

論文内容の要旨

報告番号		氏名	下村 忠弘
The role of the Wnt signaling pathway in upper jaw development of chick embryo. 上顎の形態発生におけるWnt signaling pathwayの役割			

論文内容の要旨

唇顎口蓋裂(CLP)をはじめとする顎顔面の形態異常は、顔面突起の形成不全や癒合不全により発症すると考えられている。顎顔面の発生は、いくつかのシグナリング経路によって制御されている。Wnt シグナルは、その形態形成の重要なシグナル伝達経路のひとつである。しかし、顎顔面の形態発生におけるWnt シグナルのメカニズムは明らかになっていない。本研究では、顎顔面の形態発生において Wnt シグナルが制御する転写因子や遺伝子の発現について検討した。

ニワトリ受精卵を孵化させ、上顎突起と前頭鼻突起が癒合する前(Stage 22; Hamburger & Hamilton の Stage 分類)の chick embryo の上顎突起に、Dickkopf-1(Dkk-1)、Alsterpaullone(AL)、Wnt3a をそれぞれ浸潤させた Beads を埋入した。まず Wnt シグナルを阻害するために Dkk-1 を投与すると Stage 38 の embryo に唇裂と上顎骨の一部に欠損が認められた。しかも Dkk-1 投与 24 時間後、48 時間後、BrdU 反応細胞を計測すると BrdU 陽性細胞数が有意に減少し、細胞増殖能が低下したことが明らかとなった。この機序を明らかにするために顎顔面の形態形成を司る *Msx1*、*Bmp4*、*Tbx22*、*Sox9*、*Barx1* 遺伝子の発現を調べた。Dkk-1 beads 埋入6時間後上顎突起組織を摘出し、RNA を抽出して real-time RT-PCR を行った。その結果 *Bmp4*、*Tbx22*、*Sox9*、*Barx1* 遺伝子の発現の有意な減少が認められた。一方、Dkk-1 投与後 AL を投与するとこれらの遺伝子発現が rescue されることを確認した。次に Wnt シグナルを活性化するために AL beads を上顎突起に埋入すると 24 時間後、細胞接着に関与するタンパクである N-cadherin タンパクの発現が上昇することが明らかとなった。また、Wnt receptor ligand として Wnt3a を投与し、6 時間後 上顎突起組織の real-time RT-PCR を行うと *Msx1*、*Bmp4*、*Tbx22*、*Sox9*、*Barx1* の遺伝子発現が有意に増加した。

以上の結果から上記の遺伝子は Wnt シグナル経路の標的遺伝子であることが明らかとなった。CLP をはじめとする顎顔面の形成異常では、Wnt シグナルが阻害され、*Msx1* などの遺伝子発現が抑制され、細胞増殖活性が低下することによって、形成異常が発症することが示唆された。