

量的形質の遺伝的構造： マウス成長関連形質の QTL 解析から学んだこと

石川 明
名古屋大学大学院生命農学研究科

要旨

筆者は、これまでに、マウスの生後体重とその関連形質をモデル量的形質として QTL (quantitative trait locus) 解析を行ってきた。今回、アウトブリード集団であるヒト・家畜と近交系マウス間で QTL 解析のデザインと得られる結果を比較し、量的形質の遺伝的構造解析研究におけるマウスの優れた点を明瞭にした。次に、遺伝子効果が全く正反対の体重 QTLs が、数%の組換え率で非常に緊密に連鎖していることを明らかにし、家畜における選抜育種の際のリンケージドラッグの危険性を指摘した。最後に、体重に関して雑種強勢を引き起こす超優性 QTL を発見し、たった 1 世代で優れた新規家畜品種を雑種強勢育種できる可能性を示した。

はじめに

ヒトの多因子性疾患や身長・体重のような量的形質に関するゲノムワイド関連解析(GWAS: genome-wide association study)の数は、ゲノム全体をカバーする莫大な数の一塩基多型 (SNP: single nucleotide polymorphism) マーカーと大規模 SNP タイピングツールの開発に伴い、2005 年代より指数関数的に上昇し、2011 年 6 月の時点で 951 に達する(A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies, <http://www.genome.gov/gwastudies/>)。近年、ウシなどの家畜においても高密度 SNP アレイが開発され、経済形質に関する GWAS や連鎖不平衡(LD: linkage disequilibrium)解析が盛んに行われるようになった(Karim et al., 2011)。その結果、様々な慢性疾患や経済形質と強い関連のある SNPs が報告されるようになった。しかし、それらの SNPs は遺伝子エクソン領域内にはほとんど存在しておらず、原因 SNPs の同定やその機能解析には動物モデルを用いた研究が必要となる(Flint and Mackay, 2009)。

ヒト GWAS の成果により、量的形質は一般的に何百という数の遺伝子座(QTLs: quantitative trait loci)によって支配され、個々の遺伝子効果は非常に小さいことが明らかとなった(Hindorff et al., 2009)。例えば、ヒトの成人身長に關与する QTLs は 180 個発見されている(Lango Allen et al., 2010)。しかし、これらの遺伝子座をすべてあわせても全表現型分散(V_p^2)のたった 10%を説明するだけ

である。この割合は全遺伝分散の 12.5%（身長遺伝率 80%より計算）に相当し、残りの 87.5%は“missing heritability”と呼ばれ、その原因が、現在、種々議論されている(Manolio et al., 2009)。

筆者は、これまでに、量的形質の遺伝的構造を解明するために、マウスの体重とその関連形質をモデル量的形質として QTL 解析を行ってきた。体重関連形質は、ヒトの生活習慣病の発症に関連するとともに、家畜の経済形質としても重要である。フィリピンで捕獲された野生マウス(*Mus musculus castaneus*)と全ゲノム解析が最初に実施された近交系マウス C57BL/6J (B6)との戻し交雑群において、出生後の体重を経時的に計測し、ゲノムワイド QTL 解析を行った。その結果、24 個の QTLs を 13 本の染色体上に位置づけることに成功し、成長過程を通して、主効果 QTLs に加え、時期特異的・性特異的に発現する QTLs とエピスタシス QTLs が複雑に絡み合い、“QTL の時空間ネットワーク”を形成して体重を統御していることを明らかにした。検出した 24 個の QTLs の中で、最も大きな遺伝子効果をもつ第 2 染色体上の QTL *Pbwg1* を B6 マウスに導入したコンジュニック系統 B6.Cg-*Pbwg1* を樹立し、ファインマッピングを行った。その結果、44 Mb という限られたコンジュニック領域内に臓器重量などの成長関連形質に関与する 9 個の QTLs が密接に連鎖し、クラスターとして存在していることを明らかにした。これらの研究成果は、総説(石川, 2008)としてまとめられているので、それを参照してほしい。

本稿では、最初に、量的形質の遺伝的構造解析研究において、マウスの優れた点をヒト・家畜との比較により明瞭にする。次に、上述の B6.Cg-*Pbwg1* コンジュニックマウス系統を用いた最近の研究により発見した連鎖 QTLs と雑種強勢 QTL について紹介する。

マウスの優れた点

表 1 に要約したように、“アウトブレッド(outbred)”集団であるヒト、“準アウトブレッド(quasi-outbred)”集団の家畜と“近交系(inbred)”マウスとの間では QTL 解析におけるデザインと得られる結果に違いがある。マウスでは、一般に、2つの近交系を交配し、F₁ 世代を得、F₁ 同士を交配し数百個体の F₂ 世代を生産する。F₂ 世代において、全ゲノムを網羅する約 100 個のマーカーの遺伝子型を決定し、QTL 解析を行う。近交系を用いているので、F₂ 世代では各マーカーの対立遺伝子は 2 つしか分離しておらず、かつ、それらの頻度はともに 0.5 である。理論的にも経験的にも、V_p² の約 10%以上を説明する QTLs が検出できる。一方、ヒトや家畜では、マーカーの対立遺伝子は 2 個以上存在し、その頻度も様々である。GWAS では、偽陽性 QTL の検出を避けるために、マイナーアレ

ル頻度(MAF: minor allele frequency)が低いマーカーは除かれる。このことにより、遺伝子効果の大きなレア QTL は見過ごされているかもしれない。また、実際の遺伝子効果が全く同じであったとしても、QTL 解析により得られる V_p^2 に占める割合(V_p^2 %)はアウトブリード集団のヒトや家畜より近交系のマウスの方が大きくなる。例えば、今、完全に相加的な QTL (相加的効果 $a=0.5V_p$ 、優性効果 $d=0$) が 1 つあり、その QTL には 2 つの対立遺伝子 (それぞれの頻度 p と q) があるとする。F₂ マウス集団では QTL の V_p^2 %は、計算式 $2pqa^2$ に各値を代入して 12.5 となる。MAF=0.2 と 0.1 のアウトブリード集団ではそれぞれ 8.0 と 4.5 となる。さらに、同じ動物種でも解析する集団が異なれば、 V_p^2 %は異なった値をとる。マウスの場合、戻し交雑群、F₂ 世代群とリコンビナント近交系群との間では 1-4 倍の開きがある。したがって、QTL の検出力は、アウトブリード集団と比較して近交系のマウスの方が優れていると言える。しかし、QTL の信頼区間はマウスよりアウトブリード集団の方が狭いので、候補遺伝子の探索が容易であるかもしれない(Flint and Mackay, 2009)。

表 1. ヒト、家畜とマウスにおける QTL 解析のデザインと結果の違い

	ヒト アウトブリード	家畜 準アウトブリード	マウス 近交系
解析の方法 と群	GWAS : 症例群・対 照群	LD : 父方半きょうだ い家系 GWAS : 症例群・対 照群	連鎖解析 : 3 世 代 F ₂ 家系
検出変異	コモン	レア・コモン	レア・コモン
検出力	低 ←		→ 高
V_p^2 %	小 ←		→ 大
信頼区間	狭 ←		→ 広

次に、アウトブリード集団を用いて、量的形質の複雑な遺伝的構造のすべてを明らかにすることは容易ではない。特に、QTL と QTL との相互作用 (エピスタシス)、QTL と環境との相互作用 (エピジェネティクスを含む)、多面発現作用、および QTL の性特異的効果を明らかにすることは難しい(Flint and Mackay, 2009)。これらの中で、ヒトのオーダーメイド医療を考える上で、エピスタシスは特に重要であると考えられる。なぜならば、イーストの近交系間の表現型の差異には 2-4 個またはそれ以上の遺伝子座間のエピスタシスが関わっている (Dowell et al., 2010)。したがって、ヒトの病気のかかりやすさにも、当然、高次元のエピスタシスが関わっているものと予想される。エピスタシスの

重要性は家畜においても指摘されている(Carlborg and Haley, 2004)。マウスでは、現在、大規模なノックアウトプロジェクトが進行しており、数年後には全遺伝子のノックアウトが完了するものと見込まれている(Skarnes et al., 2011)。ノックアウトマウスの網羅的な表現型解析が進行すれば、QTL の責任遺伝子の同定が容易になることに加え、多面発現作用が解明される日も近いかもしれない。

連鎖 QTLs

リンケージドラッグ(linkage drag)とは、例えば、ある家畜の A 品種の優良な QTL 対立遺伝子を交配により B 品種に導入する際に、連鎖している別の QTL の非優良な対立遺伝子を同時に B 系統に導入してしまうことをいう。近年、筆者は、リンケージドラッグの原因となる現象をマウスの体重 QTL のファインマッピングにより発見したので紹介する(Mollah and Ishikawa, 2011)。

表 2. F₂ 分離集団における体重 QTLs *Pbwg1.11* と *Pbwg1.12* の確認

遺伝子型		個体数	6 週齢	10 週齢	13 週齢
<i>Pbwg1.11</i>	<i>B6/B6</i>	25	21.14±0.246 ^a	24.01±0.198 ^a	24.88±0.257 ^a
	<i>B6/Cas</i>	54	20.51±0.198 ^b	23.44±0.148 ^b	24.28±0.209 ^b
	<i>Cas/Cas</i>	24	19.81±0.249 ^c	22.98±0.202 ^c	23.50±0.258 ^c
優性の度合			-0.026	0.053	-0.13
<i>Pbwg1.12</i>	<i>B6/B6</i>	15	20.43 ± 0.228 ^b	23.50 ± 0.191 ^b	24.50 ± 0.178 ^b
	<i>B6/Cas</i>	17	21.34 ± 0.218 ^a	24.49 ± 0.176 ^a	25.34 ± 0.164 ^a
	<i>Cas/Cas</i>	14	21.03 ± 0.232 ^{ab}	24.07 ± 0.194 ^{ab}	25.14 ± 0.181 ^a
優性の度合			2.0	2.5	1.6

Cas と *B6* はそれぞれ野生マウスと *B6* 由来の対立遺伝子を示す。括弧内に個体数を示す。優性の度合は相対的効果を優性偏差で割った値である。^{a-c} 各週齢体重 (平均値±標準誤差 g) について、同じ上付き文字を持つ遺伝子型は互いに有意差がない($P > 0.05$, Tukey HSD test)。

先述した野生マウス由来のゲノム領域 44 Mb を保有する *B6.Cg-Pbwg1* コンジェニック系統から、何種類かのサブコンジェニック系統を樹立した。*B6.Cg-Pbwg1* および *B6* とともに、樹立したサブコンジェニックマウスの生後 1, 3, 6, 10 と 13 週齢体重を計測し、比較した。その結果、6-13 週齢体重に関わる 2 つの QTLs が存在することが示唆された。1 つ目の QTL (*Pbwg1.11* と命名) は 8.9 Mb のゲノム領域内に存在した。もう 1 つ (*Pbwg1.12* と命名) は、3.6 Mb の組換え領域 (数%の組換え率に相当) を挟み、隣接する 3.6 Mb 領域内に存在した。これらの QTLs の確認と遺伝様式を推定するために、2 つの QTL 存在領域を有するサブコンジェニック系統をそれぞれ *B6* 系統に交配し F₂ 交雑群を作

製した。組換え個体を除いて、3種類の遺伝子型間で体重を比較した結果(表2)、*Pbwg1.11*は相加的に作用し、小型の野生マウス由来の対立遺伝子(*Cas*)が予想どおり体重を減少させた。驚いたことに、*Pbwg1.12*は優性遺伝し、*Cas*対立遺伝子が体重を増加させた。以上の結果から、対立遺伝子効果の方向が正反対の体重QTLsが数%の組換え率で非常に緊密に連鎖していることが明らかとなった。

雑種強勢 QTL

雑種強勢(heterosis)とは、一般に、異なった品種や系統の掛け合わせにより仔の能力が両親の平均能力より優れていることをいう。ほとんどすべての家畜の経済形質は、この雑種強勢を利用して生産されているといっても過言ではない。例えば、ブロイラーの肉は、白色コーニッシュと白色プリマスロック品種間のF1雑種である。雑種強勢は、100年以上も前に発見され、家畜の育種改良において必須の遺伝現象でありながら、その責任遺伝子は未だにクローニングされていない(植物では唯一トマトで同定された(Krieger et al., 2010))。雑種強勢の成因には、主に以下に示す二つの仮説が提唱されているが、未だにどの仮説が正しいのか決着がついていない(Lippman and Zamir, 2006)。

- (1) **ゲノムワイド優性説**:異なる染色体上に存在する複数の遺伝子座の優性遺伝子がヘテロ型として集合することにより雑種強勢が生じる。
- (2) **超優性説**:単一遺伝子座の一つの超優性遺伝子により雑種強勢が生じる。

表 3. F₂ 交雑群における雑種強勢 QTL の生後 6 と 10 週齢体重に及ぼす影響

近傍マーカーの遺伝子型	6週齢	10週齢
<i>B6/B6</i>	19.3 ± 0.2 ^a (64)	23.4 ± 0.2 ^a (65)
<i>Cas/B6</i>	20.1 ± 0.1 ^b (140)	24.1 ± 0.2 ^b (141)
<i>Cas/Cas</i>	19.5 ± 0.2 ^a (63)	23.8 ± 0.2 ^{ab} (63)
優性の度合	6.6	3.0

^{a, b} 各体重計測値(平均値±標準誤差 g)について、同じ上付き文字を持つ遺伝子型は互いに統計学的有意差がない ($P > 0.05$, Tukey HSD test)。

表 4. F₂ 交雑群におけるディプロタイプ間の生後 6 と 10 週齢体重の比較

ディプロタイプ	6週齢	10週齢
<i>B6/B6</i>	19.0 ± 0.2 ^a (43)	23.1 ± 0.2 ^a (44)
<i>CAS/B6</i>	19.8 ± 0.2 ^b (86)	23.9 ± 0.2 ^b (86)
<i>CAS / CAS</i>	19.3 ± 0.2 ^{ab} (40)	23.5 ± 0.2 ^{ab} (44)
優性の度合	4.1	2.7

^{a, b} 各体重計測値(平均値±標準誤差 g)について、同じ上付き文字を持つ遺伝子型は互いに統計学的有意差がない ($P > 0.05$, Tukey HSD test)。

筆者は、上述の B6.Cg-Pbwt1 コンジェニック系統と B6 間の F₂ 交雑群の 1、3、6 と 10 週齢体重を計測し QTL 解析を行ったところ、6 と 10 週齢体重に関与し超優性を示す雑種強勢 QTL を発見したので紹介する(Ishikawa, 2009)。LOD スコアのピークに最も近いマイクロサテライトマーカーの遺伝子型に基づいて各体重を比較したところ、表 3 に示すように、ヘテロ型個体の体重は両ホモ型個体の平均体重よりも重かった。優性の度合は 3.0-6.6 であり、3.7-5.2% の表現型分散を説明した。特に、6 週齢体重について顕著な雑種強勢が認められた。次に、上述の雑種強勢の定義に従い、F₂ 個体群の分類をやり直した。すなわち、44 Mb の染色体領域のどこかで組換えを起こした F₂ 個体を除き、両親型および F₁ 型のディプロタイプを示す個体間で 6 と 10 週齢体重を比較した。その結果、F₁ 型の体重はいずれも両親型の平均体重よりも重く、優性の度合は 2.7- 4.1 であった (表 4)。以上の結果から、体重にみられた雑種強勢は、1 つの遺伝子座の超優性によるものであると解釈できた。ただし、この超優性遺伝子座が非常に密接に連鎖した 2 つの遺伝子座による pseudo-overdominance (Lippman and Zamir, 2006) によって引き起こされている可能性は否定できないので、今後の遺伝子同定研究が待たれる。

おわりに

寿命の長いヒトや大型家畜における GWAS は、ある 1 点の、または、限られたタイムポイントで計測した量的形質に基づいて行われている。筆者が以前の総説 (石川, 2008) で指摘したように、個体発生の様々な段階において QTLs が複雑に絡み合って量的形質は統御されている。したがって、あるタイムポイントに検出された QTL のみに着目するのではなく、QTL の時間的・空間的ネットワークを理解することが、エンドポイントであるヒトのオーダーメイド医療や家畜経済形質のゲノム選抜(genome selection)を正確に、かつ、効率的に遂行するために必要であろう。また、本稿で紹介した遺伝子効果の全く正反対な連鎖 QTLs の発見は、家畜において染色体上の位置が不明確な QTL についてゲノム選抜を実施すると、リンケージドラッグの危険性があること示している。さらに、雑種強勢を引き起こす超優性 QTL の発見は、今後の分子メカニズムの解明が必要であるが、たった 1 世代で優れた新規家畜品種を雑種強勢育種できることを意味する。こうして、小型で世代回転が速く、遺伝的に均一な近交系が利用でき、様々なゲノム情報や解析ツールが開発・蓄積されているマウスを利用し、量的形質の複雑な遺伝的構造の基本原則をひも解き、その成果をヒトや家畜に外挿することは、我々の健康増進や家畜の生産性向上研究に大いに役立つものと考えられる。

参考文献

- Carlborg, Ö., and Haley, C. S. (2004). Epistasis: too often neglected in complex trait studies? *Nat. Rev. Genet.*, 5: 618-625.
- Dowell, R. D., Ryan, O., Jansen, A., Cheung, D., Agarwala, S. et al., (2010). Genotype to phenotype: a complex problem. *Science*, 328: 469.
- Flint, J., and Mackay, T. F. C. (2009). Genetic architecture of quantitative traits in mice, flies, and humans. *Genome Res.*, 19: 723-733.
- Hindorff, L. A., Sethupathy, P., Junkins, H. A., Ramos, E. M., Mehta, J. P., Collins, F. S., and Manolio, T. A. (2009). Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106: 9362-9367.
- 石川 明. (2008). 量的形質変異の遺伝的基盤の複雑さ—マウス成長形質の QTL 解析からの報告—. *動物遺伝育種研究*, 36: 5-12.
- Ishikawa, A. (2009). Mapping an overdominant quantitative trait locus for heterosis of body weight in mice. *J. Hered.*, 100: 501-504.
- Karim, L., Takeda, H., Lin, L., Druet, T., Arias, J. A. C. et al., (2011). Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing *PLAG1* influence bovine stature. *Nat. Genet.*, 43: 405-413.
- Krieger, U., Lippman, Z. B., and Zamir, D. (2010). The flowering gene *SINGLE FLOWER TRUSS* drives heterosis for yield in tomato. *Nat. Genet.*, 42: 459-463.
- Lango Allen, H., Estrada, K., Lettre G., Berndt, S. I., Weedon, M. N. et al. (2010). Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. *Nature*, 467: 832-838.
- Lippman, Z. B., and Zamir, D. (2006). Heterosis: revisiting the magic. *Trends Genet.* 23: 60-66.
- Manolio, T. A., Collins, F. S., Cox, N. J., Goldstein, D. B., Hindorff, L. A. et al. (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461: 747-753.
- Mollah, M. B. R., and Ishikawa, A. (2011). Intersubspecific subcongenic mouse strain analysis reveals closely linked QTLs with opposite effects on body weight. *Mamm. Genome*, 22: 282-289.
- Skarnes, W. C., Rosen, B., West, A. P., Koutourakis, M., Bushell, W. et al., (2011). A conditional knockout resource for the genome-wide study of mouse gene function. *Nature*, 474: 337-342.