

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861781

研究課題名(和文) ライブイメージングから探る口蓋裂発症のメカニズム

研究課題名(英文) Investigation of medial edge epithelial cell behavior during secondary palate fusion by using live imaging technology

研究代表者

岡 綾香 (oka, ayaka)

大阪大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：20635403

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、頭蓋顔面領域における先天奇形の一つである口蓋裂の発生メカニズムの解明を目的とし、二次口蓋癒合中のMEE細胞消失過程をライブイメージング蛍光顕微鏡を用いて、リアルタイムで観察した。結果、二次口蓋の癒合部に存在する上皮細胞が硬口蓋から軟口蓋前方にかけて失われ、さらにそれらの上皮細胞がダイナミックに移動し、他の部位の口蓋上皮と比較して、鼻腔側と口腔側の両方向に移動することが観察された。二次口蓋の癒合過程におけるMEE細胞の消失には、これらの細胞移動が関与し、重要な役割を果たすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Failure of secondary palate fusion will lead to cleft palate, the most frequent congenital craniofacial birth defects in humans. Palate fusion process involves the removal of medial edge epithelial (MEE) cells which lies on the edge of secondary palate process. Three mechanisms have been proposed for MEE cells disappearance which are apoptosis, epithelial cell migration, epithelial-mesenchymal transition. However, there is still a great deal of controversy over these proposed mechanisms.

In this study, we cultured unpaired palatal shelves of the mice that express Green Fluorescent Protein under the promoter of keratin 14 (K14-GFP) at embryonic day 14.5 (E14.5) and performed live imaging technique in order to observe the behavior of MEE cells during secondary palate fusion. We found that the GFP signaling in epithelial cells can disappear following dynamic movement of MEE cells. Our findings indicate epithelial cell migration could possibly relate to the removal of MEE cells.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：口蓋の癒合 GFPマウス ライブイメージング

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

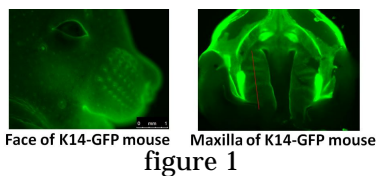
口蓋裂は頭蓋顔面領域における最も頻度の高い先天性疾患であり、二次口蓋の癒合不全により生じる。二次口蓋が癒合する過程において、口蓋突起の先端に存在する medial edge epithelial cell (MEE 細胞) の消失は必須であり、その過程で、アポトーシスによる細胞死、細胞移動や上皮間葉転換などの様々な生物学的イベントがおこることが知られている。しかし、どのイベントが MEE 細胞の消失にどの程度関与しているかの詳細は未だ解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、二次口蓋癒合中の MEE 細胞消失過程をライブイメージング蛍光顕微鏡を用いて、リアルタイムで観察することを目的とした。

3. 研究の方法

実験動物は上皮細胞特異的に GFP を発現するマウス(K-14 GFP)を用いた (figure 1)。



口蓋突起の半側除去モデルを確立し、胎生 14.5 日の口蓋突起の器官培養を、BGJB 培養液に溶かした 0.7% アガロースゲルで組織自体の移動を防ぎながら、37℃、5% CO₂ 下で、72 時間行い、口蓋の癒合を観察した。培養液は 2 日目で交換した (figure 2)。

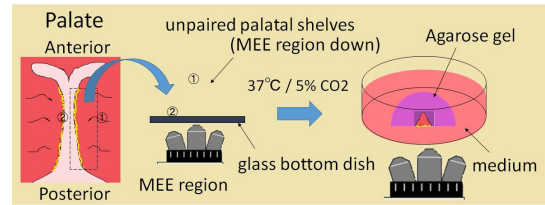


figure 2

また、同様のサンプルを用いてタイムラプスを行うことにより、二次口蓋の癒合部に存在する MEE 細胞動態の詳細な観察を行った。

4. 研究成果

72 時間の観察で、二次口蓋の癒合部に存在する上皮細胞が硬口蓋から軟口蓋前方にかけて失われることが観察された (figure 3)。

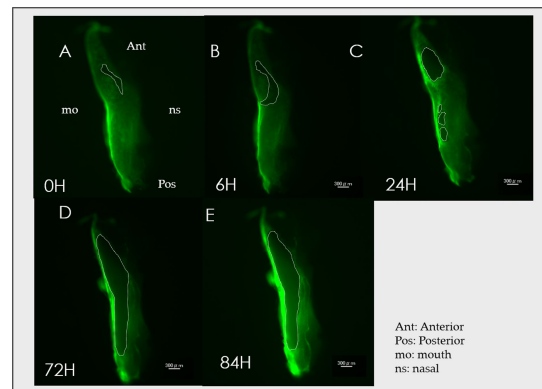


figure 3

また、タイムラプスを用いた別個体のライブイメージングを 10 分間隔で 23 時間撮影し詳細な観察を行ったところ、二次口蓋の癒合部に存在する上皮細胞がダイナミックに移動し、他の部位の口蓋上皮と比較して、鼻腔側と口腔側の両方向に移動することが観察された (figure 4)。

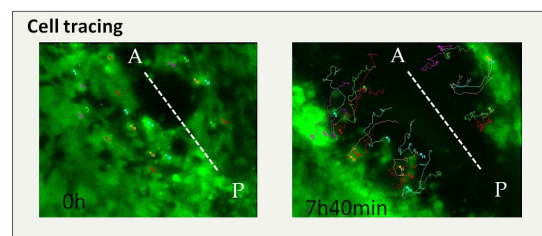


figure 4

figure 5 では、鼻側へ移動する細胞を青色で示し、口腔側へ移動する細胞を赤色で示した。それぞれ規則性を持って移動していることがわかった。

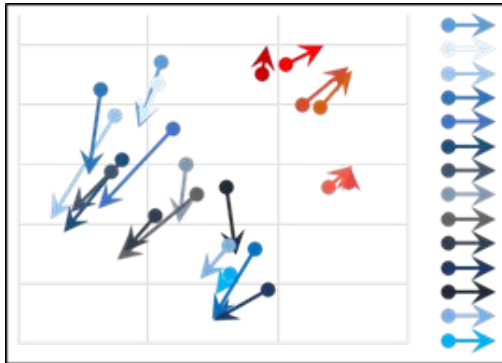


figure 5

これらの結果より、二次口蓋の癒合過程における MEE 細胞の消失には、細胞移動が関与し、重要な役割を果たすことが示唆された (figure 6)。

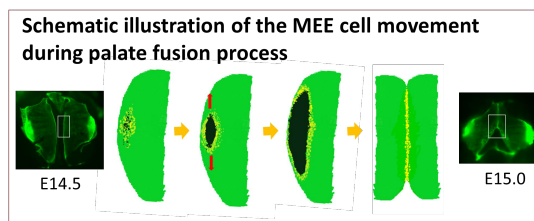


figure 6

本研究によってこれまで明らかにされていない口蓋癒合のメカニズムが解明されることが期待される。

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 2 件)

(1) Direct projection from the lateral habenula to the trigeminal mesencephalic nucleus in rats.

Ohara H, Tachibana Y, Fujio T, Takeda-Ikeda R, Sato F, Oka A, Kato T, Ikenoue E, Yamashiro T, Yoshida A. Brain Res. 2016 Jan 1;1630:183-97. 査読あり

(2) 池田理恵子, 留和香子, 岡綾香, 相川友直, 古郷幹彦, 山城隆 : 下顎頭の変形を伴う骨格性 2 級・開咬症例に対し、上顎骨仮骨延長術と上下顎骨骨切り術を行った一治験例. 阪大歯学雑誌 59(2), 79-84.

〔学会発表〕(計 5 件)

(1) 青山剛三、サルペル・サフィエ、三原聖美、岡綾香、黒坂寛、山城隆 : ライブイメージングを用いた二次口蓋癒合時の medial edge epithelial cell : (MEE 細胞) の動態についての研究

第 20 回日本口蓋裂学会総会・学術集会、2016 年 5 月 26-27 日、大阪 (演題登録済・発表予定)

(2) 岡綾香、上松節子、谷川千尋、社浩太郎、清水英孝、岩井聡一、由良義明、山城隆 : 成人期に矯正歯科治療を開始した両側性唇顎口蓋裂の一症例 : 水平的仮骨延長術による咬合の改善 第 38 回日本口蓋裂学会総会・学術集会、2014 年 5 月 29-30 日、北海道

(3) 武田理恵子、岡綾香、社浩太郎、相川友直、飯田征二、古郷幹彦、山城隆 : 下顎骨低形成を伴う顎関節強直症に対する外科的矯正治療の一例 第 24 回日本顎変形症学会総会・学術大会、2014 年 6 月 10-11 日、福岡

(4) 西村佳世、岡綾香、社浩太郎、山城隆 :

骨髄移植時の放射線および化学治療後に歯
牙の発育障害を認めた骨格性3級の前歯部反
対咬合症例 第56回近畿東海矯正歯科学会
学術大会・総会、2014年6月29日、愛知

(5) 武田理恵子、留和香子、岡綾香、相川友
直、古郷幹彦、山城隆：下顎頭の変形を伴う
開咬症例に対し、上顎骨仮骨延長術と上下顎
骨骨切り術を行った一治験例 第73回日
本矯正歯科学会大会、2014年10月20-22日、
千葉

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 綾香 (OKA AYAKA)

大阪大学歯学研究科 助教

研究者番号：20635403