

|         |   |    |      |
|---------|---|----|------|
| 学位授与番号  | 甲第1577号   |    |      |
| 学位授与年月日 | 平成15年3月25日  |    |      |
| 氏名      | 島田真弓  |    |      |
| 学位論文題目  | Different expression of 25-kDa heat-shock protein (Hsp25) in Meckel's cartilage compared with other cartilages in the mouse<br>(マウス胎仔下顎のメッケル軟骨の発生成長と変性消失における25kDa熱ショック蛋白質の発現局在の変化と他の軟骨との比較) |    |      |
| 論文審査委員  | 主査  | 教授 | 山本悦秀 |
|         | 副査  | 教授 | 富田勝郎 |
|         |   | 教授 | 田中重徳 |

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

熱などの各種ストレス刺激によって誘導される低分子量熱ショック蛋白 25kDa(以下、Hsp25 と略)は発生期における細胞の増殖、分化、細胞死の調節に関するスイッチの役割を果たすと考えられている。一方、メッケル軟骨は口腔および下顎の原器である第一鰓弓に発生するが、直接的な下顎骨形成には関与せず、その前方部は周囲の膜性骨化によって発生した下顎骨組織に取り込まれて出生時までに変性・消失する。そこで本研究では本軟骨の変性・消失の特異性に関する機構を解明する目的で実験を行った。材料および方法：1) 胎生期 ddY マウス・メッケル軟骨における Hsp25 の発現と局在を免疫・遺伝子組織化学的に検索し、さらに他の軟骨の所見と比較検討した。2) 胎生 10 日のマウス下顎器官培養下で Hsp25 のアンチセンス・オリゴヌクレオチド(以下、ODN と略)を用いて遺伝子発現を抑制した場合のアルシアンブルーおよび HE 染色像を観察し、対照との所見と比較検討した。得られた結果は以下のように要約される。

1) メッケル軟骨の Hsp25 免疫組織化学所見では胎生 12 日 (E12)に間葉凝集が始まり、軟骨形成間葉細胞が陽性を、また E13 では軟骨細胞の細胞質に活性が局在していた。さらに軟骨完成期の E14 では前方・中間部の殆どの軟骨細胞が陽性を示したが、後方部では少なかった。そして E16 になると前方部の切歯歯胚領域の軟骨から変性・消失が始まり、Hsp25 の活性は殆どの軟骨細胞から消失していた。なお胎生期下顎骨の骨芽細胞には Hsp25 の活性は認められなかった。

2) またメッケル軟骨の *in situ* hybridization 法による解析では E14 の軟骨細胞に Hsp25 の mRNA の局在が認められ、免疫組織化学所見と一致していた。

3) 一方、対照として検索した他の軟骨の免疫組織化学所見では、胎生期の椎骨や長管骨原器軟骨、生後の脛骨骨端板軟骨や喉頭・気管軟骨のいずれも肥大軟骨細胞にのみ HSP25 の活性を認め、本細胞のない他の増殖期を含む軟骨や膝関節軟骨では陰性であった。

4) 下顎組織の器官培養においてアンチセンス ODN 投与のアルシアンブルー軟骨染色全載標本では前方・中間部が欠損したメッケル軟骨が観察された。また HE 染色連続切片でも下顎骨発生には影響が認められなかったが、前方・中間部のメッケル軟骨や舌筋の形成は認められなかった。

以上の実験結果より、Hsp25 はメッケル軟骨の前方から中間部における発生と成長に必須であり、またその免疫活性の消失と本軟骨の変性時期がほぼ一致することから、Hsp25 はメッケル軟骨の変性・消失を調整する役割も担っていることが示唆された。

以上、本研究は下顎骨の発生と関連するメッケル軟骨の成長と消退の推移を Hsp25 の発現から検索し、両者の密接な関連性を明らかにした点で顎口腔発生学に寄与する価値ある論文と評価された。