

学位論文題名

ラットに出現したムコ多糖症 VI 型に関する研究

—特に本症ラットの生化学的異常と遺伝学的ならびに形態学的特徴について—

学位論文内容の要旨

ムコ多糖症は glycosaminoglycan (G A G) を分解する酵素の遺伝的欠損により生ずる蓄積病であり、代表的な先天性代謝異常疾患の一つである。ムコ多糖症では、分解酵素の欠損によって分解されなかった G A G が、全身の諸臓器・組織の細胞のリソソーム内に異常に蓄積し、尿中へも大量に排泄される。

動物繁殖研究所において、継代・維持されている Ish 系ラット（イシバシラット由来のミュータントで副乳頭形成、貧毛を特徴とする）に、矮小体でずんぐりとした、鼻梁の短い異常ラットが出現した。この異常ラットは本研究により、ムコ多糖症 VI 型であることが明らかとなった。本研究では、その異常ラットを生化学的、遺伝学および形態学的に検索し、その本態を明らかにした。

異常ラットの尿は、簡便法であるスポットテストにて陽性を示し、G A G を含んでいた。その尿中の G A G 量は正常ラットの 5～6 倍に増加していた。尿中の増加している G A G の種類を電気泳動法により分析した結果、デルマタン硫酸が主体をなしていた。尿の生化学的検査結果を基に、異常ラットの肝臓についてデルマタン硫酸を分解する関連酵素の活性値を測定した。その結果、異常ラットではデルマタン硫酸を分解する酵素の一つである arylsulfatase B の活性値が極めて低値（正常個体の 5%）であった。これらの成績より、異常ラットはムコ多

糖症VI型 (Maroteaux-Lamy症候群) と診断した。

次に、異常ラットの遺伝様式を検索した。方法としては、異常個体が生まれるcarrierと他系統であるWistar King Sラットの間で、F1、F2および戻し交配を行った。異常個体が常染色体の単一劣性遺伝子に支配されていると仮定して、これらの交配で得られた異常個体と正常個体の分離比を $\chi^2$ 検定した。その結果、この仮説は否定されなかった。よって、このムコ多糖症ラットの出現は、常染色体上の単一劣性遺伝子による支配であることが明らかとなった。遺伝様式の分析結果より、ムコ多糖症VI型を起こすラットのコロニーをMPR (mucopolysaccharidosis rat) と命名し、ムコ多糖症VI型を起こす常染色体上の単一劣性遺伝子をabd遺伝子 (arylsulfatase B deficient) と命名した。

このabd遺伝子がどの染色体に位置しているかを連鎖試験により検索した。Ish系とWistar King S系で異なる型を示すことが知られている第2染色体に位置する3種の標識遺伝子、carboxypeptidase B (CPB)、prolactin receptor (PRLR)、metallothionein-1 pseudogene B (MT1PB) について、abd遺伝子との間の連鎖の有無を検定した。その結果、強い連鎖がabd遺伝子とMT1PBの間で認められた。PRLRとの間にも連鎖は認められたが、CPBの間にはそれは認められなかった。この連鎖試験の結果より、abd遺伝子が第2染色体上に位置することが判明した。abd遺伝子とMT1PBの染色体上の位置は極めて近く、標識遺伝子とabd遺伝子との位置関係は、abdの近くよりMT1PB、PRLR、CPBの順であった。ヒトのarylsulfatase B遺伝子が位置する第5染色体の一部は、ラットの第2染色体の一部と相同関係にあると報告されている。異常ラットの連鎖試験結果は、第2染色体に位置するabd遺伝子が、ヒトと同様にarylsulfatase B 遺伝子である可能性を強く示唆していた。

異常ラットは、離乳期 (3~4週齢) 頃から、矮小体で鼻梁が

短く、体幹の幅が広いずんぐりした体格となり、胸部肋骨がオール型を示した。したがって、異常個体は正常ラットと容易に識別できた。

異常ラットでは多くの臓器・組織にコロイド鉄陽性を示すGAGの蓄積を伴う細胞が光顕的に認められ、この細胞はH-E染色標本では細胞質の空胞化として観察された。電顕的に、細胞質内のGAGは限界膜に囲まれたリソソームに蓄積していた。また蓄積したGAGは、ヒアルロニダーゼで消化されなかったため、デルマタン硫酸である可能性が示唆された。

リソソーム内のGAGの蓄積は、主としてマクロファージ、洞内皮細胞など単核食細胞系、軟骨細胞、線維細胞、線維芽細胞、平滑筋細胞などの間葉系細胞に観察された。電顕的観察では、角膜上皮細胞、角膜内皮細胞、動脈内皮細胞にもGAGの蓄積が認められた。

軟骨では、軟骨細胞の増数、腫大、細胞質の空胞化が観察され、軟骨柱は不整化していた。これらの変化は、軟骨内骨化不全を招来し、結果的にラットを矮小体に行しているものと考えられた。子宮内膜の粘膜固有層では、間質細胞にGAGの顕著な蓄積が認められ、これは異常ラットにおける繁殖率の低下の一因をなすものと思われた。

神経系組織にはGAGの蓄積は観察されず、生前の正常な行動も考慮に入れて、異常ラットの知能は正常であるとみなされた。

末梢血液中の大部分の好中球に粗大な細胞質内顆粒が観察され、これはリソソーム内のGAGの異常蓄積と考えられた。

以上のように、異常ラットは生化学的、遺伝学のおよび形態学的にムコ多糖症VI型の特徴を有し、これらはヒトおよびネコのムコ多糖症VI型の特徴的变化と酷似していた。したがって、このラットはムコ多糖症VI型の疾患モデル動物として有用であると考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 板 倉 智 敏  
副 査 教 授 齊 藤 昌 之  
副 査 教 授 渡 邊 智 正  
副 査 助 教 授 橋 本 善 春

## 学位論文題名

### ラットに出現したムコ多糖症 VI 型に関する研究

—特に本症ラットの生化学的異常と遺伝学的ならびに形態学的特徴について—

ムコ多糖症は人と一部の動物に生じる遺伝性疾病である。本症の特徴病変は、グリコサミノグリカン (GAG) 分子の分解系酵素活性の先天性欠損のため、全身の諸臓器・組織の細胞のリソソーム内への分解されなかったGAGの異常蓄積である。申請者は、ムコ多糖症をラットで初めて認め、これについての生化学的、遺伝学的、病理学的解析を行った。

本症はIsh系ラットに認められ、臨床的には矮小体でずんぐりとした、鼻梁の短い体形を特徴としていた。生化学的検索では、尿中へ排泄されるGAGが正常ラットの5~6倍に増量し、そのGAGはデルマトン硫酸を主体にしていた。尿中へのGAGの排泄は本症の特徴の一つである。

遺伝学的解析の結果では、本症ラットは常染色体上の単一劣性遺伝子によって支配されており、その遺伝子をarylsulfatase B deficientと命名した。この遺伝子の染色体上の位置は、連鎖試験の結果、第2染色体上に位置していた。また、命名した遺伝子はヒトと同様である可能性も示唆された。

病理組織学的検索では、リソソーム内へのGAGの蓄積は、主にマクロファージ、洞内皮細胞などの単核食細胞系、軟骨細胞、線維細胞、線維芽細胞、平滑筋細胞の間葉系細胞に認められた。超微形態学的検索では、GAGの蓄積は、さらに角膜上皮細胞、角膜内皮細胞、動脈内皮細胞にも生じていた。本症ラットの体形異常である矮小体は、骨端軟骨における軟骨細胞へのGAGの蓄積の結果生じた軟骨内骨化不全によって招来されていた。また、本症ラットの繁殖率の低下の一因は、子宮内膜の粘膜固有層の間質細胞へのGAGの著明な蓄積にあると解された。

以上の諸変化から、このラットはムコ多糖症VI型の特徴を持ち、繁殖率は低いが系統維持もなされ、疾患モデル動物としての有用性が高い。よって審査員一同は、吉田 緑氏が博士(獣医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。