OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	カフェインの5ーアザシチジン誘発指趾奇形に対する抑制作用とその機序
Author(s)	栗下, 昭弘
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36755
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【24】

氏名・(本籍)	栗下昭弘
学位の種類	医学博士
学位記番号	第8749号
学位授与の日付	平成元年6月9日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**カフェインの5－アザシチジン誘発指趾奇形に対する抑制作用とその機序**
論文審査委員	(主査) 教授 野村 大成 (副査) 教授 坂本 幸哉　教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

(目　的)

カフェインがウレタン，エチルニトロソウレア，4－ニトロソキノリン－1－オキシド等の発癌物質によって誘発された癌や奇形を抑制することはすでに報告されているが，その機序については不明な点が多い。本研究では，上記発癌物質とは異なった作用を有する，DNAメチル化の阻害剤である5－アザシチジン（5－AC）を用いてラット胎仔に指趾奇形を誘発し，カフェインの作用を確認する共に，その作用機序を奇形発症過程との関連性において組織レベルで検討した。

(方法ならびに成績)

(実験1) 5－ACによる指趾奇形の誘発

ラットの妊娠13日に5－ACを0.0，0.2，0.4，0.45，0.5，0.6，0.7，0.8及び1.0mg／kgの用量で投した。閾値は0.4mg／kgにあり，奇形の頻度はこれ以上の用量で直線的に増加して0.6mg／kgで100%となった。一方，胎仔死亡率は対照群と同水準にあった。

(実験2) 5－AC誘発指趾奇形に対するカフェインの抑制作用

実験1の結果に基づいて，5－ACの0.6mg／kgの用量で誘発される指趾奇形に対するカフェインの効果を調べた。カフェインの用量は132，264，及び528μg／ラット／24時間とし，浸透圧ミニポンプを用いて除放的に処理した。処理時期は，5－AC投与直後より24時間としたが，528μg／ラット／24時間の用量では，5－AC投与後24時間目よりカフェイン処理を開始する群を置いた。その結果，カフェインの用量に相関して奇形頻度が低下し，5－AC単独では98.1%に対して5－ACとカフェイン528μgの併用投与群では30.8%に低下した。この結果は5－AC投与後24時間よりカフェインの処理

を開始しても認められ，この場合71.7%に低下した。指趾奇形を短指（趾），欠指（趾）及び合趾の型別に分類した場合でもその頻度は各奇形ともに同様に低下していた。

（実験３）５－ＡＣによる奇形発現過程及びカフェインによる奇形発現抑制過程の比較

実験２の結果に基づいて，無処理，カフェイン（528μg／rat／24時間）投与，５－ＡＣ（0.6mg／kg）投与，及び５－ＡＣ（0.6mg／kg）とカフェイン（528μg／rat／24時間）の併用投与群の胎仔後趾を５－ＡＣ投与後０，３，６，９，12，18，24及び30時間後に固定し，細胞死に重点を置いて組織学的検索を行った。この発生段階の胎仔足板上では中央部動脈周辺，及び外胚葉頂提に生理的細胞死が認められるが，投与後３時間で５－ＡＣ投与群の胎仔で上記部位での生理的細胞死が抑制されていた。しかし，他の３群では変化は認められなかった。５－ＡＣ投与群の胎仔の生理的細胞死の抑制は，投与後６時間で正常に回復した。誘発細胞死については，無処理及びカフェイン投与群では認められなかった。５－ＡＣ投与群では24時間後に最大（17.7%）となり，30時間後にはわずかに細胞死が認められただけであった。５－ＡＣとカフェインの併用投与群では12時間後に最大（32.4%）となり，24時間には18.6%と減少し，30時間後では５－ＡＣ投与群と同じレベルであった。

（実験４）５－ＡＣ及びカフェインによる誘発細胞死の用量相関性

実験３の結果に基づいて，５－ＡＣ及びカフェイン併用投与群での５－ＡＣ投与後12及び24時間での細胞頻度のカフェインに対する用量相関性を調べた。カフェインの用量は（実験２）と同じく132，264及び528μg／rat／24時間とし，胎仔は５－ＡＣ（0.6mg／kg）投与後12及び24時間に固定した。その結果，投与後12時間の細胞死の頻度は，カフェインの用量増加に伴って明らかに上昇したが，24時間については用量相関は認められなかった。

（総　括）

以上の結果，５－ＡＣ誘発指趾奇形奇形はカフェイン処理によって抑制されることが明らかになった。従来より，減形成的指趾奇形の発症機序としては，催奇形性物質による誘発細胞死が考えられている。しかし，本実験では，５－ＡＣとカフェインの併用投与により，カフェインの投与量に比例して標的細胞の細胞死が誘発され，それとともに奇形頻度が減少することが判明した。すなわち，細胞が死ぬことにより奇形が消失したことになる。この結果は，５－ＡＣによる減形成的指趾奇形が，誘発細胞死とは違う他のメカニズムによって生じていることを示している。５－ＡＣはＤＮＡのメチル化の阻害剤であることから，発生途上での遺伝子発現の変化が奇形発症に関与している可能性が考えられ，その様な奇形発症につながる細胞集団をカフェインが殺すことにより，奇形が抑制されたと考えている。

論文の審査結果の要旨

本学位論文は５－アザシチジンによってラットに誘発された欠趾，合趾等の減形成的指趾奇形がカフェイン後処理によって抑制され，又その抑制機序が５－アザシチジンによる潜在的奇形発生細胞に対するカフェインの致死作用である可能性を細胞，組織学的に示したものである。この結果は，催奇形因子に

よる減形成的指趾奇形が，従来より提唱されてきた細胞死によるものでなく，それ以外の機序によって成立していることを細胞，組織レベルで明らかにしたものであり，本論文は医学博士の授与に値するものと考える。