

静岡県立大学短期大学部

特別研究報告書（13・14年度） 2

遺伝性多発奇形ウズラ（HMM）における

視神経の走行異常について（ ）

金子 智子・望月 綾子

はじめに

遺伝性多発奇形ウズラ（HMM）は全身の各所に形態異常を発現し、孵卵の初期にほとんどが死亡する突然変異体であり、単一の常染色体劣性致死遺伝子（hmm）によって支配されている。¹⁾ HMMの形態異常は孵卵4日目から識別が確実になり、この時期の胚は四肢先端部が二枚貝様の形態を呈し、脊柱の二カ所に湾曲が認められる。孵卵6日目で大部分の胚は発生を中止するが、まれに孵卵15日目までの各発生段階の胚を得ることが出来る。発生の進行とともに、眼、くちばし、四肢、内臓の突出などの形態異常を示す。

正常ウズラにおいて左右の眼球からでた視神経は交叉をして中脳の視蓋へと誘導されるが、HMMウズラにおいては、その視神経の走行に異常があるのではないかとされている。そこで、本研究において、視神経が伸張する孵卵7日目の胚の組織標本作製し、HMMウズラの視神経の走行異常について組織学的な検討を試みた。

材料および方法

材料

大阪府立大学よりニホンウズラ（*Coturnix coturnix japonica*）遺伝性多発奇形突然変異体（HMM）のhmmヘテロ型同士の交配で得た卵を種卵として譲渡された。孵卵器（全慶園製、浜松市）を用いて、温度 37.5 ± 0.2 、湿度 50%、1時間毎の転卵により孵卵した。孵化した雛は 35 ± 2 に調節した育雛器（全慶

園製、浜松市)において常時点灯で6週間、その後は 23 ± 3 に調節した室内で14時間の照明(午前6時点灯、午後8時消灯)を与えて飼育した。水と飼料(ウズラ育成用、東海くみあい飼料)は自由に摂取させ、1日1回の補給・交換をした。成熟したウズラを任意に交配し、得られた卵を孵卵し、孵卵5日目に胚を採りだし形態異常の有無により遺伝子型の識別を行った。形態異常の個体を産出した両親をhmmヘテロ型と判定した。ヘテロ型同士を交配して得た卵を孵卵し、形態異常を認めた胚を材料とした。コントロールとして正常型ニホンウズラを同様にして使用した。

組織標本の作製

孵卵7日目に胚を生理食塩水中に採りだし、実体顕微鏡下で形態異常を認められた生存胚の外部形態を観察した後、その頭部をBouin's solutionで6時間固定した。通常の方法で厚さ $8 \mu\text{m}$ のパラフィン連続切片とし、ヘマトキシリン・エオシン染色を実施した。正常型の7日胚を同様に固定し連続切片を作成して染色を行った。光学顕微鏡(オリンパス、CH)を用いて正常胚とHMM胚の組織学的相違を観察した。

結果

ヘテロ同士の交配から得た卵260個を孵卵し、7日目に胚を採りだした。HMM様の形態異常を示す胚はほとんどがすでに死亡しており、わずかに1個体の生存7日胚を得た。実体顕微鏡を用いて外部形態を観察したところ、正常胚の四肢は細く伸び先端部は尖って鳥類特有の形態を呈し始めていた。これに対し、HMM胚のそれは短く、先端部は合指状で多指形成が認められた。正常胚の眼瞼はほぼ閉じて、くちばしが伸び始めていたが、HMM胚の眼瞼は見開かれたままであり、くちばしの形成はきわめて不完全であった。また、HMM胚の腹部において内蔵の突出が観察された。

光学顕微鏡を用いてヘマトキシリン・エオシン染色を行った連続組織標本を観察したところ、正常胚において、左右の眼球から伸び出した視神経は眼球の後に交叉し中脳の視蓋へと誘導されていた。一方、HMM胚においては左右の眼球から出た視神経が交叉することなく前脳方向に誘導されていた。さらに、神経網膜の褶曲、肥厚などの異常が観察された。

論議とまとめ

HMMの視神経の走行異常に着目して研究を進めたが、材料を得るための親鳥であるhmmヘテロ型個体を増やすことに思いの外時間を費やし、多くの卵を採取することが出来なかった。また、hmmホモ型は孵卵6日目までにほとんどが死亡し、生存7日胚を採ることは予想以上に困難で、結局1個体の組織標本作製に留まった。正常胚とHMM胚の組織を比較したところ、視神経の走行に明らかな相違が観察された。しかし、一例の標本では視神経の走行異常について十分な検討が出来たとはいえない。今後実験例を増やし、走行異常の詳細を明らかにしたいと考えている。さらに、視神経誘導のメカニズムの解明へと発展させることが出来るものと期待している。

文献

- 1) M. Tsudzuki, Y. Nakane and A. Wada(1998) The Journal of Heredity 89(1):24-31

(2003年3月20日 受理)