

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10156

研究課題名（和文）舌誘導メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism in tongue development

研究代表者

丹原 惇（Nihara, Jun）

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：10636228

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：舌は摂食嚥下、発音、味覚など様々な重要な機能を持つ器官で、良好なQOLにとって不可欠である一方、歯科領域で最も癌が発生する部位でもあり、手術によって除去されることが多い。そのため、舌の再生療法の確立が期待されている。しかし、再生療法には、幹細胞誘導のための舌の発生メカニズムが必要となるが、その舌の発生メカニズムが明らかでない。本研究は、舌が欠損するmicroRNA欠損マウスの解析から、舌の発生メカニズムを解明した。microRNA欠損マウスでは、複数のシグナルが過剰活性することで舌の欠損が欠損している可能性が示唆された。シグナル経路の適切な活性レベルが舌の発生には必須であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な重要な機能を有している舌は、癌の好発部位でもあるため、再生療法を望む患者は多い。再生療法には、再生させる器官の発生メカニズムの知識が必要となる。しかし、舌の発生メカニズムの多くは、明らかとなっておらず、舌の再生療法も進んでいない。そのような中、microRNA欠損マウスの解析から、舌の発生メカニズムの一端を明らかにできた本研究の意義は大きい。今後の舌の再生療法の確立に大きく貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The tongue is an indispensable organ for good quality of life as it has various critical functions such as feeding, swallowing, pronunciation, and taste. On the other hand, the tongue is most commonly surgically removed organ in the oral cavity, since it is the most common region for cancer in dentistry. Therefore, it is expected that tongue regenerative therapy is established. However, a mechanism of tongue development remains unclear, which is essential for inducing stem cells in tongue regeneration. This study elucidated the mechanism of tongue development by analyzing microRNA-deficient mice, in which the tongue lost. Results suggest the possibility that the tongue was absent due to the overactivity of multiple signaling pathways in microRNA-deficient mice. Thus, appropriate activity levels of the signaling pathway is likely important for tongue development.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：舌

1. 研究開始当初の背景

舌は摂食嚥下、構音、味覚など様々な重要な機能を持つ器官で、QOL にとって欠かすことのできない器官である。その一方で、舌は、歯科領域で最も癌が発生する部位でもあり、口腔内で、最も手術によって除去される器官とも言える。そのため、舌の再生療法の確立が期待されている。しかし、再生療法確立に必須となる幹細胞の舌への誘導メカニズムが解明されていない。それは、幹細胞誘導に必要な舌の発生メカニズムが明らかになっていないことに起因しており、舌の発生研究の進展が望まれている。

2. 研究の目的

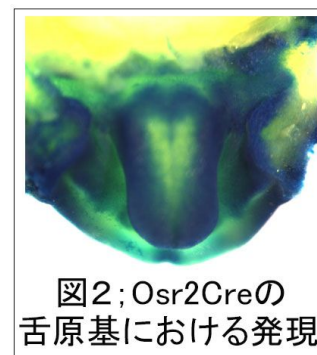
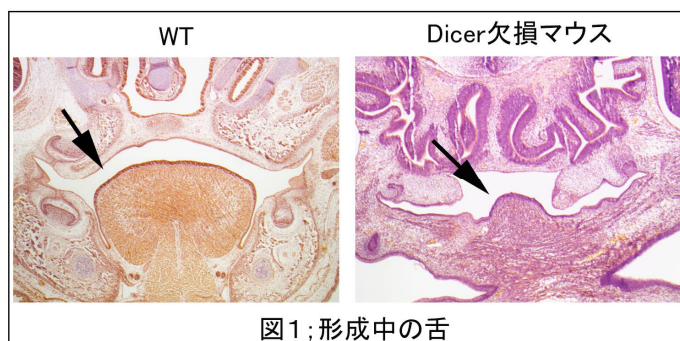
器官の発生メカニズムの解明には、目的の器官に異常の存在する実験動物が必須であるものの、舌に異常を持つ遺伝子欠損マウスの報告は多くない。我々は神経堤由来細胞特異的に microRNA が欠損したマウスにおいて、舌の劣形成を見出した。本研究は、この microRNA 欠損マウスの解析から、舌の発生メカニズムを解明することを目的としている。

3. 研究の方法

microRNA を全身で欠損させたマウスでは、胎生期の非常に初期に致死となるため、舌の研究には使用できない。そこで、microRNA の欠損部位を限局させるために、Cre-LoxP システムを用いて、組織特異的な microRNA の欠損マウスを作成し、形態的、分子的検索を行った。

4. 研究成果

神経堤由来細胞特異的に microRNA が欠損したマウス ($Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$) において、舌の劣形成を認めた (図 1)。神経堤由来細胞特異的 microRNA 欠損マウスにおける microRNA 欠損領域は広範囲に及ぶため、原因部位の特定は難しい。そこで、舌の劣形成の原因となる部位の特定のために、下顎突起の舌形成相当部の一部に限局して発現する $Osr2Cre$ を使用して (図 2)、 $Osr2$ 発現領域のみ microRNA が欠損するマウスを作成した。



劣形成が細胞増殖の低下によって引き起こっているかを確認するために、細胞増殖を検索した。microRNA 欠損マウスの舌に著しい細胞増殖活性の低下は認められなかった(図3)。著しい劣形成を示す microRNA 欠損マウスの舌に筋肉が存在するか、筋細胞マーカーである Myf5 で確認した。野生型マウスでは、Myf5 発現細胞と、Myf5 非発現細胞が、特定の配列で認められたのに対し、microRNA 欠損マウスでは減形成舌の全体に Myf5 発現細胞が認められ、筋肉細胞は存在するが、野生型とは異なる配列であることが示された(図4)。

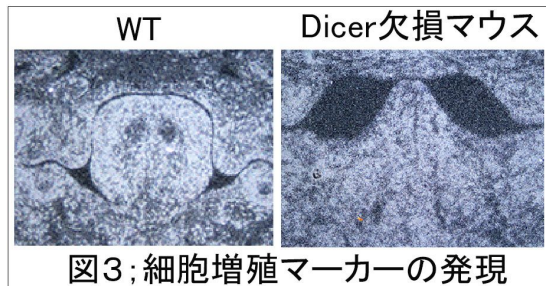


図3;細胞増殖マーカーの発現

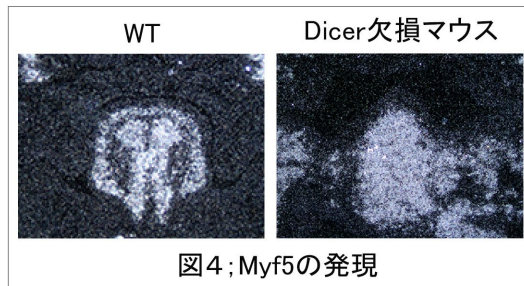


図4; Myf5の発現

器官形成には Fgf シグナル、Hh シグナル、Wnt シグナルが重要な役割を担う。そこで、microRNA 欠損マウスの舌におけるそれらのシグナルの活性を確認した。野生型マウスの舌原基では上皮直下に Wnt シグナルが活性化しているのに対し、microRNA 欠損マウスでは、活性領域が著しく拡大していた(図5)。Fgf シグナルでは、野生型マウスの舌原基に弱く活性化しているのに対し、microRNA 欠損マウスでは、その活性が若干上昇していた(図6)。Hh シグナルは、野生型では上皮直下の間葉にのみ活性が認められたが、microRNA 欠損マウスでは、舌全体で活性が確認された(図7)。正中の形成を司ると考えられている eHAND の発現は野生型マウスの舌内にも認められるのに対し、microRNA 欠損マウスの舌内では観察されない一方、顎骨層頭部では拡大していた(図8)。

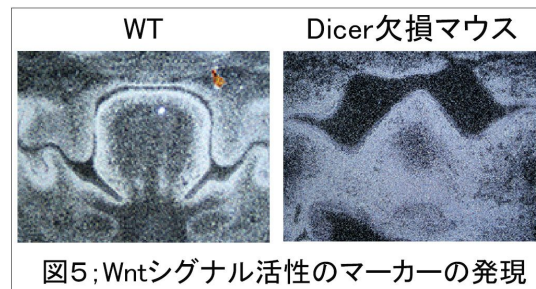


図5; Wntシグナル活性のマーカーの発現

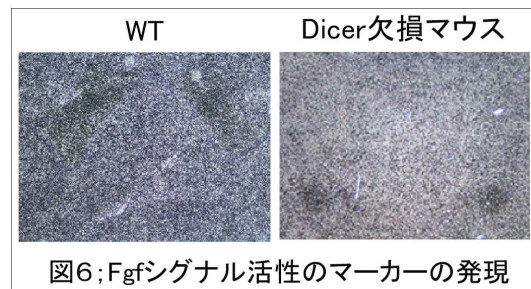


図6; Fgfシグナル活性のマーカーの発現

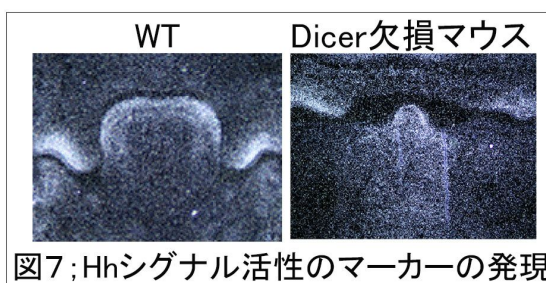


図7; Hhシグナル活性のマーカーの発現

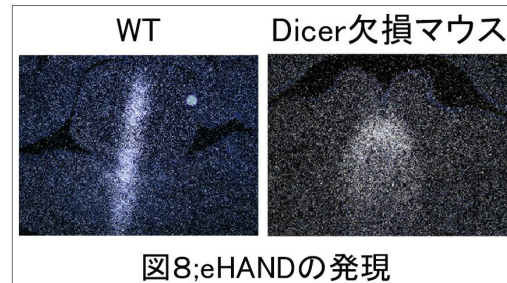
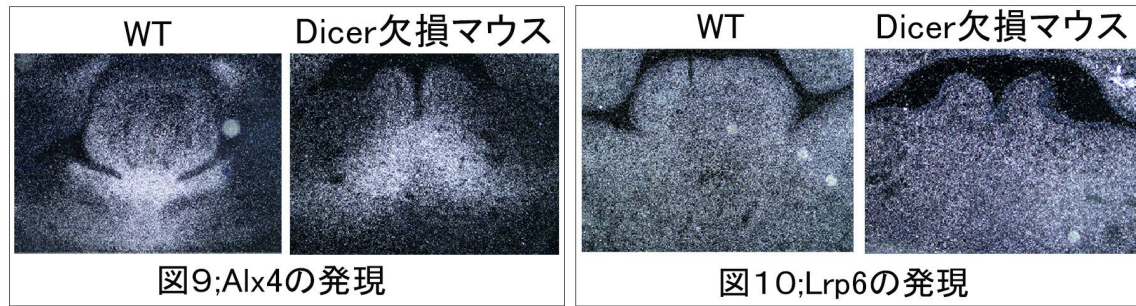


図8; eHANDの発現

それに対し、同じ正中形成に関連すると考えられている Alx4 の発現に大きな変化は認められなかった(図9)。野生型マウスの舌原基には顔面形成に参与する Lrp6 の発現が認められるが、microRNA 欠損マウスの舌における Lrp6 の発現に大きな変化は認めら

れなかった(図10)。



microRNA 欠損マウスでは、複数のシグナルが過剰活性することで劣形成が引き起こった可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nihara Jun, Kawasaki Maiko, Kawasaki Katsushige, Yamada Akane, Meguro Fumiya, Kudo Takehisa, Trakanant Supaluk, Nagai Takahiro, Saito Isao, Maeda Takeyasu, Ohazama Atsushi	4. 巻 41
2. 論文標題 Expression of R-spondins/Lgrs in development of movable craniofacial organs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gene Expression Patterns	6. 最初と最後の頁 119195 ~ 119195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gep.2021.119195	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大峽 淳 (Ohazama Atsushi) (40266169)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	齊藤 一誠 (Saito Issei) (90404540)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------