

医研 251


(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Differential effects of vitamin A on fetal lung growth and diaphragmatic formation in nitrofen-induced rat model.

(ナイトロフェン誘発横隔膜ヘルニアラットモデルにおける  
ビタミンAの胎児肺成長と横隔膜形成に対する効果)

氏名大城達男 

【目的】先天性横隔膜ヘルニア(CDH)は新生児において肺低形成や肺高血圧のために高い死亡率を来す疾患である。CDHは従来胸腔内を占める腹腔内臓器による圧排のために起こる呼吸障害と考えられていたが、重症CDH患児ではヘルニア形成の対側肺にも強い肺低形成が認められる。一方、肺低形成を伴うCDH児の血中レチノイド濃度が正常児に比べ50%以上も少ないなど、ビタミンA(VitA)は肺成熟に対して重要な役割を来す可能性が示唆されている。そこで私たちは、ナイトロフェン(NIP)誘発横隔膜ヘルニアラットモデルを用い、VitAを母胎投与する事で、胎児の肺成長および横隔膜形成に対する影響を検討した。

【方法】SD系のラットを用い、妊娠9.5日目にNIP 100mgを胃内投与し横隔膜ヘルニアモデルを作成し、VitA投与群は妊娠14日目に15000U胃内投与を行った。妊娠20日目に帝王切開により児を娩出させ、横隔膜ヘルニアの有無、および組織検索・mRNA定量目的に肺を採取し

た。肺組織検索には肺表面活性物質の特異蛋白である Surfactant Protein A(SP-A) 免疫染色および、SP-C mRNA in situ hybridization を用いた。また mRNA 定量は SP 特異的なプライマー ( SP-A, B, C および D ) による real time PCR 法を用いて行った。

【結果】 NIP 投与群に対して NIP+Vit A 群では明らかに CDH 発生率の減少が得られた (84%:54%,  $p<0.001$ )。体重あたりの肺重量では NIP+Vit A 群は NIP 群に比して有意な増加が得られたが、抗 SP-A 抗体による免疫染色では、NIP 群に比し有意に陽性細胞数の減少が認められた。各々の群における SP mRNA レベルは、SP-B を除き NIP 群で mRNA 量の低下を認めた。また、NIP+Vit A 群でも NIP 群と同レベルの mRNA 量低下が認められた。一方、Vit A 単独投与群では SP-B および SP-C のみ mRNA 量低下が生じ SP-A, D では mRNA 量に変化がないなど、Vit A は hydrophobic protein と hydrophilic protein に異なった機序で関与する事が考えられた。SP-C mRNA における in situ hybridization では各々の 4 群で有意差はなかつ

た。

【考察】本研究において、VitA投与群で明らかにCDH発生率の低下が認められた。体重および肺重量は低下したが、体重あたりの肺重量ではNIP+VitA群で増加が認められた。このことより肺の成熟により増加したのではなく、NIPが他の臓器にも悪影響を与えて、相対的に肺重量が増加したものと考えられた。またNIP+VitA群においてSP-A蛋白発現およびmRNA量の低下がみられることより、本モデルではVitAは肺成熟には明らかな効果を示さず、これまでの横隔膜の閉鎖には肺の成熟が必要であるという報告とは明らかに異なっていた。

【結論】VitAの母胎投与はCDH児の肺の成熟を伴わずにヘルニア発生率の減少を来たした。これらのことよりVitAは肺の成熟と横隔膜閉鎖に関連して、独立した異なった機序で関与することが示唆された。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨 (1)

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	大城 達男
論文審査委員	平成17年 2月 2日		
	主査教授	久木田 一朗	印 (香)
	副査教授	安澄 文興	印 (藤)
	副査教授	金澤 浩二	印 (津)
(論文題目)			
Differential effects of vitamin A on fetal lung growth and diaphragmatic formation in nitrofen-induced rat model.			
(論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1, 研究の背景と目的			
先天性横隔膜ヘルニア(以下 CDH)は新生児において肺低形成や肺高血圧のために高い死亡率を来す疾患である。CDH は腹腔内臓器が胸腔内を占めるためにおこる呼吸障害だけではなく、強い肺低形成を伴うことがわかっている。一方、vitamin A (以下 Vit A)が肺成熟に対して重要な役割を来す可能性も示唆されている。本研究は、ナイトロフェン(以下 NIP)誘発横隔膜ヘルニアラットモデルを用い、vitamin A を母胎投与することで、胎児の肺成長および横隔膜形成に対する影響を検討した。			

- 備考 1 要旨の規格は、A4 とし縦にして左横書とすること。  
 2 要旨は 800~1200 字以内にまとめること。  
 3 \*印は記入しないこと。

## 2. 研究内容

vitamin A による横隔膜形成や肺の成熟に対する影響を、組織検索・mRNA 評価により比較検討した。その結果、NIP 投与群に対して NIP+Vit A 群では明らかに CDH 発生率の低下が認められた(84%:54%, $p<0.001$ )。

体重あたりの肺重量では NIP+Vit A 群は NIP 群に比して有意な増加が得られたが、抗 SP-A 抗体による免疫染色では、NIP 群に比して有意に陽性細胞数の減少が認められた。各々の群における SP-mRNA レベルは、SP-B を除き NIP 群で mRNA の低下を認めた。また、NIP+Vit A 群でも同様に mRNA 量の低下を示し、肺成熟を示唆する所見は得られなかった。一方、Vit A 単独投与群では SP-B および C のみ mRNA 量低下が生じ、SP-A,D では mRNA 量に変化がないなど、Vit A は hydrophobic protein と hydrophilic protein に異なった機序で関与することが考えられた。SP-C mRNA における in situ hybridization では各々の 4 群で有意差は認められなかった。

本研究では Vit A は肺成熟には明らかな効果を示さず、これまでの横隔膜閉鎖には肺の成熟が必要であるという報告とは明らかに異なっていた。以上のことより、Vit A は肺の成熟と横隔膜閉鎖に関連して、独立した異なった機序で関与することが示唆された。

## 3. 研究成果の意義と学術的水準

本研究では従来の報告と異なり、横隔膜形成と肺成熟には独立した異なった機序を示唆するなど、独創性に富むものである。このことは、横隔膜ヘルニアの肺低形成に対して出生前治療の可能性を示唆するものであり、本研究の国際的意義は高いと考えられる。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。