

氏 名	ない とう ひろし 藤 浩
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2133 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 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 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Altered expression of retinoic acid(RA) receptor mRNAs in the fetal mouse secondary palate by <i>all-trans</i> and <i>13-cis</i> RAs: Implications for RA-induced teratogenesis (All-trans および 13-cis レチノイン酸投与によるマウス胎児二次口蓋におけるレチノイン酸受容体 mRNA の発現変化に関する研究) (主査) 論文調査委員 教授 飯塚忠彦 教授 本庄 巖 教授 西村善彦

論 文 内 容 の 要 旨

レチノイン酸 (retinoic acid ; RA) は哺乳類胎児の正常発生に必要不可欠であるが、同時に高濃度のRAは強力な催奇形物質としても知られている。そのひとつに口蓋裂があげられる。RAが哺乳類の二次口蓋形成過程に作用すると口蓋裂が誘発されるが、そのメカニズムはいまだ十分には解明されていない。我々は成マウス精巣cDNAより3種類のレチノイン酸受容体 (retinoic acid receptor ; RAR) α , β , γ のDNAプローブを作成し、妊娠12, 13, 14日のICR系マウス胎児二次口蓋より抽出したtotal RNAを用いてノーザンブロットをおこない、まず正常マウス胎児二次口蓋における3種類のRAR α , β , γ mRNAの発現を調べた。

RAR α mRNAについては成マウス精巣、マウス胎児二次口蓋とも約3.8Kbと約2.8Kbのバンドが検出され、発現量はほぼ一定であった。RAR β mRNAについては成マウス精巣で約2.6Kbのバンドが検出されたが、マウス胎児二次口蓋にては約3.3Kbのバンドが検出され、13日に発現量が増加していた。RAR γ mRNAについては成マウス精巣にては発現は検出されず、マウス胎児二次口蓋にて約3.7Kbのバンドが見られ、発現量はほぼ一定であった。

以上の結果より正常マウス胎児二次口蓋形成過程において、3種類のRAR α , β , γ mRNAの発現パターンには差があり、また時期特異的な発現が見られることより各々独自の役割を担うことが示唆された。

次いで妊娠12日のマウスにall-trans, 13-cis RA (100mg/kg b. w) を経口投与し、RAR α , β , γ mRNAの発現に及ぼす影響を調べた。All-trans RA投与により妊娠14日のマウス胎児二次口蓋の93.8% (107/114) で口蓋裂が誘発され、RAR β mRNAの発現量は投与後3時間で5.5倍に増加、RAR γ mRNAの発現量も2.3倍に増加した。RAR α mRNAの発現量については非投与群と差がなかった。

一方13-cis RA投与により妊娠14日のマウス胎児二次口蓋の19% (8/42) で口蓋裂が誘発された。RAR β mRNAの発現量は投与後3時間で2倍、6時間で3.8倍増とall-transRAに比べRAR β mRNA誘導量は少なくかつピークは3時間遅れであった。RAR α , γ mRNAの発現量については非投与群と差がなかった。

非授与群にては口蓋裂の発生は見られなかった (0/84)。

以上の結果よりマウス二次口蓋形成過程において、all-trans, 13-cisRAによりRAR mRNAが誘導されることが判明した。またall-trans, 13-cisRAによって誘導されたRAR β mRNA量と口蓋裂発生頻度の間には高い相関関係が認められた。RAはRARを介して作用をあらわし [Durand et al., : Cell 71 : 73-85, 1992], その催奇作用と組織all-transRA濃度は相関する [Kraft et al., : Toxicol Appl Pharmacol 100 : 162-176, 1989] こと、またRAはマウス胎児にてRAR β mRNAを誘導する [Harnish et al., : Differentiation 45 : 103-108, 1990] ことが報告されている。我々の結果を考えあわせるとRAは主に

RAR β を介してマウス胎児二次口蓋に作用、口蓋裂を発生させたことが強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

高濃度のレチノイン酸 (retinoic acid ; RA) が哺乳類の二次口蓋癒合不全 (口蓋裂) を誘発する事実はよく知られているが、その機序は不明である。申請者は成マウス精巣cDNAから3種類のレチノイン酸受容体 (retinoic acidreceptor ; RAR) α , β , γ のDNAプローブを作成し、マウス口蓋癒合日齢の口蓋突起から抽出したtotal RNAを用いたノーザンブロットでRNR α , β , γ mRNAの発現を観察した。妊娠12, 13, 14日の正常マウス胎児二次口蓋では各mRNA発現パターンに差があることを見い出した。時期特異的発現を見たことは α , β , γ が各々独自の役割を担っていると判断された。そこで、RA異性体の口蓋裂誘発と三種receptor mRNA発現との相関を観察すると、all-transRAの投与で93.8%に口蓋裂の発症を見、RAR β , γ mRNA発現が有意に増加、13-cisRA投与では19%に口蓋裂誘発をみたに過ぎずRAR β mRNAのみ誘導されたがall-transRAと比べ低値であった。以上の結果、RAがRAR β を介してマウス胎児二次口蓋に作用し、口蓋裂を発症させることが強く示唆された。

以上の研究はレチノイン酸による口蓋裂発症機序を明らかにした。

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11年3月4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。