

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18661

研究課題名（和文）下顎形成における一次線毛の機能解析ーメッケル軟骨を通してー

研究課題名（英文）Functional Analysis of Primary Linear Hair in Mandible Formation - Through Meckel's Cartilage

研究代表者

永井 孝宏（NAGAI, TAKAHIRO）

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：70827675

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：顔面頭蓋の中でも、下顎は先天異常の現れやすい部位の一つである。どのような変化が、下顎に異常を引き起こすのかを理解するには、下顎がどのように発生しているかを分子レベルで把握することが不可欠である。メッケル軟骨が下顎に先立って形成されるため、下顎形成の詳細な把握には、このメッケル軟骨の形成メカニズムを知ることが必須となる。下顎突起の舌側のHhシグナルは、通常、メッケル軟骨の形成を抑制しており、そのシグナルの欠損は過剰なメッケル軟骨を誘導することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顔面頭蓋の中でも、下顎は先天異常の現れやすい部位の一つである。つまり下顎形成メカニズムは、内外のわずかな変化に影響を受ける敏感なメカニズムで形成される器官である。分子レベルでの本研究の成果は、下顎に先天異常が引き起こりやすい理由の解明に新たな展開をもたらし、下顎の先天異常に対する治療法や再生療法の基盤的知見となる。

研究成果の概要（英文）：Mandibular anomalies are one of common congenital defects, suggesting that mandibles are vulnerable to perturbations in their development. Understanding molecular level of mandibular development is essential for knowing how mandibular anomalies occur. Meckel's cartilage is formed prior to the mandibular formation. Therefore, it is crucial to elucidate the mechanism of Meckel's cartilage formation for understanding the detail of mandibular development. In normal mandibular development, Hh signaling in the lingual part of mandibular process was found to inhibit cartilage formation. Defect of these Hh signals induced extra Meckel's cartilage formation.

研究分野：顎顔面領域の口腔外科学分野および発生学分野

キーワード：メッケル軟骨

## 1. 研究開始当初の背景

先天異常の約 1/3 に、顔面頭蓋の奇形が存在することが知られている。顔面頭蓋の中でも、下顎は先天異常の現れやすい部位の一つである。つまり下顎形成メカニズムは、内外のわずかな変化にも影響を受けるような敏感なメカニズムで形成される器官となる。どのような変化が、下顎に奇形を引き起こすのかを理解するには、下顎がどのように発生しているかを分子レベルで把握することが必須となるが、その多くは謎のままである。

下顎は第一鰓弓を由来とし、メッケル軟骨が下顎に先立って形成される。メッケル軟骨自身は、下顎骨に変換することなく発生過程で消失するが、メッケル軟骨を欠如させたマウスでは、下顎が著しい形成不全を引き起こすことが報告されており (PNAS 100:9360-5, 2003, Dev Dyn 244:564-576, 2015)、下顎形成にメッケル軟骨が必須の器官である可能性を示唆している。下顎形成の詳細な把握には、このメッケル軟骨の役割を知ることが必須となるが、メッケル軟骨は発生途中で消失してしまうため、検索の難しい器官である。

## 2. 研究の目的

一次線毛は、ほとんど全ての細胞に存在する細胞小器官であるが、長年、進化の過程で機能を失った細胞小器官と考えられていた。しかし近年の分子生物学の発展により、シグナル伝達などの様々な機能を有していることが明らかとなってきた。また、一次線毛の機能低下は様々な疾病を引き起こし、「線毛病」と総称される。この線毛病に属する疾患にも、下顎の形成異常が多く認められ、下顎発生に一次線毛が重要であることを示しているが、そのメカニズムは未だ明らかでない。Ofd1 は、線毛病の一つである oral facial digital type I 症候群の原因遺伝子として同定され、この症候群にも下顎の異常は認められる。Ofd1 欠損マウスを用いて、メッケル軟骨の形成メカニズムを検索することを目的として、本研究を行なった。

## 3. 研究の方法

Ofd1 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、メッケル軟骨の研究には使用できない。そこで、Ofd1 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 Ofd1 の欠損マウスを作成し、形態的、分子的反検索を行った。

## 4. 研究成果

Ofd1 を神経堤由来細胞特異的に欠損させたマウス (Ofd1<sup>fl/fl</sup>;Wnt1Cre) を作成した所、メッケル軟骨が 2 本形成されていた (図 1)。舌側に形成された軟骨が、過剰なメッケル軟骨と考えられる。神経堤由来細胞は顔面の広範囲に存在するため、過剰なメッケル軟骨の形成を引き起こした部位を特定する必要がある。下顎突起の舌側における Ofd1 の欠損

が、原因ではないかと仮説を立て、下顎突起の舌側のみ発現する分子を検索した。その中で、Osr2 が下顎突起の舌側に発現することが確認された (図 2)。そこで、Ofd1 を Osr2 発現領域のみで欠損させたマウス (Ofd1<sup>fl/fl</sup>;Osr2Cre) を作成した所、Ofd1<sup>fl/fl</sup>;Wnt1Cre マウスと

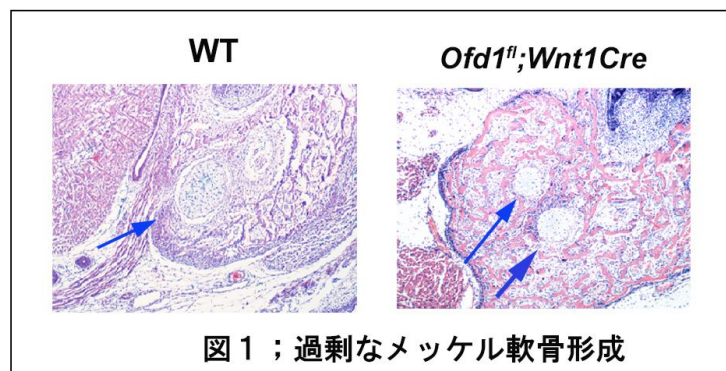


図 1 ; 過剰なメッケル軟骨形成

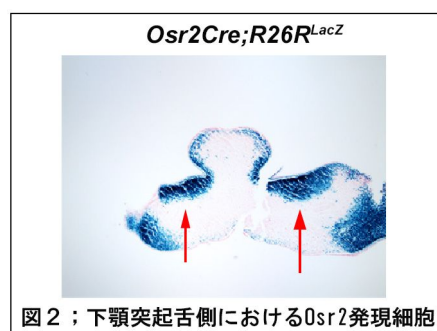


図 2 ; 下顎突起舌側における Osr2 発現細胞

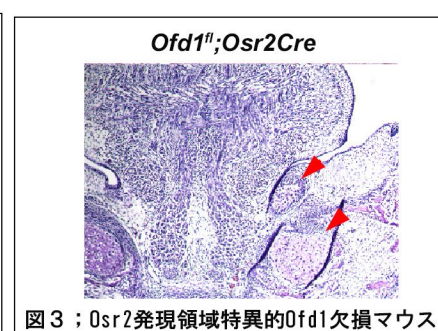


図 3 ; Osr2 発現領域特異的 Ofd1 欠損マウス

同様に、2本のメッケル軟骨を確認した(図3)。Odf1が局在する一次線毛は、Hhシグナルが活性化する部位でもある。次に、Odf1<sup>fl/fl</sup>;Osr2Creで認められたメッケル軟骨の表現型がHhシグナルの変化によるものであるかを検索するために、HhシグナルがOsr2発現領域のみで欠損させたマウス(Smo<sup>fl/fl</sup>;Osr2Cre)を作成した。その結果、Odf1<sup>fl/fl</sup>;Osr2Creと同様に、2本のメッケル軟骨が観察された(図4)。これらのことは、下顎突起の舌側に存在する細胞は、一次線毛におけるHhシグナルの活性によって、余剰なメッケル軟骨の形成を抑制していることを示している。

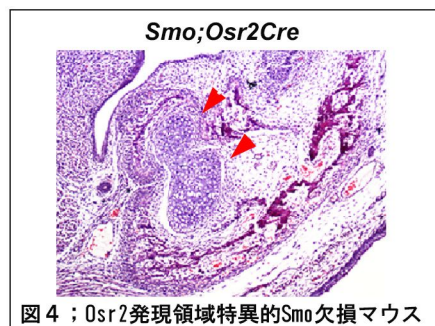


図4；Osr2発現領域特異的Smo欠損マウス

Hhシグナルの活性は、Gli1、Gli2、Gli3の3種類の転写因子の核内移動を誘導する。正常マウスの下顎突起の舌側にはGli3が発現するが、Odf1<sup>fl/fl</sup>;Wnt1Creマウスではその発現が著しく減少していた(図5)。Gli3は、Hhシグナルを活性方向にも、抑制方向にも誘導する機能を有する。そこで、このGli3の減少がOdf1欠損マウスやSmo欠損マウスで認められた表現型を誘導したのかを検索するために、Gli3欠損マウス(Gli3<sup>-/-</sup>)を検索した。しかし、メッケル軟骨の異常は観察されなかった(図6)。

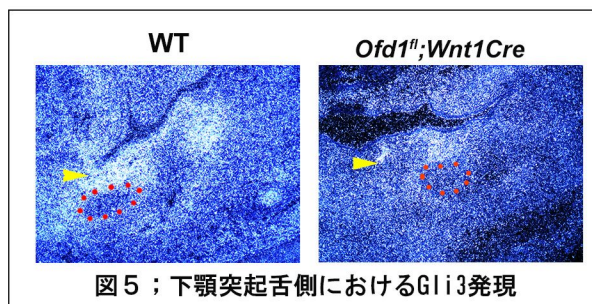


図5；下顎突起舌側におけるGli3発現

以上のように、メッケル軟骨は、下顎突起の舌側でのHhシグナルにより抑制されることで、1本だけの形成が誘導され、そのHhシグナルはGli3以外の転写因子の誘導によるものであることが示された。これらの成果は、下顎で先天異常が多い原因の解明に寄与するものと考えられる。将来の下顎異常の生前治療や再生に貢献できる可能性も有している。

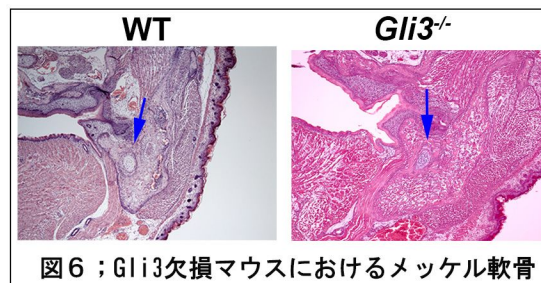


図6；Gli3欠損マウスにおけるメッケル軟骨

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------