

機関番号：33902  
 研究種目：基盤研究C  
 研究期間：2007～2010  
 課題番号：19592326  
 研究課題名（和文）  
 自然発生口唇口蓋裂ビーグル犬の開発と応用に関する研究  
 研究課題名（英文）  
 Experimental study on development and application in beagles with cleft lip/palate  
 研究代表者  
 古川 博雄（FURUKAWA HIROO）  
 愛知学院大学・心身科学部・准教授  
 研究者番号：70291763

## 研究成果の概要（和文）：

初年度に全国のビーグル犬のブリーダーネットワークが確立できた。そのネットワークを利用し入手した口唇口蓋裂、顎変形関連遺伝子を持ち合わせているであろう鼻曲がり犬（顎変形ビーグル犬）♂2頭、♀2頭（親犬）で、口唇口蓋裂自然発生ビーグル犬系統の確立をめざし、交配個体として試行した。しかし個体特有なものなかなか妊娠困難な状況が続き、2世口唇口蓋裂犬、顎変形症犬の獲得には至らなかった。

## 研究成果の概要（英文）：

The Japanese breeder network of the beagle was able to be established in the first year. We obtained jaw deformity beagles ( for breeding , by two male females ) using the network. Aiming at the establishment of the cleft lip and palate natural occurrence beagle system, we tried them as a mating individual. From a reason peculiar to an individual, however, do not readily become pregnant, we were not able to acquire a second cleft lip / palate beagle or jaw deformity beagle.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：イヌ、ヒト、先天異常、口唇裂、口蓋裂、心臓異常、大血管異常

## 1. 研究開始当初の背景

口唇口蓋裂は日本人をはじめとして黄色人種で最も頻度の高い先天異常（奇形）であるが、本症を自然発生する大型動物モデルは

国内外のいずれでも開発が行われておらず、やむをえず人工的に口唇裂や顎裂などを作成して研究がなされてきた。しかしこのような人工披裂は本来の先天異常とは発生学的

にも組織学的にも異なるため治療の経過等をヒトに外挿する上で種々の問題があり、このため自然発生日唇口蓋裂の大型動物モデルの開発が望まれている。このようなモデル動物が開発されれば本症の手術法、顎発育研究、その他矯正歯科分野など多くの研究が飛躍的に促進され、ヒトの臨床面に feed back される可能性が大きいと考え、この中で最も遺伝的背景が明らかで温厚な性格のため、矯正治療なども可能といわれるビーグル犬を選定して自然発生日唇口蓋裂ビーグル犬を開発し、新たな系として確立することとした。

## 2. 研究の目的

全国のビーグル犬のブリーダーに本症出生時に連絡が入るようなネットワーク体制を構築した上で、自然発生日唇口蓋裂ビーグル犬の選択交配ならび受精卵移植により自然発生日唇口蓋裂ビーグル犬系統を開発するとともに、これらの口唇口蓋裂ビーグル犬を実験動物モデルとして利用するための基礎資料を得るとともに、研究期間中に本疾患の系統を樹立するためのコロニー形成と育種体制の確立を目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 全国のビーグル犬のブリーダーを対象に本症ビーグル犬の入手のためのネットワーク体制を確立する。

- ①全国の実験用ビーグル犬の関係者への質問紙法による調査。
- ②全国のブリーダーを対象としてモニタリングシステムを確立するための主旨説明のための会議の開催。
- ③インターネットによる SPF ビーグル犬の先天異常モニタリングシステムを確立する。

(2) 口唇口蓋裂ビーグル犬とその口唇口蓋裂を発生した関連家系を本研究費で入手し、これを我々の動物実験センターで選択交配し、口唇口蓋裂自然発生日唇口蓋裂ビーグル犬系統の確立をめざす。

### (3) 成長・発育に関する基礎調査

- ①口唇口蓋裂ビーグル犬を用いて顎形態・筋の走行・歯胚欠損状況など、解剖学的検索を行うとともに、今後疾患モデルとして利用する上で必要な基礎資料を得る。
- ②これまでのビーグル犬に関する科学研究費で開発したビーグル犬専用の規格 X 線装置にて、頭蓋顎顔面形態を撮影して正常なビーグル犬との形態学的差異、特に小顎症、下顎前突症、上顎前突症について成長に伴う変形

を追求する。

- ③口腔内の状態を印象して石膏模型を作製し、顎発育、歯列、歯牙の状態と形態について幼犬より成犬に至るまでの成長様式を確認する。また、生理・生化学解析も実施する。
- ④本学中央実験センターにあるマイクロ CT を用いて口唇口蓋裂ビーグル犬の超音波で胎仔の成長について分析を行い基礎資料を得る。

## (4) 系の確立のための育種手技の検討

- ①口唇口蓋裂ビーグル犬では、これまでの経験で高率に心血管系の異常を得ており、これについては、藤田保健衛生大学の高橋久英教授の協力を得て解析を行う。
- ②受精卵移植などの手技を応用し、本系統の受胎率向上のための検討を行う。

(5) 口唇口蓋裂ビーグル犬の家系図を作成し、本症の発現率の途中経過を得るとともに裂型、性別分類と発現の関係の解析なども詳細に行う。

(6) 人工受精、受精卵移植などの手法で交配率、妊娠率の向上をめざす。

(7) 口唇口蓋裂ビーグル犬より血液を採取し、我々のグループは文科省ハイテクリサーチ拠点の研究設備で 2003 年に完成した遺伝子解析センターで、口唇口蓋裂ビーグル犬について遺伝的に解析を行なうとともに、どのタイプで披裂が出現し得るかの検討に入る。

(8) 本研究期間内に 3 世代までの交配の完了をめざし、その経験から育種・繁育時の口唇口蓋裂ビーグル犬における留意点に関するマニュアルの作成。研究終了後も育種が行い得る体制を構築する。

(9) 従来、研究指導をいただいた近畿大学にて体細胞を利用した口唇口蓋裂ビーグル犬クローン化によるビーグル犬についてもモデルの早期確立に必要な基礎資料を得る。生理、生化学的分析等、正常ビーグル犬との比較研究を行う。

(10) 結果を学会ならびに論文発表するとともに、他の研究者の利用を認め、分与を行う。

## 4. 研究成果

(1) 全国のビーグル犬のブリーダーを対象に本症ビーグル犬の入手のためのネットワーク体制を確立した。

ナルクなど大手ブリーダーから、口唇口蓋

裂、顎変形など異常を持ち合わせた個体が出産した際にはインターネット上の電子メールシステムを使って連絡が来るようにし、必要時にはその個体が入手できるような体制を構築した。

(2) 確立したネットワークから、口唇口蓋裂ビーグル犬とその口唇口蓋裂を発生した関連家系を入手した。

親犬4頭(♀ 2頭、♂ 2頭)  
口唇口蓋裂等異常個体6頭  
(♀ 2頭、♂ 4頭) いずれも死亡

(3) これを我々の動物実験センターで選択交配し、口唇口蓋裂自然発生ビーグル犬系統の確立をめざした。

入手した親犬の情報

♀1頭(A)は2度の出産経験があり、一度目は口蓋裂個体を出産、2度目は全出産仔が死産か早期死亡をしていた。このことから口唇口蓋裂、顎変形症、他の先天異常(特に心血管系の異常)の遺伝因子を持ち合わせている可能性が非常に高い個体ではないかと推察される。

♀もう1頭(B)は、入手した顎変形症♂犬の母犬である。

♂1頭(C)は自身が顎変形症個体である。

♂もう1頭(D)は、Aが口蓋裂個体を出産した際のペアリング犬の仔である。

いずれも口唇口蓋裂、顎変形症、他の先天異常(特に心血管系の異常)の遺伝因子を持ち合わせている可能性が高いのではないかと推察される個体である。

これら入手した親犬および他に本学動物実験センターで飼育しているビーグル成犬で交配を試みたが、口唇口蓋裂、顎変形症などを持ち合わせた2世を得ることはできなかった。

理由としては、上記のような先天異常の遺伝因子を持ち合わせていると考えられる個体同士の選択的な交配のため、胎仔発育不良による子宮内吸収、あるいは元々妊娠が成立困難な状況を持ち合わせているのではないかと考えられる。

#### ④異常個体検索結果

##### a. 左口唇顎裂♂

生存日数：生後3日で死亡  
他外表奇形：なし  
同腹仔：♂5, ♀2 他全頭生存、異常なし  
母親年齢(交配時)：11か月  
父親年齢(交配時)：11か月  
遺伝要因：近縁個体に異常なし

##### b. 左口唇顎裂♀

生存日数：生後3日で死亡  
他外表奇形：なし  
同腹仔：♂4, ♀3 5頭生存、♂死産、両狼趾付き  
母親年齢(交配時)：9か月、初産、帝王切開  
父親年齢(交配時)：16か月  
遺伝要因：近縁個体に異常なし

##### c. 左口唇顎裂♂

生存日数：生後2日で死亡  
他外表奇形：外部生殖器発達未熟  
同腹仔：♂3, ♀1 他全頭生存、異常なし  
母親年齢(交配時)：5歳10か月  
父親年齢(交配時)：6歳8か月  
遺伝要因：近縁個体に異常なし

##### d. 口蓋裂♂

生存日数：死産  
他外表奇形：なし  
同腹仔：♂3, ♀2 他全頭生存、異常なし  
母親年齢(交配時)：4歳7か月  
父親年齢(交配時)：2歳10か月  
遺伝要因：近縁個体に異常なし

##### e. 口蓋裂♀

生存日数：1日  
他外表奇形：なし  
同腹仔：♂4, ♀3 他全頭生存、異常なし  
母親年齢(交配時)：1歳9か月  
父親年齢(交配時)：7歳2か月  
遺伝要因：近縁個体に異常なし

##### f. 左口唇顎裂♂

生存日数：1日  
他外表奇形：なし  
同腹仔：♂1 本個体のみ  
母親年齢(交配時)：2歳11か月  
父親年齢(交配時)：3歳7か月  
遺伝要因：近縁個体に異常なし

死亡標本については、心血管系を中心に内臓について検索中である。

成長・発育に関する基礎調査として、われわれの開発したビーグル犬専用の頭部X線規格撮影装置等を用いて、現在飼育中ビーグル犬の顎、咬合、歯列、歯牙形態、歯胚状態などを、規格X線写真、模型などを用いて解剖学的検索予定していた。しかし、X線撮影装置の故障(修理費用が捻出できない)により骨格検索はできず、形態撮影に留まってしまう。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計1件-査読有）

- ① Suzuki S, Marazita ML, Cooper ME, Miwa N, Hing A, Jugessur A, Natsume N, Shimozato K, Ohbayashi N, Suzuki Y, Niimi T, Minami K, Yamamoto M, Altannamar TJ, Erkhembaatar T, Furukawa H, Daack-Hirsch S, L'heureux J, Brandon CA, Weinberg SM, Neiswanger K, Deleyiannis FW, de Salamanca JE, Vieira AR, Lidral AC, Martin JF, Murray JC.  
Mutations in BMP4 are associated with subepithelial, microform, and overt cleft lip. *Am J Hum Genet.* 2009 Mar;84(3):406-11. Epub 2009 Feb 26.

〔学会発表〕（計2件）

- ① 仲間錠嗣、古川博雄、新美照幸、南克浩、鈴木聡、藤原久美子、井村英人、夏目長門、新垣敬一、天願俊泉、比嘉 努、仲宗根敏幸、石川拓、牧志祥子、前川隆子、砂川元  
口唇・口蓋裂に関する実験的研究 第125報 -口唇口蓋裂を伴った自然発生顎顔面異常ビーグル犬について 第33回日本口蓋裂学会 2009年5月28日、29日 東京
- ② 仲間錠嗣、古川博雄、新美照幸、南克浩、鈴木聡、藤原久美子、井村英人、牧野日和、新崎章、砂川元、夏目長門  
自然発生顎顔面異常ビーグル犬についての考察 第25回日本障害者歯科学会 2008年10月10日、11日 東京

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

古川 博雄 (FURUKAWA HIROO)  
愛知学院大学・心身科学部・准教授  
研究者番号：70291763

### (2) 研究分担者

子安 和弘 (KOYASU KAZUHIRO)  
愛知学院大学・歯学部・講師  
研究者番号：50183348

内藤 宗孝 (NAITO MUNETAKA)  
愛知学院大学・歯学部・准教授  
研究者番号：20167539