The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	顎顔面発生におけるレチノイン酸シグナルとGata3シグナルは嗅上皮発生に必要である
Author(s)	松下, 文香
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101564
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　　名　（　　松下　文香　　）	
論文題名	顎顔面発生におけるレチノイン酸シグナルと*Gata3*シグナルは嗅上皮発生に必要である

論文内容の要旨

【研究目的】

胎生期における顎顔面形成は顎顔面上皮細胞と間葉細胞の相互作用により制御され、これらの障害は口唇口蓋裂や後鼻孔閉鎖などの表現型を引き起こす。レチノイン酸（RA）シグナルは様々なシグナル経路の活性化や抑制を転写調整等を通して行い、全身の臓器発生やボディプラン形成の際に中心的な役割を果たす事が知られている。中でもRAシグナルは胎生期の顎顔面に強い活性を示し、その抑制は正中顔面裂や後鼻孔閉鎖といった顎顔面形成不全を引き起こす。我々はこのRAシグナルの下流で特異的に働く因子として*Gata3*を同定し、これら2つの因子の機能喪失が鼻腔や後鼻孔閉鎖など共通の表現型を示すことを見出してきた。これらのことはRA-*Gata3*シグナル経路が顎顔面発生に重要な役割を果たすシグナル経路である事を示すものである。しかし、RA-*Gata3*シグナル経路は新しく提唱された概念であり顎顔面発生において果たす役割の詳細については不明な部分が多い。本研究ではRA-*Gata3*シグナル経路の顎顔面形成に果たす役割を探索するために本シグナル経路活性に必要不可欠である*Rdh10*遺伝子及び*Gata3*遺伝子の機能阻害をマウスにて行い、その表現型の詳細を解析した。

【方法と結果】

1.*Rdh10*と*Gata3*のダブルノックアウトマウスの作製と表現型の形態的観察

胎児の*Rdh10*と*Gata3*の発現を胎生時期特異的に低下させるためにRdh10とGata3を胎生時期特異的に同時に抑制するダブルノックアウトマウス（*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$）を作製した。研究に用いたマウスは全てE8.5の妊娠マウスにタモキシフェンを投与しE12.5胎生マウスの観察を行った。使用した胎生マウスは4%PFA溶液で固定し、パラフィン置換後、パラフィン包埋し、ミクロトームを用いて厚さ5μmの前頭断連続切片を製作し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、鼻腔形態の観察を行った。この結果、対照群では嗅上皮の背側中央が陥入し左右に分岐した鼻腔形態であるのに対し、*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$では対照群と比較して嗅上皮の分岐をみとめない鼻腔の形態異常がみられた。これにより、*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$では嗅上皮の発生過程において異常が生じていることが示唆された。

2. *Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$の嗅上皮における細胞増殖、細胞死の探索

Ert2Cre;Rdh10$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$の前頭断連続切片を製作し、増殖期マーカーであるKi67抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。この結果、*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$では対照群と比較して嗅上皮背側における細胞増殖の減少が認められた。更に、細胞死を検出するTUNEL染色から*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$では対照群よりも多くのTUNEL陽性細胞が検出され、より多くの細胞死が生じていることが示唆された。

3. RA-*Gata3*シグナル経路の障害で影響を受ける遺伝子群の同定

鼻腔形成時の細胞種毎の遺伝子発現プロファイルの探索のため野生型E11.5のマウスの鼻上顎複合体を用いたシングルセルRNAシークエンスを行った。その結果、嗅上皮において*Gata3*や*Rdh10*の特異的で強い発現をみとめた。更には*Six*ファミリー遺伝子（*Six1,Six2,Six3*）、*Pax6*、*Sox2*等の強い発現を認めたため、*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$マウスにおいてこれらの因子の免疫染色を行った。その結果、対照群と比較して*Ert2Cre;Rdh10*$^{fx/fx}$*;Gata3*$^{fx/+}$の嗅上皮背側ではSIX1、PAX6、SOX2陽性細胞数の減少が認められた。

【結論】

RA-*Gata3*シグナル経路が嗅上皮において細胞増殖の制御や細胞生存を制御している事が示唆された。またRA-*Gata3*シグナル経路が嗅上皮の発生に重要な遺伝子であるSIX1、PAX6、SOX2の発現を制御する事によりその形態形成に寄与している事が示唆された。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　松下　文香　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教授	山城　隆
	副 査　教授	野田　健司
	副 査　准教授	波多　賢二
	副 査　講師	阿部　真土

論文審査の結果の要旨

本研究では胎生嗅上皮発生時における上皮の肥厚や形態形成の過程においてレチノイン酸シグナルと *Gata3* シグナルが果たす役割を探索した。その結果、レチノイン酸シグナルと *Gata3* シグナルを同時に時期特異的に抑制したマウスでは嗅上皮の厚さや形態に異常を認めた。さらにこれらのマウスでは嗅上皮の発生に重要な遺伝子である SIX1、PAX6、SOX2 の発現が低下していた。

以上より、本研究は顎顔面発生におけるレチノイン酸シグナルと *Gata3* シグナルの相乗的な機能解明の一助となる研究であり、学術的・臨床的に高い意義を有する。よって、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。