

タイトル	人チェック・ヒガシ症候群の動物モデル
著者	竹内, 潔; TAKEUCHI, Kiyoshi H
引用	北海学園大学学園論集(171): 81-85
発行日	2017-03-25

# 人チェダック・ヒガシ症候群の動物モデル

竹 内 潔

人チェダック・ヒガシ症候群 (Chediak-Higashi syndrome, CHS)<sup>(1,2)</sup> は、人常染色体劣性遺伝の疾患で、様々な病変により幼くして命を失うケースが、これまでも多く報告されている。またこの疾患は、人の他に、ミンク、ネズミ、ネコ、牛、クジラなど、様々な動物からも報告されている<sup>(1-3)</sup>。こうした人チェダック・ヒガシ症候群研究、治療のために開発された動物モデルと、人の生存への対応を比較研究することは、病気理解ばかりだけではなく、それぞれの動物が多様性をキープしながらも、個々の細胞そのものが、それぞれのケースに応じた対応性への多様化を構築 (再構築) しながらの生存戦略なのかについても知ることになり、人疾患の理解、治療への貢献等が期待されている。

## これまでの CHS 研究と成果

ごく近年までは、実際の動物モデルを使った CHS 研究は、血球細胞 (好中球など) を顕微鏡で観察し、それぞれの細胞内部の構造 (組織学的) と、細胞の挙動を比較することで、人チェダック・ヒガシ患者の細胞との比較が主な研究成果であった。しかし、1980 年代に入り、ベイジュ・マウスという CHS 動物モデルを使い、好中球の体外から侵入したバクテリアに対する生体防御機構が機能不全に陥ること、成熟した好中球が血中に放出される以前 (骨髄中) には、その機能が保全されていることなどが判明している (竹内, 北海学園大学人文論集第 4 号 29-50, 1995 動物モデルを使った人病態の研究 — 人チェダック・ヒガシ症候群モデル動物 (ベイジュ・マウス) の好中球プロテアーゼと阻害物質の生体制御機構を探る)<sup>(4-6)</sup>。

この研究から、CHS モデル動物のベイジュ・マウスの好中球では、生体防御に必要な 2 つのタンパク分解酵素 (エラスターゼ, カテプシン G) のエステラーゼ活性が選択的に欠損していることがわかったが、これら 2 種類の酵素活性は骨髄中では確認され、ベイジュ好中球の前駆体ではタンパク質として合成されていることが分かった。さらに、ベイジュ好中球抽出物は、正常マウスの好中球エラスターゼ, カテプシン G ばかりではなく、人好中球エラスターゼに対する阻害効果を示した。実際に、ベイジュ好中球から 2 つの阻害因子の存在が確認されている。

こうした研究からも分かるように、タンパク質レベルでの研究成果による CHS への理解は大きく変化し、遺伝子レベルでの研究成果も含めて、この疾患の理解が大きく進展している。

## 「ベイジュ・ラット」の発見とその特徴

ベイジュラットの発見は、1985年、浜松医科大学医学部附属動物実験施設の DA (DarkAgouti) 系のラットに出現した皮膚の淡色化（野生色ではなく、灰色を呈する）を示す突然変異ラットでマスト細胞の顆粒の巨大化が、西村らによって確認された。また、このラットの好中球をスーダグン黒で染色すると好中球内の顆粒は巨大化しており、さらに色素上皮の顆粒の巨大化も確認された。本来の DA 系の毛色はアグーチであるが、ホモの突然変異ラットと正常の DA +/+ との掛け合わせで得られるすべての F<sub>1</sub> ラット (+/bg) はアグーチであり、F<sub>1</sub> ラット同志のかけあわせならびに F<sub>1</sub> ラットのホモの突然変異ラットへの戻し交配により、この突然変異は常染色体劣性であることが確かめられた。

ホモの突然変異ラット (bg/bg) の好中球の走化性は、ヒトおよびマウス同様障害されており、出血時間も延長していた。突然変異ラットの血中セロトニン値は +/+ ラットの約 1/10 であり、セロトニンの静脈内投与によって突然変異ラットの出血時間は正常化した。さらに突然変異ラット (bg/bg) のナチュラルキラー活性は、+/+ ラットに比べて有意に低下していた。

以上の結果はこの突然変異ラットがヒトおよびマウスの CHS に相当していることを示しており、西村らはこの突然変異ラットを皮膚の色調から beige bg/bg と名付けた<sup>(7)</sup>。

## 「ベイジュラット」を使った研究成果と 他の CHS モデル動物研究の有効性

人チェダック・マウスからの好中球研究に加え、近年開発されたベイジュ・ラットを使い、ラット好中球の bactericidal effects (バクテリアを攻撃する挙動) を人好中球のそれと動的な細胞挙動を比較し、それぞれの動物モデル好中球の sensitivity (chemotaxis), 生化学的なタンパク質レベルでの違い (細胞認識に関連する因子), 加えて分子生物学的な相違点を比較分析するなどの多様な取り組みが CHS 治療法の開発には極めて有用と考える。今後の研究では、マウス、ラットの好中球などの生体防御に対応している細胞の挙動を比較分析し、そうした血液細胞の成熟過程での変化 (動的な細胞挙動分析) と、これまでの研究成果による好中球タンパク質の化学修飾による酵素活性阻害による bactericidal effects の喪失による疾患の進行について比較分析するような研究計画の立案を検討している。加えて、それぞれの血液細胞の成熟段階と疾患モデル動物での酵素活性喪失のタイミングと、インヒビター (酵素阻害物質) の検出についても、できれば遺伝子レベルでの確認も予定している。こうした総合的な実験系によって、人の生体防御機構と、それぞれの動物モデルとの違いなどについて知ることは、それぞれの生物の生存への対応、疾患と遺伝子の発現のタイミングなど、生命多様性の持続、また病気の予防や、治療等の面からも重要であり、将来的な治療方法開発にも寄与するはずである。

## CHS ラットの特徴確認

この研究ノートは、平成 27 年度北海学園学術研究助成 (一般研究) によって可能になった「CHS ラット」との関わりから、その特徴をまとめたものである。まず、ここまでは、人、マウス、ラットについて議論してきたが、近年その原因遺伝子等についての研究成果もかなり出てき始めている。ここでは、その原因遺伝の存在している染色体については、以下の表にまとめた。

チェダック・ヒガシ症候群原因染色体		人間とモデル動物
	CHS 原因染色体	染色体数 (2n)
ヒト	第 1 染色体	46
マウス	第 13 染色体	40
ラット	第 17 染色体	42

また、今回は、浜松から手にしたベイジュラットを使い、西村らの報告によるベイジュラットの特徴を確かめるために、彼らの報告に基づいた方法による追試をしたので、その結果を以下に報告する<sup>(7)</sup>。

### 1) beige コートカラー

CHS ラットは、同じ DA 系の野生種に比べて皮膚の淡色化 (野生色ではなく、灰色を呈する) が顕著であり、西村らの報告と一致していた。

### 2) ベイジュラットの血中セロトニンレベル

西村らの報告から、血液凝固のために重要な CHS ラットの血中セロトニンレベルは、野生種に比べて十分の一程度とされていたが、今回の計測でもほぼ同様の結果を得ることができた。

Blood Serotonin Concentration in Normal and Beige Rats	
Genotype	Blood Serotonin Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )
+/+	2.65
+/+	2.42
bg/bg	0.34
bg/bg	0.28

### 3) bleeding の時間経過比較

西村らの方法 (麻酔, 尻尾の先端を使う) で追試した結果を以下に示す。CHS ラットでは、

西村らの報告と同様に、今回のテストでも15分後も出血は続いていた。

Bleeding Time in Normal and Beige Rats

Genotype	Bleeding Time (min)
+/+	5.8
+/+	6.2
bg/bg	>15

今回は、提供されその後飼育されたベイジュラット (bg/bg) の個体数も限られており、大量の材料を集めての生化学的な実験は実施されなかったが、西村らによるこれまでの研究成果の追試、確認実験を実施した。その結果、これらの成果も含めて、今回の調査では、ベイジュ・ラットは人 Chediak-Higashi 症候群に極めて類似した表現型・病態を示すことが確認された。また、ラットの利点は、マウスに比べ大きな動物なので、生化学的なレベルでの大量の材料集めが必要な研究、骨髄移植など外科的な作業などに有効な動物である。したがって、ベイジュ・ラットは、人 Chediak-Higashi 症候群の治療研究のための良質なモデル動物となると考えられる。

### ベイジュ・ラット研究の特色

人疾患に対する多様なモデル動物の開発と研究は、治療法を探るために重要である。本研究では、人チェダック・ヒガシ症候群研究での筆者の多くの成果に加えて、人血液細胞 (好中球を中心とする)、2つの動物モデルの血液細胞の bactericidal effects について、それぞれの細胞の挙動を動画解析することで、種の異なる動物細胞の生体防御挙動と、同じ疾患を有する生物の多様な生存戦略について新たな研究分野を発展させることになるだろう。

竹内による人チェダック・ヒガシ症候群のマウスを使った動物モデル研究成果は、すでに多くの国際学会誌や国内外の学会等で発表されている。特に、動物モデルを使った、好中球の成熟過程での生体防御に関係する2つの酵素活性阻害の発見は、それまでの既存の概念を一変させるほどの衝撃的な発見であった。また、これまで単純に遺伝病として理解されてきたベイジュ・マウスの好中球異常は、次の2点から、単純に遺伝子欠損が原因、と断定することはできない。まず、2種類のタンパク分解酵素が、ベイジュでは選択的に欠損していること、また F<sub>1</sub> マウス (+/bg) では、両方の酵素が正常値で存在している、という二点である。もし、このベイジュ・マウスの事実が、同じ状態でベイジュ・ラットでも確認できれば、ベイジュ・ラットを利用した CHS への生化学的な研究、遺伝子発現時期等のモデル間での比較研究なども病氣理解には極めて有効な取り組みになるだろう。

### 謝 辞

本研究は、平成27年度北海学園学術研究助成 (一般研究) によって、CHS ラットを実際に扱え

る機会を得た事に深謝する。また、CHS ラットは、浜松医科大学医学部附属動物実験施設の西村教授から入手したもので、西村教授に感謝の意を称したい。

### 参 考 文 献

- 1 Higashi, O. 1954. Congenital gigantism of peroxidase granules. The first case ever reported of qualitative abnormality of peroxidase. *Tohoku. J. Exp. Med.* 59: 315-332.
- 2 Chediak, M. 1952. Nouvelle anomalie leucocytaire de caractere constitutionnel et familial. *Rev. Hematol.* 7: 362-367.
- 3 Penner, J. D., and Prieur, D. J. 1987. Interspecific genetic complementation analysis with fibroblasts from humans and four species of animals with Chediak-Higashi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 28: 455-470.
- 4 Takeuchi, H. K., Wood, H., and Swank, R. T. 1986. Lysosomal elastase and cathepsin G in beige mice. Neutrophils of beige (Chediak-Higashi) mice selectively lack lysosomal elastase and cathepsin G. *J. Exp. Med.* 163: 665-677.
- 5 Takeuchi, H. K., McGarry, M. P., and Swank, R. T. 1987. Elastase and cathepsin G activities are present in immature bone marrow neutrophils and absent in late marrow and circulating neutrophils of beige (Chediak-Higashi) mice. *J. Exp. Med.* 166: 1362-1376.
- 6 Takeuchi, H. K., and Swank, R. T. 1989. Inhibitors of elastase and cathepsin G in Chediak-Higashi (beige) neutrophils. *J. Biol. Chem.* 264: 7431-7436.
- 7 Nishimura, M., Inoue, M., Nakano, T., Nishikawa, T., Miyamoto, M., Kobayashi, T., Kitamura, Y. 1989. Beige Rat: A New Animal Model of Chediak-Higashi Syndrome. *Blood* 74: 270-273.