

| | |
|---------|--|
| 氏名 | 増井 則夫 |
| 授与した学位 | 博士 |
| 専攻分野の名称 | 農学 |
| 学位授与番号 | 博乙第3990号 |
| 学位授与の日付 | 平成16年 9月30日 |
| 学位授与の要件 | 博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当) |
| 学位論文の題目 | MOLECULAR GENETIC APPROACH FOR ESTABLISHING A SET OF COMBINED IMMUNODEFICIENT DA/Slc- <i>Foxn1^{nu}</i> <i>Lyst^{bg}</i> CONGENIC RAT STRAINS (複合免疫疾患 DA/Slc- <i>Foxn1^{nu}</i> <i>Lyst^{bg}</i> コンジェニックラット系統群の 樹立における分子遺伝学的アプローチ) |
| 論文審査委員 | 教授 佐藤勝紀 教授 国枝哲夫 教授 近藤康博 |

学位論文内容の要旨

癌・移植研究に利用されるヌードラットは、*Foxn1^{nu}*遺伝子によりT細胞の機能欠損を発現するが、同時に高いNK細胞活性を有する。一方、ヒトChediak-Higashi症候群 (CHS) のモデルであるベージュラットは、*Lyst^{bg}*遺伝子による低いNK細胞活性を特徴とするため、これらの遺伝子による新たな複合免疫疾患ダブルミュータントラットとそのコンジェニックラット系統群の樹立を試みた。

系統群の樹立はDA-*Foxn1^{nu}*/+ *Lyst^{bg}*/+ を作出し、連続戻し交配と分子遺伝学的診断法により世代更新を進めた。まず、*Lyst^{bg}*遺伝子の連鎖地図の作成と分子遺伝学的診断法の開発を行った。167匹の戻し交配個体による連鎖解析の結果、*Lyst^{bg}*遺伝子はラット第17染色体長腕のテロメア近傍にマップされた。また、long-nested PCR-RFLP法を用いることにより*Lyst*遺伝子座のゲノムDNAによる分子遺伝学的診断法の樹立に成功した。さらに、461座位のマイクロサテライトマーカーによるゲノムスキャンを実施したところドナーとレシピエント間に20座位の多型背景遺伝子が確認され、marker-assisted法による個体選抜の基準となった。

新たに樹立された系統群の血液学的性状や出血時間、NK細胞活性を調べたところDA/Slc-*Foxn1^{nu}*/*Foxn1^{nu}* *Lyst^{bg}*/*Lyst^{bg}* ラットは非常に低いNK細胞活性を示した。本系統は、出生早期における高死亡率や出血傾向を示すことからヒトCHSの重篤な病態モデルとして、また、DA/Slc-*Foxn1^{nu}* *Lyst^{bg}* 系統群は、各構成系統に特質されるT細胞機能とNK細胞活性上の疾患の多様性から移植や癌・免疫機構の研究を始め広範な研究分野に有用と考えられる。

論文審査結果の要旨

疾患モデルラット、とりわけ複合疾患ダブルミュータントラットの樹立と特性解析は種々の疾患の原因解明にとって重要な課題である。本研究はT細胞の機能欠損を発現する*Foxn1^{rmu}*遺伝子とNK細胞活性を低くする*Lyst^{bg}*遺伝子を併せ持つ新たな複合免疫疾患ダブルミュータントとそのコンジュニクラット系統群の樹立を試みた。その結果、

- ①167匹の (DA/Ham-*Lyst^{bg}*/*Lyst^{bg}* x BN/Ham) F1 x DA/Ham-*Lyst^{bg}*/*Lyst^{bg}* 戻し交配個体による連鎖解析により、*Lyst^{bg}*遺伝子はラット第17染色体長腕のテロメア領域にマップされ、*Lyst*遺伝子近傍に新たに12座位のマイクロサテライトマーカーを配置することができた。
- ②発現形質からは判定不可能な*Lyst*遺伝子座の野生型とヘテロ型個体及びallele (bgとbg-Kyo) について、ゲノムDNAを用いたlong-nested PCR法により容易に識別を可能にした。
- ③DA/S1c-*Foxn1^{rmu}*/+ *Lyst^{bg}*/+ラットを作出し、分子遺伝学的手法による導入疾患遺伝子の診断より選別された個体のみをレシピエントへ連続戻し交配8世代行って、系統群を樹立した。
- ④新たに樹立した系統群のうち、DA/S1c-*Foxn1^{rmu}*/*Foxn1^{rmu}* *Lyst^{bg}*/*Lyst^{bg}*ラットでは非常に低いNK細胞活性が認められた。

以上、本研究は新たな複合免疫疾患ラットの樹立法を確立するとともに、樹立した系統群が移植、癌、免疫などの広範な研究分野に有用となることを明らかにしたもので、博士（農学）の学位に値するものと判定した。