

|             |                                                                                                |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | なり 成 田 まき 子                                                                                    |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                                                                                      |
| 学 位 記 番 号   | 医 博 第 2532 号                                                                                   |
| 学位授与の日付     | 平 成 14 年 11 月 25 日                                                                             |
| 学位授与の要件     | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                        |
| 研 究 科 ・ 専 攻 | 医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻                                                                            |
| 学位論文題目      | Genetic analysis of Nakano cataract and its modifier genes in mice.<br>(Nakano マウスの遺伝解析と修飾遺伝子) |

論文調査委員 (主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 本 田 孔 士 教 授 日 合 弘

### 論 文 内 容 の 要 旨

Nakano cataract (NCT) マウスは1960年に中野らが発見した白内障を自然発症する常染色体劣性単一遺伝マウスである。

NCT の白内障発症については、内因性の Na, K-ATPase inhibitor により Na, K-ATPase 活性が減少することに起因する osmotic cataract であること、Na, K-ATPase inhibitor は10kDa のペプチドであることがわかっているが、発症機構の本質的な解明には至っていない。

NCT 原因遺伝子は NCT の congenic 系として確立された BALB/C-*nct/nct* と野生由来の近交系 *Mus molossinus* (MSM/Ms) とのバッククロス動物 BALB/C-*nct/nct*×(BALB/c-*nct/nct*×MSM/Ms) を用いて第16染色体上 38-43cM の位置にマップされた。本論文では1,000頭のバッククロス動物を用いてさらに詳細にマッピングし、第16染色体上 *D16Mit5* と *D16Mit85* の間の 0.7cM の範囲に領域を狭めた。これはポジショナルクローニングで遺伝子を同定するための重要な情報となる。

NCT マウスの白内障は生後3週にレンズ核が急激に白濁する pin-head type であるが、BALB/C-*nct/nct* は発症時期が遅く、レンズの白濁も diffuse で緩慢である。BALB/C-*nct/nct*×(BALB/C-*nct/nct*×MSM/MS) のレンズを観察すると NCT マウスと同様の pin-head type と生後5-6週で発症する BALB/C-*nct/nct* と同様の diffuse type が分離して出現した。肉眼的に白内障を観察するまでの pin-head type と diffuse type の病理組織像を比較すると、両タイプとも bow 域レンズ上皮細胞核の残存、赤道部でのレンズ上皮細胞の膨化・空胞、前・後極部およびレンズ核周囲線維の変性がみられるが、pin-head type は生後3週から急激にレンズ核の濃縮・変性が進行し、diffuse type では核周囲、前極、後極部線維に限局した変性が緩やかに進行する。SDS-PAGE でレンズタンパクを分析すると、BALB/c-*nct/nct* およびバッククロスの白内障レンズでは、正常および白内障発症以前のレンズではみられない 26kDa および 20k Da 以下の水溶性タンパクが出現し、29kDa の水溶性タンパクが消失していた。これは pin-head type, diffuse type と同様で、クリスタリンの分解によるものと考えられた。

NCT の白内障病型 subtype はほぼ st modifier gene によると考えられ、バッククロス動物の2つの subtype の分離比から修飾遺伝子は複数であることが推察された。pin-head type, diffuse type それぞれ50頭を用い、マイクロサテライトマーカーでスクリーニングした結果、*D3Mit12* と *D3Mit41* で  $\chi^2$  値 13.1 ( $P=2.9 \times 10^{-4}$ )、*D10Mit151* で  $\chi^2$  値 8.3 ( $P=3.9 \times 10^{-3}$ ) を示した。*D3Mit12* と *D3Mit41* の間には Na, K-ATPase  $\alpha$  subunit と gap junction の構成成分である Gja8 と Gja5、*D10Mit151* 近傍にはレンズタンパクの MIP26 が存在する。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Nakano cataract (NCT) マウスは常染色体劣性単一遺伝による白内障ミュータントである。内因性の抑制ペプチドの形成により Na, K-ATPase 活性低下をきたす osmotic cataract と推定されている。申請者は NCT のコンジェニック系

BALB/c-*nct/nct* マウスと MSM/Ms 系との1000頭の戻し交配系を遺伝解析し、責任遺伝子の所在を第16染色体上で *D16Mit5* と *D16Mit185* の間の 0.7cM の領域に狭めた。

Nakano マウスの白内障はレンズ核が急激に白濁する pin-head type であるが、BALB/c-*nct/nct* では発症時期が遅く、緩慢な核周囲皮質線維の変性による diffuse type である。戻し交配系ではこの両型が分離して出現した。戻し交配世代の解析からこのようなサブタイプの分離に与る 2 つの modifier 遺伝子を第 3, 第10染色体にそれぞれマップした。

以上の研究はレンズの透明性保持の分子生物学的理解に貢献するものである。従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位申請者は、平成14年10月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。