


報告番号  第 2314 号

主論文の要旨

題名 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

氏名 織田 鉄一

主論文の要旨

報告番号 ※ 甲 第 号 氏 名 織 田 銑 一

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

小眼症マウスの発見とその遺伝子分析

C57BL/6系マウスと、偶然入手した fancy マウスとの交配から、新たな系統を育成中、その4代目に、小眼症を呈する1匹の雌マウスを発見した。特徴を観察したところ眼球のみに異常がみられ、30日齢の眼球では重量で正常の40%、直径で60~70%に縮小しており、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、左右差はみられなかった。この小眼症につき遺伝子分析を行なったところ、常染色体上の優性単一遺伝子によって支配されていることが判明した。この遺伝子は致死的でなく、多面発現もなく浸透度、表現度は完全であった。世界で53にのぼる眼に関与するミュータント遺伝子が知られているが、形質の特徴と遺伝様式からそれらに該当するものはなく、全く新しい眼に関与する遺伝子であることが判明した。そこでこの遺伝子名を eye lens obsolescence と命名し、遺伝子記号に Elo を与えることにした。

Elo 遺伝子座の存在する染色体と、その染色体上の位置

リンケージ・テストは第2染色体上の a (nonagouti), 第4染色体上の b (brown), 第5染色体上の W (white spotting), 第7染色体上の p (pink eye dilution), 第8染色体上の rol (rolling), 第9染色体上の d (dilute), 第14染色体上の s (piebald), 第1染色体上の ln (loaden), 染色体の不明な Cts (cataract and small eye) および mic (microphthalmia Japan) の各遺伝子座と Elo 座との間で行なった。その結果、ln 座との間で $9.77 \pm 0.69\%$ の組み換え価が得られた。そこで同じ第1染色体上の centro mere 側にある Idh-1 (iso citrate dehydrogenase-1) 座とのリンケージ・テストを行なったところ、 $5.93 \pm 1.29\%$ の組み換え価が得られた。このことから、

Elo 遺伝子座は第 1 染色体上にあり、その位置も上述の組み換え価の距離にあることが判明した。この位置にはまだ遺伝子座は報告されておらず、したがって Elo は新しい遺伝子というだけでなく、全く新しい遺伝子座であることもわかった。

Elo 遺伝子は顕著な繁殖障害をおこさない。多面発現はなく、他の小眼症ミュータントのように眼球の大きさの変異は少なく系統間で安定した小眼症の形質を示す。浸透度や表現度は完全である。しかも小眼症という外観から容易に判別ができる形質を示すので、Elo は第 1 染色体の標識遺伝子としてすぐれているものと考えられた。

Congenic strain, C3Hf/He - Elo の育成

ミュータントの発見、形質の特徴の把握、遺伝子分析、染色体およびその染色体の位置の確定から、遺伝子の保存を行ない、次に系統の育成、系統の維持、供試動物の生産に連続させることが、ミュータント系実験動物の育種方式である。

系統の育成では、Elo のような形質の遺伝子では遺伝子導入による Congenic strain の育成が効果的と考え、小眼症の自然発生がなく繁殖性のよい C3Hf/He 系マウスに遺伝子導入を行なった。16 世代もどし交配によって育成した C3Hf/He - Elo 系マウスは、初産日齢、出産間隔、一腹仔数、離乳率など繁殖成績が C3Hf/He 系マウスよりやや悪い傾向がみられた。しかし著しい悪影響ということではなく、系統維持、供試動物の生産には全く不都合はみられなかった。

Congenic strain, C3Hf/He - Elo 系では Idh-1 座は Idh-1^b/Idh-1^b の遺伝子型であり、C3Hf/He 系マウスでは Idh-1^a/Idh-1^a の遺伝子型であり、両者は異なっていた。このことは Congenic strain の育成過程において組み換えがおきなかったことを示している。さらに、起原となった C57BL/6 系マウスが Idh-1^a/Idh-1^a で、fancy マウスが Idh-1^b/Idh-1^b であることから、fancy マウスのもっていた染色体上で突然変異がおきたものと考えられた。

Elo 小眼症マウスの生後における形態的特徴

Elo 小眼症マウスは体重、骨、耳介、色素形成、行動、等には異常はみられず、眼球のみに異常がみられた。生後 0, 5, 15, 30, 60 の各日齢において眼球を計測

してみると、重量は62.5%、45.2%、45.1%、39.6%、29.9%に、また赤道直径では87.7%、77.2%、75.6%、69.7%、64.1%に縮小していた。絶対値としては0日齢から5日齢にかけて成長がみられたが、以後の成長はみられなかった。組織学的にみると0日齢では水晶体核は消失しているが水晶体上皮と水晶体皮質は残存していた。15日齢以上では水晶体線維構造は全て消失していた。色素上皮、脈絡膜、強膜、角膜は眼球の大きさに合わせて縮小していたが、網膜は褶曲を示していた。このことからElo小眼症では胎生期に水晶体の変性が始まっており、また水晶体の存在とその成長が眼球の成長に密接に影響していることが示唆された。一方、網膜の成長は水晶体とは独立に成長することが示された。

光学顕微鏡によるElo水晶体の発生異常の観察

胎齢11.5日には水晶体胞の後壁が肥厚、伸長しはじめ、一次水晶体線維が形成されるが、この頃までは眼球に異常はみられなかった。胎齢12日には水晶体腔が閉鎖するようになるが、Elo小眼症では水晶体後壁の伸長がややわるく、水晶体腔が残存した。また、水晶体中央の線維細胞に淡明化した核がみられた。胎齢13日には水晶体線維細胞の基底部細胞質の伸長が悪く、依然として水晶体腔が残存した。また水晶体中央の線維細胞は淡明化した核、エオジンに一樣に染色された核など変性像がみられ、また、水晶体線維の層構造に乱れがみられた。胎齢14日には水晶体中央部および後縁部の破綻が観察され、また、水晶体線維細胞の壊死像が多数観察された。この時期は水晶体上皮および皮質は正常であった。この異常が生後になって水晶体の消失へとつながるものと思われた。こうした水晶体の発生過程での異常は、白内障および他のミュータントでもみられておらず、Elo小眼症の特異的現象であることがわかった。

電子顕微鏡によるElo水晶体の発生異常の観察

胎齢12日の水晶体線維細胞の細胞核を観察したところ染色質は核膜に凝縮した像がみられ、また、核周囲腔の拡大がみられた。一方、水晶体線維細胞の伸長が悪いが、その基底部細胞質を観察したところ、多数のライソゾームがみられた。ミトコンドリアの数には異常はみられなかった。胎齢13日になると、水晶体線維細胞の基底部細胞

質では多数のライソゾームの出現とともに、ミトコンドリアがほとんどみられず、多くのミエリン様の像がみられた。ミトコンドリアの変性が、エネルギー供給不足をおこし、微小細管の合成を阻止し、その結果線維細胞の伸長阻害をひきおこす可能性が考えられた。

Elo 眼原基の器官培養

眼球以外の因子、例えば血管、ホルモン、薬物、等の影響によって Elo 水晶体の異常がおきるかどうか、を調べるために眼球の器官培養を行なった。胎齢 10 日および 11 日の眼原基を 3 日間培養したところ *in vivo* の 13 日、14 日齢に対応した水晶体および水晶体線維細胞の異常が観察された。したがって Elo 小眼症は、眼球以外の因子によって、ひきおこされる異常ではないことが判明した。

水晶体の免疫組織化学

眼球水晶体では水晶体上皮が線維細胞に分化すると同時期に水晶体特異タンパクである γ -クリスタリンが合成される。Elo 水晶体では γ -クリスタリン合成の異常がみられるかどうかを知るために免疫組織化学を行なった。その結果、 γ -クリスタリンの免疫蛍光は胎齢 12 日、13 日、14 日、新生仔の水晶体線維細胞に全てみられ、水晶体上皮にはみられなかった。水晶体線維細胞に異常がおきていても、 γ -クリスタリンは存在していることを示す。このことから、線維細胞における γ -クリスタリンの合成は正常と考えられ、したがって Elo では γ -クリスタリン合成の異常によって水晶体線維細胞の変性がおきるものではないことが判明した。

疾患モデルとしての検討

ヒトの小眼症を遺伝様式によって分類すると、①常染色体上の劣性遺伝のもの ②常染色体上の優性遺伝のもの ③性染色体上の遺伝のもの ④多因子性遺伝のもの ⑤染色体異常に伴うもの に分類できる。したがって Elo 小眼症は②に分類できる。しかしながら、②に入るものも形質の点で見るとマウスにみるように多数の遺伝子があるものと考えられるが、ヒトの場合はいまのところ Elo のような発生異常は知られ

ていない。疾患モデルを広義の意味でいえば 予防, 診断, 治療, 教育, 基礎研究に役立つものとなる。Eloの疾患モデルとしての有用性は, したがって小眼症の分類・診断, 教育, 基礎研究にあるものと考えられた。