

須田 博子 氏学位論文審査の要旨

論文題目

直腸肛門奇形に関する発生学的解析

(Developmental analysis of the anorectal malformations)

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、その発生機序に関してはよくわかっていない。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。本申請者はまず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^{Gt}*)を加えた(*Sd Skt^{Gt}+Skt^{Gt}*)マウスで鎖肛発生率が 100%になることに注目した。この鎖肛モデルにおいて総排泄腔(cloaca)発生における *Skt* と、鎖肛モデル(*Sd Skt^{Gt}+ Skt^{Gt}*)胚の cloaca 発生異常について検討した。また *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についても検討した。実験ではコントロール胚、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 において組織像、cloaca 周辺における *Skt* 発現、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。

その結果、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、正常肛門の発生過程で 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。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唆している。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 cloaca plate とその周辺組織で発現が低下していたことなどが判明した。鎖肛発生にこれらの遺伝子発現の変動が関与していることを示唆した。

質疑では鎖肛モデルの発生に関与する *Sd* 遺伝子と *Skt* 遺伝子の機能、その重要性について、あるいはこのモデル研究と臨床症例での解析との関連についての申請者の考え方などの質問等、さまざまな議論がなされたが申請者の応答は的確であった。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唆する有用な研究であると評価でき、臨床との関連でも意義の高い研究であり、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 小児科学担当教授

遠藤 文夫

審 査 結 果

学位申請者名：須田 博子

分野名またはコース名：小児外科学

学位論文題名：直腸肛門奇形に関する発生学的解析
(Developmental analysis of the anorectal malformations)

指 導： 猪股 裕紀洋 教授

判 定 結 果：

ⓐ

不可

不 可 の 場 合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成 24 年 2 月 8 日

審 査 委 員 長 小児科学担当教授

遠藤 文夫

審 査 委 員 腎臓発生学担当教授

西中村 隆一

審 査 委 員 資源開発学担当教授

中野 直己

審 査 委 員 細胞医学担当教授

中尾 光善