

疾患モデルの病理学生化学的検証

研究分担者 梅澤明弘 国立成育医療研究センター研究所 副所長

研究要旨 オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)遺伝子欠損症モデルの heterozygous OTC 遺伝子を欠損雌産仔の中で高アンモニア血症を発症する個体について、肝内 OTC 活性が正常個体に比べ低値で、同疾患のバイオマーカーである尿中および血中オロト酸は高値であることがわかった。Heterozygous 個体における OTC 欠損であることから、対立正常遺伝子が不活化されたことが原因と考察されたので、肝の複数部位の OTC 活性を測定したが、部位間の活性の差異はみられなかった。全臓器の病理組織所見では脂肪肝が観察されたが、他臓器では特記すべき変化はみられなかった。

A. 研究目的

尿素回路異常のひとつであるオルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)遺伝子欠損症は、同遺伝子がX染色体上にあることから、疾患男児は新生児期に劇症発症することが多く、また保因女児もある程度成長してから遅延性に症状を呈することがある。典型症状は高アンモニア血症であるが、表出される病態としては低体温、呼吸低下などから発見されることが多く、初期に病因を突き止めることは難しい場合が多い。本研究では、

B. 研究方法

明治大学長嶋分担者作出の OTC 遺伝子 heterozygous 欠損ブタの血液、尿、肝臓他全臓器を採取し、解析した。血液（血清）と尿はアンモニア値とオロト酸を測定した。肝については4つの肝葉から組織片を採取し、OTC 活性を測定した。また肝およびその他臓器をホルマリン固定の後、病理組織学的観察を行った。

（倫理面への配慮）

本研究ではヒトに由来する試料は使用しなかった。動物由来試料は明治大学で採取された血液、尿、組織片を受け入れ、研究に用いた。

C. 研究結果

1. Heterozygous OTC 欠損ブタの血液および尿分析
血中アンモニア値は Heterozygous OTC 欠損ブタが $148.0 \pm 46.8 \text{ mg/dL}$ (n=4, 9日齢)、対照 $79.3 \pm 15.13 \text{ mg/dL}$ (n=6, 同日齢) と高値を示した。その後、Heterozygous OTC 欠損ブタでアンモニア値がさらに高まった個体について、オロト酸を測定したところ、欠損ブタ血清および尿中で

246、1864 micro-mol/L、対照正常ブタでそれぞれ 154、63 micro-mol/L であった。血液生化学分析として測定した AST、ALT、Total Bilirubin、グルコースのうち、AST が 93 とやや高値を示した。それ以外は正常範囲であった。

2. Heterozygous OTC 欠損ブタの肝および他臓器の評価

高アンモニア血症を示したブタの肝組織は軽度脂肪肝を示したが、肝以外の組織においては特記すべき病態変化は見られなかった。肝組織の OTC 活性は、 $11.9 \pm 3.8 \text{ micro-mol/mg protein/h}$ (肝内4部位から得た組織の平均 \pm SD) で、正常個体の $43.8 \pm 8.8 \text{ micro-mol/mg protein/h}$ のおよそ 1/4 の低値を示した。

D. 考察

変異 OTC 遺伝子のキャリアである heterozygous OTC 欠損雌個体の中にも肝 OTC 活性が明らかに低く、バイオマーカーである尿中ならびに血中オロト酸が高値を示す個体が含まれることがわかった。実験動物として自然発生 OTC 欠損マウスは存在するが、遺伝子ノックアウト動物としての OTCD マウスの報告はない。我々の先行研究においても、完全に OTC 遺伝子を不活化したブタは、早産性を示し、過半は死産、まれに出生した場合も哺乳力なく、数時間で死亡した。おそらくマウスの場合もノックアウト動物は胎生致死あるいはそれに近い経過を示すため、報告に上がらないものと考えられる。実際、現在研究で使用される OTCD マウスは OTC の完全欠損ではなく、正常の 1/10 程度の OTC 活性が検出される。今回得られた heterozygous OTC 欠損個体では、同腹産仔の中に

正常表現型を有するものと高アンモニア血症を示し、徐々に病態が進み衰弱するものが存在した。後者は OTC の完全欠損ではないが、高アンモニア血症を示しながら病態が亢進するという点で、自然発症変異の OTCD マウスと極めて似ており、今後、ヒト OTCD の治療戦略を考える上で極めて有用な動物モデルになると考えられる。

E. 結論

OTC 遺伝子 heterozygous 欠損雌の中に、高アンモニア血症を呈し、徐々に衰弱する個体があり、その OTC 活性は正常の 1/4 程度、バイオマーカーである尿中オロト酸は 30 倍もの高値を示した。本モデルは、細胞治療、遺伝子治療などの前臨床研究実験動物病態モデルとして極めて有用と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし