

氏名	大谷 真
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4148号
学位授与の日付	平成18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	マウスの <i>Ednrb</i> 遺伝子における突然変異の発生機構および表現型に与える影響に関する研究
論文審査委員	教授 国枝哲夫 教授 佐藤勝紀 教授 近藤康博

### 学位論文内容の要旨

エンドセリンBレセプター (ETB) 遺伝子 (*Ednrb*) は、脊椎動物の胚発生において、神経堤由来の腸管神経節細胞および色素細胞、内耳の中間細胞の遊走・分化に極めて重要な役割を果たしており、ETB が完全欠損している WS4 マウス ( $s^{WS4}/s^{WS4}$ ) は巨大結腸症、白斑、および難聴を呈し、ETB の機能が低下している piebald(*s/s*) は難聴と白斑を呈する。これらのマウスは *Ednrb* 遺伝子に異なった突然変異を持ち、それに伴う ETB の機能の差により表現型が異なることが推測されている。そこで本研究では、*Ednrb* 遺伝子に異なる変異をもつマウスにおいて、それぞれの突然変異の発生機構を解析するとともに、これらのマウスの表現型の違いについて比較を行った。

毛色の白斑および難聴を呈する *s/s* の表現型は、これまでの研究で *Ednrb* 遺伝子の第1イントロンへの挿入により *Ednrb* mRNA の発現量が減少することに起因すると考えられている。そこで、挿入配列を明らかにするため、挿入部位の塩基配列を解析したところ、挿入配列は全長 5056bp であり、その構造は両末端同方向繰り返し配列 (LTR) などが存在することから、挿入配列はマウスの転移因子である ETn 様のレトロトランスポゾンであることが明らかになった。さらに、この挿入により挿入配列を含む異常転写物が生成され、正常な転写物の発現量が大きく減少していることが明らかとなった。

次に、*s/s* の系統において発生した全身がほぼ黒色の被毛を呈する個体は、*s/s* の復帰突然変異体 ( $s^+/s^+$ ) である可能性が考えられたため、 $s^+/s^+$  の *Ednrb* 遺伝子の塩基配列について解析を行った。その結果、 $s^+/s^+$  の *Ednrb* 遺伝子の第1イントロン内には、単独の LTR のみが存在しており、もう片方の LTR とレトロトランスポゾンのコア領域は欠失していたため、*s/s* から  $s^+/s^+$  の表現型の復帰は、このコア領域と片方の LTR の欠損に起因していることが明らかとなった。一方で *Ednrb* mRNA の発現量は、 $s^+/s^+$  と野生型 (+/+) では大きな相違は見られなかったが、 $s^+/s^+$  の腹部には +/+ にはみられない白斑が観察されることから、ETB の機能は、*s+* では + に比べて低下していることが考えられた。

最後に、*Ednrb* の異なった突然変異が表現型に与える影響を検討するため、 $s^{WS4}/s^{WS4}$ 、*s/s*、 $s^+/s^+$  について、遺伝子型の判別を可能にする PCR タイピング法を確立し、各遺伝子型の表現型を比較した。その結果、腸管神経節は  $s^{WS4}/s^{WS4}$  のみが影響を受け、内耳は  $s^{WS4}/s^{WS4}$ 、*s/s*、毛色は +/+ 以外のすべての遺伝子型が影響を受けた。また、雄の生殖機能はいずれも影響を受けないことが観察された。したがって、 $s^{WS4}$ 、*s*、 $s^+$  の各対立遺伝子型が与える影響は、腸管、内耳、毛色、生殖機能など着目する表現型により異なることが明らかとなった。以上の結果は、エンドセリンの個体の発生における役割を解明する上で重要な知見であると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、エンドセリン B レセプター遺伝子に異なったの突然変異を持つミュータントマウスについて、突然変異の発生機構とそれらの突然変異が表現型に与える影響の解明を試みたものである。その主な結果は以下の通りである。

エンドセリン B レセプター (ETB) は、脊椎動物の胚発生において神経堤由来の細胞の遊走・分化に極めて重要な役割を果たしており、ETB が完全欠損している WS4 マウス ( $s^{ws4}/s^{ws4}$ ) は巨大結腸症、白斑、および難聴を呈し、ETB の機能が低下している piebald( $s/s$ ) は難聴と白斑を呈する。これらのマウスはエンドセリン B レセプター (*Ednrb*) 遺伝子に異なった突然変異を持ち、それに伴う ETB の機能の差により表現型が異なることが推測されている。そこで、本研究では、これらのマウスにおける *Ednrb* 遺伝子の突然変異の解析を行っている。まず、 $s/s$  の表現型は、*Ednrb* mRNA の発現量が減少することに起因すると考えられていることから、*Ednrb* 遺伝子の塩基配列を解析したところ、全長 5056bp の挿入配列が第 1 イントロン中に存在し、この配列はレトロトランスポゾン様の構造をもつことを明らかにしている。さらに、この配列の挿入により挿入配列を含む異常転写物が生成され、正常な転写物の発現量が大きく減少していることが明らかとしている。次に、この  $s/s$  の系統に発生した全身がほぼ黒色の被毛を呈する個体は、 $s/s$  の復帰突然変異体 ( $s^+/s^+$ ) である可能性が考えられたため、 $s^+/s^+$  の *Ednrb* 遺伝子について解析を行っている。その結果、 $s^+/s^+$  の *Ednrb* 遺伝子の第 1 イントロン内には、単独の LTR のみが存在しており、 $s/s$  から  $s^+/s^+$  の表現型の復帰は、 $s/s$  における挿入配列の片方の LTR 除いた配列の欠失に起因していることが明らかとしている。また、 $s^+/s^+$  個体の腹部には野生型である  $+/+$  個体にはみられない白斑が観察されることから、ETB の機能は、 $s^+$  では  $+$  に比べて低下していると結論づけている。最後に、*Ednrb* の異なった突然変異が表現型に与える影響を検討するため、 $s^{ws4}$ 、 $s$ 、 $s^+$  について、各遺伝子型の表現型を比較している。その結果、腸管神経節の欠損は  $s^{ws4}/s^{ws4}$  のみが影響を受け、内耳の色素細胞は  $s^{ws4}/s^{ws4}$ 、 $s/s$  が、表皮の色素細胞は  $+/+$  以外のすべての遺伝子型が影響を受けていることを明らかにしている。したがって、 $s^{ws4}$ 、 $s$ 、 $s^+$  の各対立遺伝子型が個体の表現型に与える影響は、腸管、内耳、毛色など着目する表現型により異なると結論づけている。

以上の結果は、エンドセリンの個体の発生における役割を解明する上で重要な知見であると考えられ、当該分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、大谷真君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。