

論 文 内 容 要 旨

題目 Spinal nerve defects in mouse embryos prenatally exposed to valproic acid

(胎生期バルプロ酸曝露によるマウス胚の脊髄神経異常)

著者 Bold Juramt, Hiromi Sakata-Haga, Yoshihiro Fukui
平成28年発行 Anatomical Science International に掲載予定

内容要旨

抗てんかん薬であるバルプロ酸は催奇形性を有することが知られている。そのため、妊娠中はバルプロ酸の休薬が推奨されるが、病状によってはバルプロ酸の有効性が優先され、妊娠中も継続してバルプロ酸を使用する場合がある。よってバルプロ酸による先天異常の詳細を明らかにすることは臨床的に重要である。マウスを用いたこれまでの研究では、胎生期バルプロ酸曝露が神経管閉鎖不全 (neural tube defects; NTDs) の一種である外脳症を増加させること、及び母獣への葉酸投与がバルプロ酸に起因した外脳症の発生を抑制することが報告されている。また、胎生期バルプロ酸曝露により脊椎や肋骨の形成異常、および脊髄神経形成異常 (spinal nerve defects; SNDs) が生じることも知られている。本研究は、胎生期バルプロ酸曝露による SNDs の詳細について、NTDs と比較して検討することを目的とした。

まず、バルプロ酸曝露時期による SNDs の発症頻度の違いを検討するため、ICR マウスの妊娠 6、7、8、又は 9 日のいずれかにバルプロ酸 400 mg/kg を単回皮下投与した。対照マウスには溶媒 (生理的食塩水) のみを投与した。妊娠 10 日に胚を採取し、抗ニューロフィラメント抗体を用いたホールマウント免疫染色を行い脊髄神経の走行を観察した。胎生期バルプロ酸曝露マウス胚では、主に胸神経と腰神経において神経束の欠損や隣接する神経束との吻合などの脊髄神経走行異常が認められた。また、後根神経節の分節化の異常も多数認められたが、その一部は脊髄神経走行異常を伴っていた。バルプロ酸投与日毎の SNDs の発生頻度を解析したところ、妊娠 8 日でのバルプロ酸曝露のみが有意に SNDs の発症を増加させた (発症頻度 60.0%, $p < 0.01$)。一方、NTDs の発症頻度は妊娠 7 日 (26.4%) または 8 日 (27.7%) のバルプロ酸投与で有意に増加した (それぞれ $p < 0.01$)。

様式 (8)

次に、SNDs 発症頻度に対するバルプロ酸投与量依存的効果を検討するため、妊娠 8 日に 100, 200, 400, 又は 600 mg/kg のバルプロ酸を投与したところ、投与量の増加に伴い SNDs と NTDs の発症頻度が増加した。特に SNDs 発症頻度の投与量依存的変化は顕著であり、600 mg/kg 投与群では全個体で SNDs が認められた。さらにバルプロ酸により誘発される SNDs 発症に対する葉酸の効果を検討したところ、母獣に対しての妊娠 6~8 日の葉酸投与 (3 mg/kg/日) は、バルプロ酸により誘発される NTDs の発症を有意に抑制したが、SNDs に対しては効果を示さなかった。

以上より、胎生期バルプロ酸曝露による SNDs の感受期は妊娠 8 日であること、および SNDs の発症率はバルプロ酸投与量依存的に変化することが明らかになった。また、胎生期バルプロ酸曝露による SNDs と NTDs は、臨界期は類似するものの、異なるメカニズムにより誘発される可能性が示唆された。脊髄神経の分節性配置は体節と深く関連しているが、これまでの研究でバルプロ酸による体節形成の異常が示唆されていることから、バルプロ酸による SNDs は体節形成の異常に起因することが推察されるが、SNDs のメカニズムは不明である。本研究で明らかにした SNDs を高頻度で発生するバルプロ酸曝露条件で作製したマウスモデルは、脊髄神経および体節関連構造に対するバルプロ酸の発生毒性を検討するために有用である。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1299号	氏名	Juramt Bold
審査委員	主査 勢井 宏義 副査 鶴尾 吉宏 副査 常山 幸一		

題目 Spinal nerve defects in mouse embryos prenatally exposed to valproic acid

(胎生期バルプロ酸曝露によるマウス胚の脊髄神経異常)

著者 Juramt Bold, Hiromi Sakata-Haga, Yoshihiro Fukui
 平成28年発行 Anatomical Science Internationalに掲載予定
 (主任教授 福井 義浩)

要旨 抗てんかん薬であるバルプロ酸は催奇形性を有することが知られているが、バルプロ酸の有効性が優先され、妊娠中も継続してバルプロ酸を使用する場合がある。よってバルプロ酸による先天異常の詳細を明らかにすることは臨床的にも重要である。マウスでは、胎生期バルプロ酸曝露が神経管閉鎖不全 (neural tube defects; NTDs) の一種である外脳症を増加させること、および母獣への葉酸投与が外脳症の発生を抑制することが報告されている。また、胎生期バルプロ酸曝露により脊椎や肋骨の形成異常、および脊髄神経形成異常 (spinal nerve defects; SNDs) が生じることも知られている。本研究は、胎生期バルプロ酸曝露によるSNDsの詳細についてNTDsと比較して検討した。

まず、バルプロ酸曝露時期によるSNDsの発症頻度を検討するため、ICRマウスの妊娠6、7、8、又は9日のいずれかにバルプロ酸400 mg/kgを単回皮下投与した。対照マウスには溶媒(生理的食塩水)のみを投与した。妊娠10日に胚仔を採取し、抗ニューロフィラメント抗体を用いたホールマウント免疫染色を行い脊髄神経の走行を観察した。胎生期バルプロ酸曝露マウス胚では、主に胸神経と腰神経において神経束の欠損や隣接する神経束との吻合などの脊髄神経走行異常が認められた。

妊娠8日でのバルプロ酸曝露のみが有意にSNDsの発症を増加させた

(発症頻度 60.0%, $p < 0.01$)。バルプロ酸投与量依存的効果を検討するため、妊娠 8 日に 100、200、400、又は 600 mg/kg のバルプロ酸を投与したところ、投与量の増加に伴い SNDs と NTDs の発症頻度が増加し、600 mg/kg 投与群では全個体で SNDs が認められた。一方、NTDs の発症頻度は妊娠 7 日 (26.4%) または 8 日 (27.7%) のバルプロ酸投与で有意に増加した (それぞれ $p < 0.01$)。さらにバルプロ酸により誘発される SNDs 発症に対する葉酸の効果を検討したところ、妊娠 6~8 日の母獣への葉酸投与 (3 mg/kg/日) は、バルプロ酸による NTDs の発症を有意に抑制したが、SNDs に対しては効果を示さなかった。

以上より、胎生期バルプロ酸曝露による SNDs の感受期は妊娠 8 日であること、SNDs の発症率はバルプロ酸投与量依存的であることが明らかになった。また、胎生期バルプロ酸曝露による SNDs と NTDs は、臨界期は類似するものの、異なるメカニズムにより誘発されることが示唆された。

本研究は胎生期バルプロ酸投与による SNDs の感受期、脊髄神経に対するバルプロ酸の神経発生毒性の機序を明らかにしたものであり、神経発生学、およびバルプロ酸投与に関しての実地臨床に寄与するところが大きい。よって、学位授与に値すると判定した。