

Title	Developmental Analyses of Normal Foregut and Tracheoesophageal Fistula in Adriamycin Model Using Three-dimensional Image Reconstruction
Author(s)	佐々木, 隆士
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42664">https://hdl.handle.net/11094/42664</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	佐々木 隆 士
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15756 号
学位授与年月日	平成12年10月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Developmental Analyses of Normal Foregut and Tracheoesophageal Fistula in Adriamycin Model Using Three-dimensional Image Recon- struction (食道閉鎖症の発生に関するラットモデルでの三次元画像再構築を用 いた検討)
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 正  (副査) 教授 野村 大成 教授 岡田伸太郎

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

食道閉鎖症は小児外科領域における代表的な先天奇形のひとつである。本症は5種の病型に分類され、その大多数は上部食道が盲端に終わり下部食道が気管食道瘻(TEF)を介して気管と交通するタイプ(Gross C型)である。また、本症がVACTERL associationに代表される心奇形、直腸肛門奇形、脊椎異常など、様々な奇形を高頻度に伴うことはよく知られているが、その発生原因、因果関係については未だ不明な点が多い。

1996年Diez-Pardoらは、アドリアマイシン(ADM)の催奇形性に着目し、ラットで妊娠初期に限られた時期にADMを曝露させることにより胎仔にGross C型類似のTEFが生じることを報告した。本研究ではこのモデルを用い、各発生時期の胚の連続組織切片を作成し、これを三次元再構築した画像を観察することにより、前腸から気管・食道がどのように分化するのか、またTEFがどのようにして形成されるかを検索して、ヒト食道閉鎖症の成因につき考察した。

#### 〔方法〕

ADM処理ラットの作成：実験はWistar妊娠雌ラットを用いて行い、妊娠8、9日目に各々2mg/kgのADM溶液を腹腔内投与した。

実験1. ADM処理ラット3匹を妊娠21日目に犠死させ、採取した計38匹の胎仔を拡大鏡下に観察し、特に消化管奇形に注目してその種類、頻度を検索した。

実験2. 妊娠11日目から14日目までの半日おきに未処理の対照ラット(n=7)及びADM処理ラット(n=14)を犠死させ、各日齢の胚を採取した。対照ラット胚21匹、ADM処理ラット胚44匹について、ホルマリン固定後パラフィンに包埋し、4μm厚の連続組織切片を作成してH&E染色を施した。この顕微鏡画像をパーソナルコンピュータに取り込み、三次元モデル作成ソフト(TRI、ラトックシステム工学(株)、東京)上で前腸をトレースして三次元再構築し、両群での前腸の発生過程を観察した。併せて通常の光学顕微鏡下の観察も行った。

#### 〔成績〕

実験1. ADM処理ラットから得た胎仔には、38例中25例(66%)にGross C型の食道閉鎖症が認められた。このほか幽門閉鎖症(21%)、十二指腸閉鎖症(53%)、小腸閉鎖症(66%)、直腸肛門奇形(55%)が観察された。

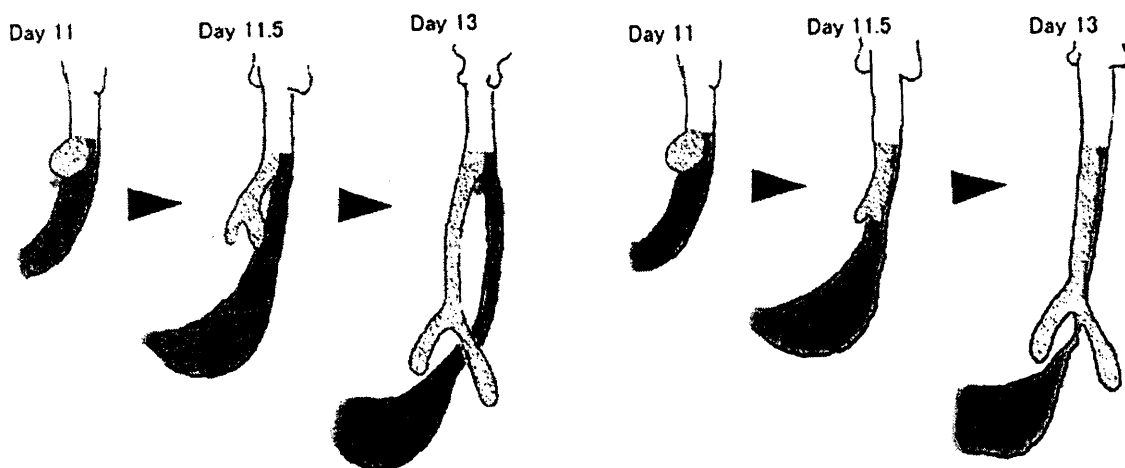
実験2. ラット初期胚前腸の三次元再構築像の観察から、以下の結果を得た。

1. 対照ラット胚では、肺芽（気管原基）は胎生11日目に前腸咽頭部直下の腹側壁に出現した。胚の発育と共にこの膨出部は尾側に伸長し、気管を形成した。気管と食道の分岐点の相対的位置はほとんど変化せず、気管食道隔壁が尾側から頭側へ形成されるとする従来の説とは一致しない所見であった。
2. ADM 処理ラット胚においても肺芽は胎生11日目に対照群と同様の部位に出現したが、気管と食道の分離は見られず一本の共通前腸管として尾側に伸び、胎生11.5日目には本来の気管分岐部の高さでこの共通管から直接左右の気管支原基が出現して三分岐の形態が観察された。胎生13日目には三分岐部より口側（共通前腸管）は形態上気管そのものになり、三分岐の左右の分岐はそれぞれ左右の主気管支に、また中央の分岐は細い管腔ないし索状構造となって下部食道から胃へと続く気管食道瘻になっている像が観察された。またこの時期の胚（n=10）で、咽頭直下のレベルに前腸から生じすぐ盲端に終わる管腔構造が前腸の背側（1例）ないし腹側（2例）に観察され、前者は Gross C 型食道閉鎖症の上部食道盲端、後者は気管無形成症の閉鎖気管に相当すると考えられたが、残りの7例ではその何れも認めなかった。
3. ADM 処理ラット胚では、脊椎を主とする中軸骨格の基礎となる脊索の形態異常が観察された。すなわち、脊索の前腸内胚葉からの分離が遅延し通常よりも腹側の前腸のすぐ背側を走行し、気管分岐部の方向へ強く引っ張られる様に屈曲した後、本来あるべき神経管のすぐ腹側の位置に戻り尾側に到っていた。
4. あらゆる器官発生において、上皮と周囲間葉組織との間でのシグナル伝達因子を介する相互作用の存在が不可欠であるとされているが、鏡検下で ADM 処理ラット胚において対照ラット胚に比し前腸周囲間葉組織の細胞密度の減少と配列の乱れが観察され、前腸発生における上皮-間葉相互作用の障害が予想された。

〔総括〕

妊娠 8、9 日目に ADM を投与したラットの 66% の胎仔に食道閉鎖症の発生を見た。

対照及び ADM 処理ラットの胚において、前腸の立体的形態を経時的に観察した。対照ラット胚では、気管は前腸腹側壁に発生した肺芽の尾側への伸長により形成されることが示された。一方 ADM 処理ラット胚では胚全体の成長に伴い前腸も伸長していくにも関わらず気管と食道への分離過程が途絶ないし遅延した結果 TEF の形態を呈するに至るものと考えられた。また同じモデルで見られた脊索の特異な形態からは、ADM 投与により脊椎を主とする骨格の発生が障害される可能性が示された。



対照ラットの前腸発生模式図

ADM 処理ラットの前腸発生模式図

#### 論文審査の結果の要旨

食道閉鎖症（本症）は代表的な新生児外科疾患であるが、その成因はいまだ明らかにされていない。最近 Diez-Pardo らはアドリアマイシン（ADM）を妊娠ラットに投与し、胎仔に本症 C 型（最も多い病型）が生じることを報

告した。本研究では同じ方法を用いて ADM を投与し、38 胎仔の66%に本症が発生し、同時にさまざまな合併奇形が高頻度に見られることを明らかにした。

更に胎生初期において前腸から気管と食道への発生分化の過程、ならびに本症（食道閉鎖症 C 型）を伴った場合の発生分化過程を連続組織切片の三次元再構築により検討した。その結果、対照ラット胚においては気管は前腸咽頭部の腹側壁に出現した胚芽の尾側への伸長によって形成されるが、一方 ADM 処理ラット胚では前腸から気管の分岐が起こらず共通管のまま尾側に伸長して気管食道瘻の形態が完成することが示された。更に ADM 処理ラット胚において前腸周囲間葉組織の細胞密度の減少・配列の乱れが観察され、本モデルにおける気管食道瘻の発生が、前腸発生における上皮-間葉相互作用の障害による可能性が考えられた。

本研究により得られた知見は食道閉鎖症の成因を明らかにし、また正常時の気管・食道の発生を考える上で大きな手掛りを与えるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。