

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¹⁾
研究協力者：塩田 浩平²⁾
共同研究者：申 宰昊²⁾

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。その結果、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、奇形胎児が有意に増加しており、ヒトでの推定を支持しないと思われる結果が得られた。一方、葉酸投与群では初期胚死亡率が対照群に比べて有意に多く、この初期死亡吸収胚と末期奇形例を合計した頻度は、対照群に比べて葉酸投与群で有意に低くなっていた。このことから、葉酸が器官形成期における高温による奇形発生を抑制したがその後の奇形胎児の子宮内死亡も抑制したために、見かけ上、末期の奇形が増加したという可能性が考えられるが、そのメカニズムの詳しい解析とヒトとの相違点について更に検討を行なう予定である。

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。実際にはポリージ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は不明である。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考えられる。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など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in vivo およびin vitro で形態学的ならびに分子細胞生物学的に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)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。

Embryotoxic/teratogenic Interaction of Hyperthermia and Folate in Mice

Group	No. of litters	No. of implants	Resorptions/ dead fetuses (%)	Early death (%)	Live fetuses	Maltreated fetuses (%)	Fetuses with NTD (%)
Folate 3 mg/kg	12	163	17 (10.4)	15 (9.2)	146	0 (0.0)	0 (0.0)
Hyperthermia 42°C, 15 min	10	132	52 (39.4)*	42 (31.8)*	80	4 (5.0)	4 (5.0)
Folate Hyperthermia	10	143	21 (14.7)†	15 (10.5)†	122	16 (13.1)†	15 (12.3)†

Folate treatment (3 mg/day) from days 0 to 9 of gestation.
Hyperthermia (42°C, 15 min) on day 8 of gestation.
* Significantly different from the folate group (P<0.05).
† Significantly different from the hyperthermia group (P<0.05).

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30.9%であり、神経管奇形(無脳症ならびに外脳症)が生存胎児の1.8%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3.8%で高温群に比べて有意に低下し、逆に外表奇形が13.8%(うち神経管奇形12.8%)と有意に増加した。

この結果は、ヒトで示唆されている葉酸の神経管奇形予防効果と反するよう見える。その理由としては、(1) ICR マウスでは葉酸が高温の催奇形作用を増強するようにはたらい、(2) ICR マウスは、葉酸の奇形予防作用に対して抵抗性である(ヒトでは神経管奇形のうち約25%が葉酸抵抗性であることが知られている)、(3) 早期吸収胚が有意に減少したことから、子宮内で死亡するはずの奇形胎児が葉酸によってrescueされて妊娠末期まで生き延び、そのために妊娠末期に異常胎児が増加した、という可能性が考えられる。早期吸収胚と外表奇形胎児をあわせた頻度は高温負荷群で34.8%、葉酸+高温負荷群で21.0%であり、後者は前者に比べて有意に低い。早期吸収胚の多くが異常であると仮定すると、葉酸が期間形成期の奇形発生を抑制したが異常胚が葉酸によって生存し、結果的に末期胎児に奇形胎児が増加した可能性がある。

ヒトの場合、神経管奇形胚子の97%以上が妊娠中に自然流産によって淘汰される(Shiota, 1993)。ヒトに比べてマウスでは妊娠期間がはるかに短いので、妊娠末期までに奇形胚子の死亡が起こりにくく、このため今回の実験で奇形胎児が増加したかのような結果が得られたという可能性が考えられるが、この点に関しては今後さらに検討が必要である。妊娠末期には吸収胚の形態的異常を観察することが不可能であるので、現在妊娠14日に帝王切開する群を設けて、より早期に胎児を観察し、神経管奇形の頻度をより正確に算出する実験を現在行なっている。また、葉酸処理によって組織レベルでの変化が軽減されるかについても検討中である。

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増加し、ヒトでの推論を支持しない結果が得られた。一方、葉酸投与+高温負荷群では葉酸非投与+高温負荷群に比べて初期胚死亡率が有意に低く、この初期死亡吸収胚と末期奇形例を合計した頻度は、高温負荷群に比べて葉酸投与+高温負荷群で有意に低くなっていた。このことから、葉酸が高温によって誘発された奇形胎児の子宮内死亡を抑制したために、見かけ上末期の奇形が増加したという可能性が考えられるが、この点については更に検討を行っている。

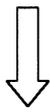
1) 横浜市立大学医学部、2) 京都大学医学研究科形態形成機構学

1) Yokohama City University School of Medicine, 2) 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。その結果、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、奇形胎児が有意に増加しており、ヒトでの推定を支持しないと思われる結果が得られた。一方、葉酸投与群では初期胚死亡率が対照群に比べて有意に多く、この初期死亡吸収胚と末期奇形例を合計した頻度は、対照群に比べて葉酸投与群で有意に低くなっていた。このことから、葉酸が器官形成期における高温による奇形発生を抑制したがその後の奇形胎児の子宮内死亡も抑制したために、見かけ上、末期の奇形が増加したという可能性が考えられるが、そのメカニズムの詳しい解析とヒトとの相違点について更に検討を行なう予定である。