The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マウス母体に投与したepidermal growth factorの胎仔口蓋形成に対する影響 : cortisone acetateを併用した場合
Author(s)	加納, 康行
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/35182
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【2】

氏名・（本籍）	加納康行（かのうやすゆき）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 7234 号
学位授与の日付	昭和61年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**マウス母体に投与した epidermal growth factorの胎仔口蓋形成に対する影響** **— cortisone acetate を併用した場合 —**
論文審査委員	（主査） 教授 作田 正義 （副査） 教授 渕端 孟　助教授 石田 武　講師 加藤 幸夫

論文内容の要旨

口蓋融合時期にcortisoneを投与すると，ある種のマウスでは口蓋裂が高率に発生することが知られている。またepidermal growth factor（EGF）は多彩な細胞に作用することが知られており，口蓋形成におけるEGFの影響について述べた文献も散見される。そこで本研究では，cortisone acetate（CA）及びEGFをマウス母体に投与し，その胎仔の口蓋裂発生頻度に対する影響を調べた。さらに母体に投与したCA，EGFの胎仔口蓋形成におよぼす作用についても検討した。

A/J及びC57BLマウスを使用し，膣栓確認日を妊娠0日とし，妊娠11日から14日に1日1回CA（100 μg/g body weight），EGF（0.8 μg/g body weight），CAとEGFの併用（CA＋EGF），あるいはコントロールとして生理的食塩水を腹腔内に注射した。そして妊娠18日に胎仔の唇裂口蓋裂の有無を調べた結果，EGFは単独ではコントロールとほぼ同じ口蓋裂発生率であったが，CAによって誘発される口蓋裂の発生には併用することによって抑制的に働き，口蓋裂発生に関与することが示された。

A/Jマウスでのこうした薬剤投与による口蓋突起の変化を妊娠15日の組織像からみると，CAを投与した場合に比較してCA＋EGFを投与した場合は水平転位・正中縁端上皮の菲薄化がより多くみられる傾向にあり，このような所見が口蓋裂の発生を減少させたことと関連しているように思われた。

また，酵素抗体法（PAP法）をもちいてEGFを染色した結果，妊娠13日から15日の口蓋突起で上皮を中心にEGFの存在が認められ，EGFが直接口蓋形成に関与している可能性が高いと考えられた。そこでCAやEGFを母体に投与することによって胎仔中でEGFが増減するか調べた。即ち妊娠11，12日にCA＋EGF，CAおよびEGFを投与したA/Jマウスから妊娠13日に胎仔を摘出し，この胎仔をホモジナイズ後遠沈し，上清を使用してRadioimmunoassay（RIA）を行なった。実験の結果EGFをマウス母

体に投与しても胎仔中のEGF濃度は変化せず，従ってEGFは胎盤を通過しない可能性が高いと思われた。この点を明確にするために ^{125}I－EGFを妊娠11日から14日の母体に1日1回注射したが，その胎仔で有意な放射活性の上昇は測定されず，EGFの胎盤通過は非常に困難であることが示唆された。従って母体にCAとEGFを併用して投与した場合に口蓋裂発生率が減少したのは，母体にEGFを投与することによってEGFが直接胎仔に移行し作用したのではなく，母体にEGFを投与することによって母体内でなんらかの物質が増減し，この物質が口蓋形成に関与するためと考えられた。そこでRIAの場合と同様にCA，EGFをA/Jマウス母体に投与し，胎仔をホモジナイズしてその上清を得，その口蓋間葉細胞の増殖・口蓋正中縁端上皮の消失に対する作用についてin vitroで実験を進めた。

妊娠14日の無処置A／Jマウスから口蓋突起を摘出し上皮を剥離除去し，残った間葉細胞をマウス胎仔口蓋間葉細胞（MEPM細胞）として使用した。また，ヒト胎仔口蓋間葉細胞（HEPM細胞）は，当教室において継代培養されているものを使用した。これらの口蓋間葉細胞の増殖は，^{3}H－チミジンの取り込みから，DNA合成を指標として測定した。その結果MEPM・HEPM両細胞で，タンパク量が10 μg／mℓとなるように胎仔上清を加えた場合，A／JのCA投与胎仔上清よりも，A／JのCA＋EGF投与胎仔上清を加えたほうが，有意にDNA合成は増加した。また，妊娠13日の胎仔口蓋突起を器官培養し，口蓋正中縁端上皮の消失の有無を観察した結果，A／Jマウス胎仔口蓋突起では，A／JのCA投与胎仔上清よりも，A／JのCA＋EGF投与胎仔上清を加えた方が口蓋正中縁端上皮の消失がよく見られた。また，A／Jマウスにくらべて口蓋裂が発生しにくかったC57BLマウスの口蓋突起では，A/Jマウスの場合と違い，A／JのCA投与胎仔上清でも上皮の消失が多数の口蓋突起で観察されたが，これはA／JマウスとC57BLマウスのCA投与による口蓋裂発生率の差を一面から説明していると考えられる。

以上のようにマウス胎仔内にEGFは存在し口蓋形成に関与していると考えられるが，マウス母体にEGFを投与すると，そのEGFは直接胎仔に作用するのではなく，なんらかの物質の増減を胎仔内でひき起こすと思われ，そのためにCAによって誘発される口蓋裂がEGFを併用投与することによって減少したと考えられた。そしてその物質は口蓋突起の増殖，正中縁端上皮の消失に関与して，口蓋裂の発生を抑制した可能性が示された。

論文の審査結果の要旨

本研究はcortisone acetate投与によって誘発されるマウス胎仔の口蓋裂形成に対するepidermal growth factor（EGF）の影響を検討したものである。その結果，EGFの比較的少量の投与はcortisone投与による口蓋裂の発生に対し，抑制的に作用することが明らかとなった。このようなEGFの作用は胎仔に対する直接作用ではなく，なんらかの物質を介した作用であることが示唆された。

このような結果は，従来のEGFが口蓋裂の発生を促進させる作用をもつとする説に反証を与えたものであるとともに，口蓋裂発生機序の解明に重要な知見を加えたものである。

よって，本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。