下は、多遺伝子によって劣性遺伝している事が判明した。次に、耐糖能低下に連鎖する染色体領域を同定するため、N2 世代における耐糖能低下個体と正常耐糖能個体を用い、全ゲノム領域を調べた。その結果、第 1、2 番および X 染色体に原因遺伝子の存在が示唆された。さらに、SDT ラットの糖尿病発症に重要な染色体領域を決定するために、N2 全個体を用いた量的形質遺伝子座 (QTL) 解析を実施した。その結果、各々の染色体に耐糖能低下と強く連鎖する QTL 領域が証明された。さらに、これら 3 つの QTL 領域は、比較遺伝子地図の構築によりヒト染色体の 4 つの領域に相同であることが推定され、それらの染色体領域には糖代謝に関連した複数の候補遺伝子が存在すること、また既知のヒト糖尿病原因遺伝子座は存在しないことが判明した。

2. 病態生理学的解析：SDT ラットの耐糖能低下と膵島の組織学的変化について経時的に検索した。糖尿病発症以前には、SDT ラットの体重、摂餌量、肥満指数 (BMI) および空腹時血糖値は対照 SD ラットとほぼ同等であったが、空腹時血中インスリン濃度ならびに膵インスリン含量は有意に低下していた。糖尿病発症後は、著しい高血糖、低インスリン血症を認め、体重および BMI の低下が認められた。膵臓の病理組織学的変化は、糖尿病発症以前の膵島のうっ血と出血などの毛細血管異常に始まり、その後、膵島内およびその周囲に炎症性細胞の浸潤ならびに線維化が起こり、さらに進行性の

線維化によって膵島は結合組織に置換されて萎縮し、 β 細胞はほぼ消失した。以上の結果から、SDT ラットの糖尿病ならびに耐糖能低下は、膵インスリン分泌能力の絶対的減少に起因し、その背景には、膵島内毛細血管異常を契機にはじまる進行性の線維化と β 細胞の脆弱性の両者が関与しているものと示唆された。

以上より、SDT ラットの非肥満性2型糖尿病は、インスリン分泌能力の減少に対して責任のある複数の遺伝子から SDT ラット対立遺伝子間の相乗作用によって遺伝的に誘発されると考えられた。しかも遺伝学的解析により検出された3つの QTL 領域は、新たなヒト糖尿病原因遺伝子を含む新しい候補領域であると思われた。申請者は本研究により、SDT ラットがヒト非肥満性2型糖尿病の成因解明のための新しいモデル動物として有用であり、さらにヒト糖尿病の新たな原因遺伝子同定に寄与できることを明らかにした。

以上について、平成16年1月28日に開催された審査委員会において慎重審議した結果、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Genetic analysis for diabetes in a new rat model of nonobese type 2 diabetes, Spontaneously Diabetic Torii rat
著 者 名 : Masuyama, T., Fuse, M., Yokoi, N., Shinohara, M., Tsujii, H., Kanazawa, M., Kanazawa, Y., Komeda, K. and Taniguchi, K.
学術雑誌名 : Biochemical and Biophysical Research Communications
巻・号・頁・発行年 : 304: 196-206, 2003

既発表学術論文

- 1) 題 目 : An improved genetic linkage map of rat chromosome 20
著 者 名 : Masuyama, T., Ishibiki, J., Awata, T., Noda, M., Kanazawa, Y., Sugawara, M. and Komeda, K.
学術雑誌名 : Comparative Medicine
巻・号・頁・発行年 : 50(4): 369-373, 2000
- 2) 題 目 : A new spontaneously diabetic non-obese Torii rat strain with severe ocular complications
著 者 名 : Shinohara, M., Masuyama, T., Shoda, T., Takahashi, T., Katsuda, Y., Komeda, K., Kuroki, M., Kakehashi, A. and Kanazawa, Y.
学術雑誌名 : International Journal of Experimental Diabetes Research
巻・号・頁・発行年 : 1: 89-100, 2000
- 3) 題 目 : External abnormalities observed during the quarantine period in Crj:CD(SD)IGS rats
著 者 名 : Masuyama, T., Nagashima, K., Kohnoike, A., Miyajima, K., Naito, M., and Maeda, Y.
学術雑誌名 : CD(SD)IGS
巻・号・頁・発行年 : 2002/2003: 44-47, 2003