Title	Sonic hedgehog is essential for first pharyngeal arch development
Sub Title	Sonic hedgehogは第一咽頭弓の発生に必須の分泌タンパクである
Author	山岸, 千尋
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.4 (2007. 12) ,p.19-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0019

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Sonic Hedgehog Is Essential for First Pharyngeal Arch Development

(Sonic hedgehogは第一咽頭弓の発生に必須の分泌タンパクである)

山 岸 千 尋

内容の要旨

哺乳類の胎生期に、咽頭弓は左右対称の6対の組織として発生し、顔面・頭頸部の器官を形成する。その中で第一咽頭弓は、上顎および下顎の原基となる。Sonic hedgehog (Shh)は、多くの器官の発生に必要な分泌タンパクであり、Shhノックアウトマウス (Shh KO)では顔面・頭頸部を含む多器官の発生異常が起こることが知られていたが、Shhの咽頭弓発生における直接的な役割は不明であった。本研究では、Shh KOの咽頭弓発生を分子生物学的手法により解析することにより、咽頭弓の初期発生におけるShhシグナルの役割を解明することを目的とした。

本研究では、咽頭弓で発現するPax3遺伝子の転写調節領域の制御によりLacZ遺伝子を発現するトランスジェニックマウスとShh KOを交配することにより、Shh KOの咽頭弓をLacZマーカーで標識し、形態学的解析、RNA *in situ* hybridization法による分子遺伝学的解析、細胞増殖およびアポトーシスの解析をおこなった。また、組織培養した咽頭弓にShhタンパクを添加し、線維芽細胞増殖因子Fgf8の誘導実験をおこなった。

解析結果は以下に要約される。①Shh KOでは第一咽頭弓が低形成で、胚の正中で癒合した単一の形態であった。②第一咽頭弓に発現する分子マーカーは、Shh KOの第一咽頭弓の上顎を形成する部分と下顎を形成する部分の近位部、および正中の内側部分で発現低下していたが、下顎を形成する部分の遠位部では発現低下は認められなかった。③Shh KOの第一咽頭弓では、TUNEL法によりアポトーシスの増加が認められた。細胞増殖能は正常だった。④Shh KOの第一咽頭弓では、Fgf8遺伝子とFgf8の下流で機能する遺伝子の発現が低下していた。⑤組織培養した咽頭弓にShhタンパクを添加することにより、Fgf8遺伝子発現が誘導された。

以上の結果から、Shhシグナルは、第一咽頭弓の上顎成分、下顎近位成分、および正中部分 (midline構造)の発生に必要であることが明らかになった。分子機序として、Shhシグナルの機能の少なくとも一部は、正常な咽頭弓の発生に必要な上皮-間葉系シグナル伝達経路で機能するFgf8およびその下流で機能する遺伝子を介し、おもに第一咽頭弓の細胞の生存に必須であることが示唆された。ヒトSHH遺伝子異常は全前脳胞症の原因となることが知られており、本研究から第一咽頭弓の発生異常に起因する無顎症、小顎症などの合併症の発症分子機序についての新たな知見が得られた。

論文審査の要旨

第一咽頭弓は顔面・顎の原基となる胎生器官である。Sonic hedgehog (Shh)は多くの器官の発生に必要な分泌タンパクであり、そのノックアウトマウス (Shh KO)では、中枢神経系・顔面・頭頸部を含む多くの器官の発生異常が認められる。本研究では、第一咽頭弓におけるShhの役割について発生分子生物学的手法を用いて解析を行った。Shh KOの第一咽頭弓では、間葉系細胞のアポトーシスにより、上顎成分と下顎成分の近位部、および正中の内側部分が低形成になることが明らかとなり、Fgf8とその下流で機能する遺伝子の発現が低下していた。咽頭弓組織培養では、ShhタンパクによりFgf8の発現が誘導された。これらの結果より、Shhシグナルは、第一咽頭弓の発生に必須であること、主に間葉系細胞の生存因子として働くこと、Fgf8およびその下流標的遺伝子を介して機能すること、が示された。

審査ではShh KOにおける正中構造異常の発生機序について質問され、本研究では第一咽頭弓の形態学的解析のみを行った、詳細な機序については今後の研究課題である、と回答された。続いて、Shh受容体の発現部位、受容体とFgf8の関連について質問された。Shh受容体であるPtc1は、第一咽頭弓の間葉系細胞に存在すること、肢芽や神経系でShhはPtc1を介して間葉系細胞の転写因子Gliを調節すること、Gliはさらに上皮のFgf8発現を調節すること、が知られており、咽頭弓でも同様の経路が推測される、と回答された。次に、第一咽頭弓の低形成の原因が細胞増殖能の低下に起因する可能性について質問され、胎生9.5日ではアポトーシスの増加が認められたが、細胞増殖能の低下はなかった。一方、胎生9.5日以降では、細胞増殖能の低下も報告されており、発生段階によっては細胞増殖能の低下も低形成の成因のひとつである可能性がある、と回答された。今後、アポトーシスの制御に直接関連する遺伝子であるBcl2やBaxの発現について検討することが重要である、との助言がなされた。次いで、ヒトの疾患とShhとの関連について質問があった。ヒトSHH遺伝子変異は全前脳胞症、第一咽頭弓の正中部分発生異常であるSolitary median maxillary central incisorなどの原因となること、Shhは小顎症や胸腺の異常を呈するDiGeorge症候群の責任遺伝子の一つであるTbx1の発現を抑制している可能性があること、について述べられた。

以上、第一咽頭弓の発生異常に起因する無顎症、小顎症などの先天異常におけるShhの直接的関与とその分子機序の一部を明らかにした点において意義のある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 小児科学 高橋 孝雄

再生医学 福田 恵一 発生・分化生物学 須田 年生

解剖学 相磯 貞和

学力確認担当者: 池田 康夫

審査委員長: 福田 恵一

試問日: 平成19年 6月14日