

氏 名	ひがし やま だい すけ 東 山 太 輔
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3129 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	Sequential developmental changes in holoprosencephalic mouse embryos exposed to ethanol during the gastrulation period (原腸胚期のエタノール曝露により誘発される全前脳胞症マウス胚における発生異常の解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 福 山 秀 直 教 授 金 子 武 嗣

論 文 内 容 の 要 旨

全前脳胞症 (holoprosencephaly, HPE) は、発生初期における前脳の左右への分割不全によって起こる頭部顔面正中部の発生異常である。その原因は、染色体異常・遺伝子異常・外的要因が相互かつ複雑に関与していると考えられているが、最近 HPE 患者で *SHH* (*Sonic Hedgehog*)、*ZIC2*、*SIX3*、*PTCH*、*TGIF*、*TDGF1*、*FAST1*、*GLI2*、*DHCR7* などの遺伝子変異が同定されている。一方、外的要因としては、母体の糖尿病やレチノイン酸、妊娠初期のアルコール摂取が知られている。

妊婦のエタノール摂取は、胎児に発育不全、頭部顔面奇形、知能発達遅延などを引き起こし、これらの発生異常は胎児性アルコール症候群と総称されている。これまで、エタノールの発生毒性研究は数多く行なわれてきたが、実験的に HPE を誘発することは容易ではなかった。Sulik ら (1981) は、原腸胚期に相当する時期の妊娠マウスにエタノールを投与することにより、頭部顔面の発生異常が誘発されることを報告しているが、その病理学的機序は明らかになっていない。今回の研究では、妊娠 7 日の C57BL/6J マウスに 4 時間間隔で 2 回エタノールを腹腔内投与し、胎児に HPE を誘発して、エタノール誘発 HPE マウスモデルの確立及びその異常発生機序の解明を試みた。その結果、エタノール投与群の胎児において、約 30% の胎児に外表異常が確認され、約 20% の胎児に HPE 様の頭部顔面異常が誘発された。また、エタノールにより脳の中で終脳の発育が特異的に阻害された。E10.5 胎児において更に詳細な形態学的観察を行なったところ、終脳正中部および前頭鼻突起の形成異常が観察された。これらの異常を HPE の最も重篤な症状である単眼症の表現型を示す *Shh* ノックアウトマウスと比較することにより、原腸胚期のマウス胚へのエタノール曝露が頭部顔面正中部の形成を阻害し、多様な HPE 様の表現型を誘発することが明らかになった。

次に、エタノール誘発 HPE マウスの頭部を組織学的に解析したところ、単脳室・間脳正中部で癒合した網膜様の組織・切歯の欠損など HPE に特徴的な異常が認められた。また、外表的には異常がないエタノール投与群の胎児の約 70% に、脳弓・前交連における神経線維の左右連絡が欠損している例を見出した。これは、エタノールが脳の組織発生を障害することを明らかにした重要な知見である。

形態形成遺伝子として知られる *Shh* は、正常な神経管の腹側化や顔面正中部形成に必須の役割を担っており、ヒト HPE では *SHH* 遺伝子の変異が見つかっている。そこで、エタノール誘発 HPE マウスにおける *Shh* の発現を調べたところ、約 20% において、*Shh* の発現が著しく抑制されていた。また、*Shh* の標的遺伝子である *Nkx2.1* の発現も同様に低下していた。このことから、マウス頭部における *Shh* signaling の抑制が、エタノール誘発 HPE の一因であることが示唆された。

エタノールは、様々な発生異常を誘発する化合物として広く知られているが、各器官によってその臨界期は大きく異なる。今回の研究は、原腸胚期のマウス胚に対するエタノールの曝露が、形態形成遺伝子の発現を修飾し HPE および脳の組織発生異常を引き起こすことを実験的に明らかにしたものである。

論文審査の結果の要旨

全前脳胞症 (holoprosencephaly, HPE) は、発生初期における前脳の分割不全を主徴とする頭部顔面の発生異常である。HPE の原因の一つとして、妊娠初期のエタノールの影響が知られているが、その病理発生機序については不明な点が多い。本研究では、妊娠 7 日に C57BL/6J 妊娠マウスにエタノールを腹腔内に 2 回分割投与することによってエタノール誘発 HPE マウスモデルを確立し、その異常発生機序を調べた。エタノール投与群胎児の約 30% に頭部顔面異常が誘発され、多様な HPE の表現型を含んでいた。正中線における終脳及び間脳の発生分化が特に強く障害され、組織学的にも、単脳室、眼球欠損、網膜組織の異形成、交連線維の形成不全、切歯の欠損などが観察された。脳の初期発生に関与しヒトの HPE の原因遺伝子の一つとして知られている *Sonic hedgehog* (*Shh*) とその標的遺伝子である *Nkx2.1* の発現を調べたところ、エタノール投与群の胚の脳原基、脊索前板、脊索などにおけるこれらの遺伝子の発現が有意に低下しており、マウス頭部正中線における *Shh* signaling の抑制がエタノール誘発 HPE の一因であると考えられた。

以上の研究は、エタノールの発生毒性メカニズムならびに HPE の病理学的機序の解明に貢献し、発生学・発生毒性学研究の進展に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 19 年 3 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。