



Title	Osteopenia and male-specific sudden cardiac death in mice lacking a zinc transporter gene, Znt5
Author(s)	井上, 耕一
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43842
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	いの 井 上 耕一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17584 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Osteopenia and male-specific sudden cardiac death in mice lacking a zinc transporter gene, Znt5. (亜鉛トランスポーター Znt5 のノックアウトマウスは骨量減少とオス特異的心臓突然死を引き起こす)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 戸田 達史 教授 萩原 俊男

論文内容の要旨

[目的]

古典的な遺伝学は、表現系からその原因遺伝子を探るものであるが、近年はリバースジェネティクスと呼ばれる遺伝子から表現系を解析する遺伝的アプローチが盛んになっている。これは新規の遺伝子の機能を固体レベルで解析する手段で、新しく同定された遺伝子を欠損させた生体を作成し、その表現型を調べることによって固体レベルでのその遺伝子の機能を解析する方法論である。われわれは物理的ストレスに反応して発現が上昇する新規遺伝子を単離した。その遺伝子は亜鉛トランスポーターとしての活性を持っていたが、遺伝子改変マウスを作成して、その *in vivo* における機能解析をおこなった。

[方法と成績]

ウサギの大動脈バルーン傷害モデルにおいて発現が上昇する遺伝子を検索するために differential display 法を施行した。得られた DNA 断片をもとに RACE 法により全長の配列を得た。単離された遺伝子はスプライシングバリントをもち、それぞれ 765、692 アミノ酸からなるタンパク質をコードしていた。いずれも 15 回膜貫通型の蛋白質で、その mRNA は調べたすべての臓器に発現していた。細胞内局在はゴルジ装置膜上であった。C-末端側は酵母の亜鉛トランスポーターに相同性があり、cation efflux domain (CED) を有していた（この遺伝子は後に他のグループにより亜鉛トランスポーター活性があることが示され Znt5 と命名された）。

In vivo での機能を見るために、Znt5 の CED を特異的に欠損させたノックアウトマウス (-/-マウス) を作成した。-/-マウスは予想された Mendelian frequency で生まれてきたが、発育は不良であり、著明な骨量減少が見られた。大腿骨の組織形態計測による評価では破骨細胞の機能は正常だったが骨芽細胞機能に明らかな低下が認められた。マウス新生仔より得た幼若骨芽細胞を用いた検討では、骨芽細胞の増殖は正常だが分化・成熟が障害されていることが示唆された。また、-/-マウスはオスのみ有意に短命であり、10~70 週齢の間に 70% 以上が突然死を起こした ($b < 0.0001$ 、 $\chi^2 = 17.72$; Log-rank test)。病理検査・血液検査等では、動脈硬化等の死因となりうる明らかな異常は全く見られなかった。埋込式心電図による解析で、-/-マウス全例に房室ブロックおよび洞不全による徐脈性不整脈を認め、その

頻度は野生型と比べ有意に多かった (100% vs. 22%、100% vs. 0%、 $p < 0.005$ 、respectively)。死亡例はすべてこれらの不整脈を経て死亡しており、徐脈性不整脈が死因であることが強く示唆された。

[総括] ストレスに反応して発現が上昇し、ゴルジ装置膜上に存在する亜鉛トランスポーター *Znt5* を単離し、そのマウスを作成した。これらには骨芽細胞の分化異常による発育不良と骨量低下、および徐脈性不整脈を原因とするオス特異的突然死を認めた。これらの知見は、骨粗鬆症の病態に亜鉛の代謝が関与することを示唆する新たな所見であり、また、人においても女性に比べ有意に多い男性の原因不明の突然死の病因・病態に新たな可能性を与えるものである。

論文審査の結果の要旨

本研究は、Differential Display 法を用いて、ストレス反応性に発現が増強する新規遺伝子の単離と遺伝子改変マウスを用いた *in vivo* での機能解析を目指したものである。

その結果、C-末端側に Cation Efflux Domain (CED) を持ち亜鉛トランスポーター活性のある *Znt5* を単離した。この蛋白はゴルジ装置の膜上にあり、細胞質から装置内への亜鉛の取り込みに関与していることを示唆している。

さらに、この *Znt5* の CED を特異的に欠損した遺伝子改変マウスを作成し、その表現型についての詳細な検討の結果、著明な骨量減少とオス特異的突然死の表現型を認めた。組織形態計測、および新生仔マウスの幼若骨芽細胞を用いた検討により、骨量減少は骨芽細胞の分化成熟障害がその病態であることを明らかにした。オス特異的突然死については埋め込み式テレメトリーによる検討で、房室ブロックや洞停止等の徐脈性不整脈がその病態であることを示した。

以上の知見は、骨形成の過程および心臓刺激伝導系の機能維持に亜鉛トランスポーターが関与することを示唆する新しい所見であり、学位の授与に値するものと思われる。