

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

攪上 詩織

専攻分野：小児科学

コース：

指導教授：山本 仁

主論文の題目：

母体ラットのビタミン A 摂取不足が胎仔肺へ及ぼす影響

共著者：

島 秀樹、平 泰彦、北川 博昭、吉尾 博之、山本 仁

緒言

ビタミン A は retinoid signaling pathway (RSP) において、核内受容体のシグナル分子として遺伝子の発現を転写レベルで制御し、生体内の細胞の増殖、分化誘導、成長など重要な役割を担い、肺発達においても重要な役割を果たす。胎児期は全妊娠期間中ビタミン A 摂取を母体からの供給に依存しているが、胎児の RSP に関しては明確に解明されていない点も多い。RSP の調整因子に chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor II (COUP-TF II)、friend of GATA 2 (FOG2)、GATA4 の 3 分子が挙げられる。母体ビタミン A 欠乏状態では胎仔へのビタミン A 欠乏を惹起すると予想され、ビタミン A 削除餌母体ラット由来の胎仔肺における COUP-TF II、FOG2、GATA4 の発現の変化を測定し、肺発達異常への関与を検討した。

方法・対象

Sprague-Dawley ラット (SLC 社、Japan) を使用し、交配後妊娠を確認した日を Day 0 と設定した。母体に投与する餌を正常餌 (レチノール含有量 0.5 mg/g) とビタミン A 削除餌 (レチノール含有量 0.01 mg/g 以下) の 2 種類を Day 1 より投与した。Day 21 に帝王切開術で胎仔を娩出後、第一啼泣前に犠牲死させ胎仔の左肺を摘出した。母体に正常餌を投与した胎仔の群を正常群、母体にビタミン A 削除餌を投与した胎仔の群をビタミン A 欠乏群とし、各群の妊娠母体 (n=4) より胎仔 (n=12) をランダムに抽出した。COUP-TF II、FOG2、GATA4 の各因子について、胎仔左肺をリアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応で mRNA 発現量 (β アクチン発現量で補正) を測定し、免疫組織学的染色にてタンパク発現部位の確認を行った。統計学的処理は F 検定と Student's t 検定を用いた。本研究は聖マリアンナ医科大学大学院実験動物飼育管理研究施設の動物実験委員会の審査、承諾 (承認番号: 1206002) を得て、聖マリアンナ医科大学動物実験実施指針に則り実施した。

結果

COUP-TF II の mRNA 発現量は、ビタミン A 欠乏群 0.88 ± 0.13 と正常群 1.30 ± 0.32 と比較して有意に低値を示した ($p < 0.05$)。FOG2 も同様にビタミン A 欠乏群 0.80 ± 0.14 であり、正常群 1.19 ± 0.27 と比較して有意に低値であり、GATA4 もビタミン A 欠乏群 0.15 ± 0.05 、正常群 0.48 ± 0.22 となり、ビタミン A 欠乏群が正常群と比較して有意に低値を示した ($p < 0.01$)。また胎仔左肺の免疫組織学染色法にて、上記 3 分子の発現部位を観察した。正常群、ビタミン A 欠乏群ともに COUP-TF II は肺胞内の核と気管支のクララ細胞の核に染色された。また、FOG2 は動脈や気管支の平滑筋細胞や結合組織、気管支クララ細胞の細胞質も染色され、一部の末梢の肺胞の核も染色され、GATA4 は動脈の平滑筋細胞の核と臓側胸膜細胞の核に局在して染色された。

考察

母体のビタミン A 欠乏は死産率と出生直後の死亡率を上昇させ、その死亡原因は胎仔の肺組織構造の異常であると報告されている。本研究は胎仔ラットの妊娠満期に帝王切開にて娩出し、第一啼泣前に犠牲死させる方法を選択した。その肺組織学的評価は光学顕微鏡観察下では、正常群と低ビタミン A 群の 2 群間では形態学的な変化に差異は認めなかった。本研究のビタミン A 欠乏群においては、全妊娠期間を通して母体の餌に含まれるビタミン A を欠乏させることで、ビタミン A の供給

が不足したと考えた。しかし、ビタミン A 不足による肺組織の未熟性を証明するには至っておらず、肺発達に關与する COUP-TF II、FOG2、GATA4 の 3 分子ともにタンパク質の発現部位に相違がない事の確認と mRNA レベルでの変化に留まった。しかし、mRNA レベルではビタミン A 欠乏群では、COUP-TF II は正常群と比較しても有意に低値となり、COUP-TF II により発現量を制御されている FOG2 と GATA4 もビタミン A 欠乏群で正常群と比較して低値を示した。これらの結果は、妊娠中におけるビタミン A の摂取不足が引き起こす肺の発達異常に COUP-TF II、FOG2、GATA4 等が關与している可能性を示唆した。

結語

本研究は、妊娠母体のビタミン A 摂取不足状態において、胎仔の肺組織中のビタミン A 代謝調整因子である COUP-TF II、FOG2、GATA4 の各分子の mRNA の発現が低下していることを初めて示した。妊娠期間中の母体ビタミン A 摂取不足が肺の成熟過程に異常を来す機序にこれら 3 分子の産生が關与することが示唆された。