



Title	口唇裂口蓋裂の発生要因に関する細胞遺伝学的研究
Author(s)	廣谷, 勝
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31104
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【4】

氏名・(本籍)	ひろ 廣	たに 谷	まさる 勝	
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	3062	号	
学位授与の日付	昭和49年3月25日			
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	口唇裂口蓋裂の発生要因に関する細胞遺伝学的研究			
論文審査委員	(主査) 教授	宮崎	正	
	(副査) 教授	小谷	尚三	助教授 鈴木不二男
	助教授	藤田	訓也	

論 文 内 容 の 要 旨

口唇裂口蓋裂の発生要因には遺伝要因と環境要因が考えられる。

前者に関しては、その関与を調べる一つの方法として染色体分析が考えられ、口唇裂口蓋裂患児については、赤坂や平川らの報告がある。

一方後者に関しては、多くの先天異常についての疫学的、実験奇形学的研究の結果、環境要因の重要性が次第に認識されるようになった。特に風疹ウイルス、ムンプスウイルス、ヘルペスウイルス等のウイルス感染が先天異常の発生に与ることが示唆され、なかでも Gregg が疫学的調査によって明らかにした母体の風疹ウイルス感染に基づく先天性風疹症候群の報告が注目されている。口唇裂口蓋裂の発生に上記のいわゆる催奇形性ウイルス感染が関与することを示す報告は従来全くなかった。しかし著者らは、口唇裂口蓋裂患者児についてこれらのウイルスの関与を調べる目的で血清疫学的調査を行い、これら患児では、風疹ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体の保有率が異常に高いことを既に発表した。また菅原は、妊娠マウスに風疹ウイルスを接種することにより、その胎児に口蓋裂を発生させ得たと報告している。これらの事実、風疹ウイルス感染が口唇裂口蓋裂の発生要因の一つのなり得ることを示唆するものと言えよう。

他方、ウイルス感染が動物細胞の染色体異常を起すという多くの報告がある。しかし風疹ウイルスについては一定の見解は得られておらず、特に *in vivo* の実験による研究は現在までその報告を見ない。

著者は、以上述べた口唇裂口蓋裂の発生要因に関する研究の現状にかんがみ、母体の風疹ウイルス感染が胎児の口唇裂口蓋裂発生の原因となりうるという観点に立ち、風疹ウイルス感染、染色体異常及び口唇裂口蓋裂の発生の三者がどのような関連性を有するかを明らかにする目的で患児の染色体分析の追試を行ない、また妊娠マウスへの風疹ウイルス接種が胎児マウスに及ぼす影響を Micronuclei

テストで調べることを通じて追求し、以下の結果を得た。

口唇裂口蓋裂患児の染色体分析は、2才以下の患児 116名の末梢白血球を古山ら (1970) の方法に従って培養後、標本作製を行ない、国際染色体会議 (1960、1963、1966) の基準に基き行なった。

対象とした患児の症型分布は、口唇裂 (CL) 35例、口蓋裂 (CP) 18例、口唇口蓋裂 (CL+CP) 63例であった。これら患児の中で10例 (8.3%) に染色体の切断が見られた。しかし数の異常やその他の構造異常は見られなかった。これら染色体の切断は、A 群染色体に6例 (CL 3例、CP 2例、CL+CP 1例)、B 群染色体に4例 (CL 1例、CL+CP 3例) 及びD 群染色体に1例 (CL 1例) 見られた。対照群の正常小児20例には全く異常は見られなかった。

なお1971年以来染色体のギムザ分染法が開発され次第に注目を集めていたので、著者もこの方法を一部の試料に試みたが、切断との鑑別法について十分な再現性が得られなかった。この分析法については将来再検討したい。

Heddle らは、マウスに放射線を照射し、あるいは制癌剤を与えると、その骨髓細胞に Micronuclei を有する細胞が対照に比べ有意の差で出現することを報告している。またこの Micronuclei を有する細胞の出現頻度と染色体異常とはよく相関することも知られている。そこで風疹ウイルス (RV) を感染させた妊娠マウス及びその胎児と仔マウスにつき、Micronuclei の出現を追求した。

妊娠6日目及び10日目の ddY 系マウスに尾静脈より 1×10^9 PFU (ブラック形成単位) $\sim 1 \times 10^6$ PFU_m の RV 浮遊液の 0.3ml を接種し、接種後翌日より5日間毎日、胎児細胞及び親マウスの骨髓細胞をとり、Heddle らの方法に従って標本作製を行い、細胞1000個当りの Micronuclei 保有細胞数の算定を行った。妊娠6日目に 3×10^8 PFU の RV を接種した群では、接種後2日目の胎児細胞に Micronuclei の出現のピークが見られ (24.0個/1000細胞) 接種後5日目の胎児細胞では、未接種対照 (4.5個/1000細胞) とほぼ同率にまで下降した。一方妊娠10日目に RV を 3×10^8 PFU 接種した群では、接種後2日目の胎児に1000細胞当たり12個の Micronuclei 保有細胞が見られた。このように妊娠6日目の接種実験の場合に比べて Micronuclei 保有細胞の出現率は低かったが、RV 接種後の Micronuclei 保有細胞の上昇及び下降のパターンには妊娠6日目接種群でのそれと有意の差は認められなかった。ちなみにいずれの群においても、接種ウイルス量と Micronuclei 保有細胞の出現との間に、 3×10^5 PFU、 3×10^6 PFU、 3×10^7 PFU、 3×10^8 PFU の範囲内で、dose response が見られた。

他方、親マウスの骨髓細胞における Micronuclei の出現については、RV 接種後第一日目に出現頻度のピークが見られ、以後漸次 Micronuclei 保有細胞の出現率が下降するパターンが見られた。妊娠6日目に接種を行った場合と10日目の夫れとの間には、有意の差は認められなかった。

また以上の実験に供試した胎児の一部について、初代培養細胞の染色体分析を行った。妊娠6日目に RV を接種した群では、接種後2日及び4日目に、妊娠10日目接種群では、接種後1日、2日及び4日目の胎児からの培養細胞に染色体の切断が見られた。

さらに妊娠6日目及び10日目に RV を接種したマウスの接種後5日目以降の胎児並びに RV 接種母体から生まれた仔マウスについて、生後2週間目までの間 Micronuclei の出現を追跡した。Micronuclei 保有細胞の出現率には、未接種対照マウスの胎児及び仔獣のそれと比べて、有意の差は認められなかった。

次に RV が *in vitro* で胎児細胞に作用し得るかどうかを検討するために、マウス胎児細胞の初代培養細胞に細胞一個当たり 2 PFV の RV を接種し、翌日より 4 日間毎日 Micronuclei の出現を観察した。その結果、接種後 3 日目に Micronuclei の出現のピークが見られることを知った (15.5 個/1000 細胞)。

以上の実験結果より、RV を妊娠マウスに接種すると、その胎児に Micronuclei を有する細胞の増加が見られ、母体からの RV 感染により胎児の染色体に“damage”が引き起こされることが始めて示された。同時にまた、妊娠のどの時期に RV を感染させるかによって胎児における Micronuclei の出現頻度に相違が見られ、奇形発生機構を考察する上で重要な示唆を与える所見が得られた。以上要するに、この研究により口唇裂口蓋裂の発生に風疹ウイルスが関与する場合、母体よりのウイルス感染の結果胎児に引き起こされる染色体異常を介してこの奇形が発生する可能性が考慮されるべきことが示された。

論文の審査結果の要旨

本研究において広谷勝君は、口唇裂口蓋裂の発生原因を解明する目的で、口唇裂口蓋裂ヒト患児の染色体分析を行うと共に、妊娠マウスに風疹ウイルスを感染させ、その胎児の染色体への影響を Micronuclei テストを用いて調べた。

その結果、患児では染色体の切断が観察され、またマウスでは妊娠中の感染により、その胎児の細胞に micronuclei の増加が見られた。また micronuclei の出現頻度は、ウイルスを接種する妊娠時期により、差のあることを明らかにした。

従来、培養細胞を用いた *in vitro* での風疹ウイルス感染実験における染色体異常は、数多く報告されている。しかしこのウイルスによる *in vivo* での接種実験における染色体異常を調べた研究は、その例がない。本論文の研究成績は、動物が風疹ウイルス感染を受けることにより、その染色体に damage を来たすことを示した最初のものである。この研究で広谷勝君が得た結果は、風疹ウイルス感染がこの奇形の発生にどの様に関与するかを、染色体異常という観点からとらえようとした点で、独創的なものと考えられる。従って本論文は、歯学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。