

研究 1

本研究は、顎顔面および心大血管の形態形成に重要な因子であると考えられている Endothelin-1 (ET-1) およびその受容体である ETAR の分子メカニズムの解明に向けて、遺伝子欠損ホモ接合体 ($ET-1^{-/-}$) の顎顔面構造を詳細に研究したものである。以下の結果を得た。

1. $ET-1^{-/-}$ マウス胎生 18.5 日胚の下顎の形態は上顎の鏡像形態をとっており、本来上顎のみに存在する洞毛が下顎にも存在した。また骨軟骨染色によると、胎生 13.5 日胚の $ET-1^{-/-}$ マウスではメッケル軟骨は下顎弓に形成されず、18.5 日胚では下顎骨とは全く形態の異なる骨格が形成された。形態学的に解析すると、上顎骨・頬骨・口蓋骨・蝶形骨翼部など、上顎骨に由来する骨が重複して下顎側にも形成され、全体として下顎の上顎化が起こっていると考えられた。
2. 9.5 日胚の whole-mount *in situ* hybridization では、正常下顎弓に認められるホメオボックス型核転写因子 *Dlx5* および *Dlx6* の発現が、 $ET-1^{-/-}$ マウスの下顎弓では検出されなかった。また、 $ET-1^{-/-}$ マウスにおいて、上顎マーカー遺伝子である *Prx2* の発現が正常マウスに比較して増加しているのに対し、下顎マーカー遺伝子である *Pitx1* の発現が消失していた。
3. 以上の結果より、マウス鰓弓を形成する神経堤細胞は、元来上顎弓としての形質を基底状態としているが、ET-1/ETAR シグナル経路を介した上皮-間葉相互作用が、下顎弓としての形質を誘導すると考えられた。

研究 2

ETAR 遺伝子プロモーター領域に緑色蛍光蛋白 (Green Fluorescent Protein、以下 GFP) を連結させた ETAR::GFP トランスジェニックマウスの系統を樹立したところ、このうち一系統で内耳形成初期より耳胞腹内側部における GFP の異所性発現が認められた。GFP が蝸牛有毛細胞の予定領域をコードしている可能性が考えられた。そのため本研究の後半部位においては、GFP 発現細胞の分化過程を解析すると共に、GFP 発現に関与していると考えられる遺伝子の同定を試み、以下の結果を得た。

1. GFP の発現は、内耳初期発生の開始する胎生 8.5 日胚より耳胞腹内側部に認められた。その後、出生後 9 日において外有毛細胞および支持細胞を含む蝸牛感覚上皮に分化し、出生後 14 日まで GFP の発現が持続した。すなわち、マウス内耳分化過程を GFP によって可視化できた。
2. マウス内耳分化過程に寄与する新たな遺伝子の同定を目的に、GFP を含む導入遺伝子が挿入された染色体部位を解析した。ゲノム DNA 断片クローニングの結果、マウス第 13 染色体上 MCTP1 遺伝子内部における挿入部位を同定することができた。現段階では、GFP の内耳細胞群での発現をコードする遺伝子の特定は完成していないが、今後の検索によりマウスにおける内耳形成に寄与する原因遺伝子の解明に役立つ事が期待される。

以上、研究 1 では ET-1 遺伝子ホモ接合体 ($ET-1^{-/-}$) を用いて、顎顔面構造形態形成における ET-1 とその受容体である ETAR の役割を明らかにし、研究 2 では ETAR::GFP トランスジェニックマウスを用いた内耳発生段階の可視化を提示し、その原因遺伝子解析を試みた。

本研究は、ET-1/ETAR の分子メカニズム解明、また内耳発生関連遺伝子の解析に大きく寄与できると考えられ、学位授与に値するものと考えられる。