

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 梅田 あや

ミニラット (MR) は成長ホルモン (GH) 遺伝子の発現をアンチセンス RNA の導入により抑えたトランスジェニック動物で、由来系統であるウィスターラット (WR) と比べて血中の GH は約 40~60%、体重は約半分である。GH は生体の正常な成長や加齢に極めて重大な影響を及ぼす下垂体前葉ホルモンのひとつであり、その作用の多くを仲介するインスリン様成長因子-1 (IGF-1) とともに、皮膚の組織構造や成長にも重要な影響を及ぼすことが報告されている。しかし、MR はもとより、他の多くの GH 分泌不全症病態モデル動物においても、それらの皮膚性状について検索した報告は見当たらない。本研究は、WR を対照に、GH 欠乏 MR の皮膚の加齢に伴う組織学的性状の推移と毛周期の特徴を明らかにしたものである。以下に要約を記す。

無処置の雄性 MR の皮膚の組織構造に、WR と基本的な違いは認められなかったが、MR では真皮膠原線維層が薄く、皮下脂肪層が厚く、皮脂腺が小さいなど、ヒトの GH 分泌不全症患者と同様の所見が確認された。また、環境中の酸化ストレス因子の一つである 20%過酸化水素溶液 (HPO) の局所暴露による急性皮膚傷害後の皮膚反応を組織学的に検索したところ、MR では WR に比較して、肉芽組織の形成、表皮の再生および毛包の成長の遅延が顕著であり、GH 欠乏は皮膚の創傷治癒を遅らせることが示された。このように、MR は GH 欠乏患者に認められる皮膚性状を備えており、GH 欠乏患者の dermatopathy を反映する動物モデルとして有用であると考えられた。なお、GH の主要な標的臓器である肝臓では、IGF-1mRNA の発現量および血中 IGF-1 の濃度は WR と比べて MR で有意に低かったが、皮膚の IGF-1mRNA の発現量には両系統間に差は認められず、MR では、GH 欠乏に加え、肝臓由来の血中 IGF-1 の減少が皮膚の性状に影響を与えている可能性が考えられた。

さらに、雄性 MR の皮膚の加齢に伴う組織学的性状の推移を検索した結果、成熟 MR の皮膚では毛周期が telogen 期 (休止期) で停滞することが明らかになった。すなわち、WR では 4 週間を 1 サイクルとする毛周期 (anagen-catagen-telogen) が生涯に亘って継続

して観察されるのに対し、MR の毛周期は生後 2 サイクルを終えた 8 週齢以降は長期に亘って telogen 期で停滞した。このような telogen 期停滞下の MR の背部皮膚に HPO を局所暴露すると、急性傷害への組織反応に伴い新たな anagen 期が誘導され、さらに、皮膚傷害を伴わない人為的脱毛によっても、個体差、部位差のない、一過性 (1 サイクル) の新たな毛周期が誘導された。これらのことより、8 週齢以降の MR の背部皮膚の毛包は一律に telogen 期に停滞し、anagen 期に移行するための内的刺激に欠けているが、外的刺激によって新たに anagen 期に移行できることが明らかになった。

皮膚は毛周期に伴ってその生物学的性状が大きく変化する臓器であるため、皮膚、特に毛包に関する動物実験では、毛周期を均質にコントロールすることが非常に重要である。しかし、マウスやラットの毛周期は生後の 2 サイクルは synchronized waves として起こるものの、それ以降は hair growth pattern の複雑さが増すため、一般に成熟動物では実験対象部位で均一かつ同調した毛周期を得るのは非常に困難である。この点、MR は 8 週齢以降であれば背部皮膚の全ての毛包が一律に telogen 期であり、特別な配慮をせずとも、人為的脱毛により、個体差および部位差のない均一な毛周期を容易に誘導できる。また、成熟動物での毛周期の検索は、幼若期の皮膚における活発な発育に伴う毛周期以外の諸要因を排除できる利点があるため、成熟動物で同調した毛周期を誘導できる MR は、毛周期に関連する研究を実施する上で非常に有用なモデル動物となるものと考えられた。

本研究ではさらに、MR の毛周期の特徴を利用して、毛周期の進展過程に伴う背部皮膚の遺伝子発現の変化を DNA Microarray 法で網羅的に解析することに、成熟ラットで初めて成功した。得られたデータは、毛周期の進展に関連して明瞭に変化する遺伝子群を高率に含んでおり、ラットの毛周期に関連する既知遺伝子の発現変化の全体像を把握するとともに、毛周期の制御に寄与している新たな候補遺伝子を提示しうるものであり、MR の毛周期関連モデル動物としての有用性が示された。

本研究により、MR は GH 欠乏患者の皮膚病態動物モデルとして有用であることが明らかになった。また、その毛周期の特徴により “hair cycle clock” の機構や分子生物学的特性の研究や anagen 誘発薬剤開発のためのモデル動物としても有用であることが示された。よって審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位を授与するに値するものと認めた。