

氏 名（本籍）	藤 井 咲 子 （北海道）
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博乙第9号
学 位 授 与 年 月 日	平成9年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 題 目	遺伝性眼瞼開存症マウスの系統育成と異常の発現 機序に関する研究
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教 授 小久江 栄 一 副査 帯広畜産大学 教 授 齊 藤 篤 志 副査 岩 手 大 学 教 授 岡 田 幸 助 副査 東京農工大学 教 授 神 田 尚 俊 副査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝

論 文 の 内 容 の 要 旨

本論文は論文提出者が、その所属する研究所で発見したNC系マウスの遺伝性眼瞼開存症について、その系統を育成し、遺伝様式と遺伝形質を明らかにし、その異常発現の機序について探索・検討した一連の研究をまとめたものである。

論文は8つの章から成っており、そのうち第2章から第7章に一連の研究が記載されている。第2章「突然変異体の発見と系統育成」では、離乳時点で眼球の白濁と小眼球症疾患の外観を呈するマウス新生子の発見を端緒に、眼瞼開存症の形質が固定された経緯を述べ、その症状の特徴、異常個体同士の兄妹交配によるミュータント系の作出について記載してある。第3章「遺伝様式の検討」では、このミュータント系の遺伝様式について述べてある。異常個体同士の交配、異常個体と正常個体の正逆交配、そこから得られたF1雌雄の交配、F1の異常両親への戻し交配による異常仔の出現率から、この異常が常染色体性劣性単一遺伝子によって支配されていることを明かにし、この遺伝子を **[eyelid open at birth]** と命名し、遺伝子記号 **eob** を提案した。第4章「遺伝形質の検討」では、眼組織以外の奇形と骨格異常の有無を肉眼的に調べたが、妊娠18日の胎仔では眼瞼開存症以外には異常は認められなかったこと、眼瞼が開存したままであるために角膜損傷が起こり、そのための行動抑制採食不良などにより生存率が一時的に低下するが、その時期を耐過すれば眼組織以外は正常な発育を示し、繁殖能力も獲得する事を記載している。第5章「胎仔における眼瞼開存症の発現過程の検討」では、マウス胎仔の妊娠13日目から17日目の形態を実体顕微鏡、走査型電子顕微鏡、光学顕微鏡を使って観察し、正常胎仔なら15日目以降に出現する眼瞼縁の球形細胞が異常胎仔では見られないこと、球形細胞

胞の出現とそれに続く上皮細胞層増加が起こらないことが、**eob** マウスの眼瞼開存に繋がることを記載した。第6章「成長因子としてのグルコルチコイドに対する胎仔眼瞼の反応の検討」では、種々動物での眼瞼開存症では、胎子期でのグルコルチコイド（GC）分泌が不足しているために起こる事例が多いことから、**eob** マウスでの異常も母体又は胎仔自身から分泌するGC量の不足が原因ではないかとの仮説を立て研究し、その結果を記載した。妊娠母体に合成GCを投与すると正常胎仔では眼瞼閉鎖が急速に進むが、異常胎仔の場合は殆ど閉鎖反応が無かった。従ってこの異常発現は、GC分泌量の不足とは関係ないという結論である。第7章「胎仔眼瞼におけるグルコルチコイド受容体の検索」では、前章で**eob** マウスのGCに対する反応性が極めて低かった原因として、GC受容体数が少ないためではないかとの仮説を立て、妊娠14及び15日の胎仔の頭部横断切片についてについて、受容体を間接免疫法による免疫組織学的な手法で染色し、眼瞼上皮および間葉細胞の染色密度を画像解析した。その結果、異常胎仔の場合は眼瞼間葉における受容体数が正常胎仔の60%程度しかなく、分泌したGCに対して十分に反応できず、これが原因で眼瞼閉鎖が十分に起こらないことが本ミュータント系発現の原因の一つであろうとしている。

以上の各章での研究内容について第8章で総合考察をし、本ミュータント系の異常発現機序として胎生期に眼瞼縁上皮の増殖分化が足りないことが直接的な原因であり、その素因となる生体内機構を探索した結果、眼瞼間葉のグルコルチコイド受容体数の不足を挙げている。しかし同時に、本症の発生原因としてはその他の要因についても考慮しなければならないことを論文中に記載しており、さらなる機序解明の研究が必要であるとして論文を終えている。

主指導教官 東京農工大学 小久江栄一

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、学位申請者がその所属する研究所で発見したNC系マウスの遺伝性眼瞼開存症について、自らその系統を育成し、遺伝様式と遺伝形質を明らかにし、その異常発現の機序を解明した一連の研究をまとめたものである。

論文は8つの章から成っており、そのうち第2章から第7章に一連の研究が記載されている。第2章「突然変異体の発見と系統育成」では、眼瞼開存症の発見の経緯とその症状の特徴、兄妹交配によるミュータント系の作出について記載してある。第3章「遺伝様式の検討」では、F1雌雄交配、F1の異常両親への戻し交配による異常仔の出現率から、この

異常が常染色体性劣性単一遺伝子によって支配されていることを記載した。第4章「遺伝形質の検討」では、奇形の表現型を肉眼的に調べたところ、眼組織以外には異常は認められないが、眼瞼が開存したままであるために角膜損傷が起こり、そのための行動抑制採食不良などにより、生存率が低下する事を記載している。第5章「胎仔における眼瞼開存症の発現過程の検討」では、マウス胎仔の妊娠13日目から17日目の形態を実体顕微鏡で観察し、正常胎仔なら15日目以降に出現する眼瞼縁の球形細胞が、異常胎仔では見られないこと発見し、球形細胞の出現とそれに続く上皮細胞層増加が起こらないことが、眼瞼開存に繋がることを記載した。第6章「成長因子としてのグルコルチコイド(GC)に対する胎仔眼瞼の反応の検討」では、この異常が母体又は胎仔自身から分泌するGC量の不足が、本症の原因ではないかとの仮説を立てた研究結果を記載した。妊娠母体に合成GCを投与すると、正常胎仔では眼瞼閉鎖が促進されるが、異常胎仔の場合は殆ど変化が見られなかった。従ってこの異常発現は、GC分泌量の不足とは関係ないことを証明した。第7章「胎仔眼瞼におけるグルコルチコイド受容体の検索」では、妊娠14及び15日の胎仔について、GC受容体数を免疫組織学的な手法で解析した結果を記載している。異常胎仔の場合は眼瞼間葉における受容体数が正常胎仔の60%程度しかなく、そのため眼瞼の成長促進が十分に起こらないことが眼瞼開存症発現の原因であるとした。

本論文については、平成9年2月5日の学位審査会(東京農工大学)に先立ち、各審査委員によって十分な査読が行われ、いくつかの指摘に対して申請者から適切な対応がとられた。論文の内容はその独創性、研究推進のための科学的思考法、実験結果の説得力の高い記載様式などから、また学位論文の主要部分が国際的な学術論文に掲載されていることから判断して、審査委員全員一致で、同申請論文が岐阜大学大学院連合獣医研究科の博士(獣医学)の学位論文として十分価値のあるものと認めた。