

平成 21 年 6 月 18 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19890071  
 研究課題名（和文） 口蓋発生における Shh の役割

研究課題名（英文）

研究代表者

奥原 滋（OKUHARA SHIGERU）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：10451973

研究成果の概要：

Shh の発現低下による口蓋裂の発症が舌の発達不全に起因することを、Shh ノックアウトマウスと、Shh 制御領域欠如マウスを用いた解析からつきとめた。これら変異マウスでは発生中の口蓋自体に目立った異常はなかったが、舌において舌筋の発達が不全であった。舌は口蓋発生のころ、羊水嚥下により口蓋発生を促すと考えられており、この作用が不十分であるために口蓋裂になるものと考えられた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,320,000	0	1,320,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：

#### 1. 研究開始当初の背景

口蓋裂の原因は環境要因と遺伝的要因に大別されるが、遺伝的要因については症候群の一つとして認知されるものが大半であった。一方本研究で注目した Shh は近年ノックアウトマウスで口蓋裂になることが報告されているものの、その詳細な作用とその部位は不明であった。

#### 2. 研究の目的

Shh のノックアウトマウスと、Shh の制御領域のノックアウトマウスとのコンパウンドヘテロ個体を同腹野生型個体と比較する

ことで、Shh の二次口蓋発生における役割を明らかにする。Shh シグナル関連遺伝子の発現パターンを二次口蓋発生の全期間で明らかにし、コンパウンドヘテロ個体で二次口蓋発生のどの段階が影響を受けているかを明らかにし、器官培養等によりそれを確認する。

#### 3. 研究の方法

発生過程において咽頭領域特異的に Shh の発現を制御する MFCS4 の欠失マウスの交配系と Shh コーディング領域欠失マウスの交配系から得られるコンパウンドヘテロについて、in situ hybridization、免疫組織化

学染色、器官培養を行う。

#### 4 . 研究成果

国立遺伝学研究所哺乳動物遺伝研究室城石俊彦教授と嵯峨井知子研究員は、Sonic hedgehog 遺伝子の口腔咽頭領域における cis 型発現制御領域 MFCS4 が欠失しているマウスを樹立し、これと Shh 欠失マウスとのコンパウンドヘテロ個体(Shh+/- MFCS4+/-)では口蓋裂が 100%発症することをつきとめた。コンパウンドヘテロマウスの組織学的な観察、in situ hybridization および上顎部の rotary organ culture を行ったところ、口蓋の原器である口蓋突起には目立った形態上の発生異常は認められず、rotary organ culture において口蓋突起は水平転位し正中で癒合することが示された。また、in situ hybridization により Shh およびその伝達路に關与する Gli, Patched などの mRNA 発現を継続的に観察したところ、これらの遺伝子の発現に特に明確な差を認めなかった。そこで、口蓋裂の原因の別の候補である舌の発達・動作異常を検討するために、舌体および舌筋群とこれらの支配神経の発達を、野生型とミュータントマウス間で観察・比較した。舌の動作に關与する筋群の発生を、通常の組織染色、細胞増殖の状態や筋芽細胞マーカーに対する in situ hybridization により観察すると、縦舌筋・横舌筋・オトガイ舌筋筋束の形態学的な形成不全が見られ、さらに横紋筋細胞の分化マーカーである MyoD の発現がコンパウンドヘテロマウスにおいて低下していることを発見した。また、MyoD の発現パターンが Fibroblast growth factor receptor 2 の発現パターンと近いことも発見した。

#### 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)

[学会発表](計 1件)

Shigeru OKUHARA and Sachiko ISEKI. Sonic hedgehog and Sall3 in tooth and palate Development (Gordon Research Conferences CRANIOFACIAL MORPHOGENESIS & TISSUE REGENERATION, 2008 年 2 月 10 日~15 日, Lucca, Italy)

#### 6 . 研究組織

(1)研究代表者

奥原 滋 (OKUHARA SHIGERU)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：10451973