

論 文 要 旨

区分	甲	論文提出者	大木 調
論文 題目	Transforming growth factor-beta and sonic hedgehog signaling in palatal epithelium regulate tenascin-C expression in palatal mesenchyme during soft palate development.		
研究目的			
<p>口蓋発生時に、細胞外マトリックス蛋白Tenascin C (TNC)が軟口蓋間葉組織に特徴的に発現するメカニズムを解明し、軟口蓋形成において重要なシグナルネットワークを明らかにする。</p>			
材料および方法			
<p>口蓋発生時のICRマウス口蓋前方組織と口蓋後方組織に対し、Tenascin X、W、Cの<i>Real-time</i> PCRを施行した。ICRマウス胎児の口蓋発生時組織切片を作成し、TNC抗体を用いて免疫組織染色を行って口蓋前後軸での発現パターンを調べた。ICRマウス胎児の口蓋間葉から得たプライマリー細胞(MEPM細胞)、マウス顔面神経堤細胞株(O9-1細胞)をTGF-βおよびSonic hedgehog (Shh) にて刺激し、TNC mRNAの変化を<i>Real-time</i> PCRにて、培地に分泌されたTNC蛋白量をELISA法にて解析した。さらに、TGF-βのinhibitorであるSB203580とSIS3の効果も確認した。TGF-βII型受容体のコンディショナルノックアウトマウスである<i>Wnt1-cre; Tgfbr2^{fl/fl}</i>と<i>K14-cre; Tgfbr2^{fl/fl}</i>さらに、Shhのコンパウンドヘテロマウスである<i>Shh^{-/+}; MFCS4^{+/-}</i>の口蓋組織切片を用いてTNC発現の有無を組織学的に確認した。</p>			
結 果			
<p>胎生期の口蓋組織では、Tenascin Familyの中でTNC発現が最も高く、組織学的観察では、軟口蓋に著しい発現を示した。MEPM細胞に対するTGF-β3とShh刺激はTNCの発現を誘導し、TGF-βのinhibitorはTGF-β3によるTNCの誘導を阻害した。しかし、O9-1細胞においてTGF-β3はTNCの発現を誘導したが、Shhは発現誘導しなかった。軟口蓋裂を示す<i>K14-cre; Tgfbr2^{fl/fl}</i>マウス口蓋組織では、TNCの発現が抑制されていた。さらに、<i>Shh^{-/+}; MFCS4^{+/-}</i>マウスにおいても軟口蓋及び咽頭領域でTNCの発現が抑制されていた。O9-1細胞においてTGF-β刺激は線維芽細胞マーカーの上方制御と骨芽細胞マーカーの下方制御を示したのに対し、O9-1細胞に対するShh刺激では細胞分化マーカーの発現変化がなかった。</p>			
考察および結論			
<p>口蓋発生時の軟口蓋領域に特徴的に発現するTNCは、口蓋上皮でのTGF-βシグナルによって調節されていた。そしてその調節には、同じく口蓋上皮に発現するShhが関与していることが示唆された。細胞培養を用いた解析からは、TGF-βは、口蓋間葉細胞を線維芽細胞へと分化させながらTNC発現を促進しており、軟口蓋の発生に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。一方で、Shhもまた口蓋間葉のTNC発現を促進するものの口蓋間葉細胞の分化には影響していないことがわかり、このTGF-βとShhシグナルの制御の違いが、軟口蓋領域に特徴的にTNCを発現させるメカニズムである可能性を示すことができた。</p> <p>軟口蓋間葉でのTNCの発現には、口蓋上皮におけるTGF-βおよびShhシグナルのパラクラインな調節が重要であることが示唆された。</p>			