

論文内容の要旨

氏名 太刀川 彩保子

サリドマイドは1960年代初頭までつわり止めとして世界中の妊婦に服用されていたが、強力な催奇形性を持つことが明らかとなり、一時は市場から撤退した。一方で近年、悪性腫瘍やハンセン病への治療効果が認められ、再注目されている。しかし、薬害事件から50年以上経過した今日においても、サリドマイドの持つ催奇形性の作用機序の全容は明らかになっていない。これは、同薬の薬効が動物種間で異なり、ヒト胎児の発達に及ぼす影響を検出するための良い実験系がないことに起因する。

そこで、本研究では、hiPSCs (ヒト人工多能性幹細胞) を用いた。hiPSCs は受精後 8-14 日の受精卵の胚盤葉上層と同質性を有しており、この部分は将来、胎児の体へと発達する。本研究では、hiPSCs の約 1 週間の分化誘導の過程をヒトの初期胎児発達 (受精後 20 日前後) の模倣と考え、その過程にサリドマイド曝露を行うことで、同薬の影響を検出することを目的とした。

実験では、未分化な hiPSCs (将来の胎児の体)、hiPSCs の胚体外胚葉 (将来の胎盤) および初期中胚葉 (将来の骨・血管) への分化過程における細胞死およびマーカー発現への影響を見た。サリドマイドの催奇形性は四肢の形成異常を始めとして多岐に渡るが、本研究で模倣した期間 (受精後 20 日前後) において妊婦が服用した場合、胎児に親指の重複や耳の欠損 (骨、軟骨、血管の発達異常) および心臓の異常など、中胚葉関連組織への傷害が生じることが報告されている。また、生体内において、この期間は、胚盤葉上層の細胞が原腸形成と呼ばれる細胞移動のイベントを経て内胚葉、中胚葉および外胚葉へと分化し、体の重要器官が形成される時期である。このことから、私は、サリドマイドが細胞の中胚葉への分化を阻害することで、前述の組織や器官の発達に異常が生じると考えた。

未分化な hiPSCs において、服用されている濃度条件下では、サリドマイドの影響は現れないと予想した。予想と一致して、4 日間のサリドマイド曝露後、細胞の増殖および未分化マーカーの発現に有意な影響は見られなかった。さらに、実験の過程で、服用濃度の 10 倍の濃度でサリドマイド曝露を行ったとき、未分化な hiPSCs にアポトーシスが誘導されることを発見した。この現象は高濃度曝露条件下においてのみ見られたことから、生体内とは異なる経路で発生した可能性がある。しかし、アポトーシスの誘導はサリドマイド催奇形性の一因と考えられていることから、本研究の実験系は、今後、アポトーシスが誘導される細胞の特徴およびメカニズムを調べる上で有用と考える。

初期胚体外分化した hiPSCs においても、未分化な hiPSCs と同様、服用されている濃度では同薬の影響は現れないと考えた。初期胚体外分化した hiPSCs は、服用されている濃度条件下だけでなく、4 日間高濃度のサリドマイドに曝露しても細胞増殖およびマーカー発現の阻害は起こらなかった。これより、予想した結果を得るとともに、初期胚体外分化した細胞が同薬に対して強い耐性を持つことが示唆された。

hiPSCs の初期中胚葉分化過程においては、サリドマイドによる催奇形性の症状から、服用されている濃度条件において細胞死およびマーカー (特に血管や心臓分化に関連するマーカー) 発現の阻害が検出できるとの予想の下で実験を行った。5 日間の分化誘導およ

びサリドマイド曝露後、細胞の増殖が有意に阻害された。このことは、初期中胚葉分化過程の早期において未分化な hiPSCs にアポトーシスが引き起こされることによって生じており、初期中胚葉へと分化した細胞は、サリドマイドに対して耐性を示すことが示唆された。さらに、予想された血管および心筋分化マーカー遺伝子の発現阻害を検出することができた。これは、本研究で用いたプロトコールにおいて、最初に仮定した胎児発達の一期間を模倣できたことを意味する。

以上のことから、本研究において、hiPSCs を用いてヒトの初期胎児発達の細胞分化 (未分化, 初期胚体外胚葉および初期中胚葉分化) を模倣できたこと、さらに、この系を用い、サリドマイドの催奇形性の症状から予想した同薬の影響の検出に成功したことを報告する。また、サリドマイドがこれらの細胞分化に及ぼす影響について、いくつかの新しい知見を得ることができた。

本研究の成果は、サリドマイド催奇形性の作用機序の解明に役立てることが可能と考える。また、本研究のプロトコールを用いて、他薬の胎児毒性リスク評価への応用も期待される。