OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マウス顎下腺発達における副甲状腺ホルモン受容体シグナルの役割に関する研究
Author(s)	朴, 一根
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45573
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏名	朴（ボク） 一根（イッコン）
博士の専攻分野の名称	博士（歯学）
学位記番号	第 19384 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学位論文名	**マウス顎下腺発達における副甲状腺ホルモン受容体シグナルの役割に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教授 古郷 幹彦 （副査） 教授 脇坂 聡　助教授 小川 裕三　講師 和田孝一郎

論文内容の要旨

〈目的〉

副甲状腺ホルモン（PTH）と副甲状腺ホルモン関連タンパク（PTHrP）の共通の受容体である副甲状腺ホルモン受容体（PTHR）は7回膜貫通型Gタンパク共役型受容体で、Gタンパクαサブユニットとして Gs および Gq を共有し、それぞれアデニールシクラーゼ（AC）を介してプロティンキナーゼA（PKA）を、フォスフォリパーゼC（PLC）を介してプロティンキナーゼ C（PKC）を活性化し細胞内シグナル伝達を引き起こし、カルシウム代謝のみならず、様々な器官形成・発達にも関与していることが報告されている。特にそのノックアウトマウスの表現形の解析から軟骨、骨、歯、乳腺、心筋などの発達における PTHR の機能的役割が明らかにされている。またヒトの PTHR 遺伝子の不活性型変異を原因とする Blomstrand 型軟骨異形成症では、乳腺や歯牙の発達異常を認めることが報告されている。

一方、唾液腺の発生は胎生期の肥厚した口腔上皮が索状に間充織に陥入し、蕾状の細胞塊（bud）を形成することから始まる。この蕾状細胞塊が増殖し、間充織の陥入により分枝が始まり、分枝と導管（duct）形成を繰り返しながら唾液腺は発達する。この器官形成過程は形態学的に乳腺発達と類似している。

本研究では、乳腺発達に PTHR シグナルが必須であることに着目し、乳腺と類似した発達過程を示す唾液腺の発達にも PTHR シグナルが必要であると仮説をたて、発達過程のマウス唾液腺における PTHR シグナルの役割について検討を行った。

〈実験方法〉

1．マウス胎仔顎下腺における PTHR、PTHrP の発現と局在の検索

①ICR 系マウス胎生 13.5～17.0 日（E13.5～17.0）の顎下腺を摘出して total RNA を抽出し、cDNA を合成して real time PCR 法で定量的にそれぞれの遺伝子発現を比較した。

②ICR 系マウス E15.0、16.0 顎下腺を摘出し、凍結包埋後、6μm の切片を作製して免疫組織染色法、in situ ハイブリダイゼーション法で局在を検索した。

2．PTHR ノックアウトマウス顎下腺の組織学的分析

①実験には PTHR ノックアウトマウスを用い、PTHR ヘテロ接合型マウスを交配し E13.0～19.0 のマウス

胎仔を摘出して頭部をパラフィン包埋し、水平断、前頭断で 4μm の切片を作成して HE 染色にて顎下腺を同腹の野生型マウスのそれと組織学的に比較検討した。

②妊娠マウス（pc. 13.0～17.0）の腹控内に BrdU を投与し、胎仔摘出後、頭部をパラフィン包埋し、4μm の薄切標本を作成して免疫組織染色法で顎下腺上皮細胞の BrdU 陽性細胞率を同腹の野生型と比較し、細胞増殖についての PTHR の影響について検討した。

③同腹の E17.0、19.0 の野生型および PTHR ノックアウトマウス頭部をパラフィン包埋後、4μm の薄切標本を作製し、Vectastain Elite ABC Kit を用いて腺房細胞分化マーカーであるアミラーゼの免疫組織化学染色を行った。

3．PTHR シグナルの伝達経路およびその作用について

①ICR 系マウス E14.0 顎下腺を摘出して 0.45μm メンブレンフィルター上に置き、器官培養用ディッシュ内の無血清培地上で器官培養を行った。培地には PKA 活性化薬剤である 8Br-cAMP を、PKC 活性化薬剤である PMA（Phorbol 12-myristate 13 acetate）を添加し、1 時間、24 時間、48 時間培養し、PKA シグナルと PKC シグナルの唾液腺発達に及ぼす影響について検討した。

〈結果〉

1．マウス顎下腺において PTHR およびそのリガンドである PTHrP はそれぞれ E14.5、E13.5 をピークに発現していた。また PTHR および PTHrP の発現は duct および bud の上皮細胞に検出された。PTHR の共役 G タンパクである Gsα、Gqα も唾液腺上皮細胞に発現していた。

2．PTHR ノックアウトマウスでは E15.0 までは顎下腺初期発生は正常に行われるものの、E16.0 以降では野生型と比較して bud の分枝数、大きさともに有意に小さかった。PTHR ノックアウトマウスでは野生型と比較して、唾液腺上皮細胞での BrdU 陽性細胞率が有意に低く、唾液腺上皮細胞の細胞増殖が抑制されていることが示された。

3．マウス胎仔顎下腺器官培養において 8Br-cAMP 添加群では bud の分枝発達が抑制され、duct の発達が促進された。PMA 添加群では 5μM 以上の濃度で bud の分枝が促進された。

〈結論・考察〉

本研究により、PTHR シグナルは唾液腺 bud 上皮細胞の増殖を促進し、bud 発達、分枝発達を制御することが明らかとなった。その細胞内シグナル伝達経路は PLC を介する PKC 経路である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は副甲状腺ホルモン受容体（PTHR）シグナルのマウス顎下腺発達過程における役割に焦点を絞り解析を行ったものである。

本研究により PTHR シグナルがマウス顎下腺発達において、唾液腺 bud 上皮細胞の増殖を促進し、bud 発達、分枝発達を制御することが明らかとなった。さらにその細胞内シグナル伝達経路はフォスフォリパーゼ C を介してプロティンキナーゼ C を活性化する経路である可能性が示唆された。本研究の結果は唾液腺発達過程の分子メカニズムの解明に寄与するものであり、博士（歯学）の授与に値するものと認める。