

| | | | |
|---------|---|----------|----------|
| 氏名 | 曾川 千鶴 | | |
| 授与した学位 | 博士 | | |
| 専攻分野の名称 | 学術 | | |
| 学位授与番号 | 博乙第4400号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成25年 3月25日 | | |
| 学位授与の要件 | 博士の学位論文提出者 (学位規則第5条第2項該当) | | |
| 学位論文の題目 | <i>Npr2</i> 遺伝子の突然変異により C 型ナトリウム利尿ペプチド受容体の機能が欠損した SLW マウスに関する研究 | | |
| 論文審査委員 | 教授 国枝 哲夫 | 教授 近藤 康博 | 准教授 辻 岳人 |

学位論文内容の要旨

Short-limbed dwarfism (SLW) マウスは、矮小と消化管へのガスの充満による腹部の膨張を呈し、多くが離乳前に死亡するミュータントマウスである。稀に成体まで成長した個体では多くの場合産仔を得られない。SLW マウスのこのような特徴から、この表現型を引き起こす原因遺伝子が同定できれば、骨形成や消化管機能障害また不妊症などのヒト疾患モデルとして、臨床応用にむけた多くの重要な知見を得ることが期待できる。そこで本研究では SLW マウスの表現型を引き起こす原因遺伝子の同定を試みるとともに、詳細な表現型の解析をおこなった。

はじめに交配実験による遺伝様式の決定と、SLW マウスの骨形態の観察をおこなった。その結果、SLW マウスの矮小を引き起こす表現型は常染色体単一劣性の遺伝様式に支配され、矮小の表現型は増殖軟骨細胞と肥大軟骨細胞の減少から内軟骨性骨化の障害に起因した骨伸長に障害を持つことが示唆された。次いで原因遺伝子 *s1w* の染色体上の位置の特定、原因遺伝子 *Npr2* (C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) の受容体 NPR-B の遺伝子) の同定、*Npr2* に生じた突然変異の解明を行った。その結果、*s1w/s1w* の *Npr2* では 7 塩基の欠失が生じ、フレームシフトによるナンセンス変異を引き起こし NPR-B の機能が消失していることが明らかとなった。続いて、SLW マウスの消化管障害が *Npr2* の変異に起因していること、マウス消化管において、NPR-B を介した CNP による作用は、幽門と大腸に特異的であることを明らかにした。消化管断片の薬理反応実験の結果、正常マウスの胃幽門部と結腸は CNP 添加による弛緩反応が示されたのに対し、*s1w/s1w* では弛緩反応が起らなかった。しかし小腸は正常個体および *s1w/s1w* の両方で CNP による弛緩反応は示されなかった。CNP 静脈投与による cGMP 生成量は、正常マウスの幽門、結腸および直腸において顕著に増加したのに対し、遠位小腸では cGMP の増加はほとんどみられなかった。また、*s1w/s1w* 消化管では CNP の投与による cGMP の増加は示されなかった。さらに、*s1w/s1w* の精巣では生後最初の精子形成である。ファーストウェブに特異的に異常が現れ、対合異常やパキテン期後期でのアポトーシスが多数認められた。

以上の本研究においては、矮小と消化管機能の異常および不妊を呈する SLW マウスの解析から、NPR-B を介した CNP のシグナルが内軟骨性骨化制御機構に重要であること、このシグナルが消化管のうち幽門と大腸に部位特異的な弛緩作用をもつこと、また精子形成に時期特異的に作用する可能性を明らかにした。*s1w/s1w* に現れた表現型は、骨伸長や消化管機能をはじめ、精子形成にいたるまでの生後から成長期の身体の発達期に関わりを持つことから、これらの機構の解明により、この時期にみられる疾患治療の発展に貢献することが期待できる。さらに SLW マウスは、CNP/NPR-B の生理機能の解析とともに、*NPR2* 遺伝子の突然変異により軟骨形成不全症となるヒト AMDM 患者や、ヒト乳幼児肥厚性幽門狭窄症や腸閉塞、腸捻転などの消化管の狭窄異常に関連した疾患の病態解明や治療法開発に向けた新しいモデル動物として有用となると考えられた。

論文審査結果の要旨

本研究は、C型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）受容体である NPR-B の遺伝子が欠損により、矮小、消化管機能異常、不妊を呈する SLW マウスを用いてほ乳類の骨形成、消化管機能および生殖機能における CNP/NPR-B の機構の解明を試みたものであり、その主な結果は以下の通りである。

まず、交配実験により SLW マウスの表現型は常染色体単一劣性の遺伝様式に支配され、内軟骨性骨化の障害に起因した骨伸長に障害を持つこと明らかにするとともに、これらの異常の原因として *Npr2* (NPR-B の遺伝子) に生じた 7 塩基の欠失に起因するフレームシフト変異を明らかとしている。続いて、CNP を用いた薬理反応実験により、SLW マウスにみられる消化管機能障害が *Npr2* 遺伝子の変異に起因していること、マウス消化管において NPR-B を介した CNP による作用は胃の幽門部と大腸に特異的であること、SLW マウスの消化管では CNP の投与による cGMP の増加は示されないこと CNP の投与は正常マウスにおいて消化管内容物の胃からの排出を促進することを明らかにしている。さらに SLW マウスの精巣では生後最初の同調した精子形成であるファーストウェブに特異的に異常が現れ、同調した精子形成の進行の乱れとパテキン期後期での精母細胞のアポトーシスの増加が認められることを明らかにしている。これらの結果から、ほ乳類の NPR-B を介した CNP のシグナルが内軟骨性骨化の制御機構に重要であること、このシグナルが消化管のうち胃の幽門部と大腸に部位特異的な弛緩作用をもつこと、また精子形成に時期特異的に作用することを結論づけている。また、SLW マウスは CNP/NPR-B の生理機能の解析とともに、*NPR2* 遺伝子の突然変異により軟骨形成不全症となるヒト AMDM 患者や、ヒト乳幼児肥厚性幽門狭窄症や腸閉塞などの消化管の狭窄に関連した疾患の病態解明や治療法開発に向けた新しいモデル動物として有用となることも結論づけている。

以上の本研究の結果は、ほ乳類の骨形成、消化管機能および生殖機能における CNP/NPR-B の機能を明らかにしたものである、CNP/NPR-B の生理機能を解明する上で重要な知見であると考えられ、当該研究分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、曾川千鶴氏は自然科学研究科の博士（学術）の学位を受ける資格があるものと判定した。