

学位論文抄録

直腸肛門奇形に関する発生学的解析

(Developmental analysis of the anorectal malformations)

須田 博子

Hiroko Suda

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻小児外科学

指導教員

猪股 裕紀洋 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻小児外科学

学位論文抄録

<目的>直腸肛門奇形(鎖肛)は、新生児外科の治療対象となる先天性疾患のうちで最も頻度の高い疾患であるが、その発生機序に関する知見は少ない。また、ヒト鎖肛のモデル動物になりえる100%の発生率を示す鎖肛モデルの報告はない。我々は、高頻度に鎖肛を発症するDanforth's short tail(*Sd*)変異マウスにSickle tail遺伝子(*Skt*)の変異(*Skt^{G1}*)を加えた(*Sd Skt^{G1/+} Skt^{G1}*)マウスで鎖肛発生率が100%になることに注目した。本研究の目的は、総排泄腔(cloaca)発生における*Skt*と、鎖肛モデル(*Sd Skt^{G1/+} Skt^{G1}*)胚のcloaca発生異常を検討することで、*Skt*が直腸肛門発生と鎖肛発症に関連する時期及び組織を同定し、直腸肛門形成に関与する分子メカニズムを解明することである。

<方法>コントロール胚、鎖肛モデル胚に対して直腸肛門形成期である胎生9.5日(E9.5)からE13.5においてHE染色を行った。また、(*Skt^{G1}*)のレポーター遺伝子を利用してcloaca周辺の*Skt*発現をXgal染色により同定した。また、E10.5の臀部組織のRNAを用いてマイクロアレイ解析によるパスウェイ解析を行った。加えて、直腸肛門形成に関連があると報告されている遺伝子についてIn situ hybridization (ISH)法にて検証を行った。

<結果>鎖肛モデル胚は、E10.5より背側部のcloaca plateの発生障害と、E11.5より尿直腸中隔の低形成を示した。E13.5になると、直腸肛門管は肛門窩に開口せず、その末端は尿生殖洞と交通していた。*Skt*の発現は、E9.5よりcloaca plate上皮で始まり、E11.5よりcloaca plateと背側の間葉細胞で認め、E13.5の時期まで維持されていた。鎖肛モデルでは短縮したcloaca plateと背側で肥厚し遺残していた間葉細胞で認めた。発現プロファイリング解析により、鎖肛モデルでは*Cdx*, 5'*Hox*遺伝子の発現変化を示しており、*Hoxa13*, *Hoxd13*は尾側腸管での異所性発現を示し、*Cdx2*はcloacal plateとその周辺組織で発現が低下していた。

<考察>*Skt*遺伝子の発現は、正常肛門の発生過程でcloaca plateで主に認め、鎖肛モデルの発生過程では、短縮したcloaca plateとその周囲に肥厚し遺残した間葉組織に認めた。このことは、*Skt*遺伝子が、cloaca plateの分子マーカーになりえることを示しただけでなく、鎖肛発生の病態にも関与していることを示している。マイクロアレイとISH法解析の結果は、鎖肛発生に*Hoxa13*, *Hoxd13*, *Cdx2*発現の変動が関与していることを示唆した。

<結論>高頻度に鎖肛を発症するモデルマウスを用いることによって、*Skt*遺伝子が、cloaca plateの分子マーカーになり、鎖肛発生の病態にも関与していることを示した。更に、*Hoxa13*, *Hoxd13*, *Cdx2*発現の変動も関与していることが示された。