

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 26 日現在

機関番号：	34401
研究種目：	若手研究(B)
研究期間：	2010～2011
課題番号：	22791741
研究課題名（和文）	テネイシンWの頭蓋冠縫合における働き
研究課題名（英文）	Association of tenascin-W expression with mineralization in mouse calvarial development
研究代表者	
	三倉 文子 (MIKURA AYAKO)
	大阪医科大学・医学部・非常勤医師
研究者番号：	50533957

研究成果の概要（和文）：

我々はテネイシン W をマウス頭蓋冠縫合部に作用させて縫合が癒合（閉鎖）するかどうか検討し、遺伝子発現の変化を検討してきたが、マウスを用いた in vivo の実験系においてテネイシンWの供給によって骨癒合には大きな変化が見られなかった。しかし、その過程で、縫合の閉鎖時期に fibroblast growth factor (FGF) 2 を徐放性に作用させると縫合の閉鎖が遅延する傾向が認められた。

研究成果の概要（英文）：

We carried tenascin W in the mouse calvarium suture and I examined it whether a suture did concrescence (closedown) and examined a change of the onset of gene, but a big change was not seen in bone union by supply of tenascin W in in vivo experiment system using the mouse. However, the tendency that the closedown of the suture delayed when I was sustained release and triggered fibroblast growth factor(FGF)2 at the closedown time of the suture in the process was recognized.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2010 年度	1, 000, 000	300, 000	1, 300, 000
2011 年度	1, 200, 000	360, 000	1, 560, 000
総 計	2, 200, 000	660, 000	2, 860, 000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：頭蓋冠・発生・早期骨癒合症

1. 研究開始当初の背景

テネインは主に細胞増殖や細胞の粘着と移動を制御する細胞外基質を構成する糖タンパクであるが、近年テネイン W が骨形成期の骨膜に発現し、骨折の治癒過程で発現が誘導されることが報告され、テネイン W の骨形成への関与が示唆されていた (Kimura et al. 2007. Biochem. Biophys. Res. Commun.356:935-41)。

我々は、膜性骨化をおこす頭蓋冠骨の発生期におけるテネイン W の発現をマウスで検討したところ、縫合部の骨芽細胞に発現していることが *in situ hybridization* によって明らかとなり、マウス頭蓋冠縫合部の石灰化に関与する可能性が示唆された。

2. 研究の目的

発生段階の頭蓋冠は、縫合部における骨の添加と吸収を繰り返して脳の成長に合わせて拡大する。縫合部が成長途中で癒合してしまう早期骨癒合症では、脳圧の上昇や頭蓋冠の変形をきたし、重篤な場合には脳の発達や生命維持に影響をもたらす。この早期骨癒合症では骨形成の亢進が認められ、現状では外科的手術以外に有効な治療手段はない。ゆえに患児の成長にあわせて骨切除、骨延長術などを何度も繰り返すこととなるが、これは患児にとって大きな負担となる。よって、非侵襲的に骨形成を制御する治療法の開発が望まれる。そのためには縫合部における骨形成の制御について解明する必要がある。早期骨癒合症の原因として遺伝子変異の関与が明らかとなっており、その分子メカニズムについて解明が精力的に進められているが、いまだ不明な点も多く、このメカニズムの一端を解明したいと考えている。

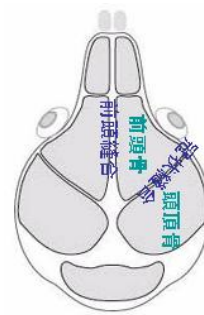
3. 研究の方法

外科的手術によって FGF2 合成タンパクを生後のマウスの後前頭縫合、および冠状縫合と、骨下の完了した頭蓋部分の骨孔に作用させてその効果を検討する。

マウスでは生後 2 週から 3 週にかけて後前頭

縫合が閉鎖するが、他の縫合は生涯閉鎖しない。

よって、FGF2 が石灰化には、閉鎖傾向がない縫合に作用させると閉鎖が促進される可能性があると考えている。結果によっては作用させる時期を検討する必要があると考えた。

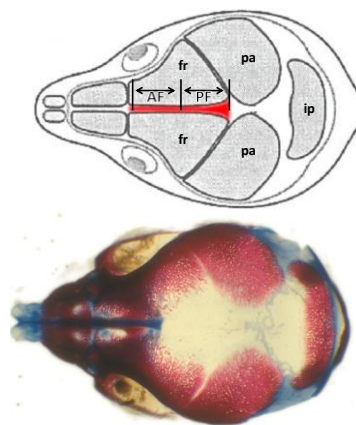


タンパクの担体としては、ゼラチンをベースとした、徐放性かつ吸収性のもの (メドジェル®) を使用。

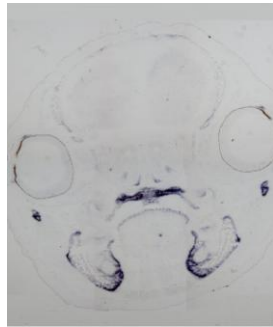
手術後の縫合および骨孔閉鎖の状態は、肉眼的観察、組織学的観察、そしてマイクロ CT (東京医科歯科大学井関祥子博士の協力を得て撮影する) を用いて行った。

4. 研究成果

まず、実際にマウス頭蓋冠の成長過程をアリザリンレッドとアルシアンブルーで染色した透明標本を作成し確認した。



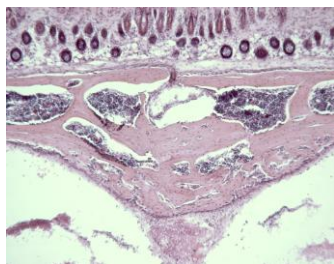
テネイシン W (TNW) は成長過程の頭蓋冠において縫合部や骨の成長していく先端部に発現することが知られており、in situ hybridization でその発現を捉えることが出来る。胎児期のマウス頭蓋冠に対する in situ hybridization でその発現は骨の成長点に認められた。



(成長過程で発現する
TNW の in situ
hybridization)

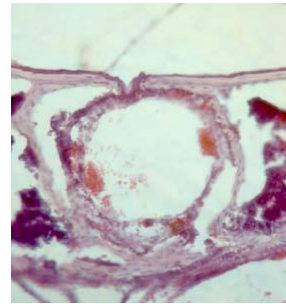


我々はテネイシン W をマウス頭蓋冠縫合部に作用させて縫合が癒合（閉鎖）するかどうか検討し、遺伝子発現の変化を検討してきた。生後1週のマウスの頭蓋冠縫合部にメドジェル®に浸透させた各種成長因子を外科手術によって投与した。約1週間安定した供給が出来るとされている。しかし、このマウスを用いた in vivo の実験系においてテネイシンWの供給によって骨癒合には大きな変化が見られなかった。



(テネイシン W を投与した生後3週の後前頭縫合)

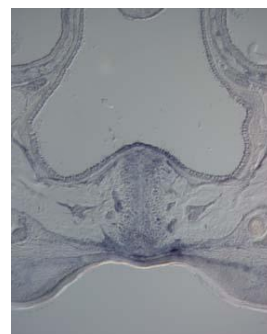
しかし、その過程で、縫合の閉鎖時期に fibroblast growth factor (FGF) 2 を徐放性に作用させると縫合の閉鎖が遅延する傾向が認められた。



(FGF2 を投与した生後3週の後前頭縫合)

FGF2 は実際に潰瘍治療薬（フィブラストスプレー®）として臨床応用されているサイトカインでありその作用について様々な研究がなされている。しかしながら、まだその全容は明らかにされておらず、今後その臨床応用がますます拡大することが考えられる。

しかし、特に発生段階の頭蓋冠においては FGF レセプターの異常により Apert 症候群や Crouzon 症候群といった頭蓋骨縫合早期癒合症を引き起こすことが知られており、Pfeiffer 症候群 1 型では FGF2 のレセプターである FGFR1 の異常が確認されている。そこで、縫合の閉鎖段階に合わせて in situ hybridization を行い、骨芽細胞の分化に関係する遺伝子、骨基質タンパクの遺伝子の発現を検討している。



(FGF2 を投与した生後
3 週の TNW の in situ
hybridization)

さらに FGF2 の縫合部における働きを検討するために、マウス頭蓋冠縫合部、および骨形成の終了した頭蓋冠部分に FGF2 を作用させ、その際の形態的な変化、及び遺伝子発現変化についても確認し石灰化過程にどのような影響を与えるかを観察している過程である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

①Ayako Mikura/Association of tenascin-W expression with mineralization in mouse calvarial development
ISCFS 2011.8. サンビア

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三倉 文子 (MIKURA AYAKO)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：50533957