

論文要旨

氏名	朴 真実
タイトル (日英併記)	Msx1 heterozygosity in mice causes cleft palate via enhanced susceptibility to Phenytoin-induced hypoxic stress (Msx1 遺伝子変異と低酸素負荷の複合作用による口蓋裂発症機構の解析)
論文の要旨 (日本語で記載) 唇顎口蓋裂は顎顔面領域の先天奇形の中で最も重要な疾患の一つである。発症原因として遺伝要因—環境要因の相互作用からなる「多因子しきい説」が提唱されているが、実験モデルとしては十分にその発症メカニズムについて立証されていない。ヒト <i>MSX1</i> 遺伝子は、非症候群性口蓋裂の原因遺伝子の可能性が高いと示唆されており、また、母体ならびに胎児への低酸素負荷は先天異常を引き起こす環境因子の一つとして報告されている。本実験では、遺伝因子として <i>Msx1</i> 遺伝子変異マウスを、また環境因子として胎仔マウスへの低酸素負荷を用いて、これら両因子の複合作用による口蓋裂発症の有無と口蓋突起組織内における分子メカニズムについて解析を行った。 <i>Msx1</i> ^{+/+} 雄マウスと交配させた野生型妊娠マウスへ低酸素負荷を与え、胎齢17日に胎仔マウスを摘出し、口蓋裂発症の有無について検証を行った。低酸素負荷は以下の二つの方法で行った。一つは妊娠マウスへのフェニトイン投与である。フェニトインは母体と胎仔両方の心臓に作用することで不整脈を引き起こし、組織を低酸素状態へ導くことが報告されている。もう一つは、妊娠マウスを10%酸素濃度に調節された飼育装置にて飼育する方法である。 検証の結果、フェニトインを投与したすべての実験群で、野生型胎仔マウスと比較して <i>Msx1</i> ^{+/+} 胎仔マウスでは有意に高確率で口蓋裂の発症を認めたが、低酸素飼育群では両遺伝子型共に口蓋裂の発症は認められなかった。続いて、胎齢13日胎仔マウスの口蓋突起組織内における変化について低酸素マーカーである HP, Hif1a, VEGFa にて免疫組織化学染色を行った。野生型並びに <i>Msx1</i> ^{+/+} 胎仔マウス、また低酸素実験群間で明らかな染色の差異は認められなかった。次に口蓋突起の細胞増殖数について口蓋突起の BrdU 染色を施行した。結果としてフェニトイン投与を行った群では、野生型並びに <i>Msx1</i> ^{+/+} 胎仔マウスともに上皮組織・間葉組織での細胞増殖の低下を認めた。また、whole-mount <i>in situ</i> hybridization の結果、胎齢13日 <i>Msx1</i> ^{+/+} 胎仔マウス口蓋突起では <i>Msx1</i> 下流遺伝子である <i>Bmp4</i> 遺伝子発現の抑制が認められた。 本研究の結果より、 <i>Msx1</i> ヘテロ接合体は、 <i>Msx1</i> 下流標的遺伝子を通じて分子レベルと組織レベルの両方向から口蓋形成に負の影響を与え、低酸素負荷がかかったときにその負荷に対しての感受性を高め、低酸素ストレスへのしきい値を低下させた可能性が示唆された。本研究の成果により遺伝—環境相互作用による「多因子しきい説」を実証できたと考えられる。臨床面での貢献として、妊婦が頭蓋顔面の発生に関連する遺伝子の変異を有する場合は、妊娠中により注意深く環境リスク因子への曝露を避ける必要があると考えられ、その注意喚起によって、胎児の先天異常発症のリスクを低減させることができると期待される。	