

氏名	小池 学
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第 1065 号
学位授与の日付	平成26年 3 月13日
学位論文題名	マウスの皮膚毛包発生におけるレチノイン酸の役割
論文審査委員	主査 教授 吉 村 陽 子 副査 教授 松 永 佳世子 教授 倉 橋 浩 樹

論文内容の要旨

【緒言】

我々が所有している *Cyp26b1* 遺伝子欠損マウス (knockout mouse : KOマウス) は口蓋裂をはじめとして、短肢奇形、頭蓋顎顔面骨奇形、眼瞼癒合不全、皮膚形成異常、脾臓欠損、心臓奇形、毛包発生の異常などの表現型がある。 *Cyp26b1* とはビタミンAの誘導体であるレチノイン酸 (retinoic acid : RA) の不活化酵素であり、実際 *Cyp26b1*-KOマウスはRAを過剰投与された胎児の表現型と類似している。また、現在まで *Cyp26b1*-KOマウスの皮膚毛包発生について詳細な解析は行われていない。

【目的】

本研究は、 *Cyp26b1*-KOマウスの皮膚・毛包発生の解析を行い、胎児期における皮膚・毛包の発生に対するRAの役割の解明を目的としている。

【方法と結果】

- ①胎生14.5日～生後0日の *Cyp26b1*-KOマウス皮膚と遺伝子正常マウス皮膚とを比較したところ胎生15.5日までは明らかな差は認めないが、胎生16.5日以降、 *Cyp26b1*-KOマウスでは表皮の肥厚・重層化、毛包発育異常、真皮の非薄化、角層の異常などを認めた。
- ②正常妊娠マウス (ICRマウス) にRAを経口投与し、その投与期間・投与量と毛包の発生につき検討した。その結果、胎生14.5日目以降の毛包の発現を抑制する可能性を認めたため、同時期に皮膚発生に発現する遺伝子 *Shh* と *Wnt* の毛包でのRAとの関連に着目した。
- ③正常妊娠マウス (ICRマウス) と胎生13.5日～16.5日の間RAを投与されたマウス胎児の背部皮膚を採取して、 *Shh*, *Wnt* の *in situ* hybridizationを行った。いずれの発現にも明らかな違いを認めなかった。
- ④胎生15.5日目における *Cyp26b1*-KOマウスと遺伝子正常マウスの皮膚のマイクロアレイ検査を行い、RAによって影響されるシグナル因子の網羅的な解析を行った。その結果、 *Shh*, *Wnt* だけでなく表皮肥厚から毛芽形成の段階で重要とされる遺伝子である *β-catenin*, *Lef1*, *Delta1/Notch1*, *Fgf/Fgfr2*, *Tgfβ2*, *Msx1*, *Msx2*, *Edar*, *Noggin*, *Bmp4* においても有意な発現の変動はみられなかった。しかし、RAシグナル伝達系に関わる *Stra6*, RA受

容体である *Rarb* (RAR-β) においては発現の促進を認めた。また、皮膚の角化膜 (cornified envelop) 形成に関与するLCE遺伝子ファミリー群の発現は顕著に抑制されていた。

【考察】

RA投与実験では、 *Cyp26b1*-KOマウス皮膚に近似する表現型を誘発できたことで、表皮および真皮上層におけるRA濃度の上昇が角質の形成不全、表皮の肥厚、真皮の非薄化および毛包発生不全を誘発したものと考えられた。また、RAの増加は皮膚発生に著明な影響を及ぼすが *Shh*, *Wnt* とは異なる作用経路で皮膚・毛包発生に関わる可能性が示唆された。RA濃度上昇による遺伝子制御は単純ではなく、一度抑制された遺伝子が代償的に過剰発現される可能性を示唆していると考えられる。さらに、胎生15.5日における野生型マウスと *Cyp26b1*-KOマウス皮膚に対してマイクロアレイ実験を行ったことで、RAシグナル伝達系および皮膚関連の重要な遺伝子における発現量の変動を見出すことができた。

【結論】

本研究により、マウスの皮膚・毛包発生においてRAが極めて重要な役割を果たしていることを明らかにした。発生における催奇性を含め、RAの様々な生理的活性を探求することは、今後とも発展性のある研究分野であると考えられる。

論文審査結果の要旨

レチノイン酸 (retinoic acid : RA) はビタミンAの誘導体であり、 *CYP26B1* はその不活化酵素である。妊娠中のRA過剰摂取は口蓋裂などの催奇形性を有することが知られているが、 *CYP26B1* KOマウスではその他にも様々な先天異常を認め致死的であり、体表面上には正常な毛包発生を認めない。その事実から、胎児の皮膚毛包発生に対するRAの役割の解明を目的として、研究を行った。その結果、正常遺伝子マウスと比較して *CYP26B1* KOマウスでは、胎生15.5日までは明らかな差は認めないが、胎生16.5日以降表皮の肥厚・重層化、毛包発育異常、真皮の非薄化、角層異常などを認めた。次に、正常妊娠マウス (ICRマウス) にRAを経口投与した結果、胎生14.5日目以降の毛包の発現を抑制する可能を認めたため、同時期に皮膚発生に発現する遺伝子 *Shh* と *Wnt* の関与について検討した。しかし、いずれの遺伝子にも明らかな差は認められなかったため、胎生15.5日目におけるKOマウスと遺伝子正常マウスの皮膚のマイクロアレイ検査を行い、RAによって影響されるシグナル因子の網羅的な解析を行ったところ、 *Shh* や *Wnt* と関連する遺伝子には有意な発現の変動はなく、皮膚関連の重要な遺伝子における発現量の変動を見出すことができた。本研究により、詳細な遺伝子伝達経路の解明は今後の課題となったものの、マウスの皮膚発生において、RAが極めて重要な役割を果たしていることが判明し、学位に値する研究であると判断された。