

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲 第	号
------	---	-----	---

氏名 CARRANZA LUNA José Alexander

論文題目 The *cyp21a2* mutant medaka, a novel cortisol-deficiency disease model, reveals a new role of cortisol in reproduction

(コルチゾル欠損病因モデルのメダカ *cyp21a2* 変異体を用いた生殖におけるコルチゾルの役割の解析)

論文審査担当者

主査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 理学博士 田中 実
委員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(医学) 日比正彦
委員 国立研究開発法人国立成育医療研究センター 分子内分泌研究部長
博士(医学) 深見真紀

論文審査の結果の要旨

José CARRANZA 氏は *cyp21a2* 変異体メダカの表現型を解析し、この変異体がヒトのコルチゾル欠損症のひとつの状態 先天性副腎過形成 (CAH) の疾患モデルになることを示すだけでなく、コルチゾルの生殖における新たな機能を明らかにした。

まず *cyp21a2* 変異ホモ接合体メダカの胚の孵化率は野生型と同等であるが、成体に至る割合は10%であることを示した。そしてコルチゾルが血液中に検出されないこと、また前駆体ステロイドホルモンが蓄積していることを LC-MS/MS で確認し、CYP21A2 酵素が機能していないことを確認した。組織学的解析と *in situ hybridization* を用いた定量解析によって、このメダカでは CAH でも見られる哺乳類副腎相当の器官、間腎腺に過形成が生じ、血中コルチゾルに反応して *cyp21a2* の発現制御を行う脳下垂体中のペプチドホルモン ACTH の RNA (*pomca*) 量が上昇していることを示した。興味深いことに、*pomca* 発現細胞は脳下垂体の2つの領域 (RPDとPI) に存在し、RPD の細胞がコルチゾル欠損に反応することを見出した。一連の表現型はコルチゾル投与で回復したため、CYP21A2 酵素欠損によるコルチゾル産生不全がこの表現型の原因であることを示した。一方でCAHで報告される男性生殖器官の女性化に相当する表現型 (ヒレと総排出腔の形態) は観察されなかった。

さらに José CARRANZA 氏は生殖機能の表現型について解析を行った。*cyp21a2* 変異ホモ接合体メダカオスの精巣の異常は認められず、野生型メスとの交配実験でもその卵は野生型と同様の受精率と孵化率を示した。ところがメスのホモ接合体メダカでは放卵が全く観察されなかった。卵巣内には成長した卵母細胞や成熟した卵母細胞が見出されたため、卵成熟までは進行するが排卵に障害があることが示唆された。このことは最終成熟卵の *in vitro* 排卵実験でも確認された。興味深いことに、この排卵実験でコルチゾルを添加しても排卵は回復しなかったことから、コルチゾルは最終成熟に至る以前の卵胞に作用することが示唆された。通常、卵母細胞の最終成熟は日周リズムの明期直前に生じる。この変異体では日周リズムにかかわらず最終成熟が生じていたことから、排卵周期をつかさどる視床下部—脳下垂体系を調べた。その結果、視床下部ではGnRHは発現しており、その制御下にあるLHも脳下垂体で発現していた。しかしLH量は常に多いことが示唆されたため、このことが日周リズムとは無関係に最終成熟が生じる理由と考えられた。さらにこの変異体では、排卵されない卵巣内の卵母細胞が発生を開始するという驚くべき現象を発見した。これら一連の表現型を引き起こす分子機構解明のため、野生型と変異体の卵胞のトランスクリプトームを解析し、候補となる遺伝子を得ることができた。

以上の結果は、*cyp21a2* 変異体メダカが、ヒトでは解析が困難なCAHの疾患モデルとなることを示すだけでなく、コルチゾルが正常な卵形成に不可欠であるという新たな内分泌学的知見を示した。コルチゾルの新たな機能を分子生物学的に解明する端緒を提示する研究であり、博士 (理学) に十分な研究であると認定された。