

## 学位論文題名

## Morphological and genetic analyses on the cystic rete ovarii in MRL/MpJ mice

(MRL/MpJ マウスにおける卵巣網嚢胞の形態学・遺伝学的解析)

## 学位論文内容の要旨

卵巣嚢胞は哺乳類全般に共通して出現する形態変化であり、卵胞、黄体、表面上皮ならびに卵巣網に由来することが知られ、いずれも不妊症の一因になりうる。卵巣嚢胞の原因は、主に全身あるいは局所の内分泌異常によるが、自己免疫疾患モデルである MRL マウスは、卵巣網由来の嚢胞を高率に発症し、免疫機構の破綻も一因になると考えられる。

卵巣嚢胞の形態的特徴および原因因子の把握は診断ならびに治療に重要である。本研究のゴールは MRL マウス卵巣網嚢胞の解析を通じてヒトを含めた動物の本症を克服することである。そのため、嚢胞の由来を精査し、原因遺伝子座の同定を試みた。第1章では「MRL マウス卵巣網嚢胞の形成過程に関する形態学的解析」を行い、立体構造の把握に努めた。第2章では「戻し交配系を用いた MRL マウス卵巣網嚢胞の責任遺伝子座解析」を行い、候補遺伝子座 *mroc* を発見した。第3章では「F2 交雑系を用いた MRL マウス卵巣網嚢胞の責任遺伝子座解析」を行い、候補遺伝子座 *mroc2* を発見した。

卵巣網は胎子期の中腎管および中腎細管の遺残として知られ、生後、加齢に伴い拡張し嚢胞を形成する特徴がヒトを含めた多くの動物種に共通する。第1章では、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察の他、2 週齢から 12 ヶ月齢の MRL マウス卵巣および卵巣脂肪体のヘマトキシリン染色ホルマウント標本作製し、B6 マウスの構造と比較した。

B6 マウスにおける卵巣網は、卵巣脂肪体に位置する卵巣外卵巣網、卵巣門から卵巣髄質に位置する卵巣内卵巣網、およびそれらを結ぶ介在卵巣網に分けられ、曲細管状の卵巣外卵巣網は卵巣周囲脂肪組織を走行し、加齢による形態変化は認められなかった。一方、MRL マウスの卵巣外卵巣網は単一細管、拡張した細管、および孤立細管など多形性を示し、卵巣実質に大型嚢胞を形成している個体ほど、卵巣外卵巣網の細管構造が単純化していた。SEM 観察により、MRL マウスの卵巣網嚢胞表面には微絨毛細胞 (I 型)、線毛細胞 (II 型)、および 1-2 本の長線毛を有する細胞 (III 型) が認められた。さらに拡張が進行した卵巣網上皮細胞には細胞増殖像が認められず、卵

巢外卵巣網に特徴的な線毛細胞の集塊が嚢胞壁に出現することから、卵巣網嚢胞の形成は卵巣外卵巣網の二次的侵入に起因することが見出された。

第2章では、MRL マウスにおける卵巣網嚢胞発症の原因遺伝子座を決定するため、MRL と B6 間の戻し交配群 213 例を作出し、嚢胞の周径を量的形質として QTL 解析を行った。その結果、第3番 (21.73-35.01 cM)、第4番 (52.81 cM)、第6番 (27.41 cM) および、第11番染色体 (54.34 cM) において suggestive レベル ( $LRS = 6.5$ ) を超えるピークが認められた。さらに、第14番染色体 (33.21-37.26 cM) に significant レベル ( $LRS = 11.9$ ) を超えるピークが認められ、当遺伝子座を *mroc* と命名した。特に、第4番染色体と第14番染色体のピーク領域らの遺伝型は高い相関を示し ( $P < 0.00001$ )、MRL マウスにおける卵巣網嚢胞は複数の遺伝子座の影響下で発症する多因子疾患であることが示唆された。

第3章では、卵巣網嚢胞発症の原因遺伝子座をさらに精査するため F2 交雑系 113 例を用いて QTL 解析を行った。その結果、第6番染色体 (32.53 cM) に significant レベルを超えるピーク ( $LRS = 18.5$ ) が認められ、当遺伝子座を *mroc2* と命名した。

本研究の結論として、著者は MRL マウス卵巣網嚢胞を形態的に解析し卵巣外卵巣網が卵巣内に引き込まれて形成されることを明らかにした。さらに、嚢胞形成に関与する責任遺伝子座として第14番染色体の *mroc* および第6番染色体の *mroc2* を発見した。今後、コンジェニックマウスを作出し、卵巣網嚢胞発症を検証することで *mroc* および *mroc2* の候補遺伝子を明らかにすることができる。これら一連の研究成果が自己免疫疾患に起因する不妊症の克服に貢献することを期待する。

# 学位論文審査の要旨

主査	教授	昆	泰	寛	
副査	教授	高	橋	芳	幸
副査	教授	橋	本	善	春
副査	准教授	佐々木	宣	哉	

## 学位論文題名

### Morphological and genetic analyses on the cystic rete ovarii in MRL/MpJ mice

(MRL/MpJ マウスにおける卵巣網嚢胞の形態学・遺伝学的解析)

卵巣嚢胞は哺乳類全般に共通して出現する形態変化であり、卵胞、黄体、表面上皮ならびに卵巣網に由来する。自己免疫疾患モデルである MRL マウスは卵巣網由来の嚢胞を高率に発症することから、免疫機構の破綻もその原因になると考えられる。本研究のゴールは、MRL マウス卵巣網嚢胞の解析を通じてヒトを含めた動物の本症を克服することである。そのため、嚢胞の由来を精査し、原因遺伝子座の同定を試みた。

第1章では「MRL マウス卵巣網嚢胞の形成過程に関する形態学的解析」を行い、立体構造の把握に努めた。その結果、MRL マウスの卵巣網は卵巣外卵巣網、卵巣内卵巣網および介在卵巣網に分けられ、卵巣外卵巣網が二次的に卵巣内に侵入することで嚢胞形成に至ることが見出された。

第2章では「戻し交配系を用いた MRL マウス卵巣網嚢胞の責任遺伝子座解析」を行った。その結果、第3番 (21.73-35.01 cM)、第4番 (52.81 cM)、第6番 (27.41 cM) および、第11番 (54.34 cM) 染色体において suggestive レベル (LRS = 6.5) を超えるピークが認められた。さらに、第14番染色体 (33.21-37.26 cM) に significant レベル (LRS = 11.9) を超えるピークが認められ、当遺伝子座を *mroc* と命名した。特に、第4番染色体と第14番染色体のピーク領域の遺伝型は高い相関を示し ( $P < 0.00001$ )、MRL マウスにおける卵巣網嚢胞は複数の遺伝子座の影響下で発症する多因子疾患であることが示唆された。

第3章では「F2 交雑系を用いた MRL マウス卵巣網嚢胞の責任遺伝子座解析」を行った。その結果、第6番染色体 (32.53 cM) に significant レベルを超えるピーク (LRS = 18.5) が認められ、当遺伝子座を *mroc2* と命名した。

本研究の結論として、著者は MRL マウス卵巣網嚢胞を形態的に解析し、卵巣外卵巣網が卵巣内に二次的に侵入して形成されることを明らかにした。さらに、嚢胞形成に関与する責任遺伝子座として第14番染色体の *mroc* および第6番染色体の *mroc2* を発見した。これら一連の研究は、卵巣網嚢胞の原因解明に貢献する優れた成果である。よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者 李 愼 曉 氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。