

氏 名	清 水 基 行
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2092 号
学位授与の日付	平 成 11 年 3 月 23 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 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Identification of peak bone mass QTL using a spontaneously osteoporotic mouse strain に関する研究 (骨粗鬆症自然発症マウス系統を用いた peak bone mass QTL の同定) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 日 合 弘 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 中 村 孝 志

論 文 内 容 の 要 旨

老年性骨粗鬆症発症に及ぼすpeak bone massの影響は重要で、成長期に十分なpeak bone massが得られなければ老年期において、より早期に骨折閾値に達する。また、ヒトの骨量の遺伝形式はポリジーン系であり、peak bone massは重要な遺伝因子の一つと考えられている。老化促進モデルマウス (SAM) の各系統の骨量は生後4, 5ヶ月でピークに達した後、直線的に減少する。その中でも、最低のpeak bone massを示す老年性骨粗鬆症モデルマウスSAMP6は、最大のSAMP2との交配実験の結果、その遺伝形式がポリジーン系であり、最低3個の遺伝子が関与することが示唆されている。本研究では、上記2系統のF₂交雑マウスを作製し、peak bone massに連鎖するQTL (quantitative trait loci) の解析を行った。

SAMP6, SAMP2, F₁及びF₂各々の4ヶ月齢マウスの大腿骨骨量をマイクロデンスITロメトリー法にて測定し、大腿骨中央部の直径を骨皮質の厚さで除した値であるcortical thickness index (CTI) をパラメーターとして使用した。DNAは肝臓より抽出し、マイクロサテライトプライマーを用いてPCRを行い、4%アガロースゲル電気泳動にて遺伝子型を調べた。最初に、SAMP6, SAMP2間で多型を示す90個のマイクロサテライトマーカーを平均15.1cMの間隔で配置し、F₁雄246匹の骨量の分布中、上下各10%を示す計48匹のマウスのDNAを用いて各個体の遺伝子型を調べ、全染色体をスクリーニングした。更に、連鎖を認めた染色体ではF₂雄246匹全ての遺伝子型を調べ、interval mapping approachの機能を持つMAPMAKER/QTL (version3.0) を用いて連鎖解析を施行し、multiple regression analysisの機能を持つQTL Cartographer (version1.12) にて確認をした。

F₁及びF₂のCTIの平均値はP6, P2の平均値のほぼ中央の値を示し、F₂の分散はSAMP6, SAMP2, F₁の各分散よりも大であり、相加的な遺伝形式が示唆された。F₂雄246匹のCTIはほぼ正規分布を呈し、連鎖解析の結果、第11及び13染色体にQTLが存在する事が示された。maximum lod scoreは第11染色体では動原体より51.8cM遠位で10.8、第13染色体では8.3cM遠位で5.8を示し、連鎖の有意レベルと推奨されている3.3以上であった。また、total varianceに占める割合は各々22.2%, 10.0%であった。X染色体では、SAMP6の対立遺伝子が高骨量、SAMP2の対立遺伝子が低骨量と弱く逆相関する結果を得たが、これはF₁及びF₂交雑マウスの骨量の分布と一致した。

候補遺伝子としては第11染色体上に、I型コラーゲン α 鎖や顆粒球コロニー刺激因子等が挙げられる。また今後、QTL上にSAMP6の対立遺伝子を持つinterval-specific congenic strain, また逆にSAMP2の対立遺伝子を持つcongenic strainの作製を行い、骨量を測定して今回同定された遺伝子座にQTLが存在することを確認する必要がある。

本研究の意義は、peak bone massに連鎖するQTLを同定したことにより、老年性骨粗鬆症の原因遺伝子の解明に結び付く有力な手掛かりを与えたことである。

論文審査の結果の要旨

老化促進モデルマウス (SAM) の 1 系統である SAMP 6 は、最低の peak bone mass を示し、最大の SAMP 2 との交配実験の結果、その遺伝形式がポリジーン系で、最低 3 個の遺伝子が関与することが示唆されている。本研究では、peak bone mass に連鎖する QTL (quantitative trait loci) を同定した。

上記 2 系統から作製した 4 か月齢 F_2 交雑マウスの大腿骨々量をマイクロデンシトメトリー法にて測定した後、 F_2 雄 246 匹の骨量の分布中、上下各 10% に相当する計 48 匹のマウスの DNA を用いて、SAMP 6・SAMP 2 間で多型を示す 90 個のマイクロサテライトマーカーに PCR を行い、全染色体をスクリーニングした。更に、連鎖を認めた染色体では F_2 雄 246 匹全てに genotyping を行い、第 11, 13 染色体に QTL の存在が示された。X 染色体では、SAMP 6 の allele が高骨量と弱く逆相関する結果を得たが、これは F_1 及び F_2 交雑マウスの骨量の分布と一致した。

以上の研究は、peak bone mass に連鎖する QTL を同定したことにより、老年性骨粗鬆症の原因遺伝子の解明に寄与するところが多い。

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。

尚、本学位授与申請者は、平成 11 年 1 月 18 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。