

報告番号	※ 甲 第 <b>3114</b> 号
------	---------------------

主 論 文 の 要 旨

論文題目

食虫目スunksにおける自然発症モデル動物の開発

氏 名 大野民生

論文内容の要旨

食虫目スunksは、マウス、ラット等のげっ歯目の動物とは系統分類学上遠縁にあたり、これらとは異なる生物学的特性を有していることに注目され、実験動物化されてきた。その過程で、スunksの様々な生物学的特性が明らかになり、複数の分野の研究材料として使用され、最近ではモデル動物としても利用され始めた。しかし、マウス、ラットのモデル動物を使用した研究の大半は、同種内で正常形質と異常形質を比較して得た情報から、ヒトの正常生理機能や病態の解明を試みているのに対し、スunksでは、ヒトの生理機能や病態と類似したスunksの正常形質を直接比較している点で大きく異なっている。この最大の原因は、スunksは実験動物としての歴史が浅いため、遺伝的異常形質の発見、蓄積が十分でなく、同種内で異常形質と正常形質との比較研究を行う段階になかったことにある。しかし、最近、モデル動物として利用できる可能性のある遺伝的異常形質が、スunks実験室系統(ライン)内に出現してきた。そこで、本研究では、スunksの実験動物としての利用価値を高めることを目標とし、遺伝的異常形質から育種学的手法により、自然発症モデル動物の開発を行った。また、新たな遺伝標識の開発を行うと同時に、近交系の育成も試みた。

1. 行動異常モデルの開発

マウスのシェイカー・ワルツァー行動に類似した行動異常(旋回行動, 首振り行動, 多動傾向)を呈す突然変異形質"waltzing"が、沖縄県宜野湾市で捕獲された野生雄個体

(注) ワープロ等で作成すること。外枠にかからないように作成すること。

とNAGラインの雌個体との戻し交配世代に出現した。交配実験と家系解析から、この行動異常形質は沖縄で捕獲された野生個体に由来し、完全な浸透度を有する常染色体性単一劣性遺伝子 (wz) により支配されていることが判明した。また同時に、wz 遺伝子は完全な浸透度を有し、その発現には遺伝的背景の影響をほとんど受けないことも判明した。行動異常個体はほぼ正常な生育力、繁殖力を有しており、毎世代30個体以上から成るWZ (waltzing Suncus) ラインとして育成されている。

シェイカー・ワルツァー行動を示す多数の突然変異マウスでは、内耳に比較的強度の形態異常が観察される。そこで、“waltzing” スンクスの行動異常の原因説明のため、内耳と小脳の形態について組織学的な観察を行ったが、全く異常は認められなかった。したがって、“waltzing” スンクスの行動異常は内耳の形態形成の異常を伴わない別の原因に起因していると考えられ、その原因として中枢神経系の物質的異常が予想された。

## 2. 糖尿病モデルの開発

バングラデシュで捕獲した個体群を起源とするラインに、糖尿病を呈する雄2個体を発見し、この2個体を起源として選抜交配により糖尿病を多発するEDS (early-onset diabetes in Suncus) ラインを育成した。げっ歯目以外の動物で糖尿病系統が育成されたのはこれが初めてであり、スンクスはマウス、ラットとは異なる生物学的特性を有していることから、EDSラインは大変興味深い糖尿病モデルである。選抜交配による発症頻度の変化や交配実験の結果から、糖尿病形質には複数の遺伝子の関与が考えられた。更に、ラインの育成経過の解析より、発症に関与する遺伝子群はバングラデシュで捕獲した野生個体群に由来すると推定された。また、発症頻度には明確な季節性 (夏期 > 冬季) が存在することから、環境要因が発症に強く関与していることが示唆されたが、その具体的な理由については不明である。

発症個体は生後2ヶ月齢以前から顕著な糖尿病症状 (多尿, 尿糖, 高血糖) を呈し若年発症である。糖負荷試験の結果から、発症個体はグルコースに対するインスリン分泌応答性の欠如による耐糖能の低下が顕著であり、NIDDM (インスリン非依存型糖尿病) であることが判明した。経時的な体重測定の結果、発症個体は肥満傾向を示さないことも明かとなった。以上より、EDSラインの糖尿病発症個体は肥満傾向を示さない若年発症NIDDM (インスリン非依存型糖尿病) であり、既存の糖尿病モデルには存在しない病型であることが判明した。複雑な病態を呈するヒト糖尿病の研究には、多種多様なモデルの存在が必要とされるため、糖尿病モデルとしてのEDSラインの存在は興味深い。また、高血糖状態が数ヶ月間継続した個体では、白内障や腎症 (メサンギウム

領域の拡大]等の合併症が観察される場合があり、糖尿病の合併症モデルとしても更に検討する必要性があると考えられた。

### 3. 遺伝標識の開発と近交系育成の試み

(1) OKIラインに、新たな毛色突然変異形質“red-eyed dilution” (赤色眼淡毛色)を発見した。交配実験と家系解析から、この形質が沖縄県那覇市で捕獲した野生個体に由来し、完全な浸透度を有する常染色体性単一劣性遺伝子 (rd) に支配されていることが判明した。また、連鎖解析の結果、rd遺伝子座はクリーム毛色遺伝子座 (cr) や巻き毛遺伝子座 (ch) と連鎖関係にないことも判明した。

(2) OKIラインに出現した毛色変異個体 (赤色眼淡毛色) と、MIライン個体 (巻き毛, クリーム毛色, スクラージェ活性欠損) を起源として、選抜交配により、3種の常染色体性単一劣性遺伝子 (ch, cr, rd) をホモ型に有し、スクラーゼ活性欠損遺伝子 (suc) を約35%の遺伝子頻度で保有するTESSラインを育成した。スクラーゼ活性欠損個体はスクロス投与試験により容易に選抜できるため、TESSラインはch, cr, rd, sucの4種の遺伝子座との連鎖解析に利用可能である。

(3) 鹿児島県徳之島で捕獲した個体を起源とするTKUラインより、兄妹交配による継代を開始し、F11代に達した。また、ネパールのカトマンズで捕獲した個体を起源とするKATラインからも、同様に兄妹交配による継代を開始し、F6代に達した。

行動異常遺伝子 (wz) や糖尿病発症に関与する遺伝子群の他、スunksで発見されている突然変異遺伝子の大半は、実験室に導入した野生個体に由来していることが判明している。野生スunksの分布は広い範囲に及び、その中にはマウスの亜種間レベルに相当する大きな遺伝的変異が存在することが、mtDNAの解析から判明している。実験動物としてのスunksの背景に、遺伝的変異に富む野生集団が存在することから、スunksでは遺伝的変異を利用した特徴ある系統の開発、育成の可能性が高いと言え、野生集団から遺伝的異常 (変異) 形質を積極的に発掘し、そのなかから、育種学的手法により新たな自然発症モデル動物を開発することも可能であると考えられる。また、こうして開発されたスunksの自然発症モデルを、疾患モデルとして使用する場合、スunksが有するヒトやげっ歯目の実験動物群とは異なる生物学的特性が、疾患モデルの病態と密接に関係している可能性もあるため、病態解析と同時に、スunks特有の生物学的特性についても研究する必要があると考えられる。

(注) ワープロ等で作成すること。外枠にかからないように作成すること。