

## 先天異常のモニタリング等に関する研究

(分担研究：先天異常のモニタリング等に関する研究)

分担研究者：住吉 好雄<sup>1)</sup>

研究協力者：塩田 浩平<sup>2)</sup>

共同研究者：申 宰昊<sup>2)</sup>

要約：神経管奇形に対する予防効果が示唆されている葉酸ならびに myo-inositol の作用と発症予防のメカニズムを明らかにするため、高温によるマウスの誘発奇形モデルを用いて実験を行なった。妊娠マウスに、妊娠8.5日に高温(43℃)を負荷すると高率に神経管奇形が誘発される。これに対し、妊娠初期から葉酸を投与した群では、非投与対照群に比べて奇形胎児の頻度が減少し、両群の差は有意であった(P<0.05)。初期胚死亡率も葉酸投与群で低下し、奇形胎児と初期死亡胚の合計頻度は、葉酸非投与対照群に比べて有意に高かった(P<0.01)。このことから、葉酸が器官形成期における神経管奇形の発生と胚死亡を抑制する作用をもつことが明らかになった。

一方、同様に神経管奇形の予防作用があるとされる myo-inositol についても同様の検討を行ったところ、奇形胎児の頻度が低下したものの、その差は有意ではなく、葉酸に比べて myo-inositol の奇形抑制作用は弱いと判断された。

見出し語：神経管奇形、予防、葉酸、ビタミン、高温、マウス

緒言 ヒトの先天異常は、遺伝的原因、外因、または両者の相互作用によって起きると考えられているが、明らかな原因を同定できないものが臨床症例の過半を占める。実際にはポリジーンと複数の環境条件の協同作用で起きている場合が少なくないと考えられるので、個々の原因因子を同定することが先天異常の予防のためには不可欠である。

最近、諸外国で妊娠前および妊娠初期の婦人に対する葉酸または複合ビタミンの投与が児の神経管奇形の発生を予防するという報告がなされ、実際に集団を対象とした投与の試みも行われている。しかし、葉酸および複合ビタミンがどのような機序で神経管奇形の発生を抑制するのかわからない。本研究では、マウスの誘発奇形モデルと自然発症奇形モデルを用い、葉酸ならびにその他の要因が奇形の発症を抑制するかを検証し、その奇形予防のメカニズムを明らかにすることを目的とする。

我々が用いている高温(42~43℃)負荷によるマウスの催奇形モデルは、マウスの遺伝子型等によって発現が異なること、他の催奇形要因(アルコールなど)と相互作用をもつこと等の理由から、多因子奇形のモデルになりうると思われる。今年度は、この誘発奇形モデルを用いて、妊娠初期から葉酸またはその他のビタミンを投与して奇形の発現が抑制されるかを調べ、そのメカニズムを調べる目的で実験を行なった。

方法 ICR 雌マウスに妊娠0日から9.5日まで1日1回葉酸(3 mg/kg)または myo-inositol (500 mg/kg)を腹腔内投与し、妊娠8.5日に42℃の温水に15分間温浴させた。対照群として葉酸を投与し、38℃で15分間温浴させる群、ならびに溶媒(コーンオイル)を妊娠0~9日に投与し42℃で15分間温浴させる群を設けて比較した。妊娠18日に帝王切開して死亡吸収胚を記録し、生存胎児の外表を観察した。

### 結果と考察

観察結果を表に示す。高温負荷群では早期吸収胚が23.5%であり、神経管奇形(無脳症ならびに外脳症)が生存胎児の38.6%に認められた。葉酸対照群では、早期吸収胚が8.8%で、外表奇形は認められなかった。これに対し、葉酸+高温負荷群では早期吸収胚の頻度が15.1%、外表奇形が26.6%(すべて神経管奇形)であり、後者の頻度は葉酸非投与+高温負荷群に比べ、有意に低下した。

一方、妊娠初期から myo-inositol を投与して高温負荷した群では、早期死亡吸収胚が21.5%、神経管奇形胎児の頻度が31.2%といずれも高温単独処理群に比べて低下したが、その差は有意には達しなかった。

したがって、今回用いたマウスの神経管奇形誘発モデル系では、葉酸が明らかな奇形誘発抑制作用をもつこと、また、myo-inositol も抑制作用をもつものの、その効果は葉酸に比べて弱いことが明らかになった。

本実験の結果は、妊娠前および妊娠初期に葉酸をはじめとするビタミンを妊婦に投与すると児の無脳症、二分脊椎等の神経管奇形を抑えることができるとするヒトでの疫学データを実験的に証明したものである。ヒトの神経管奇形の多くが遺伝と環境要因の相互作用によって起る多因子性のものであるので、今回用いた高温実験系における結果は、ヒトの多因子性神経管奇形の予防に葉酸が有効であることを示唆している。葉酸がどのようなメカニズムで胎児の神経管奇形の発生を抑制するかについては現在検討中であるが、高温による神経上皮組織における細胞増殖抑制を予防し、高温による細胞死(アポトーシス)を防止すると思われる結果を得、現在さらに詳しく検討中である。

結論 高温によるマウスの誘発奇形モデルを用い、神経管奇形に対する予防効果が示唆されている葉酸と myo-inositol を投与してその影響を調べたところ、葉酸投与+高温負荷群で奇形胎児が有意に減少した。また、myo-inositol 投与+高温負荷群でも神経管奇形を有する胎児の頻度が低下したが、その低下の程度は有意でなく、myo-inositol の奇形抑制作用は葉酸に比べて弱いと考えられた。以上の結果は、妊娠前あるいは妊娠初期から葉酸を含むビタミン剤を妊婦に投与すると児の神経管奇形の発生を予防するとするヒトでの観察結果を実験的に裏付けるものである。

Amelioration of Heat-induced Teratogenesis by Folate and Myo-inositol in Mice

Group	No. of litters	No. of implants	Resorptions/dead fetuses (%)	Early death (%)	Live fetuses	Malformed fetuses (%)	Fetuses with NTD (%)
Folate 3 mg/kg	12	163	17 (10.4)	15 (9.2)	146	0 (0.0)	0 (0.0)
Hyperthermia 43°C X 8.5 min	14	166	39 (23.5)	39 (23.5)	127	49 (38.6)	49 (38.6)
Folate + Hyperthermia	14	159	31 (19.5)	24 (15.1)	128	34 (26.6)*	34 (26.6)*
Myo-inositol + Hyperthermia	15	191	50 (26.2)	41 (21.5)	141	45 (31.9)	44 (31.2)

\* Significantly different from the hyperthermia group (P<0.05).

1) 横浜市立大学医学部 (Yokohama City University School of Medicine)

2) 京都大学医学研究科形態形成機構学 (Kyoto University Faculty of Medicine)



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約: 神経管奇形に対する予防効果が示唆されている葉酸ならびに myo-inositol の作用と発症予防のメカニズムを明らかにするため、高温によるマウスの誘発奇形モデルを用いて実験を行なった。妊娠マウスに、妊娠 8.5 日に高温(43 )を負荷すると高率に神経管奇形が誘発される。これに対し、妊娠初期から葉酸を投与した群では、非投与対照群に比べて奇形胎児の頻度が減少し、両群の差は有意であった( $P<0.05$ )。初期胚死亡率も葉酸投与群で低下し、奇形胎児と初期死亡胚の合計頻度は、葉酸非投与対照群に比べて有意に高かった( $P<0.01$ )。このことから、葉酸が器官形成期における神経管奇形の発生と胚死亡を抑制する作用をもつことが明らかになった。

一方、同様に神経管奇形の予防作用があるとされる myo-inositol についても同様の検討を行ったところ、奇形胎児の頻度が低下したものの、その差は有意ではなく、葉酸に比べて myo-inositol の奇形抑制作用は弱いと判断された。