

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35182">https://hdl.handle.net/11094/35182</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	か 加	のう 納	やす 康	ゆき 行
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	7 2 3 4	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	淵端	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 C 57 BL マウスを使用し、腔栓確認日を妊娠 0 日とし、妊娠 11 日から 14 日に 1 日 1 回 CA (100  $\mu\text{g/g}$  body weight), EGF (0.8  $\mu\text{g/g}$  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  $^{125}\text{I}$ -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剝離除去し、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、 $^3\text{H}$ -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  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  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引き起こすと思われる、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。