



Title	レチノイン酸シグナルは中咽頭、下咽頭領域の発生に必須である
Author(s)	夏山, 昌大
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101563
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (夏山 昌大)	
論文題名	レチノイン酸シグナルは中咽頭、下咽頭領域の発生に必須である
論文内容の要旨	
<p>【研究の背景および目的】 レチノイン酸シグナル (RAシグナル) は、顎顔面口腔領域の発生に関する重要なシグナルの一つであり、我々の過去の研究においても、胎生期におけるRAシグナルの欠乏が唇顎口蓋裂や後鼻孔閉鎖を引き起こすことを明らかにしている。一方で臨床の現場では、上記の様な先天性形成不全に加えて気管食道瘻や食道閉鎖症といった下咽頭領域の先天性奇形を併発する症例が存在する。気管食道瘻や食道閉鎖症は出生約10000人に1~4人の割合で発生し、非症候群性に発症する場合もあるが多くはCHARGE症候群やDiGeorge症候群、Patau症候群などで症状の一つとして発症する先天性奇形である。しかし、これらの疾患の詳細な分子メカニズムは未だ不明な点が多い。そこで本研究では、RAシグナルが顎顔面口腔領域の発生に加えて、中咽頭および下咽頭領域の発生にも関与しているかを検証するため、RAシグナルを時期特異的に低下させるRdh10コンディショナルノックアウトマウス (Ert2-CreRdh10^{fx/fx}) を用いて、これらの領域における発生メカニズムを解明する事を目的とした。</p>	
<p>【方法と結果】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 野生型個体マウスにおけるRAシグナルのレポーター活性評価 RAシグナルが中咽頭・下咽頭領域の正常発生に及ぼす影響を解明するため、RARE-LacZレポーターマウスを用いてX-gal染色を行い、胚発生中のRAシグナル活性部位を観察した。E9.5の矢状面では第一・第二・第三咽頭弓に活性は見られず、第三咽頭囊上皮およびその尾側中胚葉組織に活性が確認された。E9.0, 10.5の横断面では、気管・食道の分離前後双方で内胚葉上皮に活性がみられた。E10.5の摘出した下咽頭組織からは、気管・食道・気管支・胃の内胚葉組織で強い活性がみられた。 2. Ert2-CreRdh10^{fx/fx}マウスを用いた下咽頭領域（気管・食道）の形態学的および組織学的解析 下咽頭領域（気管・食道）の初期発生におけるRAシグナルの役割を探索するため、Ert2-CreRdh10^{fx/fx}マウスの妊娠6.5日でタモキシフェンを投与後、E9.5, 10.5, 12.5で得られたマウス胎仔をパラフィン包埋し組織学的に解析した。野生型ではどの段階でも気管・食道が正常に分離したが、変異型では100%の発生率で気管食道瘻が認められ、RAシグナルが気管・食道の発生に関与していることが示唆された。 3. Ert2-CreRdh10^{fx/fx}マウスを用いた下咽頭領域（気管・食道）の免疫組織学的解析 気管食道瘻発生の分子機構を解明するため、下咽頭領域（気管・食道）の免疫組織学的解析を行った。Ki67免疫染色では変異型と野生型間に有意差はなかったが、TUNEL染色では変異型における細胞死が有意に減少していた。特に食道発生領域（背側）で顕著であり、RAシグナル低下が食道細胞死を減少させ、気管食道瘻を誘発する可能性が示唆された。また、SOX2（食道マーカー）とNKX2.1（気管・肺マーカー）の免疫染色では、変異型でSOX2発現が背側から消失し、NKX2.1発現も減少していた。 4. Ert2-CreRdh10^{fx/fx}マウスを用いた中咽頭、下咽頭領域の三次元画像解析 RAシグナル低下により前腸の初期発生に異常を来たしたマウス胎仔が更に発生が進んだ段階で、派生組織（気管・食道等）にどういった表現型を示すのかを検討するため、E15.5のErt2-CreRdh10^{fx/fx}マウス胎仔をmicro-CTで三次元的に観察した。その結果、初期発生期に認められた気管食道瘻は同段階でも持続し、肺や胃の低形成も観察された。観察範囲を拡大し軟骨・腺組織を検討したところ、メッケル軟骨や舌骨の明らかな形態異常はみられなかった。一方で変異型では、野生型に比べ喉頭軟骨（甲状・輪状・気管・喉頭蓋・披裂）の低形成が生じ、胸腺の欠損も確認された。 	
<p>【結論】 RAシグナルが中咽頭、下咽頭領域の発生に必須であることを示し、特に気管・食道の分離発生や喉頭軟骨の発生においてRAシグナルの発現が深く関与していることを明らかにした。RAシグナルの低下はSOX2発現を抑制することを発見し、その分子機構の解明に寄与した。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (夏山昌大)	
	(職) 氏名
論文審査担当者	主査 教授 山城 隆
	副査 教授 田中 晋
	副査 准教授 伊藤 祥作
	副査 講師 村上 智彦

論文審査の結果の要旨

本研究は、レチノイン酸シグナルが中咽頭および下咽頭領域の発生に必須であることを示し、特に気管・食道の分離発生や喉頭軟骨の発生において、レチノイン酸シグナルの発現が必要であることを明らかにした。

また、レチノイン酸シグナルの低下が気管・食道の発生過程での前腸における SOX2 並びに NKX2.1 の発現を抑制することを発見し、その分子機構の解明の一端に寄与した。

以上より、本研究は中咽頭から下咽頭にかけての発生過程におけるレチノイン酸シグナルの重要性を示し、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。