

マウスにおける新しい小眼症ミュータント  
の遺伝育種学的ならびに発生学的研究

織田 銑一

名古屋大学図書  
和 892699

# マウスにおける新しい小眼症ミュータントの遺伝育種学的ならびに発生学的研究

## 目 次

	ページ
第Ⅰ章 序論	1
1. ミュータントについて	2
2. 眼に関与するマウスのミュータントについて	4
3. 日本で発見された眼に関与するマウスのミュータントについて	7
4. 本論文の目的と構成	12
付表	15
付図	17
第Ⅱ章 マウスにおける新しい小眼症ミュータントの発見と遺伝様式	18
1. 研究目的	19
2. 起原となつたマウスの系統と方法	20

3. 結果	22
1) 発見	22
2) 形質の特徴	23
3) 交配実験	30
4. 考察	32
5. 要約	37
付表	38
付図	43

## 第Ⅲ章 elo 遺伝子座の存在する染色 体とその染色体上の位置

1. 研究目的	47
2. マウスの系統と方法	49
3. 結果	52

### 1) C57BL/6, NC, WN, PoN, C3Hf/He-red

KSB の各近交系マウスと

C3Hf/He-elo 系マウスとの交配

によるリンケージ・テスト

### 2) Cts 座および mic 座と elo 座

とのリンケージ・テスト

3) C57L系マウスと C3Hf/He- <u>Elo</u> 系 マウスとの交配によるリンク ージ・テスト	54
4) <u>d</u> 座および <u>ln</u> 座と <u>Elo</u> 座との リンクージ・テスト	55
5) Congenic strain, C3Hf/He- <u>Elo</u> 系 マウスにおける <u>Idh-1</u> アイソ ザイム遺伝子	58
6) <u>Idh-1</u> 座と <u>Elo</u> 座とのリンク ージ・テスト	59
4. 考察	61
5. 要約	64
付表	65
付図	70

## オ IV 章 Congenic strain, C3Hf/He-Elo 系

### マウスの育成

1. 研究目的	74
2. マウスの系統と方法	76
3. 結果	78



1) 体重	78
2) 繁殖成績	79
3) 小眼症の程度	81
4) アイソザイムおよびヘモグロ ビンの電気泳動	83
4. 考察	85
5. 要約	89
付表	90
付図	94

## 第V章 Elb 小眼症マウスの生後にお

### ける形態的特徴

1. 研究目的	100
2. 材料と方法	102
3. 結果	103
1) 身体各部位の計測	103
2) 組織学的観察	109
4. 考察	113
5. 要約	117

付表	118
----	-----

## 付 図

122

オ VII 章 光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による El。マウス眼球の発生異常の観察

130

## 1. 研究目的

131

## 2. 材料と方法

133

## 3. 結果

135

## 1) 光学顕微鏡による観察

135

## 2) 電子顕微鏡による観察

141

## 4. 考察

143

## 5. 要約

146

## 付 図

147

オ VII 章 器官培養および免疫組織化学による El。マウス眼球の発生異常

## の観察

155

## 1. 研究目的

156

## 2. 材料と方法

159

## 3. 結果

161

1) 器官培養による水晶体の観察	161
2) 免疫組織化学による水晶体の の観察	163
4. 考察	166
5. 要約	170
付図	171

## 第四章 総括と総合論議 178

1. <u>§10</u> 小眼症マウスにおける研究 の総括	179
-----------------------------------	-----

2. ミュータント系実験動物の育種 について	191
---------------------------	-----

3. 疾患モデルとしての眼の奇形と <u>§10</u> マウス	200
-------------------------------------	-----

付図	206
----	-----

謝辞	208
----	-----

引用文献	209
------	-----

# 第 I 章 序論

## 1. ミュータントについて

ミュータントというのは変異遺伝子，またはそれをもった動物を指す言葉である。したがって「正常」遺伝子，または「正常」遺伝子をもった動物に対応する言葉と考えてよいだろう。ミュータントは遺伝学の対象であったが近年になって「疾患モデル」という考え方が普及し，むしろ医学の分野では大きな流れになっていくとさえ思われる。遺伝病と考えられている疾患の解明には，ミュータントの利用が大きな効果を発揮すると信じられるようになってきた。このような状況は10年程前からで，実験動物学会の充実，同学会誌の疾患モデルニュースの発行，いくつかの医学雑誌の特集が大きな役割を果たしているものと思われる。かつては「正常」でよく繁殖する実験動物こそが良きものであると考えられていたからである。今後，その研究目的にしたがって，更に多くのミュータントの発見，系統の育成が行なわれるものと思われる。

ミュータント系実験動物は疾患モデルとして、ヒト疾病の予防、診断、治療、教育、基礎研究に利用されおり、ますます重要になっているが、それにとどまるものではない。

分子遺伝学が多大な成果をおさめ、また近年の遺伝子工学の発展は微生物におけるミュータントの発見、系統の保存に全面的に負う、といっても過言ではない。高等生物においても、遺伝解析という考えが通用しないとは思えない。例えば堀田(1976)はショウジョウバエを用いて大きな成果をあげている。ミュータント系実験動物の利用は、医学的観点だけでなく、本来的には正常を理解する、すなわち生物学の課題の1つである遺伝子の調節による形質発現機構の解析に貢献することになろう。とくに奇形ミュータントの場合には重要であろう。そこでは実験動物は単なる実験材料ではなく、方法論の問題として把握し得る。

## 2. 眼に関与するマウスのミュータントについて

実験動物の中で容易に入手でき、かつミュータントが多数発見されており、また確立した系統が多数あるものと言えは、ショウジョウバエ、カイコ、マウスなどであろう。有胎盤哺乳類となればマウスに比べるものはない。マウスでは既に数百の遺伝子、遺伝子座が知られており（図 I-1）、ミュータントと呼ばれるにふさわしい形質も多数ある。これらの中で眼に関する異常は、比較的一般飼育者、研究者に気づかれやすく、またその系統としても確立しやすいので、相対的に多く発見され、保存されている。表 I-1 および表 I-2 に、1981 年段階で報告されている眼に関与するマウスのミュータントを並べ、遺伝子記号、遺伝子名、染色体番号を記した。

形質の特徴から分類してみると、小眼症を呈するもの（ak, Bld, Cm, Dey, ey-1, ey-2, fi, mi, or, Sey, Sig など）、白内障を

呈するもの (act, cac, Cad, Cat, Ex, lr, など), 出生時眼瞼が閉存しているもの (gp, lg, oe, oel, など), 多面発現の著しいもの (far, fi, Ie, j, mi, Mp, oel, など), ホモ型では致死ないし生殖不能のもの (Bld, bs, Cm, Dey, far, j, Sey, Sig, など), 網膜に異常を呈するもの (Gm, r, rd, rds など) などがある。これらのうちで小眼症を示すものについてみると,

ak (Varnum and Stevens, 1968; Zwaan and Kirkland, 1975) のように水晶体原基の形成(陥入)不全のもの, Bld (Watson, 1968; Vankin and Caspari, 1979), Dey (Theiler et al., 1978), Sey (Roberts, 1967; Cleyton and Campbell, 1968) などの眼球の大きさの変異が大きく、ホモ型は発生初期に致死になるもの, ey-1, ey-2, Mi<sup>wt</sup> (Harch et al., 1978) や fi (Konykova and Vakhrusheva, 1969) のように眼胞形成不全のもの, or (Truslove, 1962) や or<sup>J</sup> (Theiler et al., 1976) のように眼杯裂を



通る血管の形成不全による眼杯の発育障害のもの、*mi* (Grüneberg, 1963) のように眼杯の内板と外板の発育不均衡による眼杯の形成障害のもの、がある。

### 3. 日本で発見された眼に關与するマウスのミュータントについて

日本で発見された眼に關与するマウスのミュータントは mic (旧名 mc) , nct (旧名 ca または cac) , cts (旧名 cs) , elo の4つである。東北大で発見されたもの(石垣, 1979)は、その形質の特徴からみると cts と同じもののようである。elo に関しては、本論文第II章～第IV章で詳しく述べることにして、ここでは mic , nct , cts について簡単に記述する。

これらの3つの小眼症・白内障ミュータントの染色体は不明であり、また現在、リンケージ・テストを継続中であるが、まだリンケージ関係は見い出されていない。これら遺伝子をもったミュータント系実験動物の系統育成を行なうとともに、相互の形質の特徴を比較研究を行なっている。

#### 1) mic (Microphthalmia Japan)

近藤ら(1953)によって mc として報告さ

れた。これは  $\alpha\alpha$  系に X 線を照射した群の後代に見い出され、常染色体上の単一劣性遺伝子で、小眼症を呈する。育成された MC 近交系マウスには、頭蓋骨の冠状縫合、頭頂骨、および前頭骨、鼻骨、門歯の咬合などに、それぞれ 77.5, 36.6, 41.9, 14.7 % の不整形が観察された (江崎, 1963)。また Kimura (1969) は小眼の程度および歯にも変異が著しいことを報告した。Nakane et al. (1974) は、眼胞自体の発育には異常は認め難く、頭部外胚葉との接着が上顎突起によって妨げられている所見を観察している。

mc は Mouse News Letter, 57, 1977 にあって mic の遺伝子記号に変更された

## 2) mct (Nakano - cataract)

この遺伝子の中野ら (1960) によって報告された常染色体上の、単一劣性遺伝子で、ca の遺伝子記号が用いられた。白内障の発症は出生後の眼瞼が開いて、3 ~ 7 日でみられるという。その後 Brown et al. (1970) は、

遺伝子記号を CAC に変更し、胎仔期および生後2週までの乳仔を用いて組織学的検索を行ない、生後2週になってはじめて水晶体の形態的異常を認めた。Iwata and Kinoshita (1971) は水晶体白濁と水晶体線維細胞内への水分流入が多く、 $\text{Na}^+$  の流入も多いことが密接に関連し、さらに  $\text{Na-K}$  ポンプの不調、そのエネルギー供給源である  $\text{Na-K}$  ATP 酵素が異常をきたしていることを発見した。この異常は水晶体のみで見られる。彼らは、Cat<sup>Na</sup> という記号を用いている。Hamai et al. (1974) は、光学顕微鏡、電子顕微鏡レベルの研究をすすめ、水晶体線維細胞での核消失の異常や、細胞内小器官の変化を観察している。この論文をもとに、遺伝子記号は mct に変更された (Green, M.C. Mouse News Letter, 60, 1979)。1980 年には正式の遺伝子記号として登録された。mct 遺伝子の研究はその後もつづけられており、水晶体嚢の生化学 (Fukui and Yamashita, 1978)、水晶体

細胞の培養 (Tsunematsu et al., 1978) が報告されている。 cac (Recessive cataract) の遺伝子記号は Konyukhov and Wachtel (1963) の報告しているものに使われている。

### 3) cts (Cataract and small eye)

1966年日本クレプから入手した ICR-JCL の雌の1匹に発見され、交配実験の結果、常染色体上の単一優性遺伝子によるものと判明した (大島ら, 1968)。ホモは小眼・白内障、ヘテロは白内障となる。遺伝子記号は cataract and small eye から cs と命名された。しかしながら cs は既に遺伝子記号として使用されていたため、cts に変更された (実験動物, 24, 123, 1975)。組織化学的研究でみると、胎齢16日になってγ-クリスタリンの障害が観察された (Ikeda, 1974)。水晶体線維細胞の変性も胎生15日に観察される。また遺伝的背景によって、白内障の発症程度の違いがある (Harata et al., 1978)。ヘテロの眼球の大きさは正常のものより小さい。ホモの発

症は胎齡14日には觀察され、水晶体線維細胞の核濃縮と線維細胞の層構造の乱れを特徴としている (Kobayashi, 1980)。

#### 4. 本論文の目的と構成

既に述べてきたように、眼に関与するマウスのミュータントは多数発見され、形質の研究も行われているが、遺伝解剖という観点からすると、数にしても研究にしても不十分である。とくに日本で発見されたものも含めて染色体およびその染色体上の位置が確定し、形質が充分研究されているものは必ずしも多くはない。したがって既に発見され、系統育成が行なわれるミュータントの研究とともに新しいミュータントの発見、育成、研究によってより多くの情報を集めることが必要になろう。そのことにより、眼の形態形成のより詳細な理解に到達することになる。またヒトの疾患モデルとしての利用も期待できる。

一方、とくに水晶体に関与するミュータントは発生学の主課題の1つである遺伝子の形質発現を研究するうえで、好都合な手段である。水晶体は、組織として独立性が高く、分化の指標として構造と機能に特徴がみられる

からである。

このような観点から，交配実験中に偶然見  
い出された水晶体異常を伴うマウスの小眼  
症につき，遺伝育種学的ならびに発生学的研  
究を行った。

オII章「マウスにおける新しい小眼症ミュー  
タントの発見と遺伝様式」では，起原とな  
ったマウス，発見の経緯，形質の特徴，遺伝  
様式を，オIII章「elo 遺伝子座の存在する染  
色体とその染色体上の位置」では，各染色体  
上の標識遺伝子とのリンケージ・テストを行  
ない，さらに3点法による染色体上の遺伝子  
座の確定を，オIV章「Congenic strain, C3Hf/He-  
elo 系マウスの育成」では，遺伝子導入16世  
代後，兄妹交配によって維持している系統に  
つき，繁殖成績，小眼症の程度を，記述する。  
オII章からオIV章までは遺伝育種学的立場か  
らの研究で，ミュータントの発見から系統育  
成までを述べている。

オV章「elo 小眼症マウスの生後における



形態的特徴」では各身体部位の計測と眼球の組織学的観察を、またオVI章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による elo マウス眼球の発生異常の観察」およびオVII章「器官培養および免疫組織化学による elo マウス眼球の発生異常の観察」では、*in vivo* , *in vitro* での水晶体の形態形成異常とγ-クリスタリンの免疫蛍光の観察を、行なった。オV章からオVII章までは発生学的立場からの研究である。

オVIII章「総括と総合論議」ではオII章からオVII章までの研究を総括し、この小眼症の遺伝と形質の特徴を明らかにするとともに、この論文で明らかにしたことの意義について述べる。またミュータント系実験動物の育成方法、あるいはヒトの眼の奇形について概観し疾患モデルという立場から考察を加える。

表 I-1 マウスにおける眼のミュータント

( Mouse News Letter, 66, 1982 )

遺伝子記号	遺伝子名	染色体
1. <i>ak</i>	Aphakia	19
2. <i>Bld</i>	Blind	15
3. <i>bs</i>	Blind-sterile	2
4. <i>cac</i>	Recessive cataract	-
5. <i>Cat</i>	Dominant cataract	-
6. <i>Cm</i>	Coloboma	2
7. <i>Dey</i>	Dickie's small eye	2
8. <i>dyl</i>	Dysgenic lens	-
9. <i>eb</i>	Eye-blebs	10
10. <i>ec</i>	Ectopic	-
11. <i>Eo</i>	Eye opacity	-
12. <i>ey-1</i>	Eyeless-1	-
13. <i>ey-2</i>	Eyeless-2	-
14. <i>far</i>	First arch defect	-
15. <i>fi</i>	Fidget	2
16. <i>gp</i>	Gaping lids	-
17. <i>Ie</i>	Eye-ear reduction	X
18. <i>j</i>	Jaw-lethal	-
19. <i>lg</i>	Lid gap	-
20. <i>Lop</i>	Lens opacity	10
21. <i>lr</i>	Lens-rupture	-
22. <i>mi</i>	Microphthalmia	6
23. <i>mi*rw</i>	Red-eyed white	6
24. <i>Mi*wh</i>	White	6
25. <i>Mp</i>	Micropinna-microphthalmia	-
26. <i>nct</i>	Nakano-cataract	-
27. <i>nuc</i>	Nuclear cataract	-
28. <i>oe</i>	Open-eyelid	11
29. <i>oel</i>	Open-eyelids with cleft palate	-
30. <i>or</i>	Ocular retardation	-
31. <i>or*J</i>	Ocular retardation-J	-
32. <i>r</i>	Rodless retina	10
33. <i>rd</i>	Retinal degeneration	5
34. <i>rds</i>	Retinal degeneration slow	17
35. <i>Sey</i>	Small eye	-
36. <i>Sig</i>	Sightless	6
37. <i>vl</i>	Vacuolated lens	1

表 I-2 仮登録されているマウスの眼のミュータント ( Mouse News Letter, 66, 1982 )

遺伝子記号	遺伝子名	染色体
1. act	Adult cataract	-
2. Alm	Anterior lenticonus with microphthalmia	-
3. Apoc	Anterior polar cataract	-
4. Apyc	Anterior pyramidal cataract	-
5. Cad	Congenital cataract	-
6. Cts	Cataract and small eye	-
7. Iac	Iris anomaly with cataract	-
8. Idc	Iris dysplasia with cataract	-
9. Len-1	Lens protein-1	1
10. Len-2	Lens protein-2	-
11. lg*stn	Lid gap-Stein	-
12. mi*ew	Eyeless white	6
13. mic	Microphthalmia Japan	-
14. Nuc	Nuclear cataract	-
15. Nzc	Nuclear zonular cataract	-
16. Vlm	Vacuolated lens with microphthalmia	-

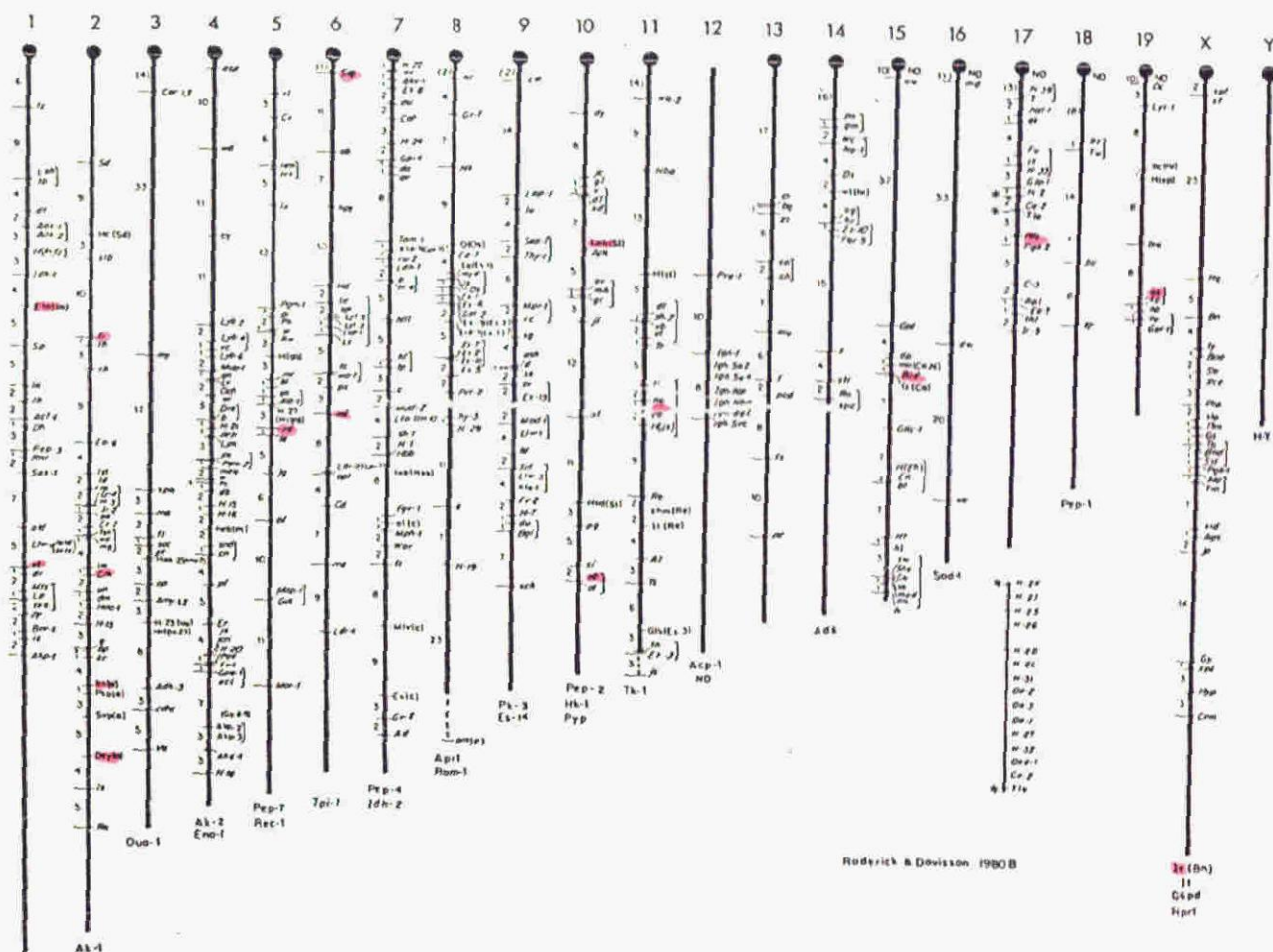


図1-1 マウスの染色体地図と眼に関与する  
ミュータント遺伝子座 (Mouse News Letter,  
65, 1981) 色で印をしたもの

## 第二章 マウスにおける新しい小眼症ミュータントの発見と遺伝様式

## 1. 研究目的

眼に関与するマウスのミュータントは Mouse News Letter, 66, 1982 からまとめた表 I-1 および表 I-2 のように、多数報告されており、また図 I-1 のように、特定の染色体上に集中することではなく、各染色体上に分散して遺伝子座位が存在する。日本においても既に Cts, mic, net が報告されている。1969年に、近交系（現在PONと命名）の育成中に、小眼症を呈する1匹の雌マウスを見出した。この章においては発見時の事情、その小眼症の形質の特徴および遺伝様式について検討した。また、いままでに報告されているミュータントとの異同を考察した。

## 2. 起源となつたマウスの系統と方法

図Ⅱ-1に示すように、fancy マウスと C57BL/6 系マウスとを交配し、近交系（現在 PON と命名）を育成中、その4代目に発見された1匹の小眼症マウスが起源となっている。形質の特徴を調査するために、Original stock（図Ⅱ-1において F5 ~ F6 代の小眼症を呈する個体群を、とりあえず、このように呼ぶことにする。遺伝的にはヘテロ型である。）と NC 系マウスとの交配を行ない、その F<sub>1</sub> に分離してくる小眼症マウスと正常マウスと比較した。これら F<sub>1</sub> マウスは 10% ホルマリン固定を行ない、頭蓋、眼窩、視神経、眼球、瞳孔、水晶体について計測を行なった。各計測方法については、各項目の結果のところで記載した。

遺伝様式を調べるための交配実験は、C3Hf/He 系マウスおよび NC 系マウスと original stock のマウスとを用いた。表Ⅱ-5のように各種の組み合わせの交配により、遺伝子分析を行

なつた。

マウスの飼育には木製の巣箱を備えたものを用い、飼料は成鶏用粒餌（エグター，日本農産株式会社）およびマウス繁殖用固型飼料（CA-1，日本クレア株式会社）を与えた。飼育室の条件は12時間明，12時間暗，室温 $23^{\circ}\text{C}$ 前後（年間を通して $18\sim 28^{\circ}\text{C}$ ）にコントロールした。湿度はコントロールしなかった。



### 3. 結果

#### 1) 発見

1968年, 名古屋大学農学部家畜育種学教室(近藤恭司教授)に, ペットとして飼育されていた赤目黄色毛マウス雄1, 雌1が高校教師より分与された。入手時Amyとして近交が行われ, 後にPINと命名された。一方, 赤目黄色の形質の遺伝子分析を行なうために, C57BL/6系マウスと, 入手した雄マウスとが交配された。遺伝子分析の結果, 赤目黄色マウスは  $p/p, A/A, b/b$  の遺伝子型であることが判明した。遺伝子分析に用いたマウスは, そのまま近交もつづけ, 後にPONと命名された。PONの育成途中の近交4代目に, 祖先マウスには見出し得なかった小眼症を呈する1個体を発見した(図II-1)。この小眼症マウスは, 1969年に生まれた6産目の雌1匹(同腹仔は正常眼の雄3匹, 雌1匹)であった。同腹正常マウスと交配したところ, 小眼症は遺伝性であることが推測できた。

## 2) 形質の特徴

新たに見い出された小眼症マウスは、その眼球の大きさから、正常個体とは明瞭に區別することが出来る。成体では図Ⅱ-2に示すように、眼球の著しい縮小が観察され、外形からだけでも異常個体を見誤ることはない。同腹正常マウスとの交配およびもとし交配の結果から優性遺伝形質が推測できたが、ヘテロ型、ホモ型の形質の識別は不可能であった。したがって形質の特徴を調査するためには、original stock (先のページで説明) マウスとNC系マウスとを交配し、 $F_1$  に分離してくる小眼症マウス（ヘテロ型と推定される）と同腹正常マウスとを比較した。日齢は取り扱いが便利な30日齢にした。比較の項目としては、体重、頭蓋長、頭蓋幅、眼窩径、視神経直径、視神経の長さ、眼球重量、眼球赤道直径、眼球光軸直径、瞳孔直径、水晶体重量、水晶体赤道径である。

表Ⅱ-1に、体重、頭蓋長、頭蓋幅、眼窩

の大きさを示してあるが、これらの項目を含め眼球以外の外形上異常はみられなかった。

### 体重：

小眼症マウスは雄で  $14.8$  ( $11.6 \sim 17.2$ ) g, 雌で  $13.1$  ( $11.6 \sim 16.1$ ) g であった。正常マウスは雄で  $14.4$  ( $12.0 \sim 18.9$ ) g, 雌で  $13.2$  ( $11.7 \sim 16.2$ ) g であった。小眼症マウスと正常マウスでは体重には差異はなかった。

### 頭蓋長：

頭皮をはぎ、図Ⅱ-3a(a)に示す部位をノギスで計測した。小眼症マウスは雄で  $20.88$  ( $19.95 \sim 21.65$ ) mm, 雌で  $20.97$  ( $20.35 \sim 21.95$ ) mm であった。正常マウスは雄で  $21.25$  ( $20.50 \sim 22.60$ ) mm, 雌で  $20.91$  ( $19.75 \sim 21.80$ ) mm であった。両マウスを比較して頭蓋長には差異はなかった。

### 頭蓋幅：

頭皮をはぎ、図Ⅱ-3a(b)に示す部位をノギスで計測した。小眼症マウスは雄で  $10.16$  ( $9.95 \sim 10.36$ ) mm, 雌で  $10.16$  ( $10.05 \sim 10.40$ ) mm

mm であつた。正常マウスは雄 10.26 (10.00 ~ 10.90) mm, 雌 10.20 (9.85 ~ 10.75) mm であつた。両マウスを比較して頭蓋幅に差異はなかつた。

### 眼窩径

頭皮をはぎ、図Ⅱ-3の(c)に示す部位を1ギスで計測した。小眼症マウスは雄の右で 3.68 (3.35 ~ 4.10) mm, 雄の左で 3.64 (3.40 ~ 3.90) mm, 雌の右で 3.69 (3.50 ~ 3.90) mm, 雌の左で 3.63 (3.35 ~ 3.95) mm, であつた。正常マウスは雄の右 3.84 (3.70 ~ 4.20) mm, 雄の左 3.82 (3.60 ~ 4.10) mm, 雌の右 3.86 (3.65 ~ 4.00), 雌の左 3.86 (3.65 ~ 4.00) mm であつた。両マウスを比較して差異はなかつた。

表Ⅲ-2に、視神経の直径および長さについて示してあるが、これらは読み取り顕微鏡によつて計測した。視神経直径の計測は、脳を取り去った後、視交叉から、やや眼球寄りの左右の視神経が平行する部位にて行なつた。長さについては、眼球をつけたまま視神経を

取り出し、視交叉から眼球後縁までを計測した。

### 視神経直径：

小眼症マウスは雄の右  $0.30$  ( $0.25 \sim 0.34$ ) mm, 雄の左  $0.32$  ( $0.29 \sim 0.35$ ) mm, 雌の右  $0.31$  ( $0.20 \sim 0.39$ ) mm, 雌の左  $0.29$  ( $0.26 \sim 0.32$ ) mm であった。正常マウスは雄の右  $0.35$  ( $0.30 \sim 0.37$ ) mm, 雄の左  $0.34$  ( $0.31 \sim 0.36$ ) mm, 雌の右  $0.34$  ( $0.32 \sim 0.36$ ) mm, 雌の左  $0.35$  ( $0.33 \sim 0.38$ ) mm であった。小眼症マウスの方には、細い傾向がみられたが、性差、左右差はみられなかった。

### 視神経の長さ：

小眼症マウスは雄の右  $5.09$  ( $4.45 \sim 5.75$ ) mm, 雄の左  $4.97$  ( $4.24 \sim 5.38$ ) mm, 雌の右  $4.91$  ( $4.32 \sim 5.51$ ) mm, 雌の左  $4.62$  ( $4.28 \sim 5.05$ ) mm であった。正常マウスは雄の右  $4.86$  ( $4.40 \sim 5.59$ ) mm, 雄の左  $4.67$  ( $3.36 \sim 4.87$ ) mm, 雌の右  $4.85$  ( $3.00 \sim 4.60$ ) mm, 雌の左  $4.76$  ( $2.98 \sim 5.03$ ) mm であった。両マウスに

差異はなかった。

表Ⅱ-3に、眼球および瞳孔の計測値を示した。眼球は眼窩からとりはずし、重量は化学天秤で、長さは読み取り顕微鏡で計測した。瞳孔径は眼球正面から、散大した状態のものを、読み取り顕微鏡にて計測した。

### 眼球重量：

小眼症マウスは雄の右  $5.5 (4.8 \sim 6.1) \text{mg}$ ，雄の左  $5.7 (4.9 \sim 7.9) \text{mg}$ ，雌の右  $4.4 (2.6 \sim 5.7) \text{mg}$ ，雌の左  $5.0 (4.2 \sim 5.9) \text{mg}$  であった。正常マウスは雄の右  $13.5 (10.4 \sim 16.6) \text{mg}$ ，雄の左  $13.1 (12.0 \sim 14.7) \text{mg}$ ，雌の右  $12.8 (11.0 \sim 14.9) \text{mg}$ ，雌の左  $12.9 (11.8 \sim 14.3) \text{mg}$  であった。小眼症マウスでは正常マウスの  $40.7\%$  (雄の右)， $43.5\%$  (雄の左)， $34.4\%$  (雌の右)， $38.8\%$  (雌の左) に縮小していた。左右差，性差はみられなかった。

### 眼球赤道直径：

小眼症マウスは雄の右  $1.89 (1.67 \sim 2.16) \text{mm}$ ，雄の左  $1.91 (1.75 \sim 2.27) \text{mm}$ ，雌の右  $1.77$

(1.48 ~ 2.11) mm, 雄の左 1.79 (1.59 ~ 2.01) mm であった。正常マウスは雄の右 2.69 (2.52 ~ 2.91) mm, 雄の左 2.67 (2.45 ~ 3.17) mm, 雌の右 2.64 (2.38 ~ 2.85) mm, 雌の左 2.59 (2.41 ~ 2.93) mm, であった。小眼症は正常の 70.3 % (雄の右), 71.5 % (雄の左), 67.0 % (雌の右), 69.1 % (雌の左) に縮小していた。性差, 左右差は認められなかった。

### 眼球光軸直径:

小眼症マウスは雄の右 20.6 (1.80 ~ 2.16) mm, 雄の左 1.98 (1.70 ~ 2.26) mm, 雌の右 1.97 (1.69 ~ 2.21) mm, 雌の左 1.88 (1.67 ~ 1.97) mm であった。正常マウスは雄の右 3.05 (2.75 ~ 3.46) mm, 雄の左 2.96 (2.41 ~ 3.38) mm, 雌の右 3.07 (2.38 ~ 3.26) mm, 雌の左 3.10 (2.41 ~ 3.30) mm であった。小眼症は正常の 67.5 % (雄の右), 66.9 % (雄の左), 64.2 % (雌の右), 60.6 % (雌の左) に縮小していた。性差, 左右差は認められなかった。

### 瞳孔径:

小眼症マウスは雄の右眼  $0.34 (0.25 \sim 0.50) \text{ mm}$ , 雄の左眼  $0.37 (0.20 \sim 0.46) \text{ mm}$ , 雌の右  $0.32 (0.27 \sim 0.36) \text{ mm}$ , 雌の左  $0.31 (0.10 \sim 0.51) \text{ mm}$ , であつた。正常マウスは雄の右  $1.87 (1.55 \sim 2.21) \text{ mm}$ , 雄の左  $1.81 (1.61 \sim 2.36) \text{ mm}$ , 雌の右  $1.71 (1.55 \sim 1.84) \text{ mm}$ , 雌の左  $1.69 (1.50 \sim 2.00) \text{ mm}$ , であつた。小眼症マウスでは、正常マウスの  $18.2\%$  (雄の右),  $20.4\%$  (雄の左),  $18.7\%$  (雌の右),  $18.3\%$  (雌の左) に縮小していた。性差, 左右差は認められなかった。

表Ⅱ-4に水晶体の重量および赤道直径を示した。水晶体は眼球より取り出してから行なつた。

### 水晶体重量:

正常マウスでは雄の右  $4.0 (3.8 \sim 4.5) \text{ mg}$ , 雄の左  $3.9 (3.3 \sim 4.3) \text{ mg}$ , 雌の右  $3.4 (3.0 \sim 4.4) \text{ mg}$ , 雌の左  $3.4 (3.0 \sim 3.7) \text{ mg}$ , という値が得られた。ところが小眼症マウスでは水晶体を取り出すことはできず、その形態も肉眼的に認めるこ



とはできなかった。

### 水晶体赤道直径：

正常マウスでは、雄の右 1.99 (1.91 ~ 2.14) mm, 雄の左 1.95 (1.72 ~ 2.24) mm, 雌の右 1.86 (1.71 ~ 2.00) mm, 雌の左 1.88 (1.79 ~ 2.02) mm, であった。小眼症マウスでは水晶体の計測は不能であった。

### 3) 交配実験

交配実験のためには C3Hf/He, C57BL/6, NC の近交系マウスを用いた。表 II-5 にみるように可能な全ての組み合わせについて交配し、分離してくる小眼症マウス、正常マウスについて集計した。ホモと思われるもの同士からは全て小眼症が得られた。ホモとヘテロの交配あるいはホモと正常との交配からも全て小眼症が得られた。ヘテロ同士と思われるものからは 72.3% が小眼症となった。ヘテロと思われるものと正常では雄がヘテロの時 52.2%, 雌がヘテロの時、46.8% の小眼症が得られた。正逆交配間で分離比、性比に有意な差がみら

れないことから、この小眼症を支配している遺伝子は常染色体上の優性単一遺伝子であることが判明した。したがって、水晶体の消失という形質の特徴から、遺伝子名を、*eye lens abscence* とし、その遺伝子記号に Elo を与えることにした。以後この小眼症マウスのことを Elo マウスと呼び、ホモは Elo/Elo , ヘテロは Elo/+ と書くことにする。

#### 4. 考察

C57BL/6 系マウスと fancy マウスとの交雑を起原として、新たな系統（後に PIN）を育成途中に、小眼症マウスを発見した。この小眼症を支配する遺伝子は常染色体上の優性単一遺伝子 E10 (eye lens opalescence) であった。この突然変異は優性であることから、図 II-1 の F<sub>3</sub> の精子あるいは卵子において起きたものと推察できる。

次に E10 遺伝子は C57BL/6 系マウス、あるいは fancy マウスのどちらがもっていた染色体に突然変異が起きたのであろうか？ 第三章「E10 遺伝子座の存在する染色体とその染色体上の位置」において詳しく述べているが、E10 は Idh-1 (isocitrate dehydrogenase-1) の近位に遺伝子座がある（図 III-3）。しかも E10 遺伝子は Idh-1 のアイソザイム多型遺伝子 Idh-1<sup>b</sup> を伴って動いていることが判明した（図 III-2）。C57BL/6 系マウスは Idh-1<sup>a</sup>/Idh-1<sup>a</sup> であり、fancy マウスを近交化した PIN は、

Idh-1<sup>b</sup>/Idh-1<sup>b</sup> (水野ら, 1977) であり, したがって fancy マウスも Idh-1<sup>b</sup>/Idh-1<sup>b</sup> であつたであろう. ε10 と Idh-1 の遺伝子座が近位にあれば, 両者の遺伝子座は分離しにくく, 当然のことながら Idh-1<sup>b</sup> であつた染色体上で ε10 の突然変異が起きたことが推測できる. このことから fancy マウスがもつていた染色体上に ε10 突然変異が起きたものと考えられた.

形質の特徴は外形からは小眼症 (図Ⅱ-2) であり, 体重, 頭蓋骨あるいは眼窩の形など, 眼球以外の形質には全く異常を見い出し得なかった. ただ視神経の直径はやや細く, 小眼症の影響がみられた. これはおそらく眼球が小さくなつたための二次的影響と考えられた.

小眼症マウスの眼球の重量は正常の40%に, 眼球赤道直径は正常の約70%に, 眼球光軸直径は正常の60~70%に, 縮小していた. 瞳孔径は眼球の縮小により更に著しく, 正常の約20%になっていた. これらの異常は変異の幅

が比較的狭く、左右差は認められず。また性差も全くみられなかった。水晶体はその形態を肉眼的にも実体顕微鏡下でも認めることはできず、計測が不可能であった。E10 遺伝子による小眼症は、水晶体の消失がおき、その結果、眼球が小さくなり、それが視神経にも影響を与えているものと考えられた。この点に関してはオV章「E10 小眼症マウスの生後における形態的特徴」、オVI章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による E10 マウス眼球の発生異常の観察」およびオVII章「器官培養および免疫組織化学による E10 マウス眼球の発生異常の観察」で詳しく述べることにする。

眼に関与する E10 ミュータント遺伝子が、既知の遺伝子と同じものかどうかを検討してみた。E10 は優性遺伝子なので表I-1および表I-2から30の劣性遺伝子が除外できる。

E10 は常染色体上にあるので性染色体上にある Ie (Green, 1981) も除外できる。 Dey

(Teiler et al., 1978), Sey (Roberts, 1967),

Sig (Green, 1981) は致死遺伝子なので、やはり除外できる。 Elo 眼球では水晶体が消失し、白内障を呈しないので、白内障遺伝子 Cat (Day and Clayton, 1972), Eo (Green, 1981), Lop (Lyon et al., 1981), Cad (Tissot and Cohen, 1972), Cts (Kobayashi, 1980) さらに一連の白内障遺伝子 Alm, Apoc, Apyc, Iac, Idc, Nuc, Nzo, Vlm (Kratochvilova, 1981) とは異なる。 Elo は多面発現を示さないもので、 Cm (Green, 1981) のように異常行動を示すもの、 Mi<sup>wh</sup> (Grobman and Charles, 1947) のように色素変性を伴うものや Mp (Green, 1981) のように小耳を伴うものとも異なる。残る2つの遺伝子 Len-1, Len-2 (L. Skow, Mouse News Letter, 64, 77, 1981) については詳細は不明だが、小眼症を示すミュータントではない。したがって、Elo は既知の遺伝子にはない全く新しいミュータント遺伝子であることが判明した。しかしながら遺伝子座が同じで複対立遺伝子になっている

ことも考えられるので、リンケージ、テストによって染色体上の位置を決める必要がある。これについては、第五章「E10 遺伝子座の存在する染色体およびその染色体上の位置」において検討する。

## 5. 要約

新たにマウスの系統 (PON) を育成中、近交4代目に小眼症個体を発見した。形質の特徴をみてみると、眼球のみに異常がみられ、頭蓋骨その他には、異常はみられなかった。眼球重量は約40%、直径は60-70%に縮小し、しかも水晶体構造物が認められなかった。これらの異常には、性差および左右差はみられなかった。遺伝様式をしらべるために、この小眼症につき、交配実験を行なった結果、常染色体上の優性単一遺伝子によって支配されていた。形質の特徴と遺伝様式からみて、いままでに知られていない眼に関するマウスのミニタントと考えられた。そこで、この遺伝子名に *eye lens obsolescence* , 遺伝子記号に El<sub>o</sub> を与えることにした。



表 II-1 生後 30 日齢における小眼症マウスおよび正常マウスの体重, 頭蓋長, 頭蓋幅, 眼窩径

	性	個体数	体重(g)	頭蓋長(mm)	頭蓋幅(mm)	眼窩径右	眼窩径左(mm)
小眼症	雄	9	14.8±1.9	20.88±0.62	10.16±0.14	3.68±0.24	3.64±0.15
	雌	6	13.1±1.6	20.97±0.54	10.16±0.14	3.69±0.15	3.63±0.23
正 常	雄	8	14.4±2.2	21.25±0.71	10.26±0.30	3.84±0.17	3.82±0.18
	雌	7	13.2±1.6	20.91±0.66	10.20±0.28	3.86±0.12	3.86±0.12

表 II-2 生後 30 日 齡 に お け る 小 眼 症 マ ウ ス お  
よ び 正 常 マ ウ ス の 視 神 經 直 径 , 視 神 經 の  
長 さ

	性	個 体 数	視 神 經 直 径 (mm)		視 神 經 の 長 さ (mm)	
			右	左	右	左
小 眼 症	雄	9	$0.30 \pm 0.03$	$0.32 \pm 0.02$	$5.09 \pm 0.44$	$4.97 \pm 0.35$
	雌	6	$0.31 \pm 0.06$	$0.29 \pm 0.03$	$4.91 \pm 0.39$	$4.62 \pm 0.26$
正 常	雄	8	$0.35 \pm 0.02$	$0.34 \pm 0.02$	$4.86 \pm 0.44$	$4.67 \pm 0.51$
	雌	7	$0.34 \pm 0.02$	$0.35 \pm 0.02$	$4.85 \pm 0.45$	$4.76 \pm 0.26$

表 II-3 生後 30 日 齡 に お け る 小 眼 症 マ ウ ス お  
よ び 正 常 マ ウ ス の 眼 球 , 瞳 孔 の 計 測 値

性 个体数			眼球重量 (mg)		眼球赤道直径 (mm)		眼球光轴直径 (mm)		瞳孔径 (mm)	
			右	左	右	左	右	左	右	左
小眼症	雄	9	5.5±0.4	5.7±0.9	1.89±0.18	1.91±0.15	2.06±0.16	1.98±0.19	0.34±0.08	0.37±0.08
	雌	6	4.4±1.0	5.0±0.7	1.77±0.24	1.79±0.19	1.97±0.22	1.88±0.17	0.32±0.04	0.31±0.13
正 常	雄	8	13.5±1.9	13.1±1.0	2.69±0.14	2.67±0.22	3.05±0.25	2.96±0.31	1.87±0.19	1.81±0.25
	雌	7	12.8±1.3	12.9±0.8	2.64±0.17	2.59±0.17	3.07±0.14	3.10±0.13	1.71±0.09	1.69±0.17

表 II-4 生後 30 日 齡 に お け る 小 眼 症 マ ウ ス お  
よ び 正 常 マ ウ ス の 水 晶 体 の 計 測

性	水晶体重量 (mg)		水晶体赤道直径 (mm)	
	右	左	右	左
小眼症 雄	-	-	-	-
雌	-	-	-	-
正 常 雄	$4.0 \pm 0.3$	$3.9 \pm 0.3$	$1.99 \pm 0.09$	$1.95 \pm 0.18$
雌	$3.4 \pm 0.5$	$3.4 \pm 0.2$	$1.86 \pm 0.11$	$1.88 \pm 0.08$

- ; 計測不能

表 II-5 各種の組み合わせによる小眼症マウスの交配実験

交 配		仔の数	仔の形質		小眼症の割合(%)
雌親	雄親		小眼症	正常	
小眼症 ( <i>Elo/Elo</i> )	小眼症 ( <i>Elo/Elo</i> )	21	21	0	100
小眼症 ( <i>Elo/Elo</i> )	小眼症 ( <i>Elo/+</i> )	15	15	0	100
小眼症 ( <i>Elo/Elo</i> )	正 常 ( <i>+/+</i> )	18	18	0	100
小眼症 ( <i>Elo/+</i> )	小眼症 ( <i>Elo/Elo</i> )	28	28	0	100
小眼症 ( <i>Elo/+</i> )	小眼症 ( <i>Elo/+</i> )	422	307	115	72.7
小眼症 ( <i>Elo/+</i> )	正 常 ( <i>+/+</i> )	126	59	67	46.8
正 常 ( <i>+/+</i> )	小眼症 ( <i>Elo/Elo</i> )	15	15	0	100
正 常 ( <i>+/+</i> )	小眼症 ( <i>Elo/+</i> )	178	93	85	52.2
正 常 ( <i>+/+</i> )	正 常 ( <i>+/+</i> )	150	0	150	0

( ) 内は仮定された遺伝子型

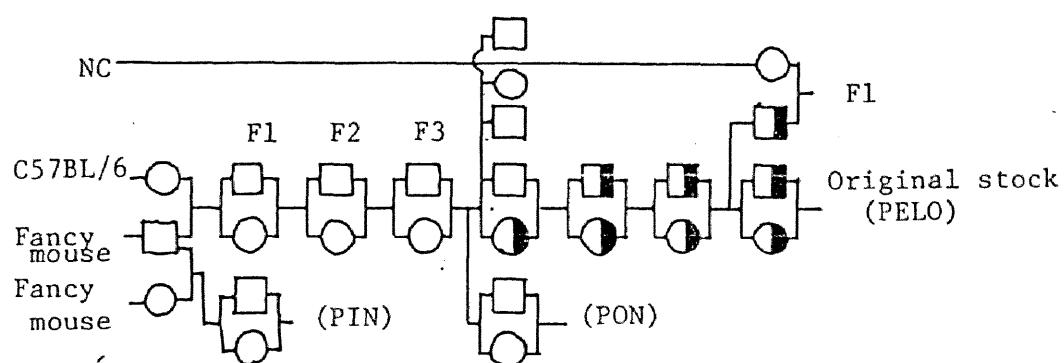
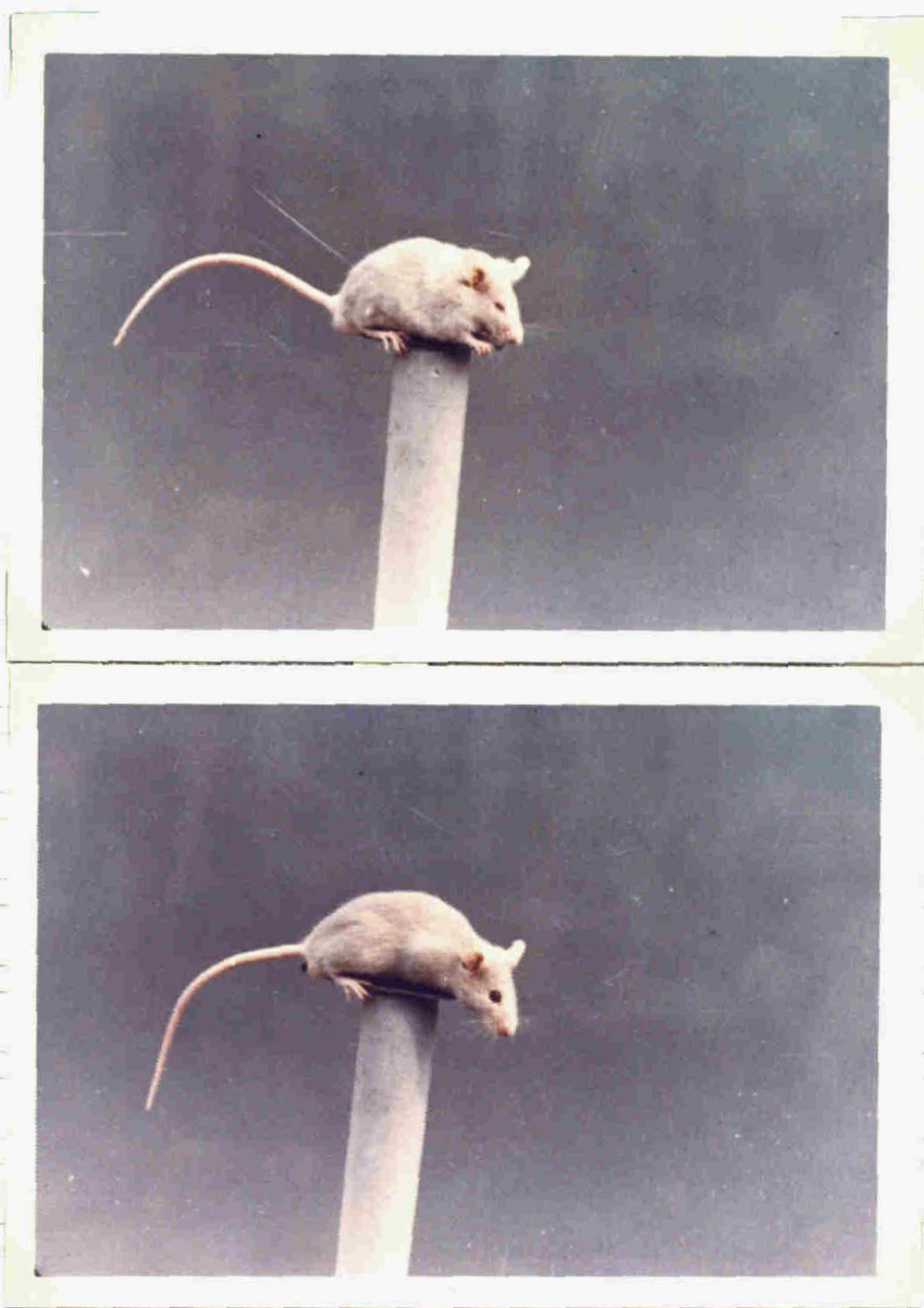


図 II-1 新たに見い出した小眼症マウスの家系図

□, ○, ■, ● はそれぞれ正常雄, 正常雌, 小眼症ヘテロ雄, 小眼症ヘテロ雌



図Ⅱ-2 *Original stock* における小眼症マウス  
(上) と同腹正常マウス (下)

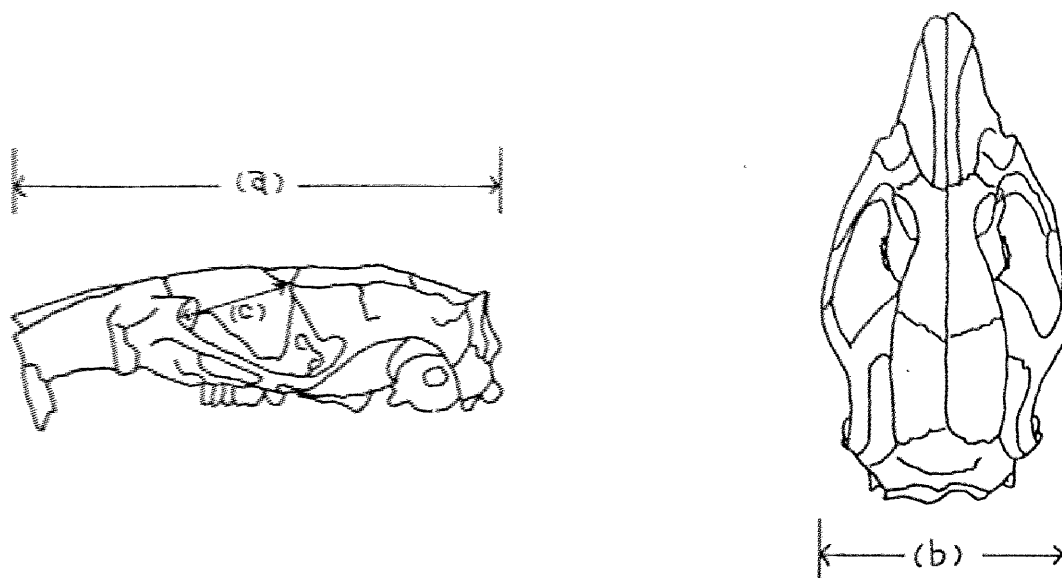


図 II-3 小眼症マウスの頭蓋測定部位

(a) 頭蓋長として計測した部位 (b) 頭蓋幅  
として計測した部位 (c) 眼窩径として計  
測した部位



## 才Ⅱ章 Elo 遺伝子座の存在する染色体と の染色体上の位置

## 1. 研究目的

オII章「マウスにおける新しい小眼症ミュータントの発見と遺伝様式」において、elo 遺伝子が常染色体上の優性単一遺伝子であることを述べ、その形質の特徴から全く新しい眼に関与するミュータントであることを証明した。elo がどの染色体上にあり、またその染色体上の位置を決定することにより、表I-1および表I-5にあるものとは全く異なる新しい遺伝子座として確認することも必要になるう。

elo 遺伝子の形質はオII章でみるように浸透度や表現度が完全であり、オIV章「Congenic strain, C3Hf/He-elo系マウスの育成」でみるように、生殖に著しい悪影響を及ぼすことはない。しかもオV章「elo 小眼症マウスの生後における形態的特徴」で明確なように、外観から簡単に形質をとらえることができる。したがって elo 遺伝子座が確定するならば、その染色体の標識遺伝子としても有用なものに

なるはずである。そこで elo 遺伝子の存在する染色体の決定およびその染色体上の位置を確定するために、既に知られている各染色体上の標識遺伝子との間でリンクージ・テストを行った。

## 2. マウスの系統と方法

リンケージ・テストのために交配実験を行なうたが、そこで用いた系統は以下のようなもので、それぞれ毛色などの標識遺伝子を保有する。C57BL/6 (a, nongouti, 第2染色体), NC (b, brown, 第4染色体), WN (W<sup>n</sup>, white spotting Nagoya, 第5染色体), PON (p, pink eye dilution, 第7染色体), C3Hf/He-rol (rol, rolling mouse Nagoya, 第8染色体), KSB (s, piebald, 第14染色体), C57L (d, dilute, 第9染色体と ln, leaden, 第1染色体) および DBA/2 (d, dilute, 第9染色体) の各近交系マウスを選定した。elo 遺伝子は第IV章で述べているところの congenic strain, C3Hf/He-elo を用いた。また日本で発見された Cts および mic とモリ  
ンケージ・テストを行なうた。

Idh-1 (isocitrate dehydrogenase-1, 第1染色体) はイソクエン酸脱水素酵素-1を支配するアイソザイム遺伝子座である。このアイソ

ガイムを検出するため、デンブング電気泳動法を行なった。泳動用試料としては、マウスを屠殺後、ただちに肝臓を取り出し、等量の蒸留水とともにホモゲナイズし、 $0^{\circ}\text{C}$ のもとで20,000g, 30分間遠心分離を行なった後、その上澄を用いた。試料は泳動にかけるまで、すみやかに $-40^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫に保存した。泳動条件はShaw and Prasad (1970)の方法に準じて行なった。通電は定電圧 $10.5\text{ V/cm}$ , 泳動時間は5~6時間とした。

緩衝液および反応液の調整は以下の通りである。

### (1) 保存用緩衝液 (PH 7.0)

トリス 163.5 g

クエン酸 90.4 g

これらに蒸留水を加えて2,000 mlとする。

### (2) 電解槽緩衝液 (PH 7.0)

100 ml の(1)液に400 mlの蒸留水を加える。

### (3) ゲル緩衝液 (PH 7.0)

3 ml の (1) 液に、197 ml の蒸留水を加える。デンプン濃度は 13% である。

#### (4) 反応液

1 ml	NADP <sup>+</sup>	(40 mg / 10 ml)
1 ml	NBT	(40 mg / 10 ml)
1 ml	PMS	(20 mg / 10 ml)
1 ml	0.1 M イソフエニ酸 3-トリウム塩	(300 mg / 10 ml)
4 ml	0.25 M MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	(880 mg / 10 ml)
5 ml	蒸留水	

を以下に加える。

{	零天	200 mg
	蒸留水	12 ml

### 3. 結果

1) C57BL/6 , NC , WN , PON , C3Hf/He-rol ,  
KSB の各近交系マウスと C3Hf/He-elo 系マ  
 ウスとの交配によるリンケージ・テスト

表Ⅲ-1 に示すように、F<sub>2</sub> 分離およびもどし交配の分離をみることにより、リンケージ関係を調べた。C57BL/6 (a) , PON (p) , C3Hf/He-rol (rol) と C3Hf/He-elo (elo) との交配では F<sub>2</sub> 世代の分離を求めたが、実測値は理論値と同じ 9 : 3 : 3 : 1 の比と同じとみなすことができた。NC (b) , WN (w<sup>n</sup>) , KSB (s) と C3Hf/He-elo (elo) との交配では、もどし交配によって分離を求めたが、実測値は理論値と同じ 1 : 1 : 1 : 1 の比と同じとみなすことができた。したがって a (第2染色体) , b (第4染色体) , w (第5染色体) , p (第7染色体) , rol (第8染色体) , s (第14染色体) の各遺伝子座との間に、elo 座はリンケージ関係はないものと判断されるであろう。

## 2) Cts および mic 遺伝子座と elo 遺伝子座 とのリンケージ・テスト

日本で発見された眼に関与するマウスのミュータント Cts と mic はその遺伝子座が不明である。両遺伝子座と elo 座とのリンケージテストの結果は表Ⅲ-2に示した。Cts 遺伝子の表現型はホモで小眼症・白内障，ヘテロで白内障（やや小眼球となるか）となり，mic はホモで変異の大きい小眼症，ヘテロでは正常である。外観から正常の大きさの眼球をもっているか，小眼球をもっているか，によって Cts/Cts，mic/mic を判定した。Cts/+ の場合，網膜色素があると外観からは白内障が判定しにくいことが考えられたからである。したがって Cts/Cts，mic/mic，elo/+，elo/elo の遺伝子型は小眼症になる。

Cts 座と elo 座とがリンケージしていない時，（Cts/+，elo/+）と（Cts/Cts，+/+）との交配から正常と小眼症の比は 1:3，（Cts/+，elo/+）と（Cts/+，elo/+）との交配から正常と小眼症の比



は 3 : 13 になる。 cts と elo の遺伝子座かりんげージしていない時、 (cts/+, +/+) と (cts/+, elo/+) との交配では正常と小眼症個体との比は 3 : 5 になる。

mic と elo 遺伝子座かりんげージしていない時 (mic/mic, +/+) と (+/mic, elo/+) との交配では、正常と小眼症個体の比は 1 : 3, (+/mic, elo/+) と (+/mic, elo/+) との交配では正常と小眼症の理論比は 3 : 13, (+/mic, elo/+) と (+/mic, +/+) との交配では正常と小眼症個体の理論比は 3 : 5 となる。表 III-2 の実験値はいずれも理論値と一致し、したがって cts および mic の両遺伝子座ともに elo 遺伝子座とリンケージ関係はないものと判断された。

### 3) C57L 系マウスと C3Hf/He-elo 系マウスとの交配によるリンケージ・テスト

C57L 系マウスは a/a, b/b, C/C, d/d, ln/ln の毛色遺伝子型である。 d (dilute, 第 9 染色体) と ln (leaden, 第 1 染色体) はともに毛色をうすめる。両者の区別は外観では不

可能である。C57L系マウスとC3Hf/He-elo系マウスとを交配し、このF<sub>1</sub>をC57L系マウスにもどし交配した。F<sub>1</sub>は正常毛色で小眼症となった。このF<sub>1</sub>マウスの遺伝子記号は( $+^{ln}/ln$ ,  $+^d/d$ ,  $elo/+$ )と書くことができる。

交配実験の結果は表Ⅲ-3に示すように、淡毛色・小眼：淡毛色・正常眼：正常毛色・小眼：正常毛色・正常眼 は 86：142：88：10 に分離して仔が得られた。 $d$ および $ln$ と $elo$ との間にリンケージ関係がない場合、3：3：1：1の分離比が得られるはずである。実験値はこの理論値と異なっており  $\chi^2 = 91.93$  ( $n = 3$ )  $p < 0.01$  であった。このことから $elo$ 遺伝子座は $d$ または $ln$ 座との間でリンケージ関係のあることが判明した。

#### 4) $d$ 座および $ln$ 座と $elo$ 座とのリンケージテスト

C57L系マウスとC3Hf/He-elo系マウスとの交配から $elo$ 座が $d$ または $ln$ の遺伝子座と同一染色体上にあることが判明した。 $d/d$ ,  $+^{ln}/+^{ln}$

の遺伝子型の系統は DBA/2 系マウスがある。  
 しかし  $+^d/+^d$ ,  $ln/ln$  の遺伝子型の系統はない。  
 そこで C57L 系マウスが持っている  $d$  と  $ln$  の  
 遺伝子を分離し  $+^d/+^d$ ,  $ln/ln$  を持つ系統を  
 育成することにした。図 III-1 に示すような交  
 配を行なった。

図 III-1 を説明する。C57L 系マウスと PELO  
 系マウスとを交配し ( $+^d/d$ ,  $+^{ln}/ln$ ) 雄を得た。  
 この雄に C57L 系マウスの雌をもどし交配し、  
 ( $+^d/d$ ,  $+/ln$ ), ( $d/d$ ,  $+^{ln}/ln$ ), ( $d/d$ ,  $ln/ln$ ),  
 ( $+^d/d$ ,  $ln/ln$ ) の仔を分離させた。これらの  
 中から淡毛色を示す ( $d/d$ ,  $+^{ln}/ln$ ), ( $d/d$ ,  
 $ln/ln$ ), ( $+^d/d$ ,  $ln/ln$ ) を選び、これら  
 に DBA/2 系マウス ( $d/d$ ,  $+^{ln}/+^{ln}$ ) を交配し  
 た。この交配によって正常毛色個体が分離す  
 るもの。すなわち ( $+^d/d$ ,  $ln/ln$ ) を選び、こ  
 れに KSB 系マウスを交配した。この交配から  
 ( $+^d/d$ ,  $+^{ln}/ln$ ) と ( $+^d/+^d$ ,  $+^{ln}/ln$ ) が分離して  
 くるが、再び DBA/2 系マウスで検定交配する。  
 これより淡毛色個体を分離しない ( $+^d/d$ ,  $+^{ln}/ln$ )

の遺伝子型のペアーを選び交配を行なった。  
 こうして ( $+^d/+^d$ ,  $ln/ln$ ) の系統を育成し、 $LN$   
 系マウスと呼ぶことにした。

$elo$  座と  $d$  座とのリンケージ・テストでは  
 $C3Hf/He$ - $elo$  系マウスと  $DBA/2$  系マウスとを  
 交配し、 $elo$  座と  $ln$  座とのリンケージ・テ  
 ストでは  $C3Hf/He$ - $elo$  系マウスと  $LN$  系マウ  
 スとを交配した。その結果は表Ⅲ-4に示した。  
 $elo$  座と  $d$  座との関係ではもどし交配の理論  
 比  $1:1:1:1$  に一致し、両者はリンケー  
 ジ関係はみられなかった。一方  $elo$  座と  $ln$   
 座との関係ではもどし交配の理論比  $1:1:$   
 $1:1$  に一致しなかった。雄が ( $ln/ln$ ,  $+/+$ )  
 で雌が ( $+/ln$ ,  $elo/+$ ) の時、組み換え価は  
 9.83% となり、逆に雄が ( $+/ln$ ,  $elo/+$ ) で雌が  
 ( $ln/ln$ ,  $+/+$ ) の時、組み換え価は 9.70% と  
 なった。合算したところ  $9.77 \pm 0.69\%$  となり、  
 したがって  $elo$  座は第1染色体上にあって、  
 $ln$  座から  $9.77 \pm 0.69$  離れた位置にあること  
 がわかった。

5) Congenic strain, C3Hf/He- $\epsilon$ lo 系マウスに  
おける Idh-1 アイソザイム遺伝子

$\epsilon$ lo 遺伝子座が第1染色体上にあり、 $\epsilon$ 座と  $9.77 \pm 0.69$  離れた位置にあることが判明したので、次に centromere 側か、あるいはその反対側か、を検討した。centromere 側には Idh-1 (イソクエン酸脱水素酵素-1) のアイソザイム遺伝子座がある (図 III-2)。そこで C3Hf/He 系マウスに遺伝子導入して育成した congenic strain, C3Hf/He- $\epsilon$ lo 系マウスについて Idh-1 のアイソザイム・パターンをみてみた。その結果、C3Hf/He- $\epsilon$ lo ( $\epsilon$ lo/ $\epsilon$ lo) 系マウスでは、早く泳動される F タイプ、すなわち遺伝子型は Idh-1<sup>b</sup>/Idh-1<sup>b</sup> であった。一方 C3Hf/He ( $+/+$ ) 系マウスでは遅く泳動される S タイプで遺伝子型は Idh-1<sup>a</sup>/Idh-1<sup>a</sup> であった。C3Hf/He- $\epsilon$ lo ( $\epsilon$ lo/ $+$ ) 系マウスでは3本バンドがみられ、遺伝子型は Idh-1<sup>a</sup>/Idh-1<sup>b</sup> であった。対照として泳動した PIN 系マウス ( $+/+$ ) は Idh-1<sup>b</sup>/Idh-1<sup>b</sup>、C57BL/6 系マ

ウス (+/+) は Idh-1<sup>a</sup>/Idh-1<sup>a</sup>, DBA/2 系マウス (+/+) は Idh-1<sup>b</sup>/Idh-1<sup>b</sup>, のような遺伝子型であった (図 III-3)。これらの各近交系マウスの遺伝子型は水野ら (1977) の報告と一致していた。以上のことを検討してみると, elo 遺伝子は Idh-1<sup>b</sup> 遺伝子を伴って動いており, C3Hf/He 系マウスに elo を遺伝子導入する 16 世代の過程 (図 IV-1) においても分離しなかったことを示すものである。したがって elo 座は Idh-1 座の近位に存在することが考えられ, そのことは ln 座に対し centromere 側に存在する。もし centromere の反対側にあるとすれば, elo 座と Idh-1 座との間で組み換えが多く起り, elo 遺伝子と Idh-1<sup>b</sup> 遺伝子は分離しやすいはずである。

# 6) Idh-1 座と elo 座とのリンケージ・テスト

elo 座と Idh-1 座とが近位にあることが推定できたので, 両者のリンケージ・テストを行ない, 組み換え価を求めた。C3Hf/He 系マ

ウス ( $\text{Idh-1}^a/\text{Idh-1}^a$ ,  $+/+$ ) と  $\text{C3Hf/He-}\epsilon\text{lo}$  系マウス ( $\text{Idh-1}^b/\text{Idh-1}^b$ ,  $\epsilon\text{lo}/\epsilon\text{lo}$ ) とを交配し、このF<sub>1</sub>に  $\text{C3Hf/He}$  をもどし交配した。親の交配から、組み換えによって生じる遺伝子型は ( $\text{Idh-1}^a/\text{Idh-1}^b$ ,  $+/+$ ) と ( $\text{Idh-1}^a/\text{Idh-1}^a$ ,  $\epsilon\text{lo}/+$ ) である。118匹の仔を得たが、そのうち前者の遺伝子型は2匹、後者の遺伝子型は5匹が分離した。したがって組み換え価を計算してみると  $5.93 \pm 1.29\%$  となった (表Ⅲ-5)。

図Ⅲ-2にみるように  $\epsilon\text{lo}$  遺伝子座は ln 座から  $9.77 \pm 0.69$ , Idh-1 座から  $5.93 \pm 1.29$  の距離に位置していることが判明した。

#### 4. 考察

眼に関与するミュータントは表Ⅰ-1および表Ⅰ-2に挙げたように、53を数えることができる。このうち染色体上の位置が判明しているものは必ずしも多くはない。オ1染色体には vl, Len-1, オ2染色体には bs, Cm, Dey, fi, オ5染色体には rd, オ6染色体には mi, mi<sup>rw</sup>, mi<sup>wh</sup>, mi<sup>ew</sup>, など mi の複対立遺伝子, Sig, オ10染色体には eb, Lop, r, オ11染色体には oe, オ15染色体には Bld, オ17染色体には rds, オ19染色体には ak, が知られている。また性染色体には Ie がある。染色体上の位置が不明なのは33遺伝子である。位置の不明な遺伝子と elo 遺伝子が複対立の可能性は否定できないか。位置の判明している遺伝子に関しては、オ1染色体上の vl と Len-1 について検討する必要がある。

vl (vacuolated lens) 遺伝子は白内障を発症させ、出生仔の  $\frac{1}{3} \sim \frac{1}{2}$  が二分脊椎である。



この遺伝子座は ln 座に対し centromere と反対側 23 センチ・モルガンの位置にある (Green, 1981). したがって elo 座とは関係がない. Len-1 (lens protein-1) 遺伝子は  $\gamma$ -クリスタリンの主要タンパク質を支配しており、また遺伝子座は Idh-1 座と  $1.3 \pm 1.3$ , Pep-3 座と  $25.1 \pm 5.1$  ( $n = 72$ ,  $F_1$  ♀♀), あるいは Idh-1 座と  $5.1 \pm 2.2$ , Pep-1 座と  $18.4 \pm 3.9$  ( $n = 98$ ,  $F_1$  ♂♂) の距離が、求められている。これらのデータはまだ中途のものであり、詳細は不明である (L. C. Skow, Mouse News Letter, 64, 77, 1981). 遺伝形質としては異なるが、染色体上の位置だけからみると elo と Len-1 の両遺伝子座はかなり近い位置にあることが推察できる。いずれにせよ形質の面を考えれば、elo は遺伝子としても、遺伝子座としても全く新しいものであると言える。

elo 遺伝子の発現形質は外観で容易に判別できる小眼症で、変異の幅はせまく、表現度

浸透度は完全で、しかも生殖に著しい悪影響を与えることはない。これらの点を考えると Elo はオノ染色体上の標識遺伝子として、すぐれた特徴を有していると言える。

## 5. 要約

elo 遺伝子座は第1染色体上にあって、ln 座と  $9.77 \pm 0.69$ , IdH-1 座と  $5.93 \pm 1.29$  の距離にあることがわかった。形質の特徴からだけでなく染色体および染色体上の位置からも、今まで報告されていない新しい遺伝子であり、遺伝子座であると言える。また第1染色体上の標識遺伝子としても有用なものになると考えられる。

表 Ⅲ-1  $Elo$  座と  $a$  座,  $b$  座,  $w$  座,  $p$  座,  
 $rol$  座,  $s$  座とのリンケージ・テスト

M or m	染色体	雌親	× 雄親	観察した仔の数				計	(理論比)
				$M, Elo$	$M, +$	$m, Elo$	$m, +$		
a	2	$A/a, Elo/+$	$A/a, Elo/+$	112	43	39	12	206	(9 : 3 : 3 : 1)
b	4	$B/b, Elo/+$	$b/b, +/+$	19	23	27	25	94	(1 : 1 : 1 : 1)
$w^n$	5	$+/, +/+$	$w^n/+, Elo/+$	30	29	28	27	114	(1 : 1 : 1 : 1)
p	7	$+/p, Elo/+$	$+/p, Elo/+$	151	54	49	11	265	(9 : 3 : 3 : 1)
rol	8	$+/rol, +/+$	$+/rol, Elo/+$	49	43	11	12	115	(3 : 3 : 1 : 1)
s		$s/s, +/+$	$+/s, Elo/+$	8	15	11	12	46	(1 : 1 : 1 : 1)

$M$ : 優性遺伝子       $m$ : 劣性遺伝子

表Ⅲ-2 Elo 座と小眼症を呈する Cts 座および mic 座とのリンケージ・テスト

染色体	雌親 × 雄親	観察仔数		(理論比)
		小眼症	正常	
<u>Cts</u> 不明	<u>Cts</u> /+, <u>Elo</u> /+	<u>Cts</u> / <u>Cts</u> ,+/+	125	45 (3 : 1)
	<u>Cts</u> /+, <u>Elo</u> /+	<u>Cts</u> /+, <u>Elo</u> /+	60	14 (13 : 3)
	<u>Cts</u> /+,+/+	<u>Cts</u> /+, <u>Elo</u> /+	52	38 (5 : 3)
<u>mic</u> 不明	<u>mic</u> / <u>mic</u> ,+/+	+/ <u>mic</u> , <u>Elo</u> /+	8	3 (3 : 1)
	+/ <u>mic</u> , <u>Elo</u> /+	+/ <u>mic</u> , <u>Elo</u> /+	63	13 (13 : 3)
	+/ <u>mic</u> , <u>Elo</u> /+	+/ <u>mic</u> ,+/+	30	13 (5 : 3)

表Ⅲ-3 (C3Hf/He-Elo × C57L) F<sub>1</sub>マウスと  
C57L系マウスとの交配実験

形質	仔の数		
	雄	雌	計
淡毛色・小眼	46	40	86
淡毛色・正常眼	64	78	142
正常毛色・小眼	43	45	88
正常毛色・正常眼	4	6	10

$$\chi^2 = 91.93 \quad (n = 3) \quad 0.01 < P$$

$$\text{Parents; } \frac{+^{ln} +^d}{ln \quad d} \frac{Elo}{+} \times \frac{ln \quad d}{ln \quad d} \frac{+}{+}$$

表Ⅲ-4 Elo 座 と d 座 および ln 座 と の リンケ  
ー ジ ・ テ ス ト

m	染色体	雌親 × 雄親	仔の分離した数				
			<u>+</u> , <u>Elo</u>	<u>+</u> , <u>+</u>	<u>m</u> , <u>Elo</u>	<u>m</u> , <u>+</u>	計
<u>d</u>	9	$\frac{+}{d} \frac{Elo}{+}$ $\frac{d}{d} \frac{+}{+}$	37	33	34	41	154
<u>ln</u>	1	$\frac{+}{ln} \frac{Elo}{+}$ $\frac{ln}{ln} \frac{+}{+}$	484	46	54	453	1017 <sup>*</sup>
		$\frac{ln}{ln} \frac{+}{+}$ $\frac{+}{ln} \frac{Elo}{+}$	365	38	42	380	825 <sup>**</sup>

m; 劣性遺伝子

\*; 組み換え価 9.83

\*\*; 組み換え価 9.70

9.77 ± 0.69 %

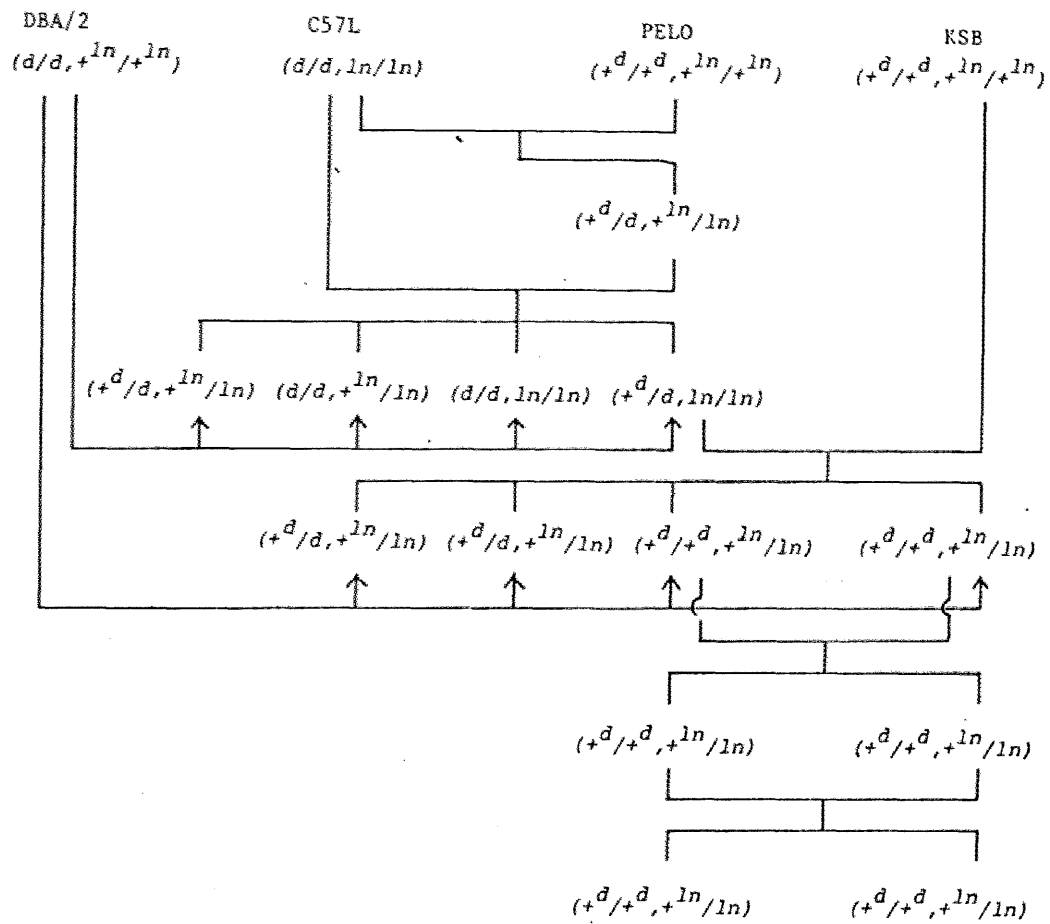
表 III-5 Elo 座 と Idh-1 座 と の リ ン ケ ー ジ ・  
テ ス ト

遺伝子型	仔の数		
	雄	雌	計
$+/+, Idh-1^a/Idh-1^a$	26	16	42
$+/+, Idh-1^a/Idh-1^b$	0	2	2
$Elo/+, Idh-1^a/Idh-1^a$	3	2	5
$Elo/+, Idh-1^a/Idh-1^b$	33	36	69

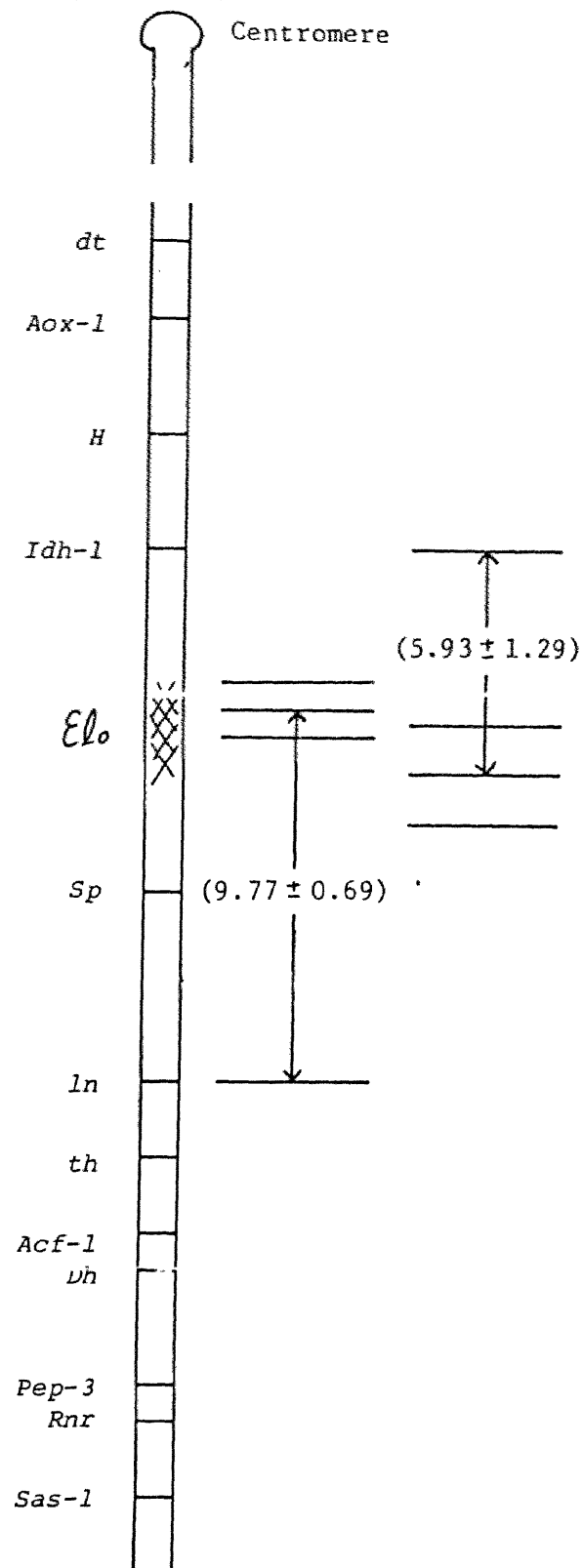
組み換え価:  $5.93 \pm 1.29$

$$\text{Parents; } \frac{+ \quad Idh-1^a}{+ \quad Idh-1^a} \times \frac{Elo \quad Idh-1^b}{+ \quad Idh-1^a}$$





# 図 III-1 C57L 系 マウス から $d$ 遺伝子 と $ln$ 遺伝子の分離 (LN 系 マウスの育成)



図Ⅲ-2 マウス第一染色体上の遺伝子座と  
 $E_{Lo}$  遺伝子座(※) の位置関係

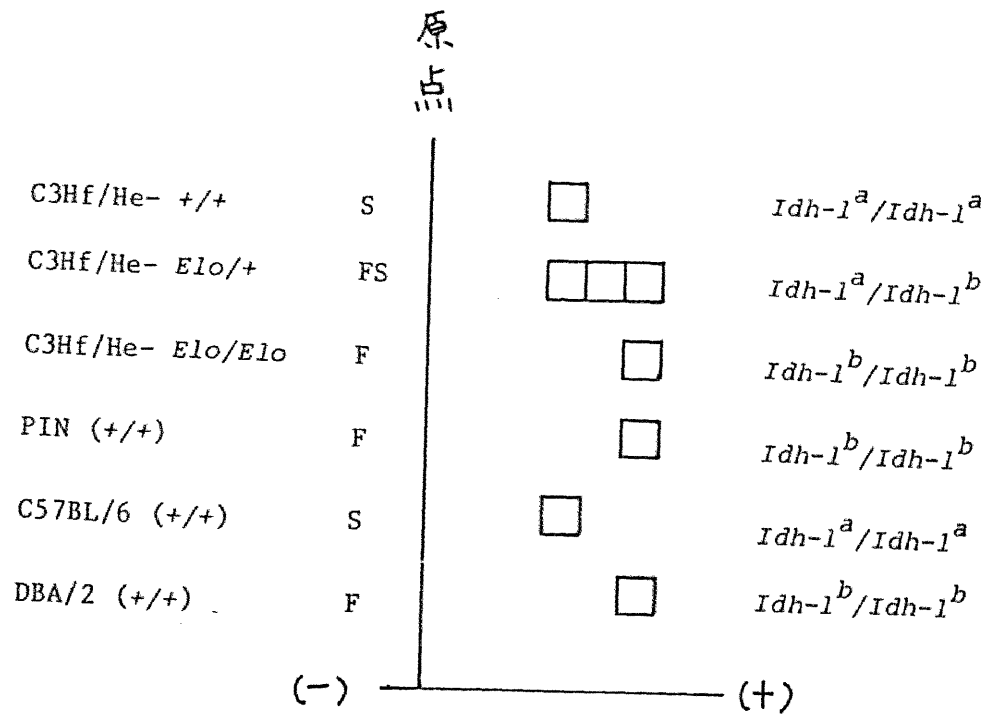


図 III-3 Congenic strain, C3Hf/He - Elo 系マウスおよび各種近交系マウスにおける Idh-1 アイソザイム遺伝子

第IV章 Congenic strain, C3Hf/He-elo 系  
マウスの育成

## 1. 研究目的

ミュータント系実験動物の育成の経過には  
①ミュータントの発見 ②ミュータント遺伝子の保存 ③ミュータント系の確立 ④系統の維持 ⑤供試動物の生産 といった課題を設定できるであろう。§10の場合、遺伝子の保存は致死的あるいは生殖能力を極端に低くする遺伝子ではないので、とくに問題はない。すぐに③のような系統の確立の課題となる。遺伝的統一性を追求するとすれば、兄妹交配あるいは親仔交配による近交系か、既近交系への遺伝子導入による *congenic strain* の育成が考えられる。新たな近交系を育成する場合、近交20代を経るのには5年以上を要する。しかし *congenic strain* の場合には相手が近交系なので、その半分の期間で育成でき、しかも相手の近交系に近い繁殖成績が期待される。したがって一般的な系統で、飼育繁殖しやすい系統を用いれば、*congenic strain* としても育成が容易であろう。第二章「マウスにおける新

しい小眼症ミュータントの発見と遺伝様式」, 第Ⅴ章「εl<sub>0</sub> 小眼症マウスの生後における形態的特徴」では、形質の特徴を観察するためには、(original stock マウス × NC 系マウス) F<sub>1</sub> を材料として用いたが、その理由は近交系ないしは congenic strain が育成されていない段階では、遺伝的背景の統一性がもっとも期待されるからである。

本章では、近交系マウスへの εl<sub>0</sub> 遺伝子導入が容易であると考えられたので、より厳密な遺伝的背景が期待でき、対照マウスが入手しやすく、育成が比較的容易な congenic strain を作出するとともに、育成された系統 C<sub>3</sub>Hf/He-εl<sub>0</sub> 系マウスの基礎調査を行ない、C<sub>3</sub>Hf/He 系マウスと比較した。

## 2. マウスの系統と方法

congenic strain 育成のために、遺伝子導入の相手には選択した近交系はC3Hf/He系マウスである。C3Hf/He系マウスは入手が容易で、繁殖成績もよく、飼育しやすい系統である。

また網膜変性症遺伝子 (rd, retinal degeneration) をもつが、この発症は生後2週齢以降であり、

第IV章「光学顕微鏡、電子顕微鏡による E10 マウス眼球の発生異常の観察」でみられるように、E10 遺伝子の形質発現は胎生期である。

また第V章でみるように、E10 遺伝子は網膜に直接的な影響を与えている証拠はない。

C3Hf/He系マウスにはC3H/He系マウスとは異なり、JCL-ICRマウスに哺乳させ、乳因子を取りのぞいているので、乳癌の発症もない。決定的に重要なのは、C57BL/6系マウスのように約12%もの眼異常（主に小眼症）を発症する系統 (Staat, 1980) とは異なり、

C3Hf/He系マウスには自然発症の小眼症はみられない。

図 IV-1 のように fancy マウスと C57BL 系マウスとの交配から 6 代目 (小眼症マウスの発見から 2 代目) の original stock マウスと C3Hf/He 系マウスと交配し、以後 C3Hf/He 系マウスへのもどし交配を開始した。導入 16 世代 (N16) まで行なってから、それ以後は兄妹交配に切りかえ、系統維持を行なっている。



### 3. 結果

育成された congenic strain について、体重、繁殖成績、形質の特徴とくに眼球の大きさ、アイソザイムなどについて検索した。

#### 1) 体重

C3Hf/He - E10 系マウスおよび C3Hf/He 系マウスの両系統につき、0日齢（新生仔）、5日齢、30日齢、60日齢について体重を計測した。C3Hf/He - E10 系マウスでは雄では0日齢 1.2 ~ 1.6 g, 5日齢 2.4 ~ 4.2 g, 15日齢 6.5 ~ 9.3 g, 30日齢 14.5 ~ 23.2 g, 60日齢 24.6 ~ 29.6 g であり、雌では0日齢 1.2 ~ 1.5 g, 5日齢 2.3 ~ 4.0 g, 15日齢 7.2 ~ 9.1 g, 30日齢 13.4 ~ 17.3 g, 60日齢 20.7 ~ 26.8 g であった。一方 C3Hf/He 系マウス雄では0日齢 1.1 ~ 1.8 g, 5日齢 2.0 ~ 4.1 g, 15日齢 6.5 ~ 15.3 g, 30日齢 13.6 ~ 20.4 g, 60日齢 21.8 ~ 30.6 g であり、雌では0日齢 0.9 ~ 1.8 g, 5日齢 2.0 ~ 4.0 g, 15日齢 5.4 ~ 11.9 g, 30日齢 10.3 ~ 18.0 g, 60日齢 20.5 ~ 29.7 g であった。表 IV - 1 および

図 IV-2 では、平均値と標準偏差を示したが  $C3Hf/He - \underline{\varepsilon 10}$  系マウスと、 $C3Hf/He$  系マウスとの間に差はみられなかった。

## 2) 繁殖成績

繁殖成績については初産日齢、出産間隔日数、一腹仔数、性比、離乳率について検討した。

### 初産日齢：

$C3Hf/He - \underline{\varepsilon 10}$  系マウスでは 20 ペアについて、 $C3Hf/He$  系マウスについては同時期に 21 ペアを調査した。表 IV-2 にみるように、 $C3Hf/He - \underline{\varepsilon 10}$  系マウスでは  $71.26 \pm 8.64$  日、 $C3Hf/He$  系マウスでは、 $65.05 \pm 5.72$  日であった。これを図 IV-3 で分布をみると、 $C3Hf/He - \underline{\varepsilon 10}$  系マウスでは 60 日から 88 日に広がって分布しており、 $C3Hf/He$  系マウスでは 60 ~ 69 日の間にほとんどが分布していた。

### 出産間隔日数：

$C3Hf/He - \underline{\varepsilon 10}$  系マウスでは 20 ペアで 79 例、 $C3Hf/He$  系マウスでは 21 ペアで 55 例

について調査した。C3Hf/He-E10系マウスは1~2産次(19例), 2~3産次(19例), 3~4産次(16例), 4~5産次(12例), 5~6産次(8例), 6~7産次(4例), 7~8産次(1例), 一方C3Hf/He系マウスは1~2産次(18例), 2~3産次(17例), 3~4産次(10例), 4~5産次(6例), 5~6産次(2例), 6~7産次(1例), 7~8産次(1例), が含まれるが, 産次によつて間隔日数に大きな差はみられなかった。表IV-2にみるように。C3Hf/He-E10系マウスでは $33.19 \pm 13.32$ 日, C3Hf/He系マウスでは $30.50 \pm 9.60$ 日となった。これを図IV-4で分布をみてみると, C3Hf/He-E10系マウスでは広い範囲にあり, C3Hf/He系マウスでは50日までであることがわかる。

#### 一腹仔数:

C3Hf/He-E10系マウスでは20ペアー, 95腹, でみると $5.85 \pm 2.46$ 匹, C3Hf/He系マウスでは21ペアー, 76腹でみると $6.64 \pm 2.48$ 匹

であった。6産目以降、急激に一腹仔数が下がるので、それらを含めなければ、 $C3Hf/He$ -E10系マウスは  $6.20 \pm 2.33$  匹 (84腹) となり、 $C3Hf/He$  系マウスは  $6.74 \pm 2.41$  匹 (72腹) となった。一腹仔数の分布を図IV-5に示してあるが、ピークは6~7匹にある。 $C3Hf/He$ 系マウスで10~12匹の場合が  $C3Hf/He$ -E10系マウスより多いことがわかる。

#### 性比：

$C3Hf/He$ -E10系マウスにおいても、 $C3Hf/He$ 系においても、表IV-3にみるように雌の方が多い傾向がみられた。

#### 離乳率：

$C3Hf/He$ -E10系マウスでは556匹を観察し、59匹が離乳までに死亡したので、離乳率は89.4であった。 $C3Hf/He$ 系マウスでは505匹を観察し、40匹が死亡したので、離乳率は92.1%であった (表IV-3)。

#### 3) 小眼症の程度

E10 遺伝子における形質の外形的特徴は、

小眼症であり、眼球の大きさに表示される。  
 そこで  $C3Hf/He - \underline{\epsilon 10}$  系マウスと  $C3Hf/He$  系マウスの眼球を取り出し、重量と赤道直径とをそれぞれ計測した。眼球は第二章「発見と遺伝様式」および第三章「生後における形態的特徴」などで説明されているように、性差、左右差はみられない。そこで 10% ホルマリン固定した 60 日齢雄の右眼についてのみ比較を行った。

### 眼球重量：

表 IV-4 に示すように  $C3Hf/He - \underline{\epsilon 10}$  系マウスでは 5.1 (2.8 ~ 6.7) mg であり、 $C3Hf/He$  系マウスでは 16.5 (13.5 ~ 19.1) mg であり、 $C3Hf/He - \underline{\epsilon 10}$  系マウスの眼球重量は、 $C3Hf/He$  系マウスの 30.9% になっていた。

### 眼球赤道直径：

読み取り顕微鏡で計測したところ、表 IV-4 に示すように、 $C3Hf/He - \underline{\epsilon 10}$  系マウスでは 2.19 (2.10 ~ 2.25) mm、 $C3Hf/He$  系マウスでは 3.06 (2.80 ~ 3.20) mm、であり、

C3Hf/He-E10 系マウスの眼球赤道直径は、  
C3Hf/He系マウスの71.6%であった。

#### 4) アイソザイムおよびヘモグロビンの電気泳動

アイソザイムとしてはエステラーゼ-1  
(Es-1) とイソクエン酸脱水素酵素-1,  
(Idh-1) , およびヘモグロビンとして $\beta$ 鎖  
(Hbb) について C3Hf/He-E10 系マウス  
と C3Hf/He 系マウスで調査した。イソクエン  
酸脱水素酵素-1 については第Ⅲ章「E10 遺  
伝子座の存在する染色体とその染色体上の位  
置」で示した電気泳動の方法を用いた。また  
エステラーゼ-1 およびヘモグロビン $\beta$ 鎖は  
タイタンⅢセルローズ・アセテート膜(ヘル  
ナ研究所)を用いて電気泳動を行なった(高  
橋ら, 1978)。その結果, C3Hf/He-E10系  
マウスでは、イソクエン酸脱水素酵素-1 は  
Idh-1<sup>b</sup>/Idh-1<sup>b</sup>, エステラーゼ-1 は,  
Es-1<sup>b</sup>/Es-1<sup>b</sup>, ヘモグロビン $\beta$ 鎖は,  
Hbb<sup>d</sup>/Hbb<sup>d</sup> の各遺伝子型に固定していた。一  
方 C3Hf/He 系マウスでは、イソクエン酸脱水

素酵素 - 1 は  $\underline{Idh-1^a/Idh-1^a}$ , エステラーゼ - 1 は  $\underline{Es-1^b/Es-1^b}$ , ヘモグロビン  $\beta$  鎖は  $\underline{Hbb^a/Hbb^a}$  の各遺伝子型に固定していた。

§10 遺伝子が入れかわることにより,  $\underline{Idh-1^a}$  は  $\underline{Idh-1^b}$  に入れかわっていた。

#### 4. 考察

小眼症遺伝子  $\varepsilon 10$  は、C3Hf/He 系マウスに 16 世代、もとし交配を行ない、congenic strain, C3Hf/He- $\varepsilon 10$  を育成し、以後、兄妹交配によって維持されている。この両系統では、理論的に言えば、 $\varepsilon 10$  遺伝子以外は全ての遺伝的背景は同一ということになる。しかしながらアイソザイム遺伝子であるイソクエン酸脱水素酵素  $Idh-1$  については、 $Idh-1^b$  であり、C3Hf/He 系マウスと異なっていた。 $Idh-1$  座は第Ⅲ章で証明したように、第 1 染色体上にあって  $\varepsilon 10$  と  $5.93 \pm 1.29\%$  の位置にある。したがって、この程度の距離では、congenic strain 育成の過程では分離しない場合があることを示している。

体重には C3Hf/He- $\varepsilon 10$  系マウスと、C3Hf/He 系マウスの間には差がなかったが、繁殖成績をみてみると、C3Hf/He- $\varepsilon 10$  系マウスの方が、初産日齢、出産間隔日数は長く、一腹仔数は少なく、また離乳率も低かった。こうし



た差が出る原因は C3Hf/He-E10 系マウスでは初産日齢、出産間隔日数の分布幅が広いためであり、C3Hf/He 系マウスでは一腹仔数の分布幅が広いためである。繁殖成績で C3Hf/He-E10 系マウスが悪いのは、小眼症という異常から由来するのか、あるいは E10 遺伝子座の近位に影響を与える遺伝子座が存在するのか、あるいは、たまたま選んだペーパーの成績が悪かっただけなのか、今のところどちらとも言えない。しかしながら、この程度の繁殖成績の低下だけで、E10 遺伝子が著しい悪影響を与えているということはいきできない。

形質の特徴として小眼症の程度をみてみたが、眼球重量は 30.9 % 12、眼球赤道直径は、% に縮小していた。第 V 章では、NC 系マウスと original stock マウス (E10/+) との F<sub>1</sub> で分離してくる小眼症と正常マウスとを比較している。そこでは眼球重量は小眼症マウス雌雄とも 12.5.1 mg、正常マウス雄 18.0 mg、雌 16.1 mg であり、28.3 ~ 31.7 % へ縮小してい

た。眼球赤道直径は小眼症雄  $1.90 \text{ mm}$  , 雌  $1.87 \text{ mm}$  , 正常マウスでは雌雄ともに  $2.94 \text{ mm}$  であり,  $63.6\% \sim 64.6\%$  へ縮小していた。赤道径の値はこの章でみるように  $11.6$  であり, 縮小率も  $2.19\%$  となり, 基本的には同じと考えられる。60日齢では, ヘテロ ( $\underline{\text{E10}}/+$ ) とホモ ( $\underline{\text{E10}}/\underline{\text{E10}}$ ) との間にも縮小率は基本的に存在せず。眼球の大きさでヘテロとホモが区別できる Cts (kobayashi, 1980) のようなニュータントではないと判断した。また, C3Hf/He 系マウスのように, rd 遺伝子によって網膜が消失しても, 眼球の大きさにはとくに影響がみられなかった。

形質の支配が単一遺伝子の場合, 兄妹交配による特性ある近交系育成に期待をかけるよりも, 既近交系への遺伝子導入による congenic strain の育成に努力することの方がよい。一般的に言えばその方が安定した系統が育成できし。遺伝子の保存, 系統の維持, 供試動物の生産にも有利である。とくに本論文に

おける ε10 遺伝子のように生殖障害もない単一優性遺伝子では短期間に遺伝的背景を統一化できるものと思われる。しかしながら、その場合でも、近位にある遺伝子については、必ずしも統一化できるとは限らないとわかる。

## 5. 要約

Original stock のヘテロ ( $\epsilon 10/+$ ) の雄マウスを C3Hf/He 系マウスに交配し、以後 16 代のもとし交配によって congenic strain, C3Hf/He -  $\epsilon 10$  系マウスを育成した。こゝから C3Hf/He -  $\epsilon 10$  系マウスは C3Hf/He 系マウスと比較すると、体重は差がないものの、初産日齢、出産間隔日数、一腹仔数、離乳率などの繁殖成績において悪かった。小眼症の程度は第 V 章の結果と大差なかった。 $Idh-1^b$  アイソザイム遺伝子は  $\epsilon 10$  に伴って動いており、もとし交配 16 世代、さらに近交が続けられているにもかかわらず、C3Hf/He 系マウスの保有の  $Idh-1^a$  遺伝子に、いまだ交換されてはいなかった。

表 IV-1 C3Hf/He-Elo 系マウスと C3Hf/He 系マウスにおける体重の比較

	0 日 齢	5 日 齢	15 日 齢	30 日 齢	60 日 齢
C3Hf/He-Elo	♂ 1.35±0.10 (14)	3.54±0.55 (14)	8.45±0.71 (17)	19.23±2.24 (25)	27.76±1.78 (10)
	♀ 1.31±0.10 (12)	3.24±0.57 (14)	8.08±0.51 (19)	15.57±1.32 (15)	22.58±1.71 (17)
C3Hf/He	♂ 1.44±0.23 (17)	3.34±0.52 (20)	8.76±2.18 (17)	17.47±1.92 (22)	25.74±2.53 (17)
	♀ 1.34±0.22 (23)	3.12±0.49 (25)	9.36±1.84 (10)	14.74±2.27 (16)	23.96±2.92 (17)

( ) 内は個体数

表 IV-2 C3Hf/He-Elo 系 マウス と C3Hf/He 系 マウス における 初産日齢 と 出産間隔 の 比較

	初産日齢	出産間隔日数
C3Hf/He-Elo	$71.26 \pm 8.64$ (20)	$33.19 \pm 13.32$ (79)
C3Hf/He	$65.05 \pm 5.72$ (21)	$30.50 \pm 9.60$ (55)

( ) 内は例数

表 IV-3 C3Hf/He-Elo系マウスと C3Hf/He系マウスにおける一腹仔数の比較

	雄	雌	死亡	計	腹数	一腹仔数
C3Hf/He-Elo	229	268	59	556	95	5.85±2.46
	215	250	56	521	84	6.20±2.33*
C3Hf/He	228	237	40	505	76	6.64±2.48
	221	226	30	485	72	6.74±2.41*

\* 1~5産目までのデータ

表 IV-4 60日齢の C3Hf/He-Elo 系マウスと  
C3Hf/He 系マウスにおける眼球の大きさ

	数	眼球重量 (mg)	眼球赤道径 (mm)
C3Hf/He-Elo	10	$5.1 \pm 1.1$ (30.9 %)	$2.19 \pm 0.06$ (71.6 %)
C3Hf/He	10	$16.5 \pm 1.6$ (100 %)	$3.06 \pm 0.10$ (100 %)



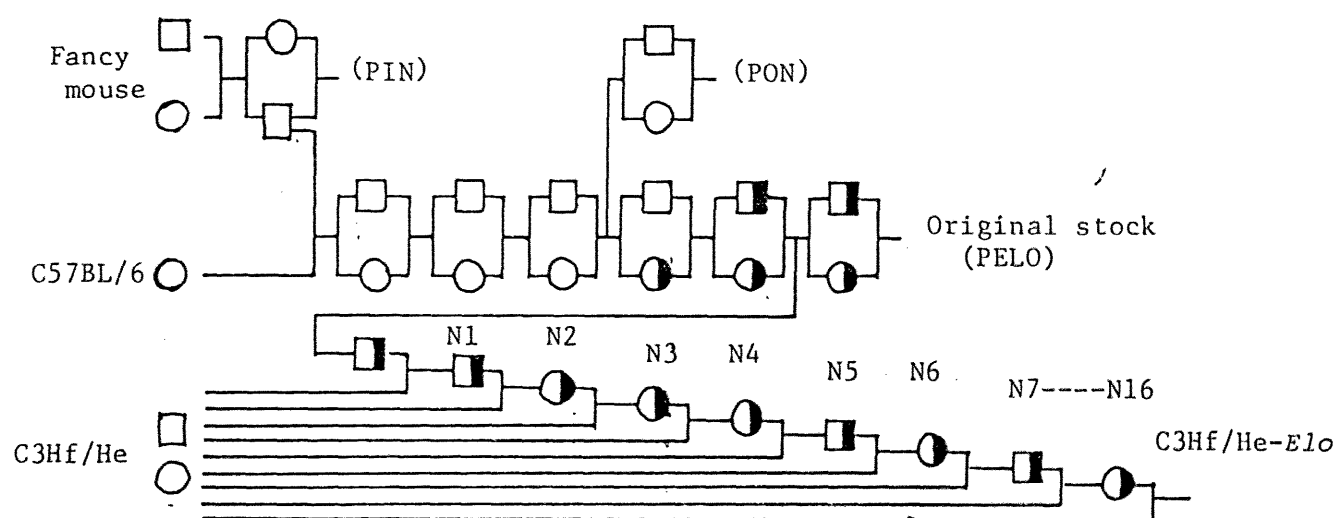


図 IV-1 Congenic strain, C3Hf/He-Elo 系マウスの育成

□ ○ ■ ● はそれぞれ  $+/+$  雄,  $+/+$  雌,  
 $Elo/+$  雄,  $Elo/+$  雌

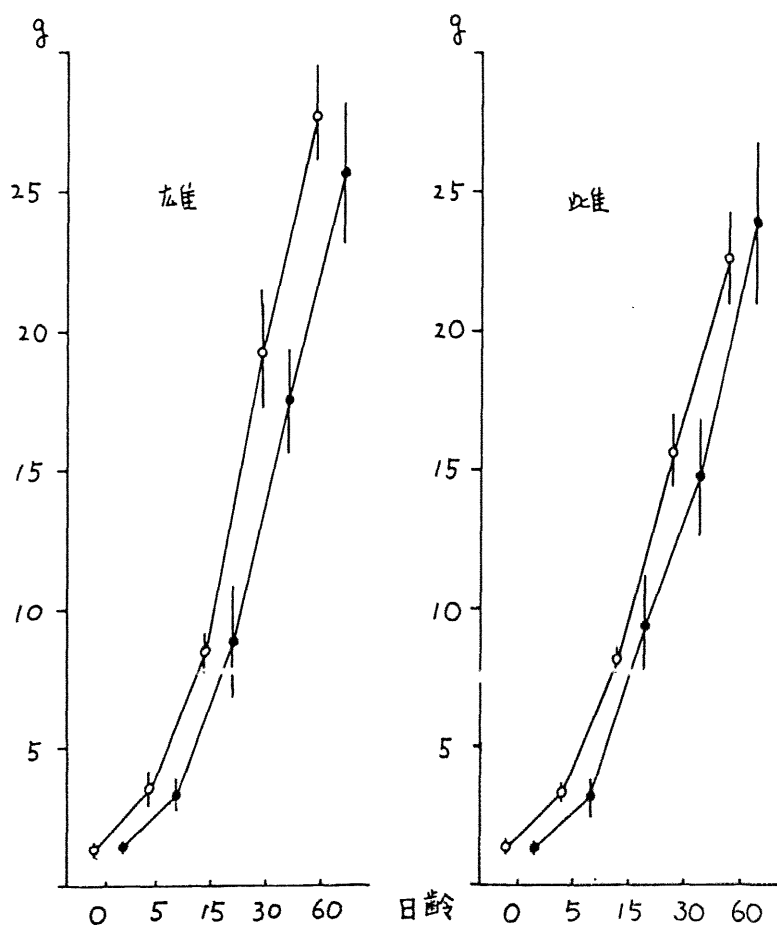


図 IV-2  $C_3Hf/He - \varepsilon l_0$  系 マウス (—●—) と  $C_3Hf/He$  系  
マウス (—○—) の成長曲線 幅は標準偏差

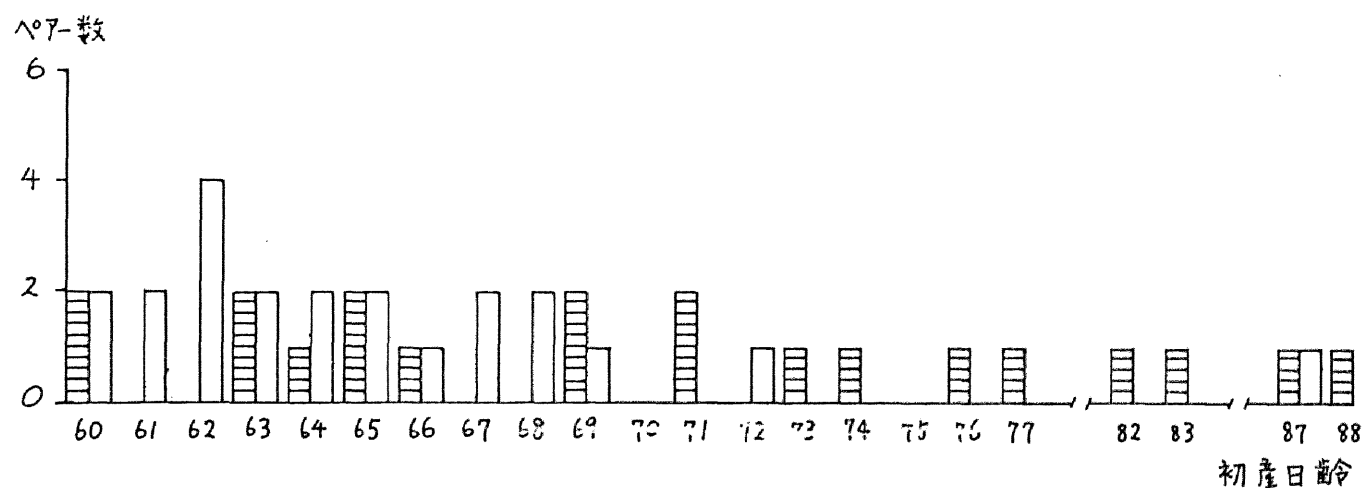
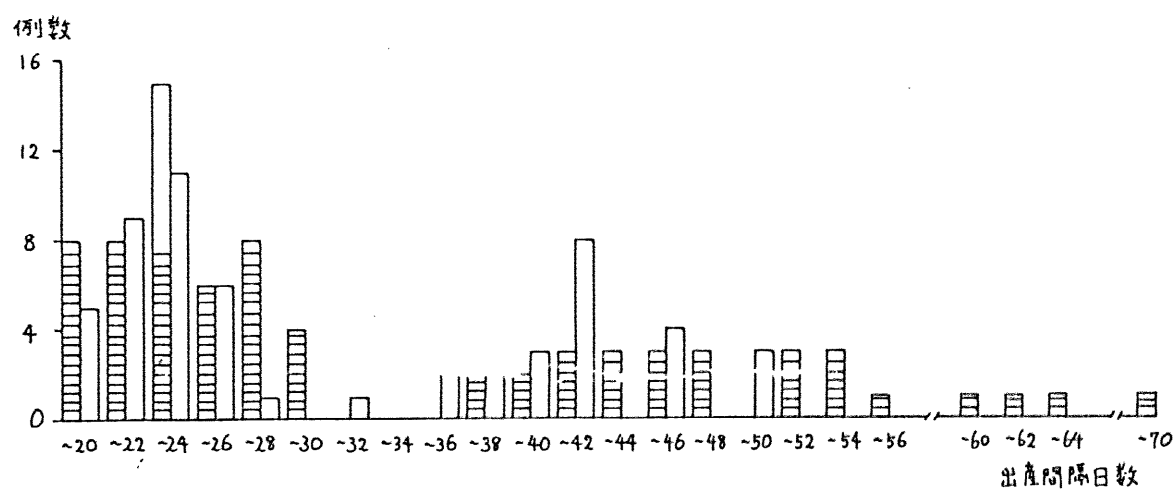


図 IV-3 C3Hf/He-El0系 マウス (目, 20 ペア-)  
 と C3Hf/He 系 マウス (口, 21 ペア-) に  
 おける 初産 日 齢



図Ⅳ-4  $C3Hf/He-\underline{El_0}$  系マウス (目, 79例) と  $C3Hf/He$  系マウス (口, 55例) の出産間隔日数

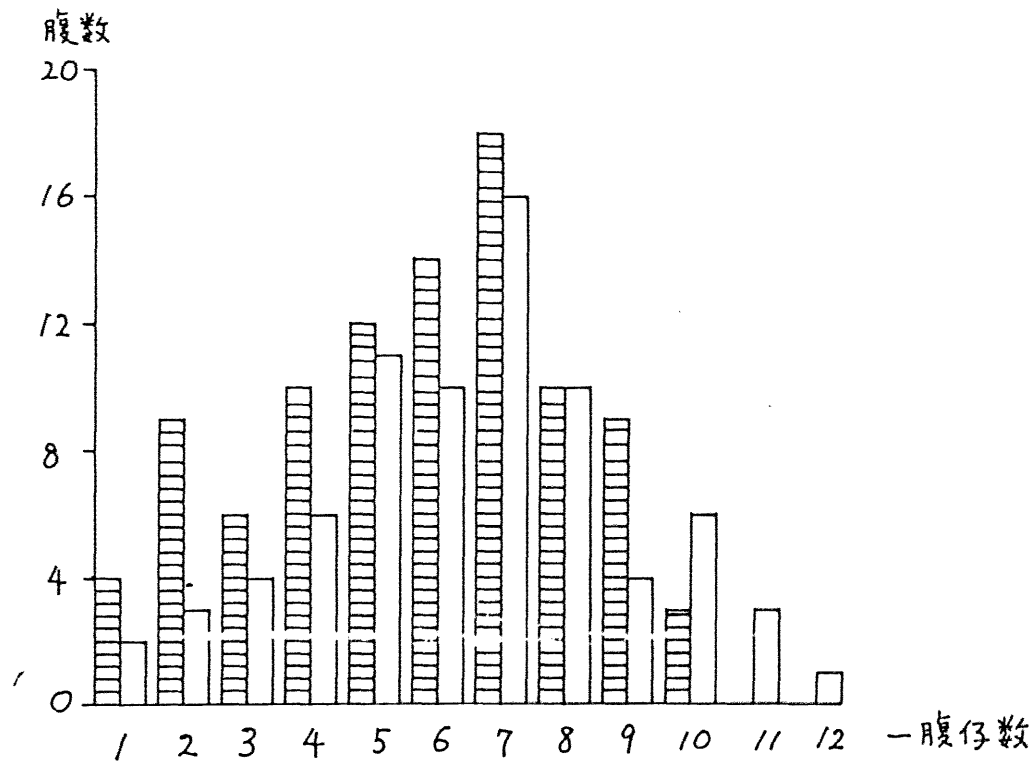


図 IV-5 C3Hf/He-εl<sub>0</sub>系マウス(目, 95腹)と  
C3Hf/He系マウス(□, 76腹)の一腹仔  
数の分布

## 第Ⅴ章 elo 小眼症マウスの生後における形態的特徴

## 1. 研究目的

第Ⅱ章「マウスにおける新しい小眼症ミュータントの発見と遺伝様式」でみたように、小眼症遺伝子 elo, eye lens abolescence の形質の特徴は小眼症を呈することであり、しかも水晶体の消失を伴なうことである。水晶体の消失と小眼症の成立が密に関連していることは Zwaan and Kirkland (1975) による ak (aphakia) の研究や Nakane et al. (1974) による mic (microphthalmia Japan) の研究で明らかである。またニワトリ胚を用いて実験的に水晶体を除去し、眼球の成長をみた研究では、水晶体の消失が眼球の大きさに決定的な影響を与えていることがはっきりした (Coulombre and Coulombre, 1964)。眼球の大きさは眼圧にも影響される (Coulombre, 1956)。

このことは第Ⅳ章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による elo マウス眼球の発生異常の観察」に連絡させるため、生後における小眼症および正常マウスの各部位を計測し、齢によ

る変化を観察した。また組織学的観察をあわせて行なうことにより、水晶体消失と小眼症成立についての関連を考察した。

また ε<sub>20</sub> 遺伝子は水晶体の消失を伴なうミュータントであるが、こうした形質について、他のミュータントとの対比を行なった。



## 2. 材料と方法

ε<sub>l</sub>0 遺伝子をもつヘテロにもつ original stock マウス (第Ⅱ章および図Ⅱ-1 参照) と NC 系マウスとを交配し、その F<sub>1</sub> に分離してくる正常マウス (+/+) と小眼症マウス (ε<sub>l</sub>0/+) とを観察に用いた。マウスの頭部を切断し、表皮をはがしたのち 10% ホルマリンに固定した。日齢は 0 日 (新生仔) から 5 日, 15 日, 30 日, 60 日までとし、各部位をノギスおよび読み取り顕微鏡にて計測した。計測法の詳細は第Ⅱ章の各項目に記したとおりである。

組織標本の観察にはブアン液固定標本を用いた。日齢は 0 日, 5 日, 15 日, 30 日で、通常のアルコール脱水とメチレンベンゾエイトおよびキシレンで透徹し、パラフィン包埋を行なった。組織切片は 10 μm の連続切片で、ヘマトキシリン・エオジン染色を行ない、光学顕微鏡にて観察した。

### 3. 結果

#### 1) 各部位の計測値

計測方法は第二章で述べたと同じである。計測部位は、体重、頭蓋長、頭蓋幅、視神経直径、視神経の長さ、眼球重量、眼球赤道直径、眼球光軸直径、瞳孔径、水晶体重量、水晶体赤道直径である。これらはそれぞれ0, 5, 15, 30, 60日齢で計測に努めたが、うまく計測できなかつたものについては空白にしてある。£10の形質には性差、左右差がないことは第二章の結果と同じであった。

#### 体重:

小眼症マウスでは0日齢の雄 1.5 (1.3~1.8) g, 0日齢の雌 1.4 (1.3~1.6) g, 5日齢の雄 2.7 (2.5~3.2) g, 5日齢雌 2.6 (2.1~3.0) g, 15日齢の雄 5.6 (4.2~7.6) g, 15日齢雌 5.2 (4.0~7.3) g, 30日齢の雄 14.8 (11.6~17.2) g, 30日齢雌 13.1 (11.6~16.1) g, 60日齢の雄 20.0 (18.5~21.9) g, 60日齢雌 19.2 (15.9~21.7) g, であつた。これらの

値は正常マウスと変わらなかった。(表V-1)

### 頭蓋長：

小眼症マウスでは0日齢雄11.9 (11.3 ~ 12.5) mm, 0日齢雌11.8 (11.1 ~ 12.4) mm, 5日齢雄14.5 (13.5 ~ 15.9) mm, 5日齢雌14.6 (13.6 ~ 15.1) mm, 15日齢雄18.2 (17.5 ~ 19.0) mm, 15日齢雌17.9 (17.2 ~ 18.7) mm, 30日齢雄20.9 (20.0 ~ 21.7) mm, 30日齢雌21.0 (20.4 ~ 22.0) mm, 60日齢雄22.7 (22.4 ~ 23.3) mm, 60日齢雌22.7 (22.4 ~ 23.4) mm, であった。

これらの値は正常と変わらなかった(表V-1)。

### 頭蓋幅：

小眼症マウスでは0日齢雄6.9 (6.4 ~ 7.2) mm, 0日齢雌6.8 (6.3 ~ 6.9) mm, 5日齢雄8.4 (7.9 ~ 9.0) mm, 5日齢雌8.8 (8.3 ~ 9.3) mm, 15日齢雄9.8 (9.1 ~ 10.6) mm, 雌9.7 (9.3 ~ 10.2) mm, 30日齢雄10.1 (10.0 ~ 10.4) mm, 30日齢雌10.2 (10.1 ~ 10.4) mm, 60日齢雄10.4 (10.0 ~ 10.6) mm,

60日齢雌 10.4 (10.2 ~ 10.8) mm, であつた。  
 これらは正常マウスと変わらなかつた(表V-1)。  
視神経の直径:

生後0日齢および5日齢は計測しなかつた。  
 小眼症マウスでは15日齢雄 0.28 (0.22 ~ 0.31) mm,  
 15日齢雌 0.29 (0.24 ~ 0.31) mm, 30日  
 齢雄 0.31 (0.25 ~ 0.35) mm, 30日齢雌 0.30  
 (0.20 ~ 0.39) mm, 60日齢雄 0.32 (0.28 ~ 0.35)  
 mm, 60日齢雌 0.32 (0.29 ~ 0.36) mm であつ  
 た。これらの値は正常マウスよりやや細い傾  
 向がみられた(表V-2)。

視神経の長さ:

生後0日齢および5日齢は計測しなかつた。  
 小眼症マウスでは15日齢雄 3.99 (3.11 ~ 4.62)  
 mm, 15日齢雌 3.87 (3.00 ~ 4.96) mm, 30日  
 齢雄 5.03 (4.24 ~ 5.75) mm, 30日齢雌 4.76  
 (4.28 ~ 5.51) mm, 60日齢雄 5.30 (4.57 ~  
 5.76) mm, 60日齢雌 4.92 (3.87 ~ 5.61) mm,  
 であつた。これらの値は正常マウスとほぼ同  
 じであつた(表V-2)。

## 眼球重量：

小眼症マウスでは 0 日齢雄 2.8 (2.3 ~ 3.3) mg, 0 日齢雌 2.7 (2.3 ~ 3.0) mg, 5 日齢雄 4.5 (3.6 ~ 5.4) mg, 5 日齢雌 4.4 (2.9 ~ 5.7) mg, 15 日齢雄 5.0 (3.9 ~ 6.1) mg, 15 日齢雌 5.1 (4.0 ~ 6.1) mg, 30 日齢雄 5.6 (4.8 ~ 7.9) mg, 30 日齢雌 4.7 (2.6 ~ 5.9) mg, 60 日齢雄 5.1 (3.9 ~ 7.2) mg, 60 日齢雌 5.1 (3.7 ~ 5.8) mg, であった。(表 V-3)。正常マウスと比べると生後 0 日齢で既に 62.5% に縮小しており, 5 日齢で 45.2% に, 15 日齢で 45.1%, 30 日齢で 39.6%, 60 日齢で 29.9% であった。図 V-1 でわかるように, 0 日齢から 5 日齢まではわずかに眼球重量は増加するが, 以後はほとんど増加しない。そのため正常マウスに比べると, より縮小が著しかった。

## 眼球赤道直径：

小眼症マウスでは 0 日齢雄 1.81 (1.61 ~ 2.00) mm, 0 日齢雌 1.69 (1.49 ~ 1.80) mm, 5 日

齡雄 1.94 (1.81 ~ 2.12) mm, 5 日齡雌 2.03  
 (1.66 ~ 2.27) mm, 15 日齡雄 1.92 (1.68 ~ 2.11)  
 mm, 15 日齡雌 1.95 (1.68 ~ 2.33) mm, 30 日  
 齡雄 1.90 (1.63 ~ 2.27) mm, 30 日齡雌 1.78  
 (1.48 ~ 2.11) mm, 60 日齡雄 1.90 (1.56 ~  
 2.10) mm, 60 日齡雌 1.87 (1.63 ~ 2.05) mm,  
 であつた (表 V-3)。0 日齡で既に正常マ  
 ウスの 87.7% になつており, 5 日齡で 77.2%  
 に, 15 日齡で 75.6% に, 30 日齡で 69.7% に,  
 60 日齡で 64.1% に, 縮小していた。図 V-2  
 に示すように 5 日齡までは大きくなるが, 以  
 後は大きくなつていない。

### 眼球光軸直径:

小眼症マウスでは 0 日齡雄 1.71 (1.54 ~ 1.92)  
 mm, 0 日齡雌 1.65 (1.55 ~ 1.80) mm, 5 日  
 齡雄 1.86 (1.72 ~ 2.02) mm, 5 日齡雌 1.80  
 (1.62 ~ 2.21) mm, 15 日齡雄 1.92 (1.46 ~ 2.31)  
 mm, 15 日齡雌 1.89 (1.40 ~ 2.38) mm, 30 日  
 齡雄 2.02 (1.70 ~ 2.26) mm, 30 日齡雌 1.86  
 (1.67 ~ 2.25) mm, 60 日齡雄 1.92 (1.49 ~ 2.15)

mm, 60日齢雌 1.99 (1.64 ~ 2.40) mm, であ  
った (表 V-3)。0日齢で既に正常マウス  
の 87.0% になっており, 5日齢で 75.5% に,  
15日齢で 72.6% に, 30日齢で 65.4% に, 60日  
齢で 62.2% に, 縮小していた。図 V-3 に示  
すように正常マウスと対称的に 5日齢以降は  
大きくなっていない。

### 瞳孔径:

小眼症マウスでは 0日齢雄 0.59 (0.46 ~ 0.71)  
mm, 0日齢雌 0.57 (0.42 ~ 0.66) mm, 5日  
齢雄 0.48 (0.11 ~ 0.83) mm, 5日齢雌 0.49  
(0.35 ~ 0.82) mm, 15日齢雄 0.34 (0.19 ~  
0.55) mm, 15日齢雌 0.32 (0.20 ~ 0.50) mm,  
30日齢雄 0.35 (0.20 ~ 0.50) mm, 30日齢雌  
0.31 (0.10 ~ 0.51) mm, 60日齢雄 0.31 (0.25 ~  
0.51) mm, 60日齢雌 0.38 (0.19 ~ 0.63) mm,  
であった。0日齢では正常マウスの 65.5% に,  
5日齢で 41.6% に, 15日齢で 22.8% に, 30日  
齢で 18.8% に, 60日齢で 19.7% に縮小してい  
た。図 V-4 に示すように, 瞳孔に関しては

正常マウスの方が大きくなっていくのに比し、むしろ縮小していることがわかる。

### 水晶体：

重量と赤道直径を計測した。重量をみると正常マウスでは60日齢で約5mgとなり、0日齢の約10倍となる。赤道直径をみると正常マウスでは、60日齢で約2mmとなり、0日齢の約2倍であった。一方小眼症マウスでは、いずれの日齢においても水晶体を摘出できず、測定ができなかった（表Ⅴ-4）。

### 2) 組織学的観察

小眼症マウスでは体重、頭蓋骨には異常はみられず、眼球に異常がみられる。眼球は0日齢から小さく、特に水晶体が摘出できないことは、水晶体の構造的崩壊が考えられる。組織学的観察は小眼症マウスと正常マウスについて、生後0日齢、5日齢、15日齢、30日齢、60日齢で行なった。観察しやすい成体のものから、逆に新生仔にむかって述べていく。  
60日齢および30日齢：



図Ⅴ-5にみるように、小眼症を呈した眼球内では、水晶体が本来位置する部位に、好エオジン性の結合織様の濃淡不等の物質がみられた。視神経はやや細い傾向があるものの組織学的異常はみられなかった。網膜は眼球が小さくなつた反映として褶曲を示した、このことは眼球あるいは水晶体の成長とは一応無関係に伸長するところを示している。網膜の層構造は正常と認められた。30日以降では大きな変化はみられなかった。

#### 15日齢：

図Ⅴ-6に崩壊した水晶体を示した。この水晶体核には空胞をもつた好エオジン性の結合織様のものがみられる。水晶体前縁部の水晶体嚢は残存しており、また、その下にある水晶体上皮細胞様のものも一層に並らんでみられる。硝子体腔中に突出した、膨満した細胞集団がみられる。

#### 5日齢：

15日齢の水晶体とよく似ているが、水晶体

線維の構造は消失し、無構造なエオジン好性物質におきかわっている（図Ⅴ-7）。水晶体上皮細胞は比較的正常状態を保っているものの、増殖部位および伸長部位は水晶体核につづき崩壊が進行している。硝子体腔には膨満した細胞集団がみられる。

### 0 日 齢：

図Ⅴ-8にみるように、0日齢で既に水晶体核の崩壊がおきていた。水晶体後縁部の水晶体囊が破綻し、硝子体腔へ細胞集団が漏出している様子もみられる。水晶体核には水晶体線維細胞のさまざまな変性像がみられた。すなわち核濃縮や核の淡明化などである。水晶体前縁部では水晶体囊や水晶体上皮は正常にみえる。水晶体赤道部における細胞増殖や線維細胞の伸長は活発であるが、水晶体皮質から水晶体核へ移行の過程で、細胞変性、とくに細胞核に異常が現われている。これらの詳細は第Ⅱ章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による Elso マウス眼球の発生異常の観察」

にゆずることにする。

0日齢では、まだこのように水晶体構造を一部に残しているが、摘出は不可能である。5日齢になれば、こうした構造自体も消失するものと思われる。正常マウスでは既に0日齢で卵円状の水晶体が形成されており、このような異常な水晶体線維の様子は観察されなかった。

#### 4. 考察

E10 遺伝子による小眼症は、生後 0, 5, 15, 30, 60 日齢で各部位を測定したところ、体重や頭蓋骨には異常はみられず、眼球に異常がみられた。このことは、mi (recessive microphthalmia) 座の遺伝子のように色素異常を示したり (Green, 1981), Ie (eye-ear reduction) や MP (micropinna-microphthalmia) のように耳に異常を示す遺伝子 (Green, 1981) とは異なる。また mic (microphthalmia Japan) のように頭蓋骨異常を示すもの (Nakane et al., 1975) とも異なる。lg (lid gap), oe (open-eyelid), oel (open-eyelids with cleft palate), のように眼瞼開存が新生仔で見られるもの (Green, 1981) とも異なる。E10 の小眼症は変異の幅は小さい。無眼から小眼あるいは極端な左右差がみられる Bld (Watson, 1968), Dey (Theiler et al., 1978), Sey (Roberts, 1967) あるいは mic (Kimura, 1969) のようなものとも異なっている。むしろ

る Cts ( cataract and small eye ) のように小眼の程度の変異が比較的小さいもの ( Kobayashi, 1980 ) に似ている。しかし Cts では眼球重量が t/t 28.6 mg に対し、Cts/t 23.6 mg, Cts/Cts 12.9 mg であり、ヘラロ、ホモで重量が異なる。elo マウスではホモとヘラロで眼球重量は差がみられない。elo マウスの眼球重量はとくに小さく、60日齢で 5.1 mg しかない。Cts では白内障として水晶体が残存するが、elo では消失しているためであろう。水晶体が白内障として残る net ( 中野ら, 1960; Brown et al., 1970 ), Cat ( Fraser and Schaback, 1962; Zwaan and Williams, 1968 ), Lop ( Lyon et al., 1981 ) とは異なっている。水晶体が消失しているという点では ake ( Varman and Stevens, 1968 ) と共通している。

体重は60日齢まで順調な成長を示し、頭蓋は30日齢くらいで成長は鈍化する。視神経は elo 小眼症も正常も30日まで順調な成長を示す。一方眼球の方は、elo 小眼症は5日齢ま

で大きくなるが、それ以後はほとんど大きくなり  
ない。瞳孔は逆に小さくなっているが正  
常マウスでは60日齢まで順調な成長を示す。  
正常マウスのデータは水晶体と眼球の大き  
さは相関している様子を示す。また瞳孔も同じ  
傾向を示す。§10 小眼症において、0日から  
5日まで眼球が大きくなっているのは、図V-  
8でみるように、0日齢では、まだ水晶体構  
造を維持し、成長がみられるからであろう。

水晶体と眼球の大きさをニワトリ胚を用い  
て実験的に証明したのは Coulombre and Coulombre  
(1964) である。彼らは水晶体を破壊したも  
の、水晶体を取りのぞいたもの、水晶体を煮  
て、入れかえを行なったもの、と比較してい  
る。その結果、角膜、色素上皮、脈絡膜、強  
膜は水晶体に影響され、この時硝子体物質も  
重要であるという。網膜は水晶体には影響さ  
れない。こうした観点から眼球組織切片をみ  
てみると、図V-5にみるように、網膜は褶  
曲を示すが、角膜、色素上皮、脈絡膜、強膜

は褶曲を示していない。これは網膜のみが水晶体に影響されずにいることを示すものである。眼球およびそれを構成する組織と水晶体の関係をさらに詳しく研究するためには、

Cts のような不完全優性遺伝子を用いて、正常、ヘテロ、ホモ個体から水晶体と眼球各部位を比較すればよいであろう。

§10 小眼症は既に新生仔で異常が出現しており、形質発現については胎生期にさかのぼって研究する必要がある。それらは第Ⅵ章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による §10 マウス眼球の発生異常の観察」にゆずることにする。

## 5. 要約

体重, 頭蓋, 視神経, 眼球, 瞳孔, 水晶体について, 0, 5, 15, 30, 60 の各日齢において, 正常マウスと小眼症マウスとを比較した。体重, 頭蓋長, 頭蓋幅, 視神経の長さについては両者に差がなかった。視神経直径は小眼症マウスの方がやや細い傾向がみられた。小眼症マウスの眼球は5日齢までは成長するが, それ以後は成長しなかった。

組織学的検索では小眼症マウスにおいても0日齢では水晶体構造が残っていた。15日齢以降では消失していた。網膜は褶曲を示していたが, 水晶体以外の眼球組織は正常であった。

以上の結果から elo 小眼症は胎生期に水晶体の変性が始まっており, 新生仔で既に小眼球である。また水晶体の存在と成長が, 眼球の成長に密に関与していることが判明した。



表 V-1 生後における小眼症マウスおよび同  
腹正常マウスの体重，頭蓋長，頭蓋幅

			0日齢	5日齢	15日齢	30日齢	60日齢
体重 (g)	小眼症	雄	1.5±0.2 (10)	2.7±0.2 (10)	5.6±1.0 (13)	14.8±1.9 (9)	20.0±1.5 (6)
		雌	1.4±0.1 (10)	2.6±0.2 (12)	5.2±1.3 (9)	13.1±1.6 (6)	19.2±1.7 (7)
	正常	雄	1.5±0.1 (10)	3.0±0.2 (7)	5.1±0.6 (13)	14.4±2.2 (8)	20.6±1.6 (11)
		雌	1.6±0.1 (10)	2.6±0.5 (11)	5.1±0.6 (7)	13.2±1.6 (7)	18.7±1.3 (10)
頭蓋長 (mm)	小眼症	雄	11.9±0.4 (10)	14.5±0.9 (10)	18.2±0.5 (11)	20.9±0.6 (9)	22.7±0.4 (5)
		雌	11.8±0.4 (9)	14.6±0.6 (12)	17.9±0.5 (13)	21.0±0.5 (6)	22.7±0.5 (6)
	正常	雄	11.8±0.3 (10)	15.3±0.7 (8)	18.5±0.7 (8)	21.2±0.7 (8)	22.6±0.3 (7)
		雌	11.8±0.3 (10)	15.4±0.9 (11)	18.2±0.5 (7)	20.8±0.7 (8)	22.7±0.4 (10)
頭蓋幅 (mm)	小眼症	雄	6.9±0.2 (10)	8.4±0.4 (10)	9.8±0.4 (13)	10.1±0.2 (9)	10.4±0.2 (5)
		雌	6.8±0.3 (9)	8.8±0.3 (11)	9.7±0.4 (13)	10.2±0.1 (6)	10.4±0.2 (6)
	正常	雄	7.1±0.2 (10)	8.9±0.3 (8)	10.0±0.2 (8)	10.3±0.3 (8)	10.7±0.5 (7)
		雌	6.9±0.2 (10)	8.7±0.3 (12)	9.7±0.3 (7)	10.2±0.3 (8)	10.5±0.3 (10)

( ) 内は標本数

表 V-2 生後における小眼症マウスおよび同  
腹正常マウスの視神経

			性 15日 齡	30日 齡	60日 齡
視神経 直径 (mm)	小眼症	雄	$0.28 \pm 0.02$ (26)	$0.31 \pm 0.03$ (18)	$0.32 \pm 0.02$ (10)
		雌	$0.29 \pm 0.02$ (26)	$0.30 \pm 0.05$ (12)	$0.32 \pm 0.02$ (12)
	正 常	雄	$0.30 \pm 0.03$ (16)	$0.34 \pm 0.02$ (16)	$0.35 \pm 0.02$ (14)
		雌	$0.31 \pm 0.02$ (14)	$0.34 \pm 0.02$ (16)	$0.35 \pm 0.03$ (20)
視神経 長さ (mm)	小眼症	雄	$3.99 \pm 0.41$ (26)	$5.03 \pm 0.38$ (18)	$5.30 \pm 1.45$ (10)
		雌	$3.87 \pm 0.45$ (26)	$4.76 \pm 0.35$ (12)	$4.92 \pm 0.53$ (12)
	正 常	雄	$4.11 \pm 0.47$ (16)	$4.77 \pm 0.47$ (16)	$4.94 \pm 0.61$ (14)
		雌	$3.80 \pm 0.72$ (14)	$4.82 \pm 0.34$ (16)	$4.81 \pm 0.32$ (20)

( ) 内は 標本数

表 V-3 生後における小眼症マウスおよび同腹正常マウスの眼球と瞳孔の大きさ

			0日齢	5日齢	15日齢	30日齢	60日齢
眼球重量 (mg)	小眼症	雄	2.8±0.2 (20)	4.5±0.5 (20)	5.0±0.6 (16)	5.6±0.7 (18)	5.1±1.0 (10)
		雌	2.7±0.2 (17)	4.4±0.6 (24)	5.1±0.6 (16)	4.7±0.9 (12)	5.1±0.6 (12)
	正常	雄	4.5±0.5 (20)	9.9±0.9 (14)	11.2±1.6 (16)	13.3±1.5 (16)	18.0±2.0 (14)
		雌	4.3±0.6 (20)	9.8±1.4 (22)	11.2±1.3 (14)	12.7±3.0 (16)	16.1±1.4 (20)
眼球赤道直径 (mm)	小眼症	雄	1.81±0.11 (20)	1.94±0.10 (20)	1.92±0.11 (26)	1.90±0.16 (18)	1.90±0.18 (10)
		雌	1.69±0.11 (17)	2.03±0.23 (24)	1.95±0.16 (26)	1.78±0.21 (12)	1.87±0.12 (12)
	正常	雄	2.04±0.08 (20)	2.67±0.09 (14)	2.60±0.23 (16)	2.68±0.18 (16)	2.94±0.10 (14)
		雌	1.95±0.11 (20)	2.47±0.13 (21)	2.51±0.20 (14)	2.60±0.16 (16)	2.94±0.15 (20)
眼球光軸直径 (mm)	小眼症	雄	1.71±0.10 (20)	1.86±0.10 (20)	1.92±0.19 (26)	2.02±0.18 (18)	1.92±0.21 (10)
		雌	1.65±0.06 (17)	1.80±0.13 (24)	1.89±0.23 (26)	1.86±0.19 (12)	1.99±0.21 (12)
	正常	雄	1.96±0.11 (20)	2.51±0.08 (14)	2.61±0.14 (16)	3.00±0.28 (16)	3.19±0.18 (14)
		雌	1.90±0.07 (20)	2.34±0.15 (22)	2.64±0.17 (14)	2.93±0.29 (16)	3.10±0.20 (20)
瞳孔径 (mm)	小眼症	雄	0.59±0.07 (20)	0.48±0.15 (20)	0.34±0.11 (23)	0.35±0.08 (18)	0.31±0.08 (10)
		雌	0.57±0.06 (17)	0.49±0.15 (23)	0.32±0.08 (24)	0.31±0.10 (11)	0.38±0.13 (11)
	正常	雄	0.89±0.06 (20)	1.16±0.11 (14)	1.42±0.14 (16)	1.84±0.21 (16)	1.70±0.15 (14)
		雌	0.88±0.06 (20)	1.17±0.18 (22)	1.39±0.11 (13)	1.68±0.13 (16)	1.81±0.29 (20)

( ) 内は標本数

表 V-4 生後における小眼症および正常マウスの水晶体の大きさ

		性	0日齢	5日齢	15日齢	30日齢	60日齢
水晶体重量 (mg)	小眼症	雄	-	-	-	-	-
		雌	-	-	-	-	-
	正常	雄	$0.4 \pm 0.2$ (6)	$2.5 \pm 0.2$ (14)	$2.7 \pm 0.4$ (16)	$3.9 \pm 0.3$ (16)	$4.7 \pm 0.5$ (14)
		雌	$0.7 \pm 0.1$ (20)	$1.8 \pm 0.3$ (22)	$2.6 \pm 0.4$ (14)	$3.4 \pm 0.4$ (16)	$4.8 \pm 0.4$ (20)
水晶体赤道直径 (mm)	小眼症	雄	-	-	-	-	-
		雌	-	-	-	-	-
	正常	雄	$1.04 \pm 0.13$ (20)	$1.62 \pm 0.11$ (14)	$1.71 \pm 0.15$ (16)	$1.97 \pm 0.14$ (16)	$2.05 \pm 0.08$ (14)
		雌	$1.13 \pm 0.05$ (20)	$1.48 \pm 0.11$ (11)	$1.71 \pm 0.10$ (14)	$1.87 \pm 0.10$ (16)	$2.06 \pm 0.15$ (20)

( ) 内は標本数

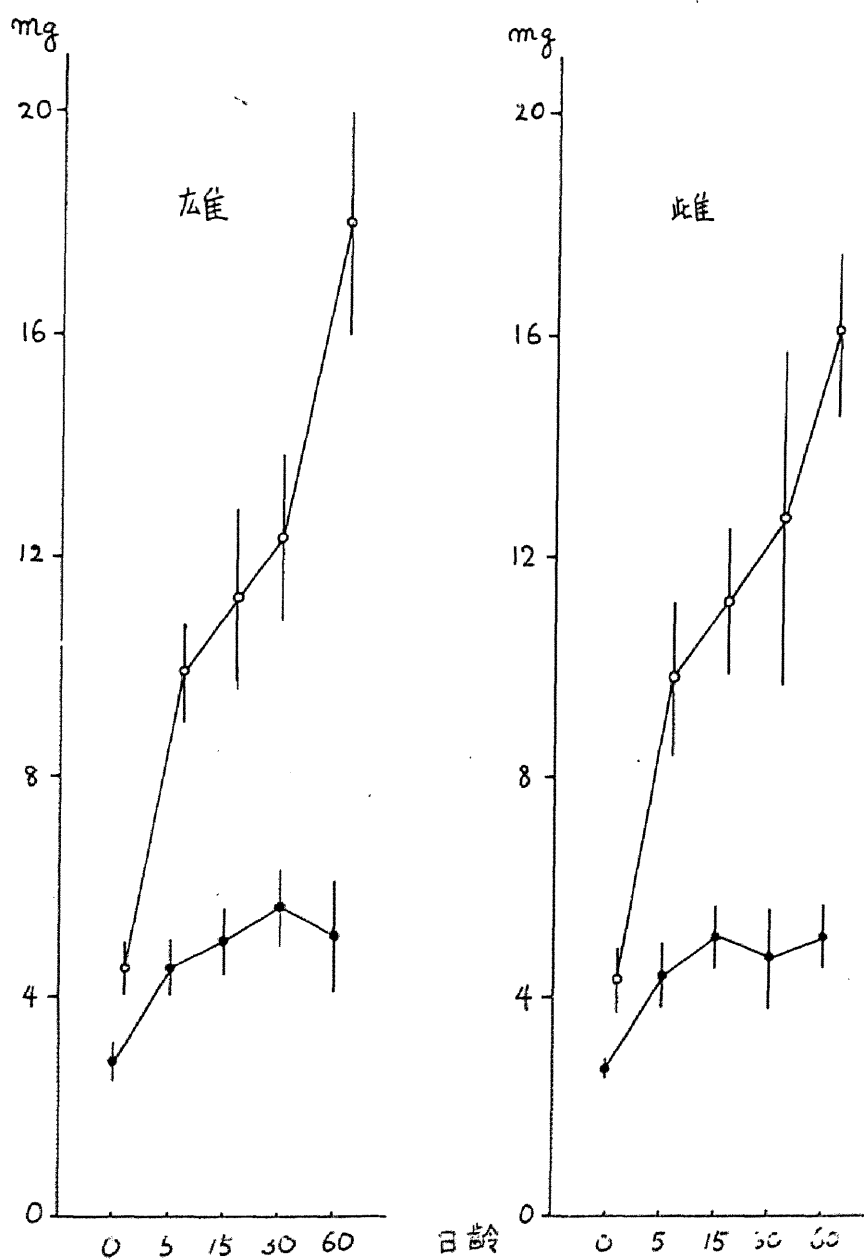


図 V-1 日齢と眼球重量

小眼症マウス (●) と正常マウス (○)

幅は標準偏差

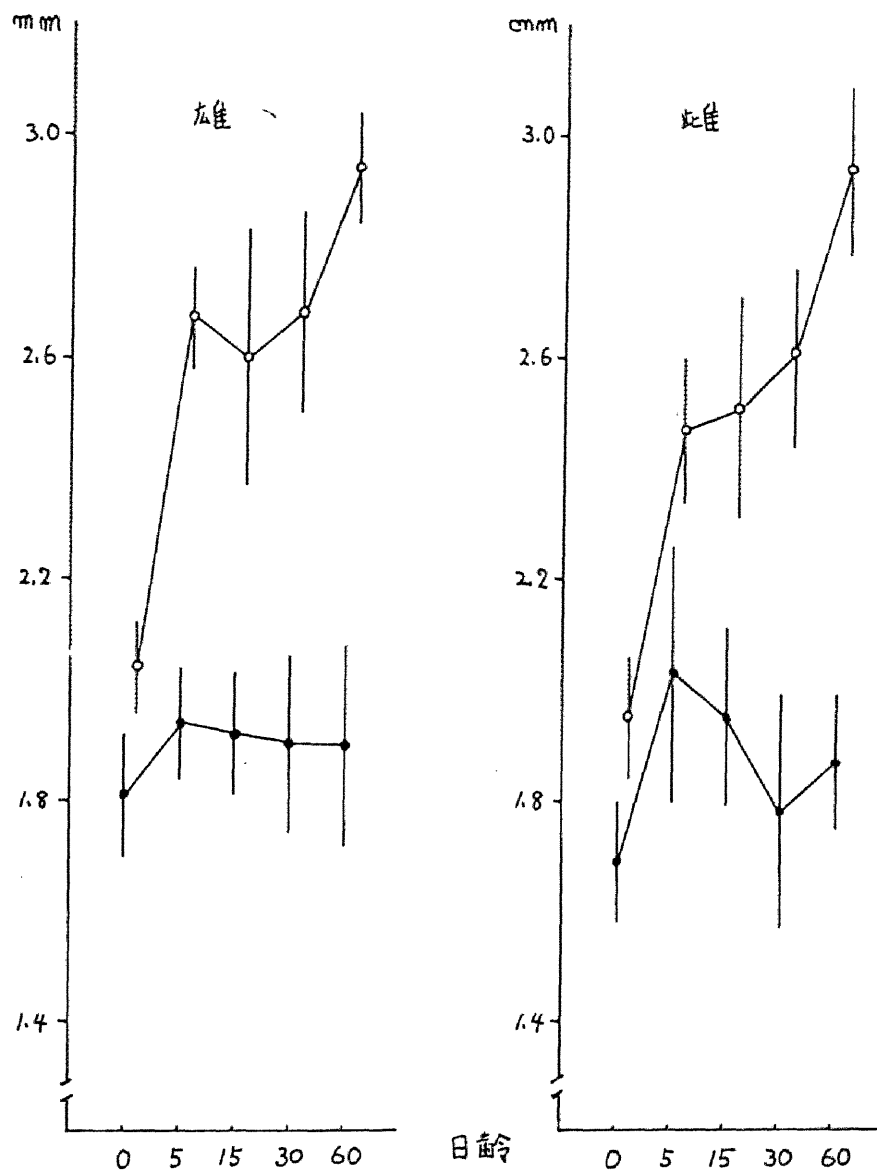


図 2-2 各日齢における眼球赤道直径  
小眼症マウス (●) と正常マウス (○)  
幅は標準偏差

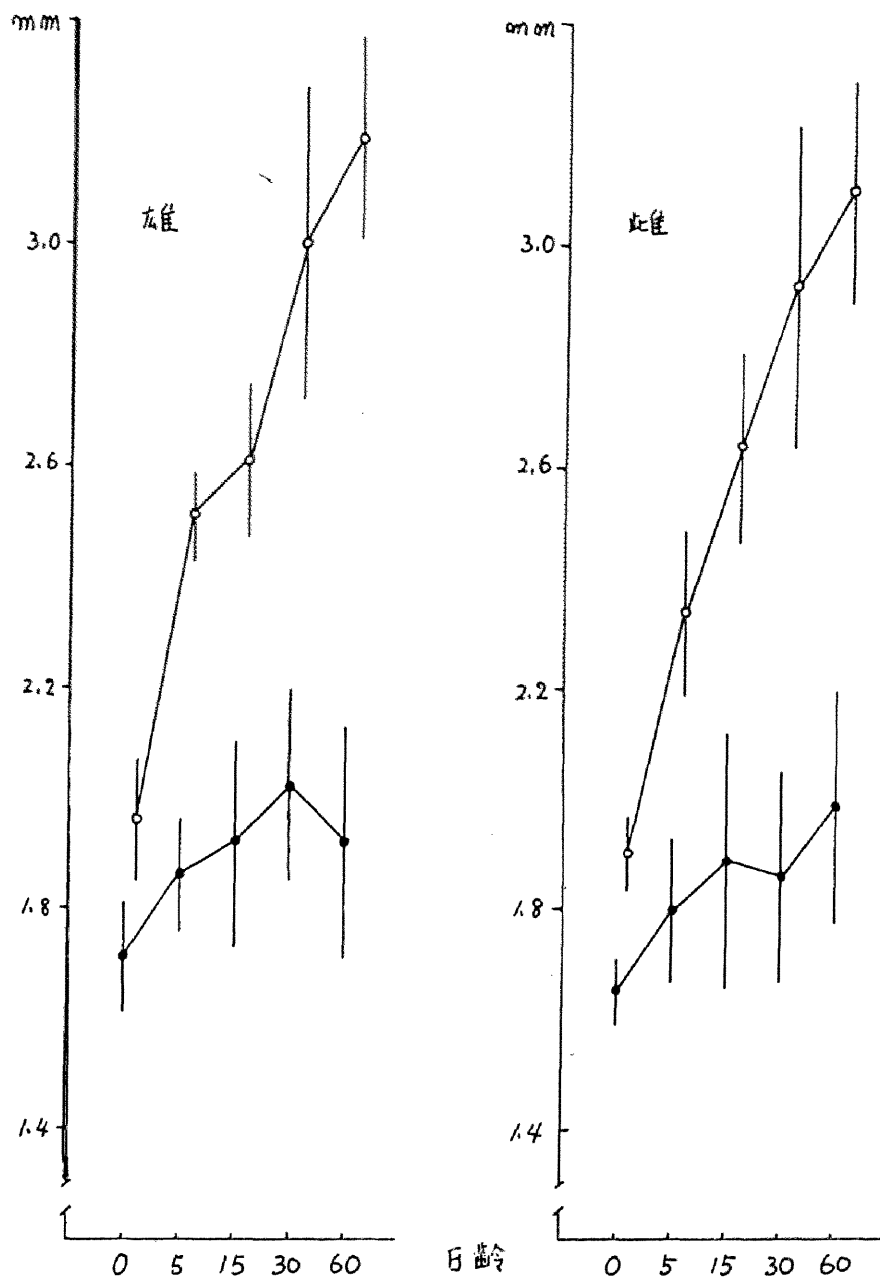


図 V-3 眼球光軸直径

小眼症マウス (●) と正常マウス (○)

幅は標準偏差

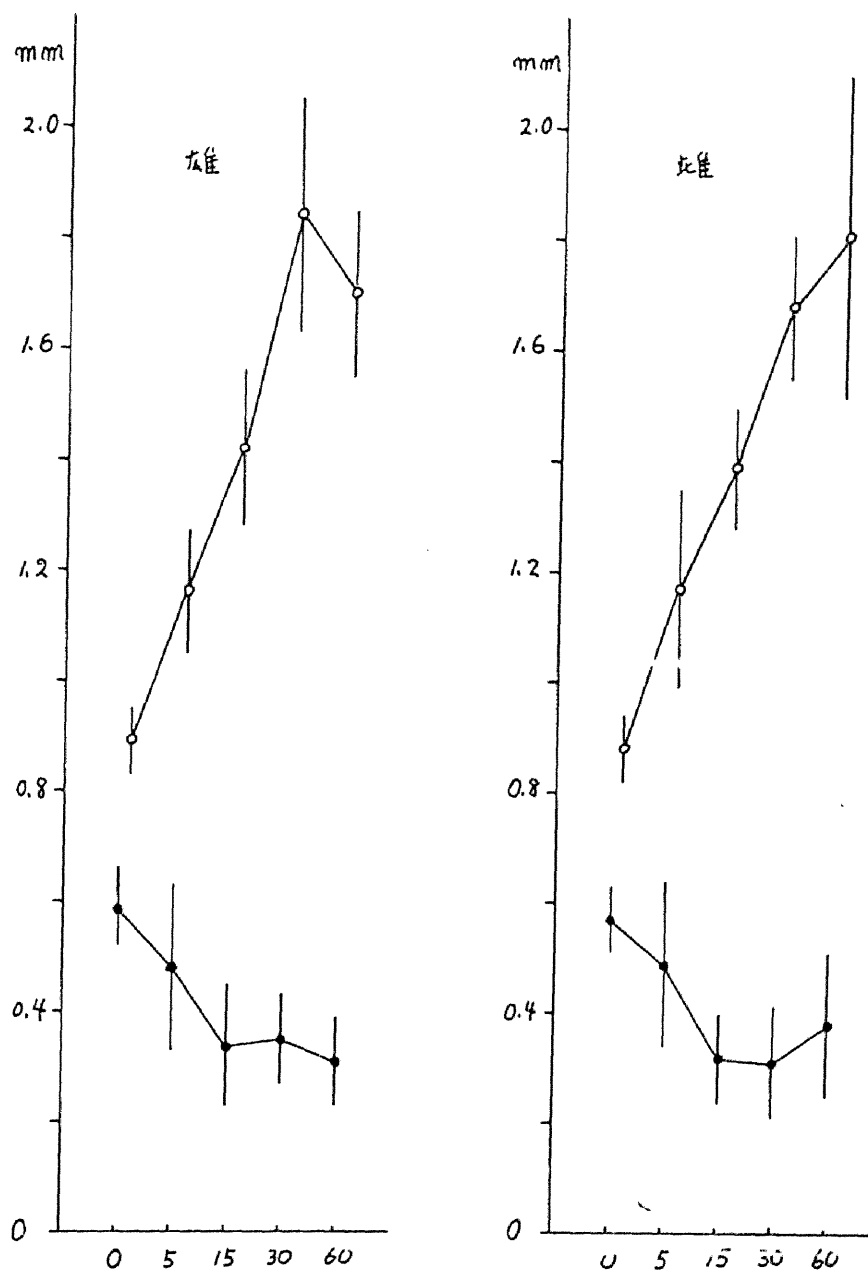


図 V-4 各日齢における瞳孔径

小眼症マウス (●) と正常マウス (○)

幅は標準偏差



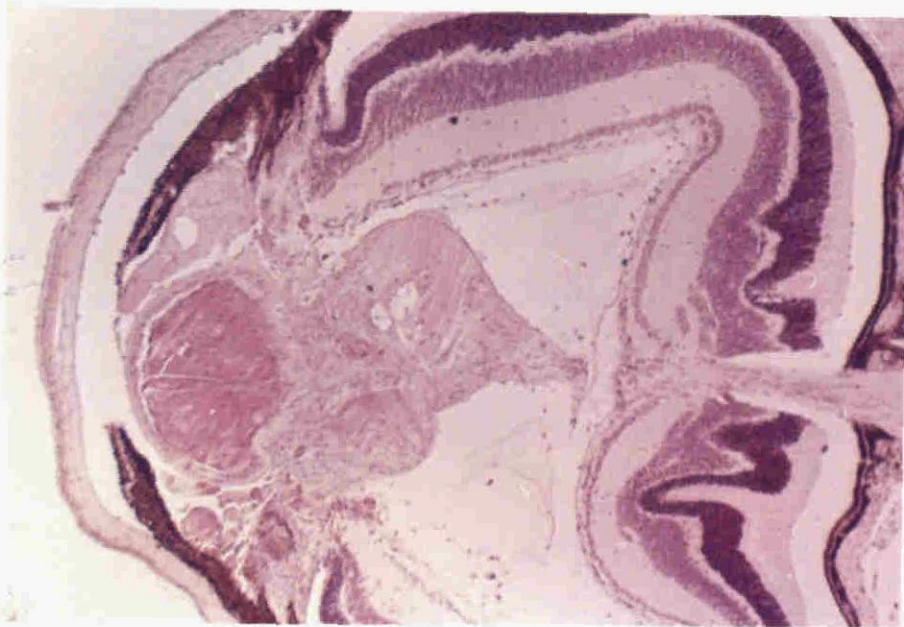


図 V-5 30日齡小眼症 (NC × Original stock) マウスの眼球

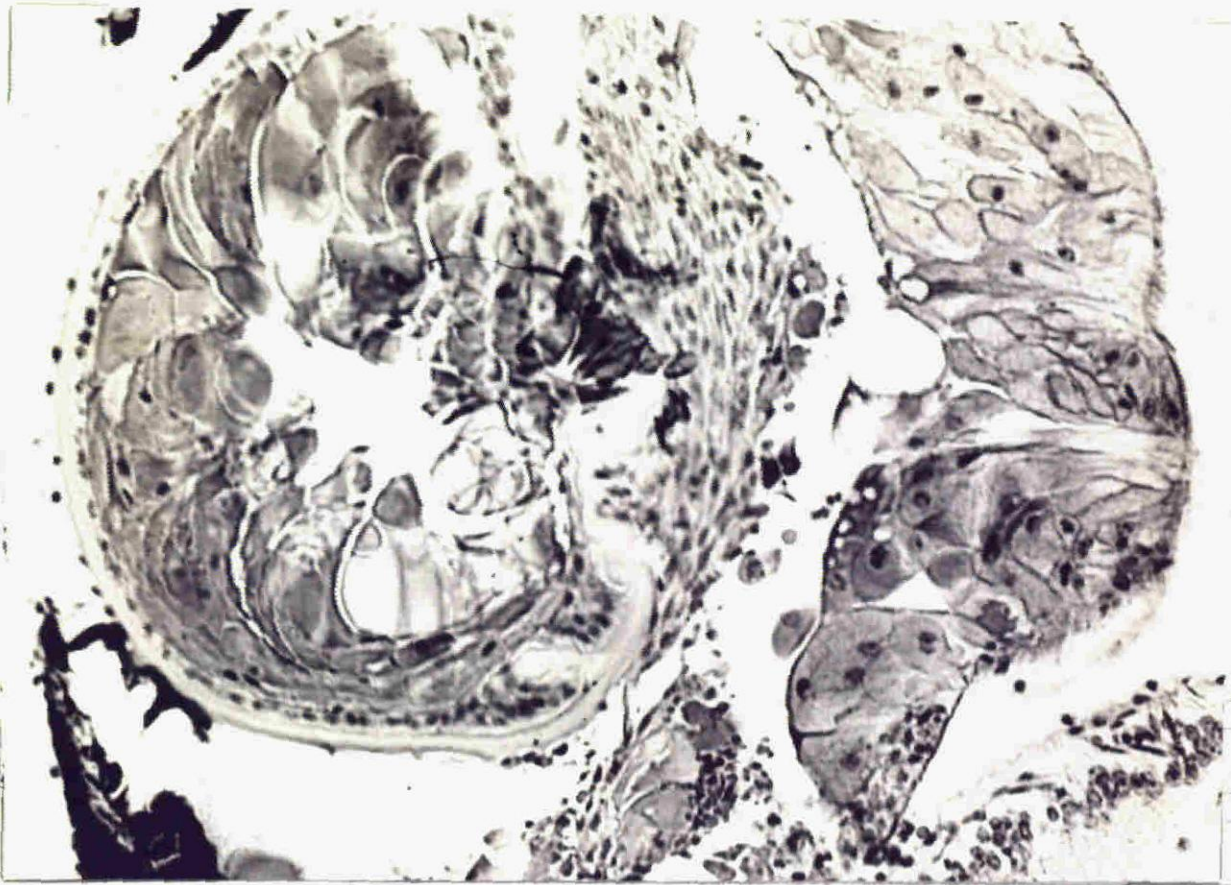


図 V-6 15日齡小鼠眼症 (NC × Original stock) マ  
ウスの眼球 とくに水晶体のあるべき部位



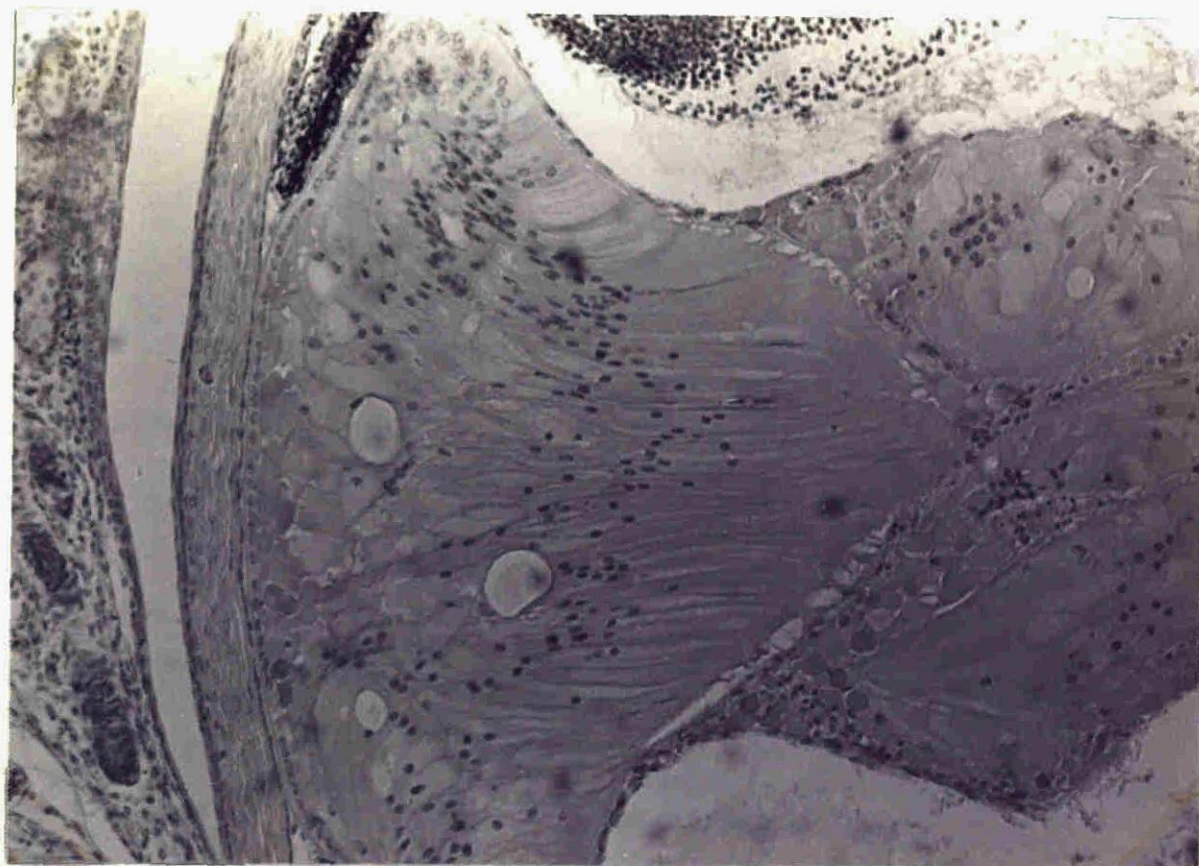


図 7-7 5 日 齡 小 眼 症 ( NC X Original stock ) マ  
ウスの眼球 とくに水晶体の ある べき 部位

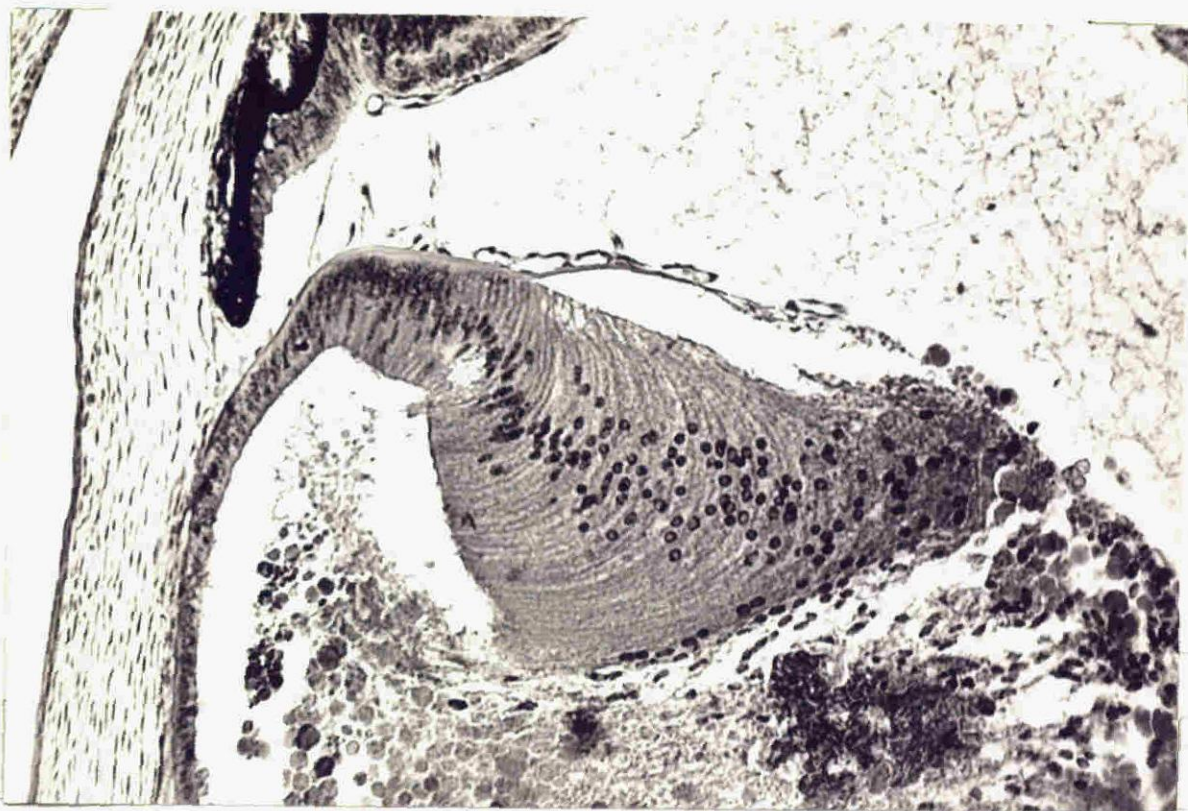


図 V-8 0 日 齡 小 眼 症 (NC x Original stock) マ  
ウスの眼球とくに水晶体

# 第Ⅵ章 光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による ε<sub>h</sub> マウス眼球の発生異常の観察



## 1. 研究目的

オI章において眼のミュータントについて概観したが、その数は53にのぼった。これらのなかで眼球異常を整理してみると、① ey-1 ey-2 の遺伝子をもった系統 (ZRDCT/ch) でみられる無眼症 *anophthalmia* (Harch et al., 1978) ② Nakame et al., (1974) が報告しているマウスや Browman and Ramsey (1943) が報告しているラットのような小眼症 *microphthalmia* ③ nct や Cat<sup>Fr</sup> として知られるような白内障 *cataract* (Hamai et al., 1974; Hamai and Kuwabara, 1975) の3つのカテゴリーに分類できる。こうした分類からいけば elo の形質は②の小眼症になるが、発生機序からみると無水晶体症という点で、特異的である。

elo はオII章からオV章にかけて述べてきたように、オI染色体上にある優性遺伝子で今まで報告されたものとは異っている。生後5日をすぎると無水晶体となり、結果的に小眼症を呈することになる。眼球とくに水晶体

以外には著しい異常は見い出してはいない。  
この章においては elo 遺伝子の形質発現につ  
いて、眼球の発生を日齢順に追いつながら、異  
常の出現時期、異常の特徴と程度などについ  
て観察を行なった。

## 2. 材料と方法

elo 遺伝子は既に第IV章「Congenic strain, C3Hf/He-elo 系マウスの育成」で述べたように、C3Hf/He に16世代にわたって遺伝子導入されている。したがって研究材料としては遺伝的背景が同じと考えられる C3Hf/He-elo (elo/elo) と、対照として C3Hf/He (+/+) の両系統のマウスを使用した。ヘテロ (elo/+) としては、C3Hf/He 系マウスと C3Hf/He-elo 系マウスとの F<sub>1</sub> を用いた。

マウスの交配は前日の夕刻、雄のケージに雌を入れ、翌日膣栓の認められたものについて、その日の午前10時を妊娠0日とし、また午後10時を妊娠0.5日として胎齢を算定した。

妊娠マウスは算定された日齢に従って、11.0, 11.5, 12.0, 12.5, 13.0, 13.5, 14.0の各日に屠殺し、胎仔を取り出した。また新生仔は出生の日齢として、眼球だけを取り出し、標本とした。固定はブアン液にて行ない、通常の方法でアルコール脱水、ベンゼンで透徹しパ



ラフィン包埋した。前頭断の連続切片をつくり、キシロールで脱パラフィンを行なった後に、ヘマトキシリンとエオジンにて染色し、光学顕微鏡により観察した。

電子顕微鏡による観察には胎齡 12 日と 13 日の胎仔を用いた。固定はハンクス緩衝液 4% グルタル・アルデヒドで 3 時間行ない、さらに 1% 四酸化オスミウムで 1 時間行なった。アルコールとプロピレンオキドで脱水後、エポン樹脂にて包埋した。超薄切片は酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色を行ない、JEM-100B 電子顕微鏡で観察した。

### 3. 結果

#### 1) 光学顕微鏡による観察

胎齡 11.0 日の正常発生では水晶体板が表及外胚葉から完全に切り離され、水晶体胞を形成する。水晶体上皮細胞の伸長は、この発生段階では明瞭ではない。 $\varepsilon l o / \varepsilon l o$  マウスと  $+ / +$  マウスとの間には眼胞および水晶体胞の形態的差異は見い出すことができなかった。

胎齡 11.5 日の正常発生では水晶体の後壁が肥厚を始める。水晶体内部は大きな腔とな、て水晶体腔を形成している。この段階においても  $\varepsilon l o / \varepsilon l o$  マウスと  $+ / +$  マウスの眼球組織には形態的差異は見い出せなかった。

胎齡 12.0 日の正常発生では水晶体後壁の伸長とともに水晶体赤道面で水晶体上皮細胞の伸長がみられる。伸長した水晶体上皮は水晶体線維となり、水晶体中央に向か、て層構造を形成する（図 VII-1 左）。水晶体線維細胞の核はわずかに染色されており、その中によく染色された大きな核小体かノコみられる。水

晶体の線維細胞核は水晶体上皮に向かって凸形を成しているが、頂端部の細胞質は基底部の細胞質よりもよく伸長している。水晶体線維細胞が伸長することにより、水晶体腔はこのころ閉鎖する（図VI-1左）。

胎齡 12.0日 の  $\epsilon lo/\epsilon lo$  マウスでは  $+/+$  マウスと比較してみると、水晶体赤道部はほぼ同様な状態を示しているが、中央部は異なつた状態がみられた。水晶体中央部における後壁からの水晶体線維細胞の伸長は不十分で、とくに基底部の細胞質の伸長は良好ではなかつた。そのために、水晶体腔は水晶体上皮と水晶体線維頂端との間に残存していた。水晶体中央部の水晶体線維細胞では正常と同じように染色された核もみられたが、淡明化した核もみられた。核小体が核膜に接触するように偏在したり、あるいは消失している様子が観察された。こうした細胞核の変性像が  $\epsilon lo/\epsilon lo$  マウスの眼球発生上の最初の異常であつた。

胎齡 12.5日の正常発生では、水晶体赤道面

での水晶体上及細胞の伸長は著しく、一次水晶体線維を被うように二次水晶体線維が形成される。この頃硝子体液がつかうれてくる。

ε<sub>l0</sub>/ε<sub>l0</sub> マウスの水晶体中央では、胎齡 12.0 日でみられた線維細胞核の変性像は更に多数となった。淡明化した核に加え、エオジンに一樣に染色された核も認められた。水晶体線維の層構造は正常であつたが、基部細胞質の伸長は悪く、水晶体腔が閉鎖してゐなかつた。

胎齡 13.0 日の正常発生では、水晶体上皮および水晶体線維細胞の伸長はより明瞭となる。水晶体線維細胞の核は水晶体前表面に対し、凸状がより強くなり、後表面に向かつて基部の細胞質の伸長が顕著となる（図 VII-2 左）。これに対し ε<sub>l0</sub>/ε<sub>l0</sub> マウスでは水晶体線維細胞の伸長と細胞核の凸状配列は貧弱で、基本的には胎齡 12.0 日、12.5 日と同じ状態にとどまっていた。水晶体線維細胞の基部細胞質の伸長がほとんどみられず、このため基底面では水晶体線維細胞と水晶体嚢と接触しない部

位がみられた。また頂端面においても線維細胞の伸長が悪く、水晶体全体が大きくな、ただけ、線維細胞が水晶体上皮に接触できず、水晶体腔が拡大するという結果になった。この水晶体腔には細胞構成成分と思われる断片がしばしば観察できた。水晶体中央部では水晶体線維の層構造の乱れが始まろうとする様子が観察された(図VI-2右)。水晶体中央部の線維細胞核にはエオジンに濃染した封入体様のものがみられた。淡明化した核や一様に濃染した核は水晶体中央から、その周囲に分布を拡げた。水晶体上皮、水晶体赤道面の皮質や伸長部位では細胞核の変性はまだみられず、また中央部と異なり、膨満した細胞もみられなかった。

胎齡 13.0 日から 13.5 日の正常発生では水晶体中央部において線維細胞の核膜の消失が観察される。これは  $\varepsilon_{lo}/\varepsilon_{lo}$  水晶体線維細胞の核の変性像とは異なり、核膜が消失しても核小体など染色質はしばらく明瞭に認められた。

胎齡がすすむにつれ、核膜の消失、核の消失は多数みられるようになるが、elo 水晶体線維細胞核の異常とは明瞭に区別できる。

胎齡 13.5 日の正常発生では二次水晶体線維細胞が一次水晶体線維細胞を完全に被い、一次水晶体線維の中心は水晶体核となる。また水晶体血管膜が水晶体後縁部から全面を被うようになる。elo/el0 マウスの水晶体では水晶体線維の層構造は中央部で破綻を示し、その周囲には細胞核の変性像が多数みられた。

胎齡 14.0 日の正常発生では、水晶体核を中心にして水晶体線維細胞が伸長し、さらに水晶体上皮が伸長しながら表面に追加し、水晶体の容積を増大させる。二次水晶体線維が形成されるために、水晶体縫合面は前後のニヶ所となる(図VI-3左)。elo/el0 マウス眼球の水晶体では水晶体核の崩壊は著しく、線維細胞の多くは壊死を示していた。線維細胞の層構造の乱れは、これらの細胞が膨化し、一定の配列を示さないためと思われた。細胞核の

変性は水晶体上皮細胞や伸長部位の細胞以外は全ての細胞にみられ、その変性像には淡明化したもの、一様にエオジンに染色されたもの、明瞭な輪郭をもったエオジン好性の円型または楕円形の封入体様のものをもったもの、明らかに核濃縮を示すもの、などが含まれている。これらの細胞核の変性像は13.5日に出現するが、14.0日ではその出現部位と範囲は拡大し、水晶体核の外にまで及んでいた。水晶体嚢は水晶体後縁部の極において明瞭には観察されおいか、この部位において水晶体の崩壊が起き、硝子体腔へ突出していた。水晶体腔が依然として残存し、その中に細胞の断片らしきものがみられた(図IV-3右)。

新生仔の水晶体は大きく、卵円状である。水晶体線維はスつの部位に分けることができる。1つは水晶体皮質の部位で、わずかにエオジンに染色された細胞質と、明瞭にヘマトキシリンに染色された細胞核をもつ線維細胞から成立している。もう一方は水晶体核の部

位で、エオジンに濃染された細胞質と退化しつつある細胞核とをもつ線維細胞から成立している（図Ⅶ-4左）。elo/eloマウスの水晶体は正常マウスの水晶体の約半分になっており、形態においては卵円形を呈せず、水晶体腔も残存していた。水晶体上皮や水晶体上皮細胞の伸長部位では、まだ正常にみえた。

ヘテロ（elo/+）での変化は基本的にはホモ（elo/elo）とほぼ同様な形態学的異常が観察された。しかし発症段階でいえば、0.5日程遅くまた症状の進行もやや遅いように思われた。

## 2) 電子顕微鏡による観察

elo/eloマウスの水晶体における初期変化は光学顕微鏡では胎齡12日に水晶体中央部の線維細胞核と基底部細胞質において認められ、前者においては淡明化であり、後者においては伸長阻害であった。そこで両者における微細構造の変化を観察した。

胎齡12日の水晶体をみてみると線維細胞核の形としては +/+ と elo/elo とは同じようであ



った。楕円形をした細胞核には核質が散在していた。細胞核の中には異常と思われるものが混在していたが、それらは核周囲腔が広がっており、核膜近辺染色質が減少している状態を示した(図IV-5)。こうした異常と思われる細胞核は  $\varepsilon_{lo}/\varepsilon_{lo}$  の水晶体中央部で観察されるが、胎齡 13.0 日になるとこの異常状態は進行し、核質の減少と核周囲腔の拡大となる。胎齡 12.0 日に水晶体基部細胞質でミトコンドリアを観察してみると、 $+/+$  においても  $\varepsilon_{lo}/\varepsilon_{lo}$  においても豊富にあった(図VI-6)。胎齡 12.0 日の  $\varepsilon_{lo}/\varepsilon_{lo}$  水晶体基部細胞質にはリソソームが多数集合して観察された。胎齡 13.0 日になると  $\varepsilon_{lo}/\varepsilon_{lo}$  の水晶体線維細胞の基部細胞質にはミトコンドリアがほとんど観察されなくなり、逆に多数のミエリン状の像が出現した。これらはミトコンドリアの破壊されたものか、あるいは二次リソソームとも考えられる(図VI-7)。頂端部の細胞質には異常はみられなかった。

#### 4. 考察

elo 遺伝子は胎齡12日になつて水晶体線維細胞に限定して異常をひきおこす。水晶体上皮細胞や水晶体赤道面の伸長中の細胞は正常である。水晶体中央部の線維細胞は伸長を阻害され、発生段階が進行するにつれ壊死に至る。こうした異常のため水晶体嚢と水晶体線維細胞が基底面で分離を起こしたり、水晶体腔が残存したりするものと思われる。水晶体核が崩壊・退縮すると、それを包被してゐた線維細胞が水晶体中央部へ移行する。次の段階では移行した線維細胞が壊死を起こし、退縮に向かうことになる。このようにして小さな、変形した水晶体が形成されるものと思われる。更に生後5日をすぎるとオヤ章「elo 小眼症マウス」の生後における形態的特徴」において観察したように、水晶体構造の全てが失われ、無水晶体症という状態になる。

水晶体中央部の線維細胞の変性は光学顕微鏡では胎齡12.0日に細胞核で最初に見い出され

る。電子顕微鏡では同時期に線維細胞の基部細胞質で多数のリソソームを観察する。こうした現象は elo 水晶体における意味のある異常と考えられるが今後の研究課題であろう。水晶体中央部の線維細胞の層構造の異常は cataract-Fraser マウスにおいてもみられている (Hamai and Kuwabara, 1975)。

微細小管は細胞内骨格としての役割をもち、水晶体線維細胞の伸長に重要な働きをしている (Byers and Potter, 1964)。こうした微細小管は +/+ および elo/elo の頂端部線維細胞質に見い出され、数において有意な差はない。水晶体上皮細胞が伸長しはじめる時にはタンパク質の合成は不要であるが、伸長を続行するためには、微細小管の合成などのため、タンパク質合成が要求される (Piatigorsky et al., 1972)。二次リソソームが elo/elo 水晶体線維細胞の基部細胞質に多数みられたが、これは +/+ で多数のミトコンドリアがみられたことと対照的である。こうした超微形態的異常から推

測してみると、微細小管のタニパク質合成を行なうのに必要なエネルギーを供給できない異常かもしれない。このことが水晶体線維細胞の基底部細胞質の伸長を阻害することになるのかもしれない。

水晶体構造の発生には微細小管 (Piatigorsky et al., 1972) やクリスタリン (McAvoy, 1978a, 1978b) の合成が必要である。これらの合成は血流に支えられている (Browman and Ramsey, 1943)。また水晶体上皮細胞の伸長には網膜因子の影響もある (Coulombre and Coulombre, 1963; Yamamoto, 1976)。これらの因子が、Elo の水晶体の病理学的変化に関与しているかどうか。更に研究が必要である。

水晶体の異常と水晶体線維細胞核の変性像を図 VI-8 に示した。発生段階でみられるこうした進行性変化と細胞質での変化とか、どのような関連があるのか。今後の課題である。

## 5. 要約

Exo 小眼症ミュータントの発生異常について、光学顕微鏡および電子顕微鏡により観察を行なった。

光学顕微鏡の観察では胎齡 12.0 日になって水晶体中央部の線維細胞核に変性像が観察された。胎齡 13.0 日から 14.0 日にかけて水晶体は、中央部から破綻をみせた。水晶体上皮、水晶体皮質はまだ正常に保たれていた。水晶体線維細胞の基底部は伸長が悪く、水晶体腔も残存していた。白内障でみられる水腫化した線維細胞はみられなかった。

電子顕微鏡の観察では胎齡 12.0 日に多数のリソソームが線維細胞の基底部細胞質でみられ、またミトコンドリアの変性像もみられた。核膜に近接して染色質が減少したり、核周囲腔が拡大したりしていた。

ミトコンドリアの変性がエネルギー供給不足となり、微細小管合成阻害、さらに線維細胞伸長阻害となる可能性が考えられた。

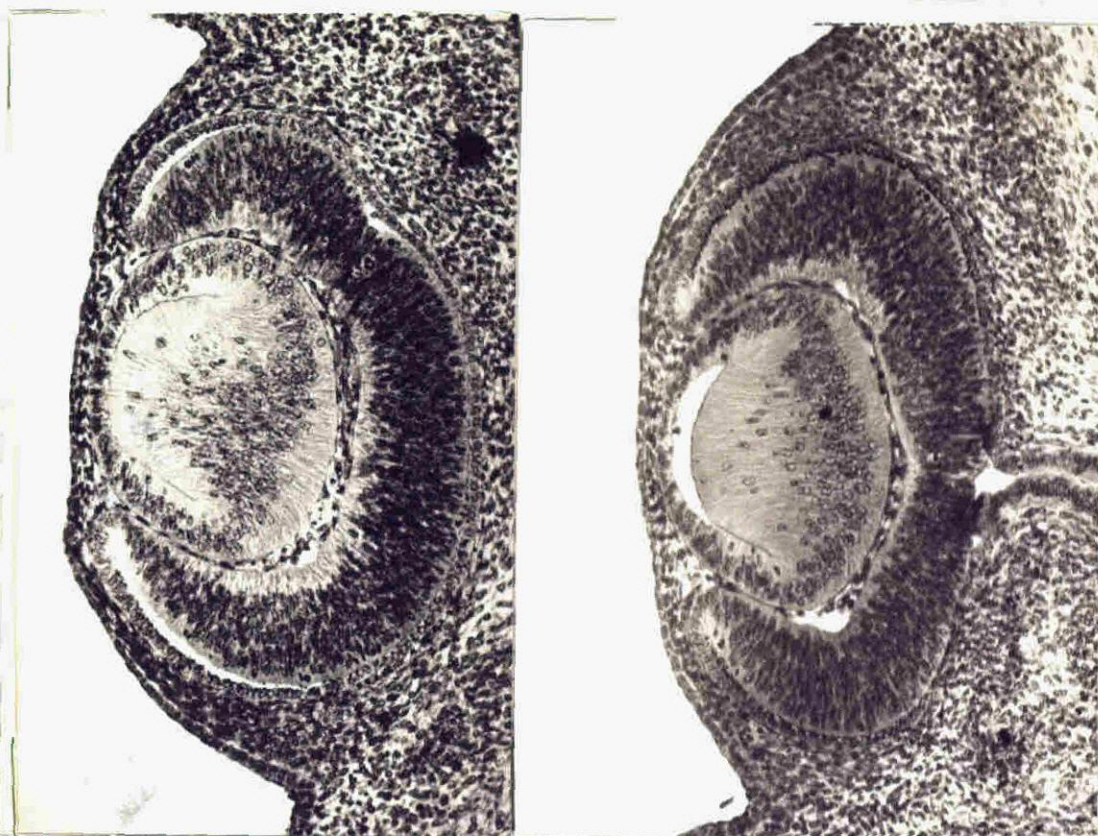


図 7-1 胎齡 12 日の  $+/+$  (左) と  $\epsilon l_0/\epsilon l_0$  (右)  
マウス眼球  $\times 160$



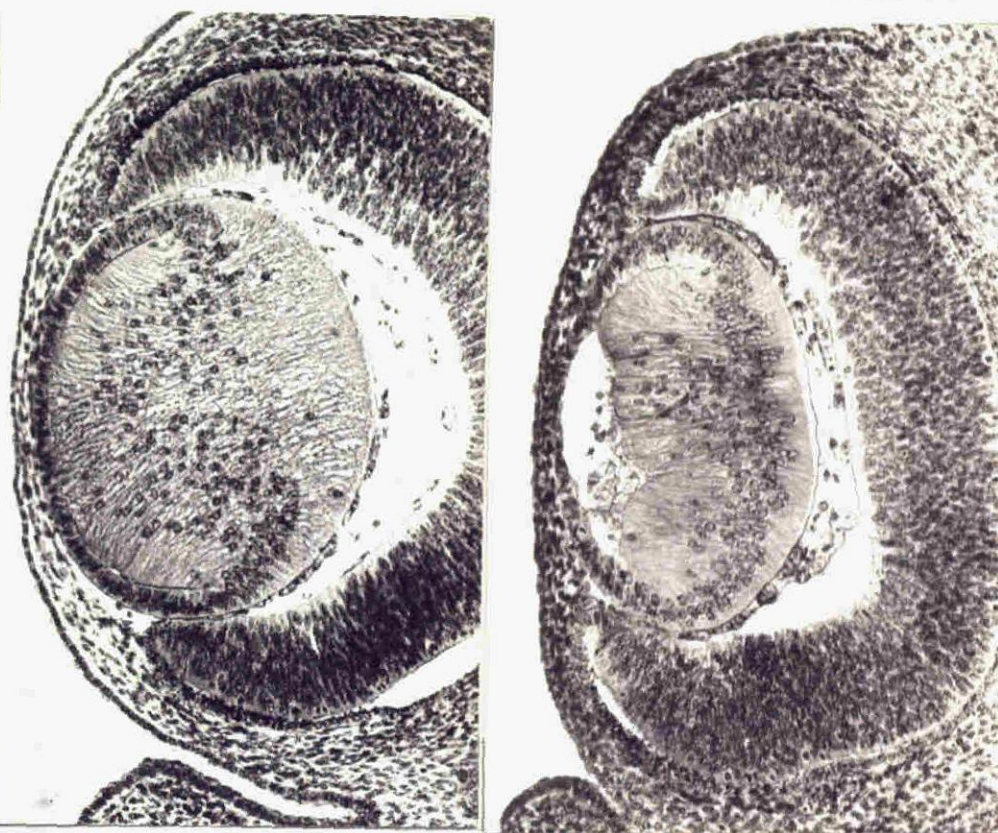


図 VI-2 胎齡 13 日の  $+/+$  (左) と  $\epsilon l_0/\epsilon l_0$  (右)  
マウスの眼球  $\times 160$

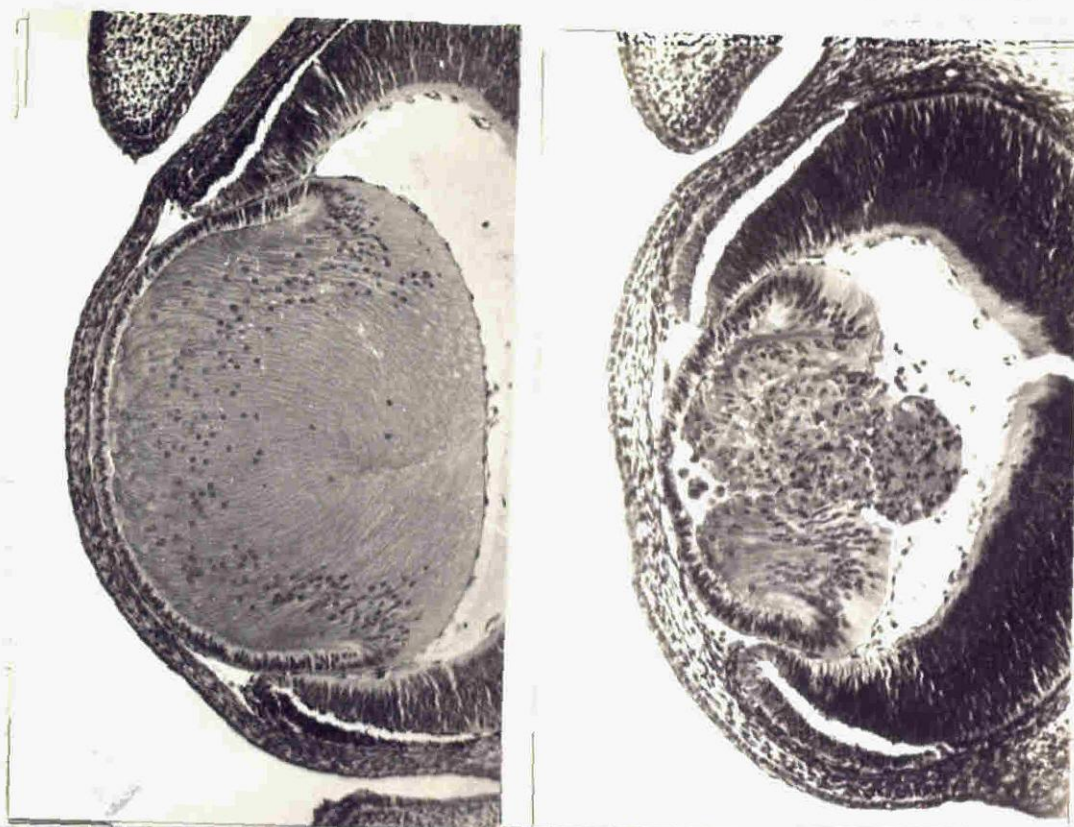


図 VI-3 胎齡 14 日の  $+/+$  (左) と  $elo/el0$  (右)

マウスの眼球

$\times 140$



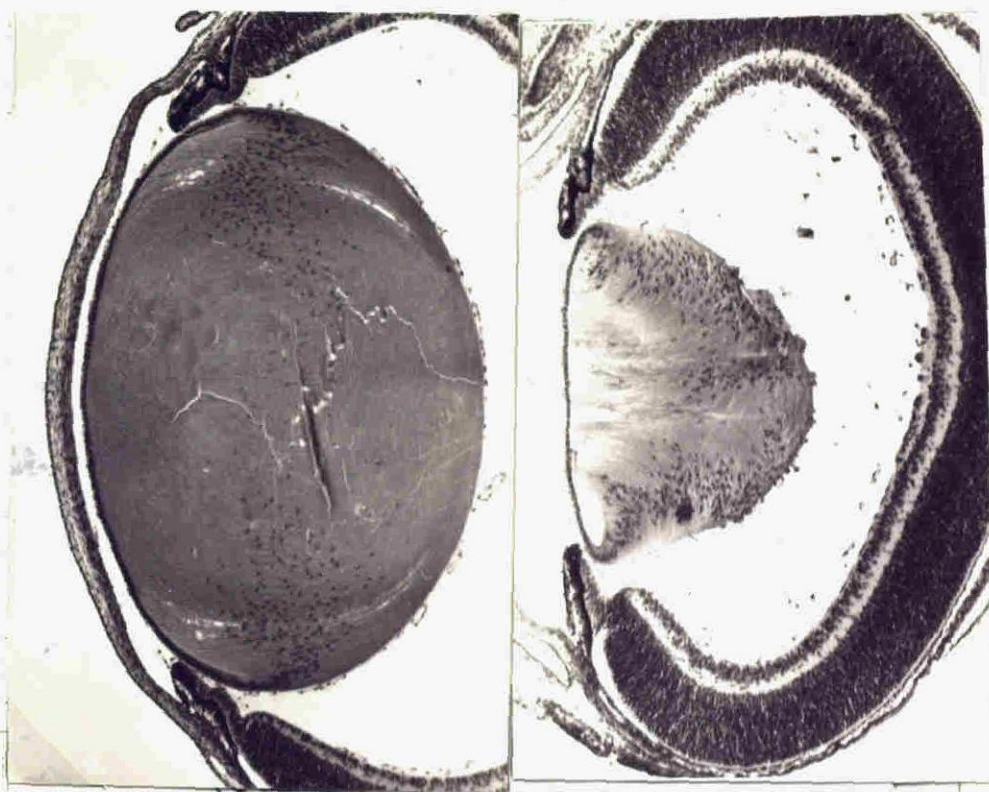


図 7-4 新生仔の  $+/+$  (左) と  $\varepsilon l_0/\varepsilon l_0$  (右)  
マウスの眼球  $\times 70$

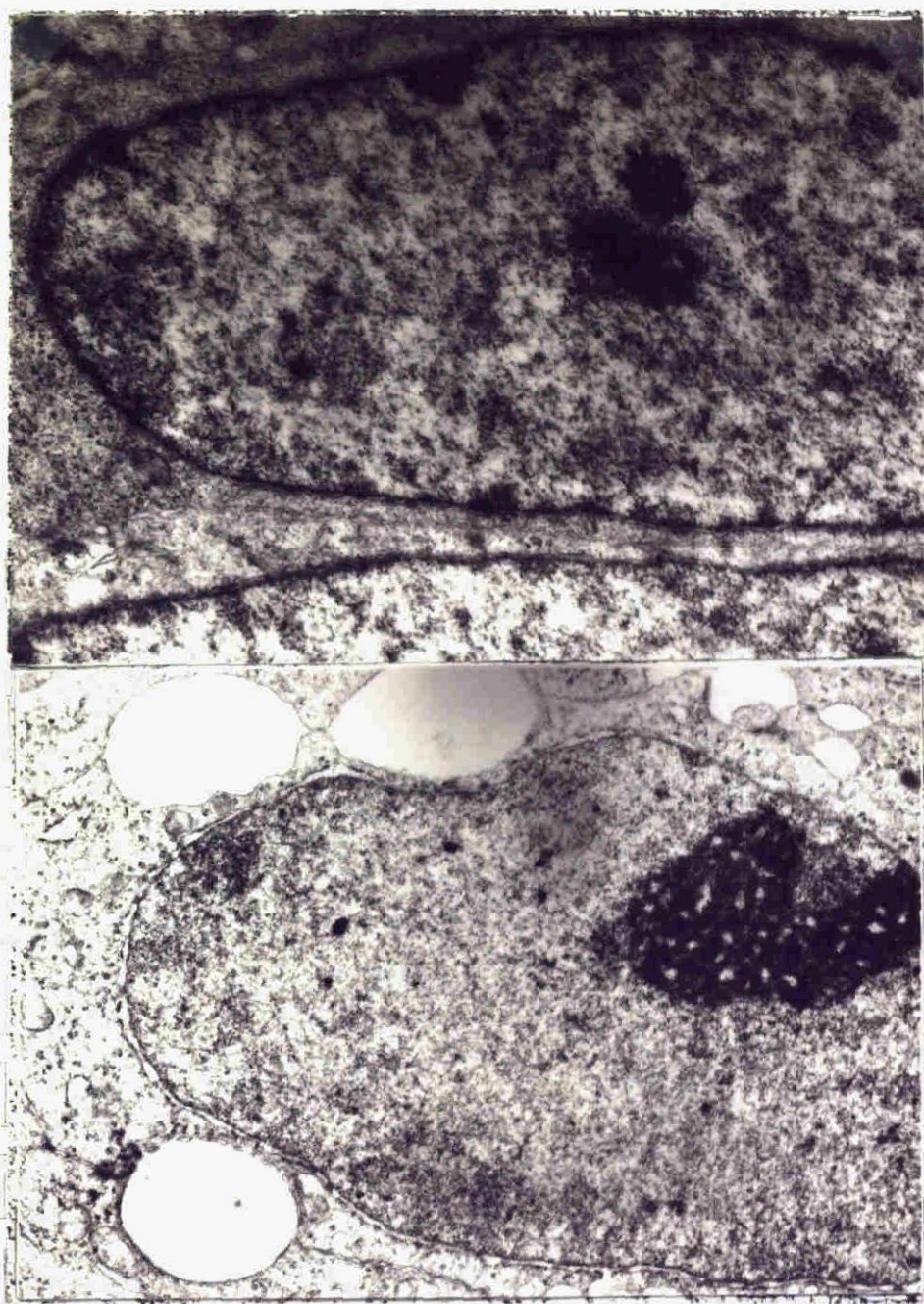


図 VI-5 胎齡 12 日の水晶体中央部線維細胞の  
電顕像 +/+ (上) と elo/elo (下)

X12000



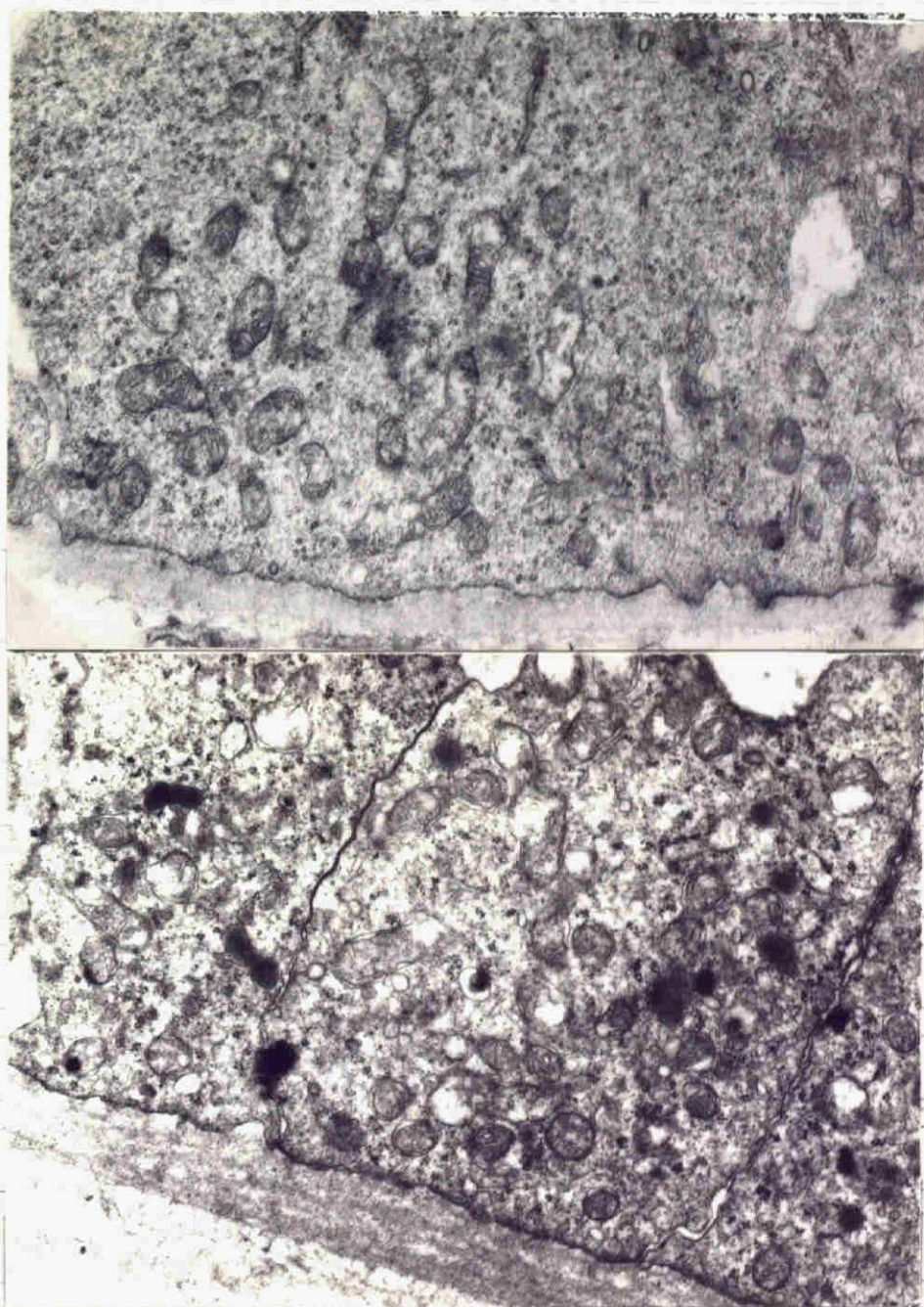


図 VI-6 胎齡 12 日 水晶体線維細胞基部細胞  
質  $+/+$  (上) と  $\varepsilon\text{lo}/\varepsilon\text{lo}$  (下)  $\times 20000$



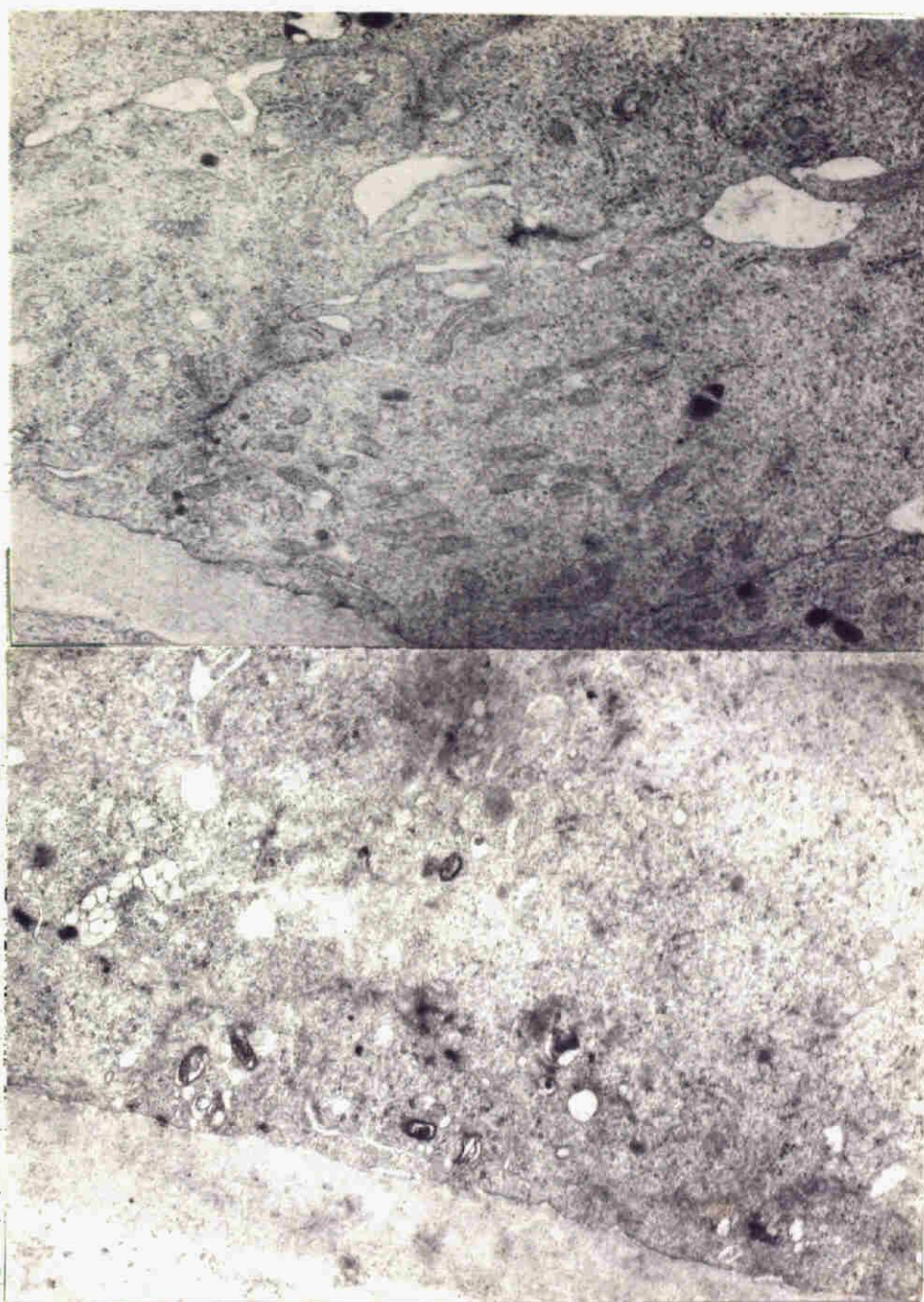


図 VI-7 胎齡 13 日 水晶体線維細胞基底部細胞  
 質  $+/+$  (上) と  $\varepsilon\text{lo}/\varepsilon\text{lo}$  (下)  $\times 19000$

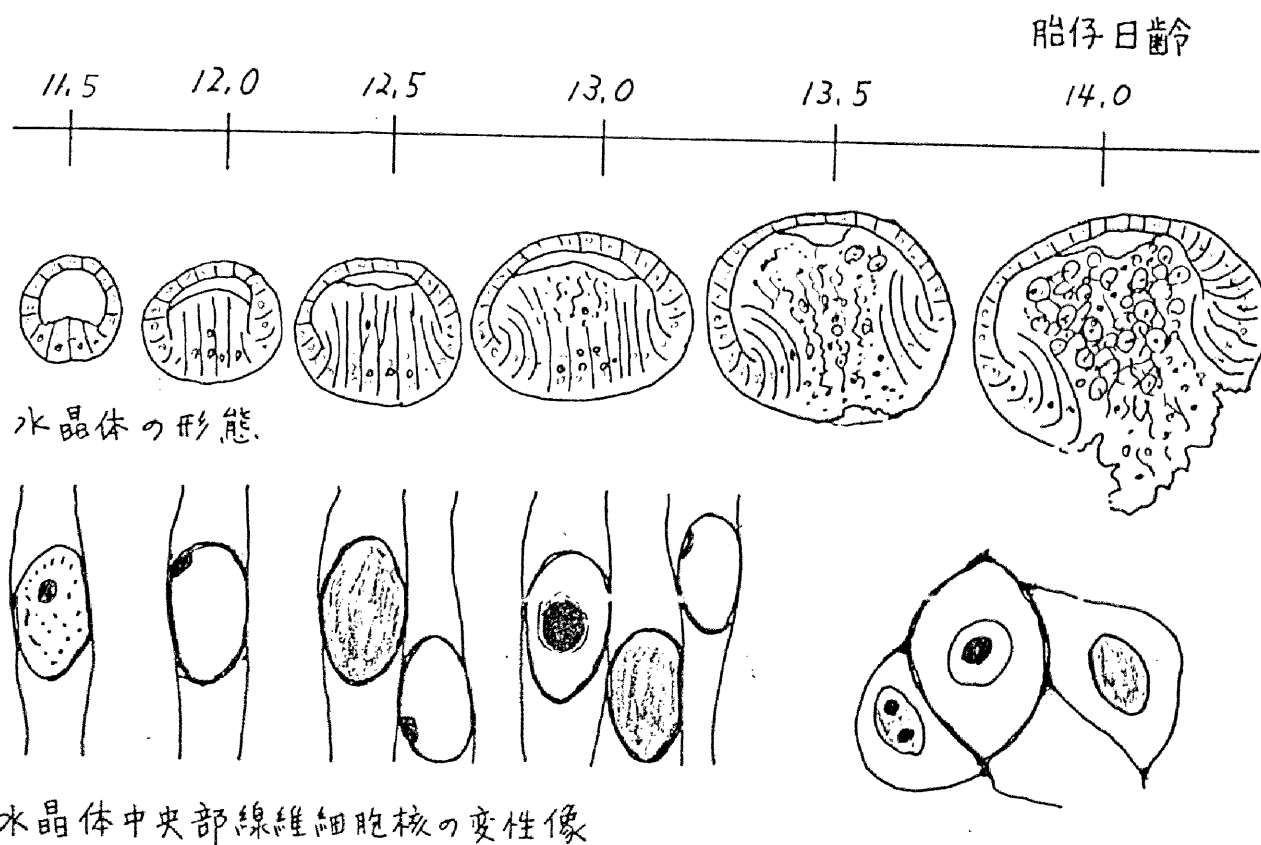


図 VI-8 発生段階において出現する  $\varepsilon$ lo 水晶体  
および水晶体線維細胞核の変性像

中Ⅶ章 器官培養および免疫組織化学による  
Exo マウス眼球の発生異常の観察

## 1. 研究目的

眼の水晶体は細胞分化を研究するのに好都合な条件を備えた実験材料である。有利な条件を挙げてみると①他の組織から比較的独立性を保った位置にあり、そのものとして取り出し、取り扱いやすいこと ②水晶体の構造自体が単純であること ③特異的タンパク質としてクリスタリンが存在していること ④水晶体の分化の指標としてクリスタリンの合成とともに上皮細胞から線維細胞への形態的变化が観察できること 等が考えられよう。マウスの眼に関与するミュータントの中には表I-1および表I-2でみてきたように水晶体のみの異常を示し、他の組織には全く異常を現わさないものがある。例えば各種の白内障 (Hamai et al., 1974; Hamai and Kuwabara, 1975) がこれにあたる。

Elo マウスはオV章「Elo 小眼症マウスの生後における形態的特徴」で述べたように、白内障ではなく無水晶体症と考えてよいが、

第Ⅳ章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による elo マウス眼球の発生異常の観察」でみたように水晶体のみの異常による。胎齡12日になって水晶体中央部の線維細胞の核の異常と基底部細胞質の伸長阻害が観察され、発生がすすむにつれ壊死を呈し、生後には水晶体構造の消失につながっていく。胎齡12日には、リソソームの出現やミトコンドリアの消失が線維細胞の基底部でみられるが、こうした形態学的異常の観察だけでは elo 遺伝子の形質発現、すなわち水晶体の病理変化は充分理解できるものではない。そこで次の2点について検討することにした。

- (1) elo 水晶体は眼球以外から由来する因子によって異常を呈するかどうか。血流による栄養供給はどうか。or ミュータントは血管分布の障害がある (Truslove, 1962)。
- (2) elo 水晶体は特異タンパク質である γ-クリスタリン合成に異常があるかどうか。水晶体線維細胞では γ-クリスタリンが合成され



ている ( Papaconstantinou, 1967 ) .

これらのことを調べるために、胎仔の眼球組織を器官培養し、また免疫組織化学を行なった。

## 2. 材料と方法

elo 遺伝子は C3Hf/He 系マウスに導入されている。elo マウスとしては congenic strain, C3Hf/He-elo (elo/elo) 系を用い, 正常の対照マウスとしては C3Hf/He 系を用いた。

### 1) 器官培養

眼球の原基は胎齡 10 日および 11 日の胎仔から取り出し Grobstein の方法 (1956) に従って 3 日間の培養を行なった。培養培地は 90% Eagle's MEM (Nissui Co.) と 10% 牛胎仔血清 (GIBCO) から作整した。培養は 37°C, 5% CO<sub>2</sub> の条件で行なった。培養した眼球組織はブアン液で固定し, アルコール脱水, ベンゼンで透徹し, パラフィン包埋した。切片は 8 μm の連続とし, ヘマトキシリンとエオジンとで染色を行なった。

### 2) 免疫組織化学

免疫蛍光による検索には Hamada et al. (1979) によって用いられた直接法を行なった。材料は胎齡 11.0, 12.0, 13.0, 14.0 の各日胎仔と

新生仔とを用いた。これらの材料は冷蔵したブアン液で固定し、アルコール脱水、パラフィン包埋を行ない、 $8\mu m$ の前頭断組織切片を作整した。脱パラフィンを行なった切片はリン酸緩衝塩類溶液（PBSと略す）ですすぎ、抗 $\gamma$ -クリスタリン（ $1/10$ 希釈）で30分間、室温にて処理を行なった。次に冷蔵したPBSで洗い、その後FITC-ラベル山羊抗ウサギIgG（医学生物学研究所製）で30分間 $4^{\circ}C$ にて処理を行なった。再度PBSですすぎグリセロールでマウントし、蛍光顕微鏡で観察を行なった。蛍光の特異性については抗 $\gamma$ -クリスタリン血清にかえて、非免疫ウサギ血清を用い、両者を比較することによって確認を行なった。

### 3. 結果

#### 1) 器官培養による水晶体の観察

胎齡10日のマウス眼原基は水晶体板から水晶体胞が形成される時期である。胎齡11日には水晶体胞は陷入部入口で癒合し、フジには水晶体原基として表皮から切り離される時期である。こうした時期の眼原基を取り出して培養したが、3日間は正常に培養することができる。6日間の培養になると  $+/+$  と  $\varepsilon l_0/\varepsilon l_0$  の水晶体形成を比較することは不適当であった。 $+/+$  の水晶体であつても培養条件が悪化し壊死をひきおこした。

3日間培養を行なつた胎齡10日の眼原基ををみてみると眼組織は平板状になっているが、眼の構成に関しては充分形成されていた。細胞分裂も水晶体上皮でよく観察された(図VII-1上)。水晶体線維細胞の伸長も赤道面から中心部に向かつて明瞭に観察できた。水晶体線維細胞の核は卵形または長円形を示し、それと1コ核小体をもつていた。

3日間培養を行なった胎齡10日の elo/elo 胎仔眼原基をみてみると、多様な異常状態が観察された。6コの眼原基を培養したうちの3コは水晶体細胞が異常となり、小さな空胞が多くみられ、あとの3コは構造としては ++ の培養眼組織とほぼ同じであった。6コのいずれの眼組織にも、水晶体線維細胞に膨化して淡明化した核、エオジンに一樣に染色した核など変性した核が出現しており、それらは水晶体中央部に多数みられた。こうした核の変性像は *in vivo* でみられた胎齡13日の elo/elo 水晶体に出現したものと同一と考えられた（図Ⅶ-1下）。

3日間培養を行なった胎齡11日の正常眼原基では、水晶体中心部の線維細胞が水晶体上皮細胞の約10倍伸長していた（図Ⅶ-2上）。

3日間培養を行なった胎齡11日の elo/elo 眼原基水晶体では、中心部には壊死を起こした線維細胞が集まって存在し、また細胞崩壊産物と思われ、ものを含む空胞化した間隙がみ

られた（図Ⅶ-2下）。線維細胞の層構造の乱れは顕著で、膨化した細胞もみられた。これらの細胞には淡明化した核、一様にエオジンに染色された核、エオジンに濃染された封入体様のものをもった核、あるいは濃縮をおこした核など多様な変性像をもった核がみられた。細胞核の変性は中心部の水晶体核だけでなく、水晶体皮質にもみられた。水晶体上皮には正常細胞がみられた。また水晶体赤道部の伸長部位にも正常細胞が多かった。こうした elo 水晶体の形態的異常の特徴は *in vivo* における胎齢14日の elo 胎仔水晶体のものとよく似ていた。

## 2) 免疫組織化学による水晶体の観察

正常水晶体では胎齢12日に $\gamma$ -クリスタリンが最初に見い出された。この時期には後壁の水晶体上皮が伸長し、前壁の水晶体上皮の約10倍の厚さになり、それらは水晶体線維細胞となる。 $\gamma$ -クリスタリンの免疫蛍光は、頂端の水晶体上皮下近接部、水晶体核辺縁部

および水晶体中央部に強く現われた。これらの蛍光を発する部位は図Ⅶ-3にみるように、++ であつても elo/elo であつても同じであつた。

胎齡 13 日の正常水晶体では免疫蛍光は水晶体上皮および赤道部の伸長部位を除く水晶体線維細胞の全体にわたつてみられた。これも図Ⅶ-4の比較でわかるように、++ であつても elo/elo であつても同じであつた。免疫蛍光は ++ においては水晶体線維細胞の細胞質と細胞核の両方で観察できた。しかし elo/elo の水晶体線維細胞では細胞核では観察できなかつた。γ-クリスタリンは壊死を起し退縮しつつある水晶体中央部の線維細胞においても明らかに存在していると考えられた。

胎齡 14 日では elo/elo の水晶体中央部の線維細胞は著しい異常を示し、壊死像もみられる。この時期に、水晶体嚢は水晶体基底面で観察できなかつた。水晶体腔は残存したままになっており、その中には細胞の崩壊産物らしき

ものがみられた。蛍光はこれらの壊死した水晶体線維細胞にも見い出すことができた（図Ⅶ-5）。水晶体中央部の細胞核には蛍光はみられなかった。水晶体上皮や水晶体赤道部にある正常な細胞でも全て蛍光はみられなかった。

elo/el<sub>0</sub> 新生仔の水晶体は正常水晶体の約半分になっており、形の異常がみられる。水晶体中央部の免疫蛍光でみると、水晶体線維細胞ではモザイク状を呈していた（図Ⅶ-6）。

黄色光の自己免疫蛍光は *in vitro* の培養眼組織で観察され、その部位は水晶体上皮や角膜近辺が多かった。

3日間培養の眼組織で  $\gamma$ -クリスタリンの合成をみた。胎齡11日から3日間培養し蛍光を観察してみると図Ⅶ-7に示すように  $\gamma$ -クリスタリンの存在をあらわす免疫蛍光が認められ、*in vitro* でも  $\gamma$ -クリスタリンが合成されているものと考えられた。



#### 4. 考察

発生途上の水晶体や成熟した水晶体は液性因子に影響されていることが知られている。これらの因子には、胎仔水晶体に栄養を供給する硝子体血管 (Browman and Ramsey, 1943), 脳下垂体ホルモン (Connelly et al., 1973), 抗体 (Langman and Maisel, 1962), 薬物等 (Kuwahara et al., 1969; Umaker et al., 1978) がある。発生途上の眼原基を *in vitro* のシステムで観察しようという試みは Muthukkaruppan (1965) や Karkinen-Jääskeläinen (1978) によって行なわれている。elo 水晶体の発生異常も培養条件に移して観察を行なったが、水晶体の異常は *in vitro* でも出現し、その程度や部位も *in vivo* でみられたものとはほぼ同じ結果が得られた。したがって elo 水晶体の異常は眼組織以外の因子によって引き起こされるものではない、と考えられた。

+/+ と elo/elo 眼組織においては水晶体胞の形成に差異はみられなかった。したがって頭

部外胚葉と眼胞との接触異常によって水晶体を誘導できない, といった異常ではない (Harch et al., 1978; Nakane et al., 1974; Silver and Hughes, 1974)。

εlo 水晶体の発生異常を説明するために、2つの仮説を考えてみた。オ1の莫は水晶体線維細胞の発生異常には線維構造を形成し、維持するのに必要なタンパク質成分に何らかの異常があるのではないか、ということであり、オ2の莫は眼球を構成する組織の何らかのものが εlo 水晶体に影響を与えているのではないか、ということである。

水晶体が形成される時、哺乳動物では α-, β-, γ- クリスタリンが合成される。このうち γ-クリスタリンは水晶体線維細胞の特異タンパク質であり、それは同時に細胞分化の指標でもある。 εlo の水晶体でも γ-クリスタリンが合成されており、+/+ と εlo/εlo との区別はつき難かった。しかし線維細胞の形成、あるいは水晶体構造の維持のためには γ-クリスタ

リンだけでなく、 $\alpha$ -クリスタリンや $\beta$ -クリスタリンの構成するタンパク質が必要である (Hamada et al., 1979; McAvoy, 1978a, 1978b). また微小管や微フィラメントを構成するタンパク質も必要である (Byers and Porter, 1964; Bradley et al., 1979, Piatigorsky et al., 1972). 最近 $\gamma$ -クリスタリンの主要タンパク質を支配する Len-1, Len-2 という遺伝子がマウスで発見されている (Skow, L., Mouse News Letter, 64, 77, 1981). 原著論文は投稿中で詳細は不明であるが, これらの遺伝子の支配するタンパク質は胎齢14日から生後4週にかけて合成されるといわれ, elo 水晶体の異常が見い出される時期よりやや遅い.

才2の仮説では主に網膜因子について考えているが, これは水晶体線維細胞の伸長には必須のものとされている (Coulombre and Coulombre, 1963; Yamamoto, 1976). 形態学的には網膜に異常を見い出してはいないが, elo マウスの水晶体発生異常に網膜因子が関

与しているかどうか、は網膜原基を含めた眼  
原基全体を培養しているために、この実験で  
は結論を出すことはできない。

## 5, 要約

眼球以外の因子が elo 水晶体の発生異常に関与しているかどうかを調べるために、眼原基の培養を行なった。胎齡 10, 11 日の眼原基を 3 日間培養したところ *in vivo* でみられた典型的な elo 水晶体の異常が観察された。このことから眼球以外の因子は elo 水晶体の異常出現には関与していないものと考えられた。

一方水晶体特異タンパク質である  $\gamma$ -クリスタリンの存在を確認するために免疫組織化学を行なった。胎齡 12, 13, 14 各日の胎仔および新生仔 elo 水晶体においても、また培養した水晶体においても蛍光がみられた。このことから elo 水晶体においても  $\gamma$ -クリスタリンの生合成が行なわれているものと考えられた。

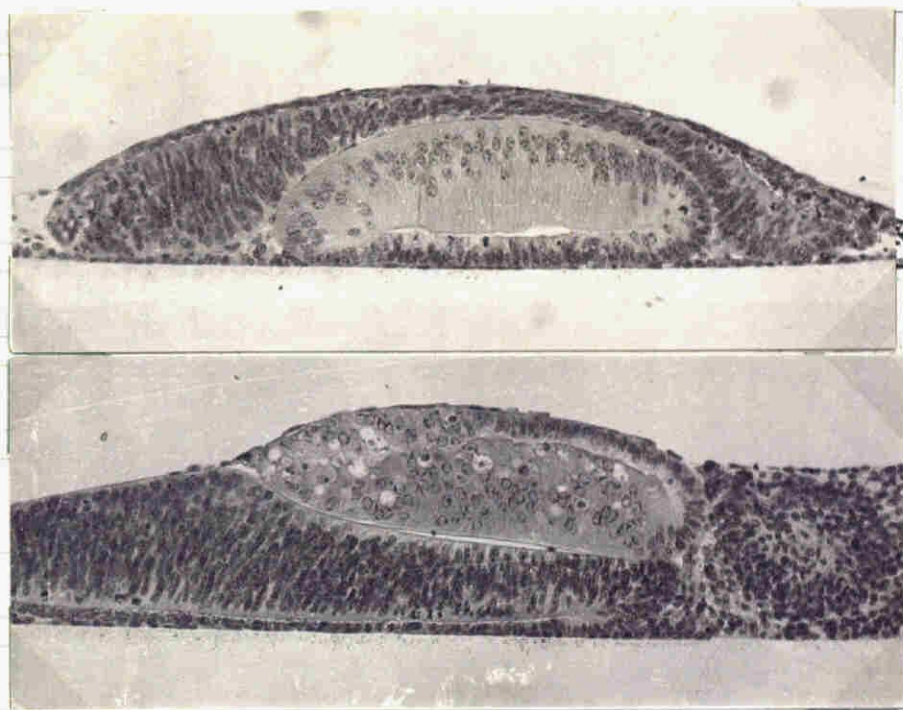


図 VII-1 胎齡 10 日の眼原基を 3 日間培養した  
もの +/+ (上) と εl<sub>0</sub>/εl<sub>0</sub> (下) X200

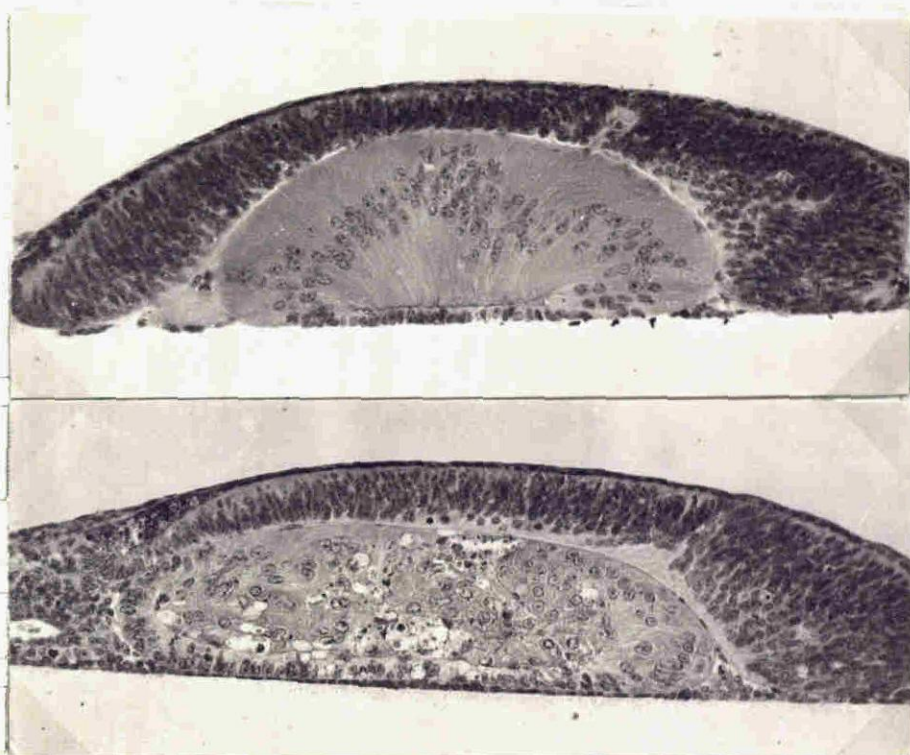
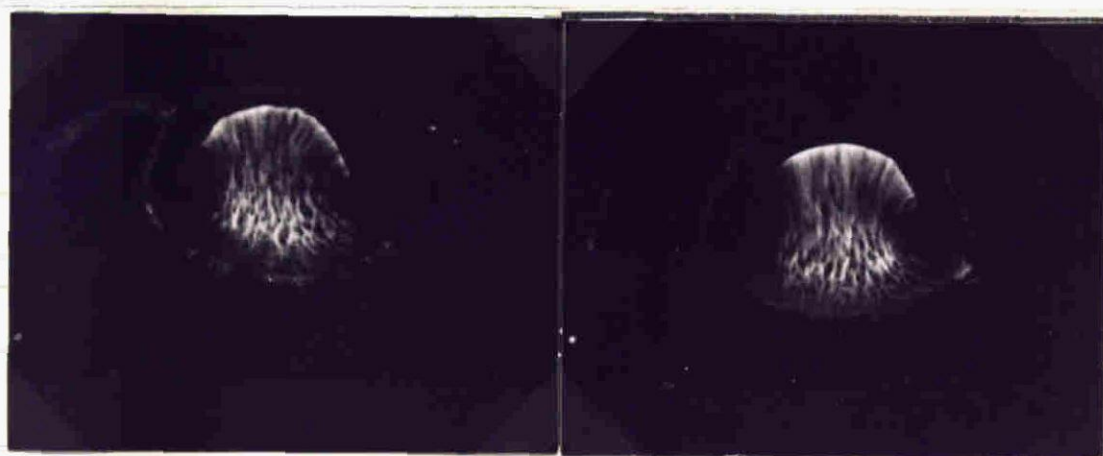


図 VII-2 胎齡 11 日の眼原基を 3 日間培養した  
もの +/+ (上) と εl<sub>0</sub>/εl<sub>0</sub> (下) X200



図Ⅶ-3 胎齡12日水晶体における免疫蛍光  
 $+/+$  (左) と  $\epsilon l_0/\epsilon l_0$  (右)  $\times 125$



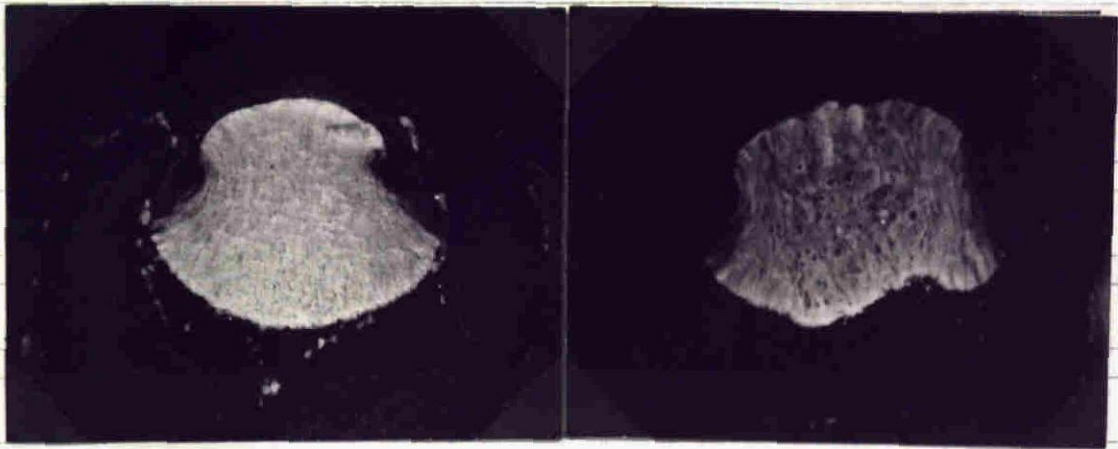


図 Ⅶ-4 胎齡 13 日 水晶体 における 免疫 螢光  
 $+/+$  ( 左 ) と  $\epsilon l_0/\epsilon l_0$  ( 右 )  $\times 125$

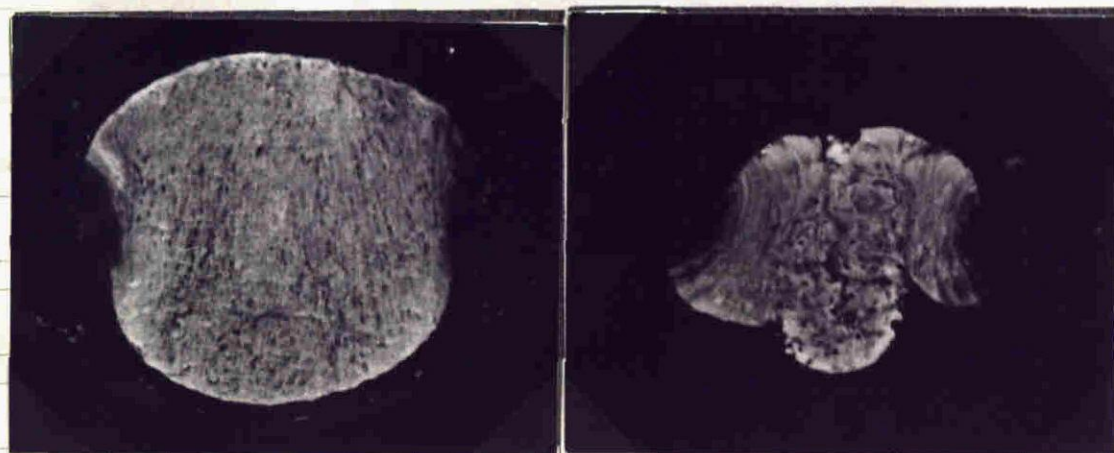
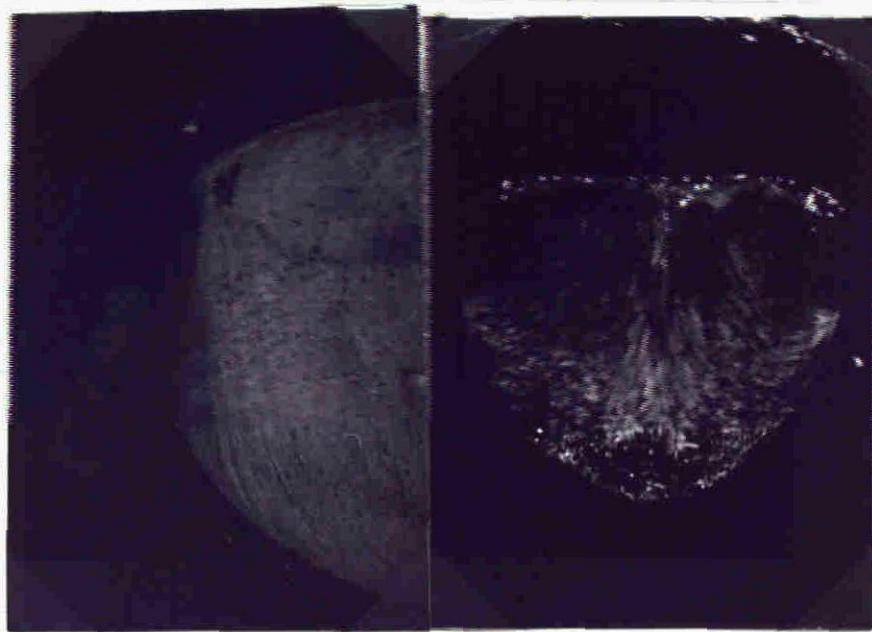


図 Ⅳ-5 胎齡 14 日 水晶体における免疫螢光

+/+ (左) と  $\epsilon l_0 / \epsilon l_0$  (右)  $\times 125$



図Ⅶ-6 新生仔水晶体における免疫蛍光  
 $+/+$  (左) と  $\varepsilon l_0/\varepsilon l_0$  (右)  $\times 95$

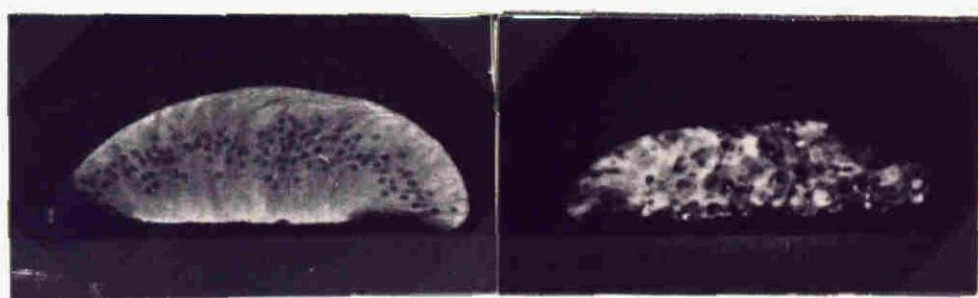


図 VII-7 胎齡 11 日の眼原基を 3 日間培養した  
ものの水晶体の免疫蛍光 ++ (左)  
elo/elo (右)  $\times 120$

## 第八章 総括と総合論議

# 1. El。 小眼症マウスにおける研究の総括

本論文においては偶然見いだされた小眼症マウスにつき、発見、形質の特徴、遺伝様式、遺伝子座の存在する染色体およびその染色体上の位置、系統育成、さらに生後および胎生期における眼球とくに水晶体の発生異常、について研究したものである。この研究において明らかになったこと、およびこの研究の意義は以下に述べる点に要約できるであろう。

## 1) 全く新しい眼に關与するミュータントを発見したこと

El。 が全く新しい遺伝子であり、遺伝子座であることを証明するためには、① 遺伝様式と遺伝子座位からの証明 ② 形質の特徴からの証明 があればより確かなものになる。

### 遺伝様式と遺伝子座位：

El。 小眼症は交配実験の結果から、常染色体上の単一優性遺伝子によって支配されており、また致死的でもない(オII章)。リンケージ・テストの結果から、この遺伝子座はオI

染色体上にあり, ln 遺伝子座から  $9.77 \pm 0.69$ , Idh-1 遺伝子座から  $5.93 \pm 1.29$  の距離にある (オⅡ章). オⅠ染色体上におけるこの位置には、眼に関与する遺伝子座も、その他の遺伝子座も確定したものはない (図 I-1). r- クリスタリンの主要タンパク質を支配する Len-1 遺伝子座が比較的近くに位置すると考えられるが、交配実験に用いたマウスの匹数も少なく、詳細は不明である (私信, ならびに Mouse News Letter, 64, 77, 1981, L. C. Skow). したがって遺伝学的な意味からいって全く新しい遺伝子であり遺伝子座位といえる.

### 形質の特徴:

elo 小眼症は眼球のみに異常がみられ、他の形質、例えば骨、色素、行動、耳介等には影響を与えない。また小眼症の程度も変異の幅が狭い (オⅡ章, オⅤ章). 胎生期に水晶体胞が形成され、胎齡 11.5 日の水晶体後壁の伸長がみられる時点までは正常である。それ



以後水晶体線維細胞の変性，水晶体核の崩壊（オVI章），そして生後において水晶体の消失がおきる。水晶体の残存する白内障とは異なる（オV章）。致死的であったり，生殖能力に著しい異常はない（オIV章）。このような形質を示す遺伝子は表I-1および表I-2の中にはない。したがって全く新しい遺伝子であるといえる。

## 2) 標識遺伝子として確立できたこと

特定の染色体の標識遺伝子として，あるいは近位にある遺伝子<sup>3</sup>座の標識遺伝子として，利用可能な条件は以下のようである。①繁殖障害や致死的效果を示さないこと。②安定した形質を示し，浸透度，表現度が完全であること。③その形質が簡易な方法で把握できること。さらに望ましい条件としては④優性遺伝子でヘテロ型，ホモ型が区別できる形質を示すこと。⑤その形質が胎生期のできるだけ早期に発現すること，が挙げられよう。これらの条件につき §10 で検討してみる。



繁殖障害や致死的効果を示さないこと：

繁殖障害や致死的効果があれば、交配実験に不便であり、分離比にくるいが生じる。この点、elo は生育にも繁殖にも障害を与えない、C3Hf/He-elo 系マウスが C3Hf/He 系マウスに比べ、同一遺伝的背景にもなかわらず、繁殖成績がやや悪い傾向がみられた（オII章）が、オII章の交配実験の成績も参考にすれば、elo の著しい悪影響があるとはいえない。

安定した形質を示し、浸透度および表現度が完全であること：

elo の形質は外形的には小眼症であり、性差、左右差はない。オII章、オV章では (original stock マウス × NC 系マウス) F<sub>1</sub> マウスで、オIII章では C3Hf/He-elo 系マウスで、小眼症を観察している。両マウスの60日齢雄についてみると、F<sub>1</sub> マウス  $20.0 \pm 1.5$  g, C3Hf/He-elo 系マウス  $27.8 \pm 1.8$  g の体重であった。一方、眼球重量では F<sub>1</sub> マウス  $5.1 \pm 1.0$  mg (対照マウスの 28.3%) であり、C3Hf/He-elo 系マ

ウスでは  $5.1 \pm 1.1 \text{ mg}$  (対照マウスの 30.9%),  
 眼球赤道直径では下1マウス  $1.90 \pm 0.18 \text{ mm}$

(対照マウスの 64.6%) であり, C3Hf/He-elo  
 系マウス  $1.91 \pm 0.06 \text{ mm}$  (対照マウスの 62.4  
 %) であった. このことから両マウスの間では  
 遺伝的背景がかなり異なると思われるが,  
 小眼症の程度は完全に一致していることがわ  
 かる. このことは, また elo の形質が極めて  
 安定していることを示す. 多面発現を示さず,  
 変異の幅も狭い. 第II章の交配実験の結果で  
 明らかのように浸透度や表現度は完全で, メ  
 ンデル遺伝に合致する.

その形質が簡易な方法で把握できること:

アイソザイムあるいはタンパク質の多型遺  
 伝子のように電気泳動技術など特別の技術を  
 用いなければ形質の把握ができないようでは  
 あまり便利とはいえない. その点 elo の形質  
 は出生直後から肉眼で判別できる小眼症であ  
 り, もっとも簡単に把握できる. また, 例え  
 ば Idh-1 遺伝子では電気泳動用試料として肝

臓を用いるが、これではその個体を殺すことになり、次の交配に用いることができない。

elo 小眼症を調べるのに個体を殺す必要はない。

優性遺伝子でヘテロ型，ホモ型が区別できる形質を示すこと：

elo は優性遺伝子で，F<sub>1</sub>にすぐ形質が現われ，交配実験に便利である。しかしヘテロ型，ホモ型の形質は今のところ区別できない。

その形質が胎生期のできるだけ早期に発現すること：

早期に形質が発現すれば，近位にある遺伝子座のものを，elo 遺伝子を標識として，その発生段階から研究できる。elo の場合，胎齢12日に水晶体線維細胞の変性が現われるがこれを調べるためには組織切片標本を作整する作業を必要とし，必ずしも便利というわけにはいかない。

以上全体をみてみれば elo はすぐれた標識遺伝子であるといえる。

### 3) ミュータント系実験動物育種の手順を示したこと

ミュータント系実験動物を育成し、さまざまな研究に利用する、ということは一般的になっているが、ミュータントかどのような過程で発見され、どういう段階を経て系統育成されるのか？従来はどちらかといえば経験的に、あるいは無意識的に行なわれてきたといえる。本論文では発見時の事情や起原となった動物、形質の特徴、遺伝様式（オII章）、染色体およびその位置（オIII章）、congenic strainの育成（オIV章）、形質のより詳しい解析（オV, VI, VII章）というように研究をすすめてきた。ミュータント系実験動物の育成に関しては既に提案したことがある（織田, 1973）が、この点に関してはオIV章の2において詳述する。

### 4) 眼球の成長と水晶体の役割を明らかにしたこと

Ello 眼球は重量で正常の62.5%（生後0日

齡), 45.2% (5日齡), 45.1% (15日齡),  
 39.6% (30日齡), 29.9% (60日齡) に縮小  
 している。また赤道直径で 87.7% (0日齡),  
 77.2% (5日齡), 75.6% (15日齡), 69.7  
 % (30日齡), 64.1% (60日齡) に縮小して  
 いる。絶対値としては0日齡から5日齡まで  
 は成長するが、以後の眼球は成長しない。

組織学的にみてみると0日齡では水晶体核  
 は崩壊しているが、水晶体上皮、水晶体皮質  
 は残存している。5日齡以後は水晶体線維の  
 層構造は消失する。色素上皮、脈絡膜、強膜  
 は眼球の大きさに合わせて縮小するが、網膜  
 は褶曲を示した。

これらのことを合わせると、0日齡から5  
 日齡にかけて眼球が大きくなるのは残存する  
 水晶体によるものと思われ、以後大きくなら  
 ないのは水晶体の消失によると言える。また  
 網膜だけは、眼球あるいは水晶体とは独立に成  
 長することを示している。ニワトリ胚を用い  
 て行なった結果 (Coulombre and Coulombre, 1964)

と、マウスのミュータントの眼球において観察されたこととが、一致することを明らかにした(オV章)。

### 5) 水晶体の発生分化の特異性を明らかにしたこと

el<sub>0</sub> マウス眼球では胎齡12.0日に、11.5日にはみられなかった細胞核の変性が、水晶体中央部の線維細胞に出現する。正常発生では水晶体胞の後壁が伸長し、水晶体腔が肉鎖する時期であるが、el<sub>0</sub>では伸長するものの充分でなく、水晶体腔が残存する。このように水晶体胞の形成が正常で、オ一次水晶体線維細胞の伸長がおきてから異常がみられ、さらに発生がすすむと水晶体核の崩壊、水晶体の消失へと連続する。水晶体上皮や皮質は比較的さいごまで正常を保つ。今までに知られている小眼症は、ey-1、ey-2、fiのような眼胞形成不全 (Konyakhov and Vakhrusheva, 1969), orのような眼杯裂を通る血管形成不全による眼杯の発育障害 (Truslove, 1962), mi

のような眼杯の内板と外板の発育不均衡  
 (Grüneberg, 1963), Dey のような眼胞  
 や眼柄の形態異常 (Theiler et al., 1978), 水  
 晶体板の陥入不全 (ak, Varnum and Stevens,  
 1968) といった原因によっておきるが, elo  
 のような例は知られていない。

胎齡 12 日から 13 日にかけて電子顕微鏡によ  
 る水晶体線維細胞の基底部細胞質の観察では、  
 リソソームの出現とミトコンドリアの変性、  
 消失がみられる。線維細胞の伸長には微細小管  
 の合成が必要であるが、ミトコンドリアの変  
 性により、エネルギー供給が断たれ、微細小管  
 合成が阻害され、線維細胞の伸長不全につな  
 がる可能性が考えられる(オVI章)。

水晶体中央部より線維細胞の壊死が始まる  
 が、酸素あるいは栄養供給の異常かもしれない。  
 しかし培養条件下でも同様の異常がみら  
 れるので眼球以外の外的因子の影響は考えな  
 くてよいであろう(オVII章)。

胎齡 12 日にはオ一次水晶体線維細胞の形成

とともに  $\gamma$ -クリスタリンが合成されるが、免疫組織化学によって、Elo 水晶体でも  $\gamma$ -クリスタリンの合成が証明された。  $\gamma$ -クリスタリンというのは電気泳動的に分けられたもので、水晶体の発生順に  $\alpha$ - ,  $\beta$ - ,  $\gamma$ - というように、分化のさいご、すなわち水晶体線維細胞で、はじめて合成される。鳥類では  $\gamma$ - のかわりに  $\delta$ - が水晶体線維細胞の形成とともに合成される (Zwaan and Ikeda, 1968; Beebe and Piatigorsky, 1977)。  $\gamma$ -クリスタリンといっても単一分子ではなく、牛水晶体の  $\gamma$ -クリスタリンでは各泳動バンドは分子量とともにアミノ酸組成も研究されている (Slingsby and Cleft, 1978)。マウスではそこまで研究はされていないが、系統によって泳動バンドが異なることは知られており、A/J系マウスでは  $\alpha$ - で 2 本,  $\beta$ - で 5 本,  $\gamma$ - で 6 本のバンドがみられる (Komyukhov and Wachtel, 1963)。したがって  $\gamma$ -クリスタリンが免疫組織化学によって証明された (第七章) とい



っても、抗原-抗体反応がみられる  $\gamma$ -クリスタリンの組成が問題となる。 $\gamma$ -クリスタリンの主要タンパク質の1部が欠落していても蛍光はみられるからである (L. C. Skow, 私信, 1981)。

一方、自己免疫現象も考えられる。 $\gamma$ -クリスタリンの合成される時期に、水晶体線維細胞から何らかの形で、それが漏出し、抗原-抗体反応をおこし、線維細胞のみを選択的に破壊する、ということである。しかし、これは器官培養でも細胞変性がみられるので可能性はうすいかもしれない。

いずれにせよ、水晶体の発生分化に関与する特異的現象が、elo においてみられることが明らかになった。さらには奇形の発生遺伝的研究を考えるうえで1つのモデルとなりうるであろう (亀山, 1976)。いいかえれば、遺伝子の調節による形質発現機構の解析の研究に、有力な研究材料あるいは手段を提供することになった。

## 2. ミュータント系実験動物の育種について

ミュータント系実験動物を育成し、生物学の研究材料や、疾患モデルとして役立たせようとする考え方は、動物実験の有力な方法論として定着しつつある。しかしながら特定の突然変異遺伝子にもとづくミュータント系実験動物を育成するということは、近交系育成やクロースド・コロニーの育成のように計画性ある育種方式を立てるまでには至っていない。むしろ場当りの的に考えなければならないことの方が多いといえる。これは主に目的の突然変異を自由にひきおこし、自由に入りする、ということが当面は不可能に近く、育種目標を立てにくいことに由来する。したがって当面は、偶然見いだされた突然変異個体をとりあげ、その遺伝様式を明らかにし、さらに供試動物の計画的な生産を可能にするということが、ミュータント系実験動物育種の重要な点になるであろう(織田, 1973)。

従来、経験的に、あるいは無意識的に行な

われてきたミュータント系実験動物の育種について、その経過を詳しくながめてみると、いくつかの研究段階があり、それぞれに研究課題が含まれている。それらは次のように整理できると思われる。

- ① 育種目標の設定
- ② 育種素材をそろえること
- ③ 育種技術を適用すること
- ④ ミュータントを発見すること
- ⑤ 形質を把握すること
- ⑥ 系統簿（記録）から遺伝様式を知ること
- ⑦ 遺伝子分析を行なうこと
- ⑧ 遺伝子を保存すること
- ⑨ 染色体およびその染色体上の位置の確定
- ⑩ 系統の育成を行なうこと
- ⑪ 系統の維持を行なうこと
- ⑫ 供試動物の生産を行なうこと
- ⑬ 遺伝子の形質発現の研究を行なうこと
- ⑭ 多様な利用および普及

以上の各段階について概観し、ポイントを

述べることにする。

育種目標，育種素材，育種技術，ミュータントの発見：

西村（1974）は「糖尿病マウスの育成」という育種目標に対して、素材と技術について

- ① 適応試験
- ② 淘汰選抜
- ③ 遺伝子導入
- ④ 野生マウスの検討
- ⑤ 人為突然変異

の5点を挙げ、このうち①～④について詳しく説明している。しかしながらミュータント系実験動物の場合は、発見されてから育種目標が決まることの方が多いと思われる。例えば無アルブミン・ラットの発見のように、集団中から適応試験によって捜し出そうという試みはそう多くないと思われる。

elo マウスの場合、小眼症マウスの育成という、当初の育種目標があったわけではなく、あるいはそのために、fancy マウスを入手し、

交配したわけでもなく、偶然発見されたにすぎない。ミュータント系実験動物の育成にはこうした偶然が出发点になることが多い。西村の提起した点は多因子性遺伝子による疾患モデル動物の系統育成を計画的にすすめる場合、大きな効果を發揮する。

ミュータントの発見には、突然変異をひきおこす技術（放射線、アルキル化剤）とともに、それがミュータントであると認識できる知識と経験、あるいは簡便に判別できる技術（テストープ、電気泳動、行動能測定カラムクロマトグラフィー、など）の開発が必要となる。

一方、相互により異なる系統同士の交配から、別の系統を育成中に、ミュータントが発見されやすいことは、経験的に知られている。図Ⅷ-1に、著者が育成してきたミュータントが、いつ発見されたか、を示した。eloは近交4代目に発見されたが、同じ優性遺伝子のLbは5代目に発見された。劣性遺伝子のrolは6代目、dupは13代目に発見された。

新たに系統を育成する場合、より注意深い観察が行なわれるために、発見されやすいのか、それとも本当に突然変異率が高くなるのか、今のところ確かめることができないでいる。

### 形質の把握と遺伝子分析，染色体上の位置：

形質の特徴は、症状、部位、発症時期、生殖能力も含めて調査する。El. は形質がとらえやすく、致死性でもないのので、遺伝子分析もやりやすい。浸透度、表現度が完全であれば、遺伝様式はすぐ判明する。これが rolling マウスのように致死性であったり（織田，1973）

Pdn, polydactyly Nagoya (Hayasaka et al, 1980; 織田ら, 1982) や Tal, tail anomaly lethal

(Hoshino et al, 1979) のように、浸透度、表現度の不完全なもの、繁殖能力の悪いものでは分析に苦労する。こうした場合、系統簿（繁殖記録）から遺伝様式を推定しなければならない時もある。

遺伝子座がどの染色体上にあり、その染色体上のどこにあるかは、リンケージ・テスト

によらねばならない。このためには、20本の染色体上に標識遺伝子を用意していなければならぬ。それは容易なことではない。逆に位置がきまれば、その突然変異遺伝子が標識遺伝子として利用できるようになる。eloはそのよい例であろう。

遺伝子の保存，系統の育成，系統の維持：

ミュータント系実験動物の場合，もっとも重要なのは遺伝子の保存である。遺伝子が失われるようでは全く意味かない。eloの場合は生殖能力はほぼ正常なので系統の育成にすすむことができたが，例えば rolling マウスの場合は，SIII ラインでほとんど生育せず，遺伝子の保存が危ぶまれた。交雑化することにより生育できるようになり，遺伝子の保存が容易になった（織田，1973）。

遺伝子の保存が可能になった段階で，系統の育成にすすむか，この場合，遺伝的背景を整一化することが目的となる。そのためには近交系育成と congenic strain の育成が考えら

れる。近交系育成では新しい特徴ある系統が期待でき、また浸透度、表現度の不完全なものに便利である。しかし、近交中に繁殖力が低下したり、育成に時間がかかる欠点もある。

congenic strainの育成では、近交系育成の逆の効果があり、eloのような場合、とくに望ましい育成方法である。しかし rolling マウスでは C57BL/6 系マウスに遺伝子導入すると生育が悪く、C3Hf/He 系マウスに導入した場合は比較的良好であった。このことから導入する近交系についての選択も重要な場合がある。系統育成および系統の維持の場合、その遺伝子の標識遺伝子が見い出されておれば、さらに能率が良くなるであろう。またヘテロ型で育成・維持を行なえば、同一系統内で対照動物を得ることができ、このことはミュータント系実験動物の育成のポイントである。

### 供試動物の生産と遺伝子の形質発現の研究：

供試動物が準備されなければ研究はできない。効率的に生産できる方式を工夫すること



が、この項目の重要な点である。elo の場合、ホモ型で充分繁殖できるので、遺伝子の保存、系統の維持、供試動物の生産の各支配方法は一致させることができる。ところが rolling マウスのような場合、ホモ型は歩行失調がひどく、雄は交尾不能、雌は哺育能力、繁殖能力が低い。したがって系統の維持ではホモ型雌を用いることができて、供試動物の生産では、ヘテロ型同士の交配によらねばならない（織田，1973）。供試動物の生産がすすめば形質発現の研究はより深いものとなる。

#### 多様な利用（普及）：

遺伝子の形質発現の研究をもとに、多様な利用が考えられてくる。母体効果の研究がある（Hoshino et al., 1976）し、環境の影響の研究も考えられる（Naruse and Kameyama, 1982 ; Nakane and Kameyama, 1982）。また疾患モデルとして医薬品の検定動物としても利用されるかもしれない（足立ら，1977）。elo マウスについてはまだ具体的な利用計画はないが、

眼球あるいは水晶体の発生のより深い理解に達することと思われる。とくに眼の奇形を考える場合は重要になるかもしれない。

実験動物というのは本来的に研究に利用されてこそ意味がでてくるものである。多様な研究目的が生まれるならば、当然のこととして普及がなされることであろう。ミュータント系実験動物の中では、ヌードマウス (nu/nu) が特筆に値する。その場合でも胸腺の欠損が発見されてからであり、それ以前はただの毛のないマウスにすぎなかった。elo マウスの場合も、今後の研究の伸展がのぞまれる。

### 3. 疾患モデルとしての眼の奇形と elo マウス

疾患モデルという場合、狭義と広義との両方の意味があり、しばしば混乱して用いたりする。狭義の意味であれば、ヒトと共通の疾患をもった動物ということであり、直接ヒトの疾患の治療に結びつくことになる。広義の意味であればヒトと共通の疾患という点では不明で、治療という点では結びつかないものも疾患モデルとして加えることができる。直接的に對して潜在的価値のあるモデルといえよう。ヒトと動物との両方の研究が発展すれば重要になる可能性があるからである。したがって疾患モデルを利用するという観点からは、治療薬や治療技術を開発することにとどまらず、予防、診断、治療、医学教育、基礎医学の研究にまで広めておく方がよいように思われる。いわゆる疾患をもった動物だけでなく、野生状態では「正常」であるが研究室で飼育すると糖尿病になるといった動物（砂漠地帯に生息するサンドラット等）も疾患モデ

ルとしては重要である（西村，1974）。代謝病といった疾患に対し、奇形の場合は、分類を含めた診断、発症メカニズムといった基礎研究が中心にならざるを得ないであろう。奇形ミュータントの実験動物は、狭義の疾患モデルとしては、利用が限定されやすい。

ヒトの眼の奇形については、次のようなものが挙げられている（中島ら，1976）。

- ① 無眼球
- ② 小眼球
- ③ 小角膜
- ④ 先天性角膜混濁
- ⑤ 無虹彩
- ⑥ 定形的欠損      a, 虹彩      b, 毛様体      c, 網膜・脈絡膜
- ⑦ 瞳孔膜遺存
- ⑧ 先天性白内障
- ⑨ 先天性緑内障（水眼，牛眼）
- ⑩ 白子眼

さらに眼の先天異常一般については、植村（1977），桐渕（1979），雨宮（1980）の解

説があり、遺伝について掘り下げたものとして、馬嶋(1977)、あるいは小林(1972, 1980)の解説がある。またヒトの眼の発生および発生異常については Duke-Elder (1963) などの成書があり、分類、成因などが述べられている。

小眼症は症例(山本ら, 1978)も多く、中には無水晶症の例(内田ら, 1978)もある。小眼症の遺伝学的分類(小林, 1980; 植村, 1977)をみてみると

#### (1), 遺伝性的小眼

① 常染色体上の優性：コロボーマ性小眼，  
白内障を伴なう小眼，網膜色素変性症と  
緑内障を伴なう小眼，偏位瞳孔を伴なう  
小眼

② 常染色体上の劣性：無眼・小眼の複合，  
高度遠視を伴なう小眼，緑内障を伴なう  
小眼

③ 性染色体上の劣性：偽神経膠腫を発現する小眼

#### ④ 多因子遺伝

(2) 非遺伝性の表現型模写としての小眼

(3) 染色体異常に合併する小眼：ネコなき症，

D<sub>1</sub>トリソミー

が知られている。

マウスで報告されている小眼症ミュータントとヒトにおける遺伝性小眼症とは充分な関連をつけることは、まだ不可能であるが、例えばコロボーマ性小眼 → マウスの Cm あるいは Dey，白内障を伴う小眼 → Cts，網膜色素変性症と緑内障を伴う小眼 → Hi<sup>us</sup>，無眼・小眼の複合 → ey-1，ey-2 とい、た見方もできよう。

elo では無水晶体性の小眼症となるが、ヒトの場合、気づかれずにいることも考えられる。マウスにある以上、同じ哺乳類であるヒトにもあるはずだ、という観点で臨床例を検討するならば、意外と似たものが見つかるかもしれない。遺伝性眼疾患の診断の場において、マウスのミュータントをモデルとして判

用することは、無意味なこととは思われない。

ミュータントだけでなく、催奇形因子を用いて、より深い眼の発生および発生異常の研究が行なわれている。図 VIII-2 に、眼球奇形の組織発生異常（亀山，1980）を示した。また

Coulombre and Coulombre (1977) は、眼球形態形成過程と発生学的相互作用を述べている。眼球発生初期には異常として、無眼、単眼、先天性嚢胞眼、無水晶体、純正小眼球、眼球発生後期には異常として、水晶体と眼胞に關与する異常（白内障、角膜－水晶体柄遺残）、眼杯裂閉鎖に關与する異常（小眼症、網膜色素上皮の異形成、角膜異常）がみられる。水晶体の異常においては、水晶体胞の形成障害と水晶体実質の変性があり、それは無水晶体と白内障が觀察されるようになる。

ε<sub>2</sub> のように水晶体胞が形成され、水晶体腔が閉鎖する胎齡 12 日頃に異常が出現し、水晶体核の崩壊、水晶体の消失を示すような異常は、催奇形因子によっても作出できていた

い。 εl。 遺伝子の形質発現が充分研究される  
ならば、水晶体の発生・分化は、よりよく理  
解されることになる。 εl。 マウスを疾患モ  
デルとしてみようという場合、結論的に言え  
ば、診断と教育および形態形成の基礎的研究  
に利用できるだけかもしれない。



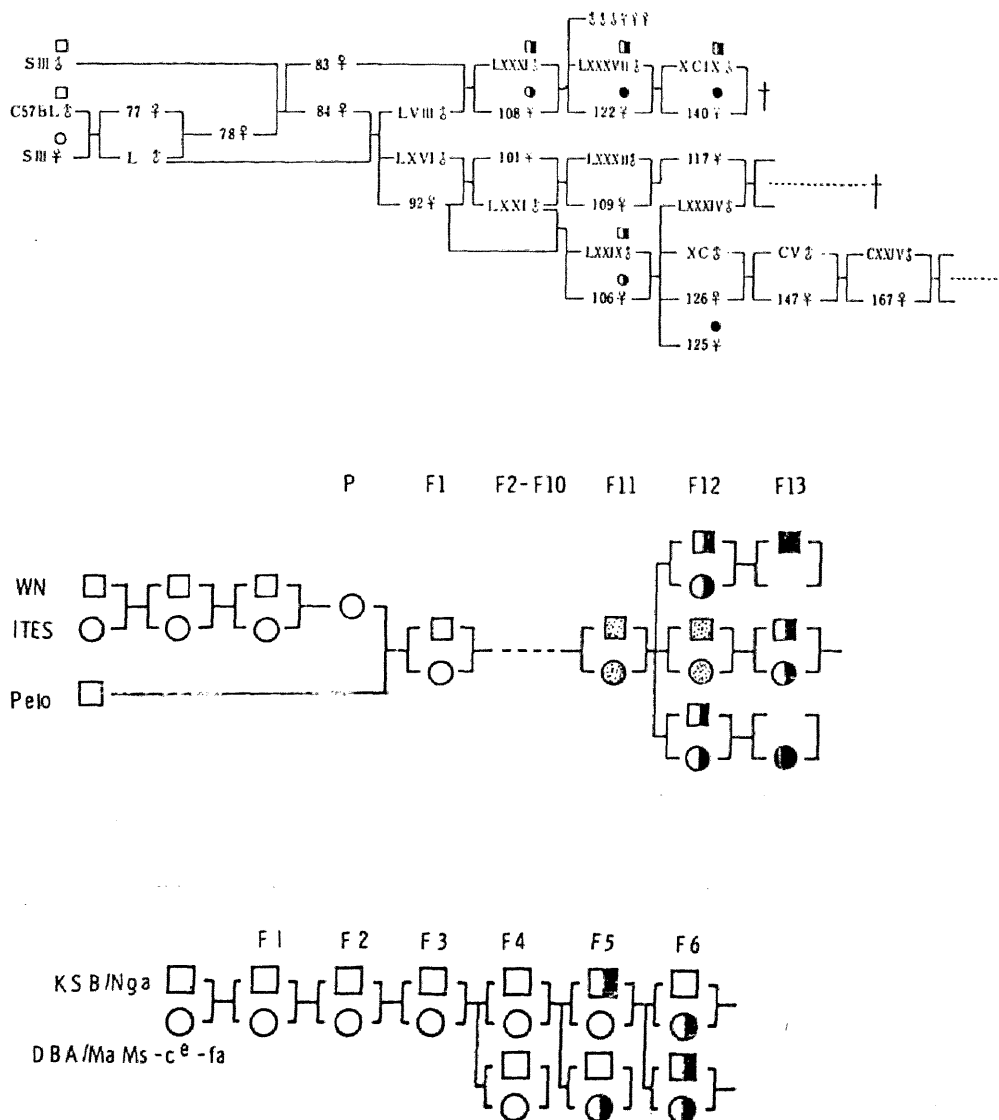
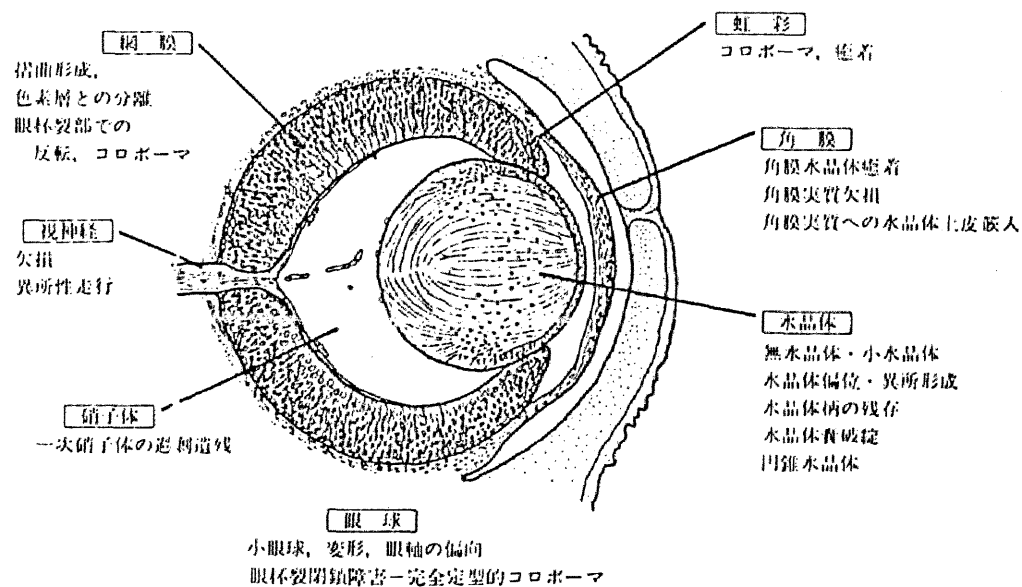


図 VIII-1 ミュタント発見時の系図

(上) 劣性遺伝子 rol, rolling mouse Nagoya の発見 (織田, 1973), (中) 劣性遺伝子 dup, dumpy マウスの発見 (Oda, 1978), (下) 優性遺伝子 Lb, lethal brachyury の発見 (織田, 1980) □, ○; 表現型正常 ◻, ⊙; 不明 ■, ●; ホモ型 ◻, ⊙; ヘテロ型 ◻, ⊙



図Ⅳ-2 胎生早期の催奇形処理によって成立  
 する眼球奇形の組織発生異常(亀山, 1980)

## 謝辞

本研究を行なうにあたり、一貫して指導と激励をいただいた名古屋大学農学部、近藤恭司教授および名古屋大学環境医学研究所、亀山義郎教授に深謝します。オII章「マウスにおける新しい小眼症ミュータントの発見と遺伝様式」で協力いただいた愛知県身心障害者コロニー・発達障害研究所、渡辺智正主任研究員、オVI章「光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡による εlo マウス眼球の発生異常の観察」、オVII章「器官培養および免疫組織化学による εlo マウス眼球の発生異常の観察」において共同研究の指導をいただいた福井医科大学、渡辺寛二助教授、京都府立医科大学、藤沢肇助教授、に感謝します。また本論文の全体にわたって有益な助言をいただいた名古屋大学農学部、藤岡俊健教授にお礼申し上げます。

## 引用文献

(欧 文)

- Beebe, D. C. and Piatigorsky, J. (1977) The control of  $\delta$ -crystallin gene expression during lens cell development; dissociation of cell elongation, cell division,  $\delta$ -crystallin synthesis, and  $\delta$ -crystallin m-RNA accumulation. *Develop. Biol.*, 59, 174-182.
- Bradley, R. H., Ireland, M. and Maisel, H. (1979) The cytoskeleton of chick lens cells. *Exp. Eye Res.*, 28, 441-453.
- Browman, L. G. and Ramsey, F. (1943) Embryology of microphthalmos in Rattus norvegicus. *Arch. Ophthalmol.*, 30, 338-351.
- Brown, E. R., Nakano, T. and Vankin, G. L. (1970) Early development of an inherited cataract in mice. *Exp. Anim.*, 19, 95-100, 1970.
- Byers, B. and Porter, K. R. (1964) Oriented microtubules in elongating cells of the developing lens rudiment after incubation. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 52, 1091-1099.
- Clayton, R. M. and Campbell, J. C. (1968) Small eye, a mutant in the house mouse apparently affecting the synthesis of extracellular membranes. *J. Physiol.*, 198, 74-75.
- Connelly, T. G., Ortiz, J. R. and Yamada, T. (1973) Influence of the pituitary on Wolffian lens regeneration. *Develop. Biol.*, 31, 301-315.
- Coulombre, A. J. (1956) The role of intraocular pressure in the development of the chick eye. 1. Control of eye size. *J. Exp. Zool.*, 133, 211-225.
- Coulombre, A. J. and Coulombre, J. L. (1964) Lens development. I. Role of the lens in eye growth. *J. Exp. Zool.*, 156, 39-48.
- Coulombre, J. L. and Coulombre, A. J. (1963) Lens development: Fiber elongation and lens orientation. *Science, N. Y.*, 142, 1489-1990.

- Coulombre, A. J. and Coulombre, J. L. (1977) Abnormal organogenesis in the eye. Handbook of Teratology, 2, Wilson, J. G. and Fraser, F. C. ed., 329-341, Plenum, New York.
- Day, T. H. and Clayton, R. M. (1972) Multiple changes in lens protein composition associated with the Cat<sup>Fr</sup> gene in the mouse. Genet. Res., 19, 241-249.
- Duke-Elder, S. (1963) Normal and Abnormal Development. System of Ophthalmology, vol.II, 2, Henry Kimpton, London.
- Fraser, F. C. and Schabtach, G. (1962) Shrivelled: A hereditary degeneration of the lens in the house mouse. Genet. Res., 3, 383-387.
- Fukui, S. and Yamashita, I. (1978) Biochemical alterations of the lens capsule in mice with hereditary cataract. Exp. Eye Res., 26, 499-506.
- Green, M. C. (1981) Catalog of mutant genes and polymorphic loci. Genetic Variants and Strains of the Laboratory Mouse. Green, M.C. ed., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Grobman, A. B. and Charles, D. R. (1947) Mutant white mice. A new dominant autosomal mutant affecting coat color in Mus musculus. J. Hered., 38, 381-384.
- Grobstein, C. (1956) Trans-filter induction of tubules in mouse metanephrogenic mesenchyme. Exp. Cell Res., 10, 424-440.
- Grüneberg, H. (1963) Pathology of Development. Blackwell, Oxford.
- Hamada, Y., Watanabe, K., Aoyama, H. and Okada, T. S. (1979) Differentiation and degeneration of rat lens epithelial cells in short- and long term cultures. Develop. Growth and Differ., 21, 205-220.
- Hamai, Y., Fukui, H. N. and Kuwabara, T. (1974) Morphology of hereditary mouse cataract. Exp. Eye Res., 18, 537-546.
- Hamai, Y. and Kuwabara, T. (1975) Early cytologic changes of Fraser-cataract. An electron microscopic study. Invest. Ophthalmol., 14, 517-527.
- Harata, M., Shorji, R. and Senba, R. (1978) Genetic background and expressivity of congenital cataract in mice. Jpn. J. Genet., 53, 147-152.

- Harch, C., Chase, H. B. and Gonsalves, N. I. (1978) Studies on an anophthalmic strain of mice. IV. Lens and cup interaction. *Develop. Biol.*, 63, 352-357.
- Hayasaka, I., Nakatsuka, T., Fujii, T., Naruse, I. and Oda, S. (1980) Polydactyly Nagoya, Pdn: A new mutant gene in the mouse. *Exp. Anim.*, 29, 391-395.
- Hoshino, K., Nakane, K. and Kameyama, Y. (1976) Influence of trypan blue on the manifestation of genetic microphthalmia (mic) in mouse fetuses. *Cong. Anom.*, 16, 105-110.
- Hoshino, K., Oda, S. and Kameyama, Y. (1979) Tail anomaly lethal, Tal: A new mutant gene in the rat. *Teratology*, 19, 27-34.
- Ikeda, A. (1974) An immunofluorescent study of lens development in a mutant cataractous mouse. *Anat. Rec.*, 178, 380.
- Iwata, S. and Kinoshita, J. H. (1971) Mechanism of development of hereditary cataract in mice. *Invest. Ophthalmol.*, 10, 504-512.
- Karkinen-Jääskeläinen, M. (1978) Permissive and directive interactions in lens induction. *J. Embryol. exp. Morph.*, 44, 167-179.
- Kimura, I. (1969) Morphogenetic studies on a microphthalmic strain (MC) in the mouse. *Cong. Anom.*, 9, 75-86.
- Kobayashi, H. (1980) Genetical and morphological studies on congenital cataract and microphthalmia (Cts) in mice. *Cong. Anom.*, 20, 391-398.
- Konyukov, B. V. and Vakhrusheva, M. P. (1969) Abnormal development of eye in mice homozygous for the fidget gene. *Teratology*, 2, 147-158.
- Konyukov, B. V. and Wachtel, A. W. (1963) Electrophoretic studies of proteins in normal lens and cataracts of inbred and mutant mice. *Exp. Eye Res.*, 2, 325-330.
- Kratochvilova, J. (1981) Dominant cataract mutations detected in offspring of gamma-irradiated male mice. *J. Hered.*, 72, 302-307.
- Kuwabara, T., Kinoshita, J. H. and Cogan, D. G. (1969) Electron microscopic study of galactose-induced cataract. *Invest. Ophthalmol.*, 8, 133-149.

- Langman, J. and Maisel, H. (1962) Lens antibodies and eye development. *Invest. Ophthalmol.*, 1, 396-405.
- Lyon, M. F., Jarvis, S. E., Sayers, I. and Holmes, R.S. (1981) Lens opacity: A new gene for congenital cataract on chromosome 10 of the mouse. *Genet. Res.*, 38, 337-341.
- McAvoy, J. W. (1978a) Cell division, cell elongation and distribution of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -crystallins in the rat lens. *J. Embryol. exp. Morph.*, 40, 149-165.
- McAvoy, J. W. (1978b) Cell division, cell elongation and the co-ordination of crystallin gene expression during lens morphogenesis in the rat. *J. Embryol. exp. Morph.*, 45, 271-281.
- Muthukkaruppan, V. (1965) Inductive tissue interaction in the development of the mouse lens in vitro. *J. Exp. Zool.*, 159, 269-288.
- Nakane, K., Hoshino, K. and Kameyama, Y. (1974) Maldevelopment of lens vesicle in MC mice with genetic microphthalmia. *Cong. Anom.*, 14, 285-291.
- Nakane, K., Hoshino, K. and Kameyama, Y. (1975) Morphological variations of the skull in MC mice with genetic microphthalmia. *Cong. Anom.*, 15, 107-116.
- Nakane, K. and Kameyama, Y. (1982) Effect of maternal fasting on the manifestation of cleft lip in CL/Fr mice. *Teratology*, 26, 18A.
- Naruse, I. and Kameyama, Y. (1982) Digital malformations caused by 5-fluorouracil and cytosine arabinoside in genetic polydactyly mouse (Polydactyly Nagoya, Pdn). *Teratology*, 26, 16A.
- Oda, S. (1978) Dumpy, a new skeletal mutation in the mouse. *Ann. Rep. Res. Inst. Environ. Med. Nagoya Univ.*, 23, 7-12.
- Papaconstantinou, J. (1967) Molecular aspects of lens cell differentiation. *Science*, 156, 338-346.
- Piatigorsky, J., Webster, H. deF. and Wollberg, M. (1972) Cell elongation in the cultured embryonic chick lens epithelium with and without protein synthesis. *J. Cell Biol.*, 55, 82-92.

Roberts, R. C. (1967) Small eye -a new dominant eye mutation in the mouse. Genet. Res., 9, 121-122.

Shaw, C. R. and Prasad, R. (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes -a compilation of recipes. Biochem. Genet., 4, 297-320.

Silver, J. and Hughes, A. F. W. (1974) The relationship between morphogenetic cell death and the development of congenital anophthalmia. J. Comp. Neur., 157, 281-302.

Slingsby, C. and Croft, L. R. (1978) Structural studies on calf lens r-crystallin fraction IV: A comparison of the cystein-containing tryptic peptides with the corresponding amino acid sequence of r-crystallin fraction II. Exp. Eye Res., 26, 291-304.

Staat, J. (1980) Standardized nomenclature for inbred strains of mice: Seventh listing. Cancer Res., 40, 2083-2128.

Theiler, K., Varnum, D. S., Nadeau, J. H., Stevens, L. C. and Cagianut, B. (1976) A new allele of ocular retardation: Early development and morphogenetic cell death. Anat. Embryol., 150, 85-97.

Theiler, K., Varnum, D. C. and Stevens, L. C. (1978) Development of Dickie's small eye, a mutation in the house mouse. Anat. Embryol., 155, 81-86.

Tissot, R. G. and Cohen, C. (1972) A new congenital cataract in the mouse. J. Hered., 63, 197-201.

Truslove, G. M. (1962) A gene causing ocular retardation in the mouse. J. Embryol. exp. Morph., 10, 652-662.

Tsunematsu, Y., Fukui, H. N. and Kinoshita, J. H. (1978) Exp. Eye Res., 26, 671-685.

Unakar, N. J., Genyea, C., Reddan, J. R. and Reddy, V. N. (1978) Ultrastructural changes during the development and reversal of galactose cataracts. Exp. Eye Res., 26, 123-133.

Vankin, G. L. and Caspari, E. W. (1979) Developmental studies of the lethal



gene Bld in the mouse. 1. Post-implantation development of the lethal homozygote. J. Embryol. exp. Morph., 49, 1-12.

Varnum, D. S. and Stevens, L. C. (1968) Aphakia, a new mutation in the mouse. J. Hered., 59, 147-150.

Watson, M. L. (1968) Blind -a dominant mutation in the mouse. J. Hered., 59, 60-64.

Yamamoto, Y. (1976) Growth of lens and ocular environment: Role of neural retina in the growth of mouse lens as revealed by an implantation experiment. Develop. Growth and Differ., 18, 273-278.

Zwaan, J. and Ikeda, A. (1968) Macromolecular events during differentiations of the chicken eye lens. Exp. Eye Res., 7, 301-311.

Zwaan, J. and Kirkland, B. M. (1975) Malorientation of mitotic figures in the early lens rudiment of aphakia mouse embryos. Anat. Res., 182, 345-354.

Zwaan, J. and Williams, R. M. (1968) Morphogenesis of the eye lens in a mouse strain with hereditary cataracts. J. Exp. Zool., 169, 407-422, 1980.

(和文)

足立皓岑, 小長谷正明, 室賀辰夫, 満間照典, 仁瓶礼え, 高柳哲也, 祖父江逸郎, 織田銑一, 亀山義郎 (1977) Thyrotropin releasing hormone 投与による rolling mouse Nagoya の失調歩行への影響. 医学のあゆみ, 101, 74-75.

雨宮次生 (1980) 眼先天異常. 眼科Mook, 11, 11-21.

江崎孝三郎 (1963) mc (microphthalmia) マウスの頭蓋骨の異常についての2, 3の観察. 実験動物, 12, 135-140.

堀田凱樹 (1976) ショウジョウバエ神経系の遺伝発生学的解析. 神経系の発生と分化, 医学研究振興財団編, 235-257, 共立出版, 東京.

石垣貞夫 (1979) 遺伝性白内障. 疾患マニュアルハンドブック, 川俣順一・松下宏編, 468-470, 医歯薬出版, 東京.

亀山義郎 (1980) 眼球の発生異常. 薬物

と感覚障害, 中島章・秋吉正豊編, 52-69, ソフトサイエンス社, 東京.

亀山義郎, 中根一芳, 星野清, 織田鉄一, 伊藤米子 (1976) 実験動物における奇形ミュータントの発生遺伝学的研究. 環研年報, 27, 187-190.

桐沢光智 (1979) 眼の先天異常. 周産期医学, 9, 1305-1309.

小林守 (1972) 眼遺伝—その理論と臨床. 新臨床医学文庫 (142), 金原出版, 東京.

小林守 (1980) 眼遺伝相談. 眼科MOOK, 11, 228~237.

近藤恭司, 姫野健太郎, 生駒博雄, 葛城俊松 (1953) マウスの育種について. 農技研報告G (畜産), 7, 9-27.

馬嶋昭生・編 (1977) 眼疾患の遺伝. 臨床遺伝学叢書8, 医学書院, 東京.

水野充, 鈴木潔, 富田武, 近藤恭司 (1977) 近交系マウスにおける生化学的標識遺伝子の重要性—系統の遺伝的チェックの際

生じた問題点. 実験動物, 26, 43-49.  
 中野健司, 山本碩三, 皆掛源四郎, 小河秀  
 正, 中島章, 高野英子 (1960) マウスの  
 の遺伝性白内障について. 臨床眼科, 14,  
 1772-1776.

中島章, 加藤和男 (1976) 視力障害を伴  
 なった奇形群. 出生前の医学—先天異常  
 の基礎と臨床. 第二版, 村上氏廣・馬場一  
 雄・鈴木雅州編, 1089-1099, 医学書院,  
 東京.

西村正彦 (1974) 自然発症糖尿病. 糖尿  
 病, 糖尿病, 阿部正和編, 19-44, 講談  
 社, 東京.

織田銑一 (1973) 歩行異常マウスの発見  
 と維持. 実験動物, 22, 281-288.

織田銑一 (1980) 新たに見い出されたマ  
 ウスの遺伝性短尾 (*lethal brachyury Nagoya*,  
Lb) について. 環研年報, 31, 280-282.

織田銑一, 成瀬一郎, 早坂郁夫, 亀山義郎  
 (1982) マウス第13染色体上における

Pdn (polydactyly Nagoya) と bg (beige)

とのリンケージについて. 環研年報, 33,  
284 - 285.

大鳥寛, 吉田豊彦, 狗田忠義 (1968) マ  
ウスの小眼症をもともなう遺伝的白内障に  
ついて, 実験動物, 17, 91 - 96.

高橋正一, 長瀬すみ, 谷口芳信 (1978)  
近交系マウスにおける生化学的標識遺伝  
子の決定のための簡易検出法. 実験動物,  
27, 299 - 303.

内田璞, 西田寿夫, 松本勝治郎, 山口玲,  
脇川恵美子, 隅田義夫 (1978) 先天性  
角膜白斑の一例 - 高度の血管新生をもと  
ない無水晶体症であつた症例. 日本眼科  
紀要, 29, 203 ~ 207.

植村恭夫 (1977) 眼科領域の奇形. 医学  
のあゆみ, 103, 1004 ~ 1008.

山本節, 文順永, 初川嘉一, 伊藤宏 (1978)  
小眼球症症例. 日本眼科紀要, 29, 933 -  
239.

## 報文目録

- 1) Oda, S., Watanabe, T. and Kondo, K.: A new mutation, eye lens obsolescence, Elo on chromosome 1 in the mouse. Japan. J. Genetics, 55, 71-75, 1980.
- 2) Oda, S., Watanabe, K., Fujisawa, H. and Kameyama, Y.: Impaired development of lens fibers in the genetic microphthalmia, eye lens obsolescence, Elo of the mice. Exp. Eye Res., 31, 673-681, 1980.
- 3) Watanabe, T., Fujisawa, H., Oda, S. and Kameyama, Y.: Organ culture and immunohistochemistry of the genetically malformed lens in eye lens obsolescence, Elo of the mice. Exp. Eye Res., 31, 683-689, 1980.

## 参考文献目錄

- 1) Oda, S.: Dumpy, a new skeletal mutation in the mouse. Ann. Rep. Environ. Med. Nagoya Univ., 23, 7-12, 1978.
- 2) Kondo, K., Oda, S., Takahashi, H. and Izeki, R.: The house shrew (Suncus murinus): A new laboratory animal for the comparative study of aging. International Congress series No.469, Recent advances in gerontology, 1978.
- 3) Hoshino, K., Oda, S. and Kameyama, Y.: Tail anomaly lethal, Tal: A new mutant gene in the rat. Teratology, 19, 27-33, 1979.
- 4) Hayasaka, I., Nakatsuka, T. Fujii, T., Naruse, I. and Oda, S.: Polydactyly Nagoya, Pdn: A new mutant gene in the mouse. Exp. Anim., 29, 391-395, 1980.
- 5) Hoshino, K., Oda, S. and Kameyama, Y.: Influences of Tal (Tail anomaly lethal) gene on the teratogenicity of trypan blue in the rat. Ann. Rep. Environ. Med. Nagoya Univ., 25, 13-17, 1980.
- 6) Inouye, M. and Oda, S.: Strain specific variations in the folial pattern of the mouse cerebellum. J. Comp. Neurol., 190, 357-362, 1980.
- 7) Nagatsu, I., Kondo, Y., Inagaki, S., Oda, S. and Nagatsu, T.: Dopamine- $\beta$ -hydroxylase and tyrosine hydroxylase activities in brain regions of rolling mouse Nagoya, Biomedical Res., 1, 88-90, 1980.
- 8) Oda, S.: A new allele of tottering locus, rolling mouse Nagoya on chromosome no. 8 in the mouse. Jpn. J. Genetics, 56, 295-299, 1981.
- 9) Muroga, T., Oda, S., Kameyama, Y. and Sobue, I.: Characteristics of a new allele of tottering locus (tg<sup>rol</sup>) in the mice. Genetic approaches to developmental neurobiology. Y. Tsukada, ed., 171-181, University of Tokyo Press, Tokyo, 1982.
- 10) Oda, S., Okada, S. Y. and Kameyama, Y.: Teratogenic susceptibility of the house musk shrew, Suncus murinus, to vitamin A. Environ. Med., 26, 51-57, 1982.

- 11) 織田銑一：歩行異常マウスの発見と維持。  
実験動物, 22, 281-288, 1973.
- 12) 織田銑一, 近藤恭司：リュウキュウジャコウネズミ Suncus murinus riukiuanus, その  
実験動物化の現段階. 哺乳類科学, 33,  
13-30, 1976.
- 13) 茂原信生, 神山典子, 織田銑一：リュウキ  
ュウジャコウネズミ Suncus murinus riukiuanus  
の発育パターンについて. 哺乳類  
科学, 34, 20-25, 1977.
- 14) 織田銑一, 近藤恭司：野生食虫目の実験動  
物化. 実験動物, 26, 273-280, 1977.
- 15) 織田銑一, 茂原信生：沖縄県那覇市近郊に  
おけるリュウキュウジャコウネズミ,  
Suncus murinus riukiuanus の採集について.  
哺乳動物学雑誌, 7, 150-154, 1978.
- 16) 織田銑一：ジャコウネズミ Suncus murinus の  
日本への渡来と分布. 長崎県生物学会誌,  
15, 1-9, 1978.
- 17) 織田銑一：ジャコウネズミ Suncus murinus の飼



育方法. 長崎県生物学会誌, 16, 22-29,  
1978.

18) 織田鉄一: カヤネズミ Micromys minutus の飼  
育繁殖 - 実験動物化に向けて -, 系統生  
物, 4, 9-18, 1979.

19) 織田鉄一, 峰沢 満: 五島 (福江島・奈留  
島・中通島) の小哺乳類調査記録. 五島  
の生物 - 壱岐・対島との対比, 長崎県生  
物学会・編, 149-152, 1981.

20) 織田鉄一: 自然発生毛包脂腺系腫瘍 (スン  
クス). 疾患モデル動物 ハンドブ  
ック No. 2, 川俣順一・松下 宏・編,  
387-391, 医歯薬出版, 東京, 1982.

21) 織田鉄一: 遺伝性助椎骨形成異常 (dumpy,  
dup マウス). 疾患モデル動物ハンドブ  
ック No. 2, 川俣順一・松下 宏・編,  
229-231, 医歯薬出版, 東京, 1982.

22) 織田鉄一: 実験動物としてのスンクス - ジ  
ャコウネズミ Suncus murinus -. 遺伝, 36  
(7), 71-77, 1982.