

学 位 論 文 題 名

橈側列形成障害の実験的研究

学位論文内容の要旨

I 目 的

上肢先天奇形の中で、前腕の橈側と母指に形成障害が認められる疾患は橈側列形成障害と呼ばれる。橈側列形成障害は比較的頻度の高い奇形であるが、その成因について検討した報告はほとんど無い。著者はラット胎仔にヒトと同様の橈側列形成障害を誘発することに成功した。本研究では著者の作製したラット橈側列形成障害モデルの誘発条件を検討し、橈側列形成障害の成立機序を考察した。

II 実験材料および方法

実験には WKAG/Hkm ラットを用いた。成熟雌ラットを成熟雄ラットと終夜同居させて、翌朝陰塗沫標本により精子の認められた雌ラットを妊娠0日の母ラットした。妊娠8日から14日までの期間を0.5日間隔に分けて、それぞれの妊娠日に相当する母ラットに抗腫瘍剤である myleran を単一経口投与した。妊娠20日目に母ラットを開腹して生存胎仔を取り出した。胎仔の軟骨骨染色透明標本作製して骨格病変を実体顕微鏡下に観察し、以下の項目について検討した。

1. ラット橈側列形成障害の出現頻度。

各妊娠日の母ラットに myleran の20mg/kgを投与して、各投与妊娠日ごとの生存胎仔の前肢数と橈側列形成障害をもつ胎仔の前肢数を数えた。橈側列形成障害の前肢数を生存胎仔の前肢総数に対する割合で表し、橈側列形成障害出現率とした。

2. ラット橈側列形成障害の重症度。

誘発されたラット胎仔橈側列形成障害の橈骨の形成障害を観察し、障害の程度により4つの型に分類した。

3. myleran の投与量と橈側列形成障害の出現頻度および重症度の関係

妊娠10日の母ラットに対し、myleran を15, 20, 25mg/kgのいずれかの量で投与して、各投与量ごとに橈側列形成障害の出現率とその重症度を調査した。

Ⅲ 結 果

1. 橈側列形成障害の出現頻度。

橈側列形成障害は10, 10.5, 11日投与群にのみ出現し、その出現率はそれぞれ19.0%, 15.5%, そして2.9%であった。

2. 橈側列形成障害の重症度。

各型の内訳は、橈骨の完全に欠損した橈骨全欠損型：11肢、橈骨遠位部に欠損のある橈骨部分欠損型：8肢、橈骨に欠損を認めないが全体に低形成の認められる橈骨低形成：18肢、さらに橈骨は正常で母指にのみ形成障害が存在する橈骨正常型：14肢であった。

3. myleran の投与量と橈側列形成障害の出現頻度および重症度の関係。

myleran を妊娠10日目に投与した場合、投与量別に観察前肢数に対する橈側列形成障害の出現肢数を調査した。15mg/kg群では62肢中に1肢、投与量20mg/kg群では100肢中19肢、投与量25mg/kg群では44肢中19肢に橈側列形成障害を認めた。myleran の投与量が増加するにつれて橈側列形成障害の出現頻度は上昇した。さらに myleran の投与量別に橈側列形成障害の重症度をみると、15mg/kg投与群においては、最も軽症の橈骨正常型1肢のみが観察された。20mg/kg投与群では、橈骨全欠損型：3肢、橈骨部分欠損型：3肢、橈骨低形成型：8肢、そして橈骨正常型：3肢であった。myleran の投与量が多い程、橈骨全欠損型あるいは橈骨部分欠損型などの重症型の占める割合が増加していた。

Ⅳ 考 察

myleran により誘発されたラット胎仔の橈側列形成障害の骨格病変の特徴はヒトの橈側列形成障害に認められる特徴と同様であった。著者の誘発した橈側列形成障害の骨格病変が臨床例のそれと類似している事実は、動物実験の分析結果からヒトにおける橈側列形成障害の発現機序を推測可能なことを示している。

今回の実験ではラットの特定の胎生期に myleran という外的因子を加えることで、ヒトと同様の橈側列形成障害の発現をみた。このことは、ヒトにおいても胚の細胞に障害を及ぼす何らかの環境因子が橈側列形成障害の成因に関与している可能性を示唆している。動物実験において一定の催奇形因子が胎仔に及んだ場合に、特定の奇形をおこしうる胎齢の範囲はその奇形の臨界期

と呼ばれる。ラット橈側列形成障害の臨界期は妊娠10日から11日であった。これは上肢芽形成期の直前に相当し、ヒトの胎齡23日から28日に相当する。

臨床例の経験から、橈側列形成障害と尺側列形成障害には、橈骨あるいは尺骨の形成障害が低形成から部分欠損をへて全欠損に至る一定の規則性が共通して存在することが知られている。したがって、両奇形の成立機序は極めて類似していると推測されている。しかし、尺側列形成障害は橈側列形成障害に比べてその発生頻度が低く、全身合併奇形の種類が異なるなど臨床像の相違点も存在する。

尺側列形成障害の実験モデルには萩野の報告がある。そこで今回の橈側列形成障害モデルと萩野の尺側列形成障害モデルの誘発条件を比較してみた。両奇形モデルの誘発条件は、myleranという催奇形因子でラット胎仔に誘発される点と、臨界期が上肢芽形成時期の直前に存在する点が一致していた。その事実は両奇形が類似した発生学上の障害を持つ奇形であるという従来の推測を支持していた。しかし、両奇形モデルの誘発条件には相違点も認められた。すなわち尺側列形成障害の臨界期は妊娠9日か10日であるのに対し、橈側列形成障害の臨界期はそれより1日遅い妊娠10日から11日であった。

ヒトにおいても尺側列形成障害の臨界期は橈側列形成障害の臨界期に比べてわずかに早期に存在することが予想される。実験奇形の研究によれば、胎齡の1日異なるラットに同一の催奇形因子を作用させた場合、胎仔の心臓、腎臓、脊椎などに生じる奇形は大きく異なる。したがって、ヒトにおける尺側列形成障害と橈側列形成障害の間にみられる全身合併奇形の差は、胚に加えられた損傷時期の違いによって生じると考えることが可能である。

myleranはラット胎仔に対して催奇形因子であるとともに致死因子としても働いている。胎仔死亡率の推移をみると妊娠8日から9.5日の期間と妊娠11.5日から13日の期間の二つの期間に死亡率のピークが存在した。萩野の実験結果によるとラット尺側列形成障害の臨界期は最初の胎仔死亡のピーク内に存在する。これに対してラット橈側列形成障害の臨界期は、最初と2番目の胎仔死亡のピークの間隙に存在する。したがって橈側列形成障害の臨界期における胎仔死亡率は、尺側列形成障害の臨界期における胎仔死亡率に比べて低率である。このような臨界期と胎仔死亡の関係がヒトにおいても存在すると考えると、臨床例で橈側列形成障害の発生率が尺側列形成障害の発生率を上回っている事実を理解することが用意となる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 金 田 清 志

副 査 教 授 葛 巻 暹

副 査 教 授 小 林 邦 彦

目的： 先天奇形の中で、前腕の橈側と母指に形成障害が認められる疾患は橈側列形成障害と呼ばれる。橈側列形成障害は比較的頻度の高い奇形であるが、その成因について検討した報告はほとんど無い。著者はラット胎仔にヒトと同様の橈側列形成障害を誘発することに成功した。本研究では著者の作成したラット橈側列形成障害モデルの誘発条件を検討し、橈側列形成障害の成立機序を考察した。

実験方法：WKAG/Hkm ラットを用いた。雌ラットを雄ラットと終夜同居させて、翌朝膈に精子の認められた雌ラットを妊娠0日の母ラットした。妊娠8日から14日までの期間を0.5日間隔に分けて、それぞれの妊娠日に相当する母ラットに抗腫瘍剤である myleran を単一経口投与した。妊娠20日目に母ラットを開腹して生存胎仔を取り出した。胎仔の軟骨骨染色透明標本を製作して骨格病変を観察し、以下の項目について検討した。1. 橈側列形成障害の出現頻度。2. 橈側列形成障害の重症度。3. myleran の投与量と橈側列形成障害の出現頻度および重症度の関係。

結果：各妊娠日の母ラットに myleran の20mg/kgを投与した場合、橈側列形成障害は10, 10.5, 11日投与群にのみ出現し、その出現率はそれぞれ19.0%, 15.5%, そして2.9%であった。橈側列形成障害の重症度は臨床例の分類法と同様の方法で4型に分類された。各型の内訳は、橈骨の完全に欠損した橈骨全欠損型：11肢、橈骨遠位部に欠損のある橈骨部分欠損型：8肢、橈骨に欠損を認めないが全体に低形成の認められる橈骨低形成型：18肢、さらに橈骨は正常で母指にのみ形成障害が存在する橈骨正常型：14肢であった。myleran を妊娠10日目に投与した場合、投与量が15mg/kg群では生存胎仔の62前肢中に1肢、投与量20mg/kg群では100前肢中19肢、そして投与量25mg/kg群では44前肢中19肢に橈側列形成障害を認めた。myleran の投与量が増加するにつれて橈側列形成障害の出現頻度は上昇していた。さらに myleran の投与量と橈側列形成障害の重症度の関係をみると、投与量が20mg/kg, 25mg/kgと多くなるにつれて橈骨全欠損型あるいは橈骨部分欠損型などの重症型の占める割合が増加していた。

考察：myleran により誘発されたラット胎仔の橈側列形成障害の骨格病変の特徴はヒトの橈側

列形成障害に認められる特徴と同様であった。著者の誘発した橈側列形成障害の骨格病変が臨床例のそれと一致している事実は、今回の実験の分析結果からヒトにおける橈側列形成障害の発現機序を推測可能なことを示している。今回の実験ではラットの特定の胎生期に myleran という外的因子を加えることで、ヒトと同様の橈側列形成障害の発現をみた。このことは、ヒトにおいても胚の細胞に障害を及ぼす何らかの環境因子が橈側列形成障害の成因に関与している可能性を示唆している。ラット橈側列形成障害の臨界期は妊娠10日から11日であった。これは上肢芽形成期の直前に相当し、ヒトの胎齢23日から28日に相当する。

臨床例における上肢先天奇形の分類方法によると、橈側列形成障害は縦列形成障害に分類される。縦列形成障害には橈側列形成障害以外に尺側列形成障害がある。橈側列形成障害と尺側列形成障害には前腕の骨の形成障害に共通の規則性が存在している。しかし、尺側列形成障害は橈側列形成障害に比べてその発生頻度が低く、全身合併奇形の種類が異なるなど臨床像の相違点も存在する。尺側列形成障害の実験モデルには萩野の報告がある。そこで今回の橈側列形成障害モデルと萩野の尺側列形成障害モデルの誘発条件を比較してみた。両奇形モデルの誘発条件は、myleran という催奇形因子でラット胎仔に誘発される点と、臨界期が上肢芽形成時期の直前に存在する点が一致していた。しかし、両奇形モデルの誘発条件には2つの明らかな相違点が認められた。第1の相違点は臨界期の違いであり、尺側列形成障害の臨界期は妊娠9日から10日であり、橈側列形成障害の臨界期は尺側列形成障害より1日遅い妊娠10から11日であった。尺側列形成障害の臨界期は胎仔死亡が高率に見られる時期と一致しているのに対し、橈側列形成障害の臨界期は全身奇形が高頻度にみられる時期に一致していた。このような臨界期と胎仔死亡あるいは全身合併奇形の関係がヒトにおいても存在すると仮定すると、両奇形にみられる臨床像の差は、胚に加えられた損傷時期の違いによって生じると考えられた。両奇形モデルの誘発条件における第2の相違点はラットの系統差であり、尺側列形成障害は Gun : Wistar ラットに誘発されたのに対し橈側列形成障害は WKAH / Hkm ラットに誘発されていた。この事実は、胚の遺伝的因子の違いに基づく催奇形因子に対する感受性の差が奇形の表現型を規定している可能性を示唆していた。

本研究は、特定の胎生期に加えられ環境因子と、遺伝的素因の違いによる環境因子に対する感受性の差が、縦列形成障害の表現型を規定している可能性を明らかにしたものであり、博士の学位に値するものと認定された。