

## 《生命科学分析分野》

# 成長遅延症マウスについて

理工学研究科生命科学部門 小林 哲也

埼玉大学の科学分析支援センターに所属する動物飼育室では多数のマウスやラット等が維持されている。その多くは一般的によく利用される系統(マウス; C57BL/6J, ICR 等, ラット; Wistar, Fisher344 等)であるが, 貴重な突然異変マウスやノックアウトマウス等も維持されており, さまざまな教育や研究に利用されている。このうち突然変異マウスでは, 精巢性女性化症(testicular feminization mutation; Tfm)マウスと成長遅延症(growth-retarded; grt)マウスの2つの系統が維持されている。これら2系統は極めて限られた施設でしか維持されていない大変貴重なマウスとして知られているが, ここでは成長遅延症マウスについて簡単に紹介したい。

### 成長遅延症マウスとは?

矮小形, すなわち, 標準の大きさの半分程度で発育が停止する異常な生物個体は, 動物や植物でさまざまな例が知られている。動物では, マウス, ラット, モルモット, ニワトリ等<sup>1-4</sup>, 多くの種で報告されているが, 実験動物としてよく用いられるマウスにおける先天性の矮小形としては, Snell's dwarf(dw/dw)マウス<sup>1</sup>, Ames(df/df)マウス<sup>5</sup>, hypothyroid(hyt/hyt)マウス<sup>6</sup>等が報告されてきた。今回ご紹介する成長遅延症(grt/grt)マウスは, dw(DW/J)の正常マウスの交配によって得られた F<sub>1</sub> マウスの中から, 正常マウスとは異なる成長パターンを示すマウスとして見出された<sup>7</sup>。dw マウスは, 離乳期以降の成長が殆ど停止してしまうため矮小形となる<sup>1</sup>。一方, grt マウスも生後 2~3 週齢の離乳期頃より成長の遅滞を示す。しかしながらこの遅滞は一過性で, 最終的には正常兄妹に匹敵するまでに成長が回復する<sup>7,8</sup>。

### 本マウスの内分泌機能は?

この原因について探るため, grt マウスの成長パターンと成長に密接に関わるホルモンを分泌する内分泌腺の機能との関連性について, 脳下垂体と甲状腺を中心に解析した。その結果, 成長の遅滞が激しくなる週齢の雄 grt マウス脳下垂体前葉では甲状腺刺激ホルモン(TSH)産生細胞数が増加し, また, 血液中の TSH 濃度も極めて高い値を示すことが明らかとなった。これに対し, 血液中の甲状腺ホルモン濃度は低下していた<sup>8</sup>。一般に TSH は甲状腺からの甲状腺ホルモンの分泌を刺激する。したがって, grt マウスでは血液中の TSH 濃度の上昇にもかかわらず甲状腺からの甲状腺ホルモンの分泌が刺激されていないと言える。これは, 本マウスから甲状腺を摘出し培養条件下で TSH 処理をしても甲状腺ホルモンの分泌が刺激されないことから明らかで, 本マウスでは甲状腺自体に異常が存在するものと推定された<sup>9</sup>。その他の結果も併せて考えると, grt マウスは原発性の甲状腺機能低下状態にあるため, 血液中の甲状腺ホルモン濃度の低下とそれに続く成長の遅滞が引き起されること, 加えて, フィードバック機構が長期にわたり機能する結果, 脳下垂体の TSH 産生細胞数の増加と血液中の TSH 濃度の上昇が誘起されるものと考えた。

## 本マウスの原因部位は？

それでは, *grt* マウス甲状腺における原因部位はどこに存在するのか? この点を明らかにするため甲状腺を光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いて形態学的に観察したところ, コロイド含量の少ない小さな濾胞が多いこと, また, その濾胞上皮細胞の丈が短いこと, さらに, 上皮細胞中の粗面小胞体の発達が低下していること等が示され, 本マウス甲状腺の活動性の低下が示唆された<sup>9</sup>. この結果は, 血液中の TSH 濃度が極めて高いにもかかわらず, 甲状腺内に刺激が伝わっていないことを意味する. そこで, TSH と結合し, その刺激を濾胞上皮細胞内に伝達する TSH 受容体(TSHr)の構造と機能について解析を進めた. その結果, 本マウスの TSH は生物活性を有していること, 一方, 濾胞上皮細胞で発現している TSHr は TSH と結合できるが<sup>10</sup>, 濾胞上皮細胞内でセカンドメッセンジャーである cAMP の合成を誘起できないこと等が明らかとなった<sup>9</sup>. これらの事実は, TSHr に構造上の変異が存在する可能性を疑わせるが, TSHr 遺伝子翻訳領域の塩基配列には変異は認められていない<sup>11</sup>. さらに, TSHr の下流で働くタンパク質が機能していることも示され<sup>9</sup>, 本マウス甲状腺の TSHr は TSH との結合能を有するが下流に情報を伝達できない変異を有するものと結論した. 現在, *grt* マウスの原因遺伝子(*grt*)としてタンパク質の修飾酵素が同定されている<sup>12</sup>. したがって, *grt* マウスではこの遺伝子の点突然変異により酵素活性が低下し, その結果, 標的タンパク質である TSHr のプロセッシングが正常に進まず, その機能に異常が生じたものと考えられている.

## 本マウスを用いた研究課題

これまでの解析から, 雄 *grt* マウスの甲状腺は少なくとも 24 週齢に至るまで機能が低下したままである. しかしながら, 体重等の成長指標はこの頃, 正常マウスにほぼ匹敵するまでに回復する<sup>8</sup>. この *grt* マウス特有の成長の追い付き現象の発症機序は, これまでの結果からは説明することが難しい. 一般に成長には, 成長ホルモン, 甲状腺ホルモン, インスリン, インスリン様成長因子, 性ステロイドホルモン等の多くのホルモンが関与している. 今後 *grt* マウス特有の成長の追い付き現象を理解するためには, これらホルモンの動態や機能に関してさらに検討する必要があるであろう. 加えて, *grt* マウスでは性行動の発現やインスリン分泌能を含めた糖代謝等にも様々な変化が認められる. これら現象が発現する仕組み, 特に原因遺伝子の関与等の解析も今後の課題として残されている.

## 謝辞

生命科学系の教育研究における動物実験の重要性は言うまでも無い. 現在, 科学分析支援センター関係者のご尽力により動物飼育室の管理が良好になされており, ここで維持されている多数のマウスやラット等を利用して, さまざまな教育や研究が行なわれている. ここに, 感謝の意を表すとともに, 平成 19 年度に制定された埼玉大学動物実験規則を遵守し, 動物の愛護や福祉を考慮した科学的かつ論理的で無駄の無い動物実験を行なうよう努力を重ねたい.

## 文献

- (1) Snell GD. (1929) Dwarf, a new Mendelian recessive character of the house mouse. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 15: 733-734.
- (2) Okuma S, Kawashima S. (1980) Spontaneous dwarf rat. Exp. Anim. 29: 301-304.
- (3) Sollas IBJ. (1909) Inheritance of colour and of supernumerary mammae in guinea-pigs with a note on the occurrence of a dwarf form. Reports Evol. Com. Royal Soc. 5: 51-79.
- (4) Bartha T, Dewil E, Rudas P, Kühn ER, Scanes CG, Decuypere E. (1994) Kinetic

parameters of plasma thyroid hormone and thyroid hormone receptors in a dwarf and control line of chicken. *Gen. Comp. Endocrinol.* 96: 140–148.

- (5) Schaible R, Gowen JW. (1961) A new dwarf mouse. *Genetics* 46: 896.
- (6) Beamer WJ, Eicher EM, Maltais LJ, Southard JL. (1981) Inherited primary hypothyroidism in mice. *Science* 212: 61–63.
- (7) Yoshida T, Yamanaka K, Atsumi S, Tsumura H, Sasaki R, Tomita K, Ishikawa E, Ozawa H, Watanabe K, Totsuka T. (1994) A novel hypothyroid ‘growth-retarded’ mouse derived from Snell’s dwarf mouse. *J. Endocrinol.* 142: 435–446.
- (8) Kobayashi K, Sato M, Ohno K, Tasaki Y, Kobayashi T, Machida T. (2000) Growth pattern and hypophysio-thyroidal axis in the growth-retarded (*grt/grt*) mice. *J. Growth*, 39: 65–72.
- (9) Kobayashi K, Yamamoto H, Kobayashi T, Machida T. (2001) Responses of the thyroid gland to TSH and other thyroid stimulators in the growth-retarded (*grt*) mouse. *Zool. Sci.* 18: 955–961.
- (10) Kobayashi K, Sato M, Machida T, Kobayashi T. (2005) Thyroid-stimulating hormone receptor levels and binding affinity in the thyroid gland of growth-retarded mice. *Congenital Anomalies.* 45: 89–92.
- (11) Sato M, Kobayashi K, Kobayashi T, Machida T. (2002) Expression, structure and function of TSH receptor in the thyroid gland of growth-retarded mice. *Proc. Japan Soc. Comp. Endocrinol.* 17: 18.
- (12) Sasaki N, Hosoda Y, Nagata A, Ding M, Cheng JM, Miyamoto T, Okano S, Asano A, Miyoshi I, Agui T. (2007) A mutation in *Tpst2* encoding tyrosylprotein sulfotransferase causes dwarfism associated with hypothyroidism. *Mol Endocrinol.* 21: 1713–1721.



写真: (左)野生型マウス (右)grt マウス