

## 論文審査の結果の要旨

関

氏名 関水康伸

本論文は7章からなる。第1章は本論文全体に対する一般的なイントロダクションである。本論文の理解に必要な知見を十分に紹介しつつ「先天性甲状腺機能低下症とは」「甲状腺ホルモンの産生とホメオスタシス」「突然変異体を用いた解析の重要性」「先天性甲状腺機能低下症モデルとしてのメダカ」「本論文の目的」という5つの要点に関して簡潔にまとめ、さらに本論文の主眼を「先天性甲状腺機能低下症のモデルとしてメダカを評価する事」と明解に定めている。

第2章ではメダカ突然変異体 *kamaitachi* の表現型について述べられている。*kamaitachi* はもともと当人の修士研究に得られた変異体候補群の中から確立された変異体系統である。本論文では *kamaitachi* がマイルドな先天性甲状腺機能低下症であるという事を、以下の5点から示している。

- 1) 総 T4 の濃度が低下していた
- 2) 甲状腺濾胞が過形成となっていた
- 3) TSH 応答性の遺伝子の発現が上昇していた
- 4) 甲状腺濾胞内腔のチログロブリンの蓄積が低下していた
- 5) T4 の投与により TSH 応答性の遺伝子の発現と甲状腺濾胞内腔のチログロブリンの蓄積が正常化した

血中ホルモン濃度の低下、T4 応答性の甲状腺濾胞細胞の過形成、TSH 応答性の遺伝子の発現の上昇は先天性甲状腺機能低下症の典型的な症例であり、本論文では *kamaitachi* をマイルドな先天性甲状腺機能低下症と結論づけている。このような表現型を示す疾患モデル動物はこれまでに報告が無いという点で本研究は非常に有意義である。これまでマイルドな先天性甲状腺機能低下症が成体にどのような影響を及ぼすかについて詳しくは研究されていない。従来、甲状腺機能低下症の研究は、ホルモン合成阻害剤を用いる事で行われてきたが、薬剤では副作用を常に考慮しなくてはならない。ホモで系統維持が可能かつ稔性を持つ *kamaitachi* は、遺伝学的に作られた先天性甲状腺機能低下症のモデルとして、将来的に広範囲に活用される可能性を持っている。

第3章ではマイルドな先天性甲状腺機能低下症が成体に及ぼす影響を調べている。具体的には *kamaitachi* のヒレの再生が異常である事、さらに甲状腺ホルモン濃度がヒレの再生に影響を及ぼすという事を甲状腺ホルモンの合成阻害剤と L-T4 の投与を用いる事により統計的に明らかにしている。これは魚のヒレの再生に甲状腺ホルモンが関与している事を遺伝学的かつ薬理的に示した初めての例であり、その点で斬新な結果である。甲状腺ホルモンの作用や再生現象は一般的に個体差が出やすく、その関連性を統計的に証明する為にはある程度の例数が必要である。しかし本論文はメダカを用いれば一人の研究者のマンパワーでその解析が十分現実的で

ある事を端的に示している。また、この章は先天性甲状腺機能低下症が成体に及ぼす影響を、*kamaitachi*を用いて実際に解析したモデルケースとしてとらえる事もでき、本研究の主要な目的である「先天性甲状腺機能低下症のモデルとしてメダカを評価する事」に対し重要な示唆を与える結果となっている。

第4章は全体のディスカッションとなっている。ディスカッションでは、本論文の目的である、「先天性甲状腺機能低下症のモデルとしてメダカを評価する事」に対し、「メダカは一定の制約はあるが、先天性甲状腺機能低下症のモデルとして十分有用である」と答えを完結にまとめている。本研究は、これまでに誰も挑戦しなかった実験系に挑んだものであり、それ故に大きな困難に直面したと推察される。事実、*kamaitachi*の原因遺伝子について *mslc26a10* という有力な候補を提示する事はできたが、*kamaitachi* 固有の実験技術的な問題から連鎖解析に多大な労力を費やし、さらに遺伝子の機能回復実験や機能阻害といった最終的な証明に至る事はできなかった。しかし本論文ではその原因についても適切に説明・考察している。重要な指摘の一つとして、連鎖解析の問題がある。小型魚類の *saturation mutagenesis* を応用した研究は、初期発生分野で大きな成果を上げているが、後期発生や成体機能に関する研究は黎明期にある。将来的には、小型魚類を用いた後期発生・成体の内蔵機能に関連する遺伝子の網羅的探索・機能解析が行われる事が予想される。しかしその場合、注目する組織・現象を可視化する事が必須である。本研究では甲状腺の可視化に抗体染色を用いているが、一般的な染色手法では PCR grade の DNA を抽出し、PCR ベースの連鎖解析を行うのは難しいという事を指摘している。本研究はこのような研究を計画・実行する場合に考慮すべき重要な視点を提示しているという観点でも非常に大きな意義を持つものである。

なお、5章は謝辞、6章は参考文献一覧、7章は図と説明である。本論文第3章は、京都大学助教授・田川正朋との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める