

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	内 田 登
主 論 文 題 名				
<i>Znrf3</i> exon 2 deletion mice do not recapitulate congenital adrenal hypoplasia (<i>Znrf3</i> エクソン2欠失マウスは先天性副腎低形成症を再現しない)				
(内 容 の 要 旨)				
Wnt/β-カテニンシグナルは副腎皮質の発生に重要である。Zinc and ring finger 3 (ZNRF3) は、frizzled受容体の分解を促進することによりWnt/β-カテニンシグナルを阻害する。ZNRF3蛋白はエクソン2がコードする細胞外ドメインとR-スポンジンが結合することで細胞膜から除去される。最近、先天性副腎低形成症の新規病因としてZNRF3エクソン2欠失が報告された。R-スポンジン結合部位を欠失したZNRF3はWnt/β-カテニンシグナルを恒常的に不活化し、先天性副腎低形成症を発症すると考えられた。本研究では遺伝子改変マウスを作成し、<i>Znrf3</i>エクソン2欠失 ($\Delta 2$) が副腎皮質発生に及ぼす影響を検討した。 CRISPR/Cas9を用いてヘテロ接合性<i>Znrf3</i>エクソン2欠失マウスを作成し、ヘテロ接合性<i>Znrf3</i>エクソン2欠失マウスを交配して得たホモ接合性<i>Znrf3</i>エクソン2欠失 (<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$) マウスと同胞の野生型マウスの比較検討を行った。妊娠中のヘテロ接合性$\Delta 2$マウスを帝王切開して評価した胎仔の遺伝型の比から、<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスは胎生致死ではないと考えられた。C57BL/6Jコンジェニック系統<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスはその76%が日齢1以内に死亡した。非コンジェニック系統<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスは体重増加不良を示し、その半数が週齢3以内に死亡した。週齢3以降は体重増加が改善し、45%が成獣となるまで生存した。死亡した<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスの鼻腔咽頭では繊毛細胞の減少、嗅上皮の変性が認められ、嗅覚障害に伴う栄養障害が致死率の高さの原因として示唆された。<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスの副腎は出生時に低形成を示さず、成長とともに腫大した。6週齢<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスの副腎球状層では、免疫染色で活性型β-カテニン陽性細胞数が、in situ hybridizationでWnt/β-カテニン標的遺伝子<i>Axin2</i> 陽性細胞数がそれぞれ減少していた。一方で束状層の過形成、髄質細胞の分散が認められ、束状層・髄質間にはXゾーンに代わりマクロファージ浸潤を伴う放射状に広がる領域が観察された。Xゾーンマーカー20α水酸化ステロイド脱水素酵素は免疫染色で検出されず、その遺伝子発現は低下していた。血中ACTHおよびコルチコステロン濃度は変化していなかった。 <i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスの球状層における活性型β-カテニンおよび<i>Axin2</i>陽性細胞数の減少は、R-スポンジンとの結合能を失った<i>Znrf3</i>がWnt/β-カテニンシグナル伝達を恒常的に不活化するという仮説を支持する。<i>Znrf3</i>$^{\Delta 2/\Delta 2}$マウスは先天性副腎低形成症を再現しなかった。<i>ZNR3/Znrf3</i>エクソン2欠失の副腎皮質発生に関する影響には種差があると考えられる。				