

マウス唾液腺発生におけるBrachyuryの関与

林, 浩平

<https://doi.org/10.15017/1441166>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

区分	① 乙
----	-----

論文題目

マウス唾液腺発生における **Brachyury** の関与

氏名 林 浩平

論文内容の要旨

BrachyuryはT-box転写因子の一つであり、発生段階の中胚葉形成と分化に必須な遺伝子であることが報告されている。さらに、成熟組織においては、上皮間葉移行、つまり上皮と間葉の形質変化を制御する遺伝子であることが知られている。また、癌幹細胞の制御因子であることが示されており、当科でも唾液腺癌細胞の浸潤や転移に関与していることを示唆している。

本研究ではこの**Brachyury**遺伝子に着目し、マウス胎仔顎下腺における**Brachyury**の発現動態を明らかにするとともに、器官培養法を用いてマウス胎仔唾液腺のcleft形成や分枝形成に対する**Brachyury**の役割について検討した。

購入したICR妊娠マウスをイソフルラン麻酔下に安楽死させた後、子宮を摘出して洗浄、実体顕微鏡下で顎下腺原基を分離した。器官培養は、分離した唾液腺をポアサイズ0.4 μ mのFalcon cell culture insertフィルター上に置き、フィルターを200 μ lのBGJb培地を入れた24穴プレートの各ウェルにセットして、37 $^{\circ}$ C、100%湿度、5%二酸化炭素気相下の条件で行った。なお培地の交換は1日おきに半量ずつ行なった。

胎仔マウスから分離した顎下腺原基を、Western blottingやリアルタイムRT-PCRのサンプルとし、胎生期であるE12.5-E16.5の各胎齢における**Brachyury**の発現動態を確認した。胎生期唾液腺において**Brachyury**遺伝子はE12.5-E13.5で急激な発現増加を認めた。また、cleft形成に必須とされるfibronectinやその制御因子であるBtd7も同時期に強発現していた。さらに、細胞増殖や幹細胞性を制御するWnt3aやSox2もまたE12.5-E13.5に強い発現を認めた。細胞接着分子であるE-cadherinに関しては各胎齢で発現を認めるが、発生初期のE12.5-E13.5で発現が低下していた。

BGJb培地に各siRNAとLipofectamine™ LTXおよびPLUS 試薬を添加し、E12.5-E15.5顎下腺原基へのノックダウンを実施した。**Brachyury**遺伝子をノックダウンすると、発生初期であるE12.5-E13.5ではcleft形成や分枝形成が顕著に抑制された。E14.5やE15.5でノックダウンした場合には、ノックダウンの影響をほとんど受けていなかった。**Brachyury**遺伝子をノックダウンした唾液腺をWestern blottingで解析したところfibronectin、Btd7、Sox2の発現が抑制された。また、fibronectin、Btd7、Sox2をそれぞれノックダウンし唾液腺原基を器官培養すると、やはりcleft形成および分枝形成が抑制された。Western blottingで解析すると、**Brachyury**の発現に関しては影響がなかった。

以上の結果から、**Brachyury**が唾液腺の発生初期においてcleft形成および分枝形成を制御する因子

の1つである可能性が示唆された。また、幹細胞や細胞増殖に関するSox2およびWnt3aとも唾液腺発生初期に何らかの関連がある可能性が推察された。