

[別 紙 2]

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 豊島 祐次郎

哺乳類の神経系の構造的発達には神経前駆細胞の増殖、神経細胞やグリア細胞への分化、層形成のための神経細胞の移動、不必要な神経系細胞のプログラム細胞死で説明され、機能的発達はシナプス形成で説明される。これらの発達過程において甲状腺ホルモンは重要な役割を果たしており、ヒトのクレチン病(先天性甲状腺機能低下症)では出生児の神経・知能の発達異常が引き起こされる。

一方、内分泌攪乱化学物質(EDCs)が甲状腺ホルモン阻害作用を示すことが報告されており、妊娠中の母体がEDCsに曝露されると胎児脳発達に障害を引き起こすのではないかと懸念されている。EDCsの中樞神経系発達障害に関する齧歯類を用いた研究成果が多く報告されているが、齧歯類と霊長類の間には数々の種差が存在し、齧歯類の結果を単純にヒトを含めた霊長類に外挿することは困難である。本研究では霊長類の脳発達における周産期甲状腺ホルモン欠乏の影響を明らかにするために、妊娠カニクイザルに甲状腺ホルモン阻害剤メチマゾールを投与し、甲状腺ホルモン欠乏胎児あるいは新生児の脳、小脳および甲状腺を病理組織学的および免疫組織化学的に解析した。本論文は次の3章からなる。

第1章では正常カニクイザルの50日齢胎児(E50)、E80、E120およびE150の脳を用いて、大脳皮質の組織学的および免疫組織化学的検索を行った。E50およびE80では、神経上皮層において核分裂像が多数みられ、増殖帯を中心に多くの神経系細胞がPCNA(増殖活性化細胞)に陽性を示す一方、NeuNに対する陽性細胞(成熟神経細胞)は認められなかった。GFAP陽性細胞(グリア細胞)は神経上皮層でみられ、放射状グリア線維も認められた。Iba1陽性細胞(ミクログリア)は全ての領域でみられたが、特にE80では脳室帯において限局的な集簇像がみられた。またE50およびE80の増殖帯で核濃縮や核の断片化、核崩壊産物の貪食像がみられ、TUNEL陽性細胞も認められた。E120およびE150では、PCNA陽性細胞は脳室帯で認められ、NeuN陽性細胞は大脳皮質第IからVI層の全ての層(E120でのI/II層は除く)で顕著に認められた。GFAP陽性細胞は主に大脳白質、Iba1陽性細胞は脳室層周囲、大脳皮質および白質において認められた。また同ステージにおいてTUNEL陽性細胞は認められなかった。これらの結果からカニクイザル神経系細胞の増殖・移動・細胞死は主にE80までに行われていること、神経系細胞の分化・成熟はE80以降から開始されることが示唆された。

第2章ではカニクイザル新生児脳発達におけるメチマゾール長期曝露による影響について検討した。妊娠50日齢から分娩までメチマゾール(5~20 mg/kg)を長期間(約110日)曝露したカニクイザルから生まれた新生児5頭、無処置新生児1頭(対照)を用いて、大脳、小脳および

甲状腺の病理組織学的および免疫組織化学的検索を行った。長期曝露カニクイザル新生子の脳および小脳皮質の細胞密度および総細胞数は対照に比べて著しく減少し、長期メチマゾール曝露はカニクイザル新生子の脳および小脳皮質の低形成を引き起こすことが示唆された。

次に胎児脳のどの発達段階が甲状腺ホルモン欠乏に最も影響を受けるか検討した。神経系細胞の増殖、神経細胞の移動が盛んな E70 および E90 では、メチマゾール曝露カニクイザル胎児と対照群との間に差は認められなかった。一方、E110、E130 および E150 では、メチマゾール曝露カニクイザル胎児脳皮質の神経細胞樹状突起の短くまた密度が低かった。したがって、短期メチマゾール曝露は、組織発達よりも神経細胞の成熟に影響を及ぼすことが示唆された。

第3章ではメチマゾールのカニクイザル胎児脳発達期後期短期曝露がどのように影響を及ぼすかを検索した。中等量のメチマゾール(3.5 mg/kg)を母体カニクイザル3頭に21日間(E130-150)曝露した。メチマゾール曝露カニクイザル胎児の血清 T₄ および T₃ は、対照に比べて大幅に減少した。また甲状腺はコロイド性甲状腺腫を呈しており、甲状腺機能低下症を引き起こしていることが示唆された。脳および小脳の形態学的観察では差は認められなかったが、ウェスタンブロット法で曝露群胎児の脳皮質 NeuN 発現量が減少していることが明らかになった。以上の結果から、カニクイザル妊娠後期における短期間の甲状腺機能低下症は、胎児の脳皮質の神経細胞成熟を障害する可能性が示された。

以上の結果は、カニクイザル胎児脳における神経系細胞の増殖、神経細胞の移動、神経細胞およびグリア細胞の分化などの一連の脳発達イベントのタイムスケジュールを明らかにするとともに、霊長類脳発達における甲状腺ホルモンの重要性を示した。これらの研究成果は獣医学学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値のあるものと認めた。