

氏名・(本籍) 西島節子(京都府)
 学位の種類 博士(医学)
 学位記番号 博士(論)第277号
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位授与年月日 平成13年3月26日
 学位論文題目 Teratogenic effects of bis-diamine on early embryonic rat heart:an in vitro study
 (bis-diamineのラット心臓発生に及ぼす影響—全胚培養下での形態的・免疫組織的観察—)

審査委員 主査 教授 松浦 博
 副査 教授 新井 良八
 副査 教授 佐伯 行一

論文内容の要旨

【目的】

bis-diamineを妊娠10.5日のラットに経口投与すると、胎仔に総動脈幹症や、ファロー四徴症、大動脈弓離断、心室中隔欠損症などの円錐動脈幹奇形を含む心奇形が発生する。bis-diamineによる心奇形発生機序については、神経堤細胞の心臓への移動を妨げることによると推測されているが、いまだ十分には解明されていない。そこでbis-diamineの心奇形発生機序を明らかにするため、全胚培養を行ったラット胚で、神経組織由来の細胞の指標であるneural cell adhesion molecule(N-CAM)を用いて免疫組織学的検討を行い、形態的・組織学的解析を試みた。

【方法】

妊娠10.5日のWistar系母ラットから胚を摘出し、Newらの方法に従って全胚培養を行った。このうちbis-diamine投与群は、培養液にbis-diamineを0.2mg/ml加え6時間培養した後、bis-diamineの入っていないものに交換して、それぞれ6(胎生11.0日)、12(胎生11.25日)、18(胎生11.5日)、42(胎生12.5日)時間培養を継続した。bis-diamineを添加せず、同じ日齢になるように全胚培養を行ったものを対照とした。また、妊娠10.5日の母ラットにbis-diamineを200mg経口投与して6時間後に胚を摘出し、bis-diamineの入っていない培養液を用いて、それぞれ6、12、18、42時間全胚培養を行った。胚の発達や形態をBrownらのスコア等で評価した後カルノア液で固定した。これをパラフィン包埋して連続切片を作成し、抗N-CAM抗体を用いてABC法で免疫組織染色を行った。

【結果】

bis-diamineを経口投与した母ラットから42個体の新生仔が得られたがこのうち39個体(93%)に、総動脈幹症や、ファロー四徴症、大動脈弓離断などの心奇形が認められた。全胚培養を行った胚では、培養の期間中に1本の心管から心臓の基本的な形態が形成された。対照群とbis-diamine投与群の間で胚の大きさや発達のスコアに差は認められなかった。対照群には心奇形は認められなかった。bis-diamineを加えて全胚培養を行った胎生11.5日の胚51個体中33個体(65%)、及びbis-diamineを経口投与した母ラットから摘出し全胚培養を行った同日齢の胚20個体中15個体(75%)に心室腔の拡大や流出路の蛇行、心外膜の一部欠損などの心奇形が認められた。bis-diamineを投与した胎生12.5日の胚についても前者の6個体中4個体(67%)と後者の7個体中5個体(71%)に同様の心奇形が認められた。胎生11.5日より前のbis-diamine投与群には心奇形は認められなかった。N-CAM陽性細胞は、胎生11.0日及び11.25日では、対照群もbis-diamine投与群もともに肝から房室管周囲の間葉組織と、これに連なる心外膜や静脈洞に分布した。胎生11.5日、12.5日では第3、4動脈弓周辺にもN-CAM陽性細胞の分布が認められた。投与群では、対照群に比して胎生11.5日に同部位のN-CAM陽性細胞は少なかったが、胎生12.5日で多く認めら

れた。拡大した心室腔や蛇行した流出路にも N-CAM 陽性細胞が認められた。

【考 察】

bis-diamine を加えて全胚培養を行った胚にも、bis-diamine を経口投与した母ラットから摘出し全胚培養を行った胚にも、胎生11.5日以後に心室腔の拡大や流出路の蛇行が認められたが、これが動脈幹の異常な成長や分割をきたし、円錐動脈幹奇形を形成すると考えられた。第3、4動脈弓周辺における N-CAM 陽性細胞の分布の違いは、bis-diamine が神経堤細胞の心臓への移動の時期を遅らせているためと考えられた。また心外膜は神経堤細胞起源かどうかは明確ではないが、bis-diamine はこの心外膜の原基となる細胞にも作用し、心外膜一部欠損を起こすと考えられた。培養胚における心奇形の頻度は、新生仔に認められる心奇形の頻度より少なかった。bis-diamine、もしくはその代謝産物が神経堤細胞の増殖を抑制している可能性が示唆されているが、全胚培養においては bis-diamine の代謝産物は主たる催奇形物質とはなり得ず、それよりも胎生12.5日以降に生じる何らかの変化が心奇形の形成に関与していると考えられた。

【結 論】

bis-diamine は、心発生の早期に神経堤細胞の心臓への移動を遅延させること、及び心外膜の原基となる細胞の増殖を阻害することによって心奇形を生じさせると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、N,N'-bis(dichloroacetyl)-1,8-octa-methylenediamine(bis-diamine) が、神経堤細胞に作用し総動脈幹症やファロー四徴症などの円錐動脈幹奇形を発生させる機序を、全胚培養した胚を用いて形態的・免疫組織学的に解析したものである。

胎生10.5日のラット胚を bis-diamine とともに培養した A 群、bis-diamine を経口投与した母ラットより摘出した胚を培養した B 群、及び対照群をそれぞれ胎生11.0日、11.25日、11.5日、12.5日まで全胚培養を行った。胎生11.5日以後の bis-diamine 投与群では、心室腔の拡大や流出路の蛇行、心外膜の一部欠損が認められた。神経堤細胞の指標である neural cell adhesion molecule(N-CAM) 陽性細胞は、胎生11.0日、11.25日では3群とも第3、4動脈弓周辺に分布が認められなかった。投与群では、対照群に比して11.5日に同部位の陽性細胞数は少なかったが、12.5日で多く認められた。以上より、bis-diamine は、神経堤細胞の心臓への移動の時期を遅延させること、及び心外膜の原基となる細胞の増殖を阻害することによって心奇形を生じさせると結論づけられた。

本研究は、心奇形の発生機序について重要な知見を与えたものであり、博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認められた。