

財団法人日中医学協会
2004 年度共同研究等助成金—在留中国人研究者—報告書

2005 年 3 月 8 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料：研究報告書

中国人研究者名：..... 韓 娟 韓娟印

指導責任者名：..... 前田 隆秀..... 職名：..... 教授.....

所属機関名：日本大学松戸歯学部小児歯科 大学院生
〒 271-8587

所在地：..... 千葉県松戸市栄町西 2-870-1.....

電話：..... 047 (360) 9430..... 内線：.....

1. 助成金額：..... 60 万..... 円

2. 研究テーマ

マウス口唇裂、唇顎口蓋裂発症に関与する染色体領域と候補遺伝子の特定

3. 成果の概要 (100 字程度)

本研究は、A/WySn 系統マウスにおけるコルチゾン投与による唇顎口蓋裂の発症に関与する候補染色体および原因遺伝子の検出を目的に、連鎖マッピングを行った。その結果、コルチゾン投与による A/WySn 系統マウス唇顎口蓋裂の原因遺伝子がマウス染色体 11 番と 14 番上に存在することが示唆された。

4. 研究業績

(1) 学会における発表 無 ・ (学会名・演題)

- ① 82nd General Session and Exhibition of the IADR/AADR/CADR・Genetic Analysis of Orofacial Cleft in Mouse Model
- ② 第 42 回日本小児歯科学会大会および総会・マウスにおける唇顎口蓋裂原因遺伝子の連鎖マッピング
- ③ 第 43 回日本小児歯科学会大会および総会・A 系マウス唇顎口蓋裂の原因遺伝子が存在する染色体の再検討

(2) 発表した論文 無 ・ (雑誌名・題名)

- ① 日本小児歯科学雑誌・A/WySn マウスと C3H/He マウスにおける口唇裂、唇顎口蓋裂および口蓋裂の発症率の検討
- ② 日本小児歯科学雑誌・コルチゾン投与によるマウス唇顎口蓋裂の遺伝形式の検討
- ③ PEDIATRIC DENTAL JOURNAL・Detection of informative markers for searching a causative gene(s) of cleft lip with palate in A/WySn mice (in press)
- ④ 日本小児歯科学雑誌・A/WySn 系統マウスにおけるコルチゾン投与による唇顎口蓋裂発症の候補染色体の検出 (印刷中)

A/WySn 系統マウスにおけるコルチゾン投与による唇顎口蓋裂発症の候補染色体の検出

研究者氏名	韓 娟
中国所属機関	中国天津市口腔医院
日本研究機関	日本大学松戸歯学部小児歯科
指導責任者	教授 前田 隆秀
共同研究者名	清水武彦, 清水邦彦, 松永利恵

要 旨

A/WySn 系統マウスにおけるコルチゾン投与による唇顎口蓋裂の発症が常染色体劣性遺伝性であることを著者らは過去に報告している。本研究の目的は、コルチゾン投与による A/WySn 系統マウス唇顎口蓋裂発症に関与する遺伝子が存在する候補染色体を検出することである。唇顎口蓋裂を発現する A/WySn 系統と唇顎口蓋裂を発現しない C3H/He 系統間で遺伝学的な交配より得られた N_2 マウス胎仔 1031 匹から 37 匹の唇顎口蓋裂を有するマウス胎仔を用意した。A/WySn 系統と C3H/He 系統間で多型を有する常染色体上に配置した 82 個の Mit マーカーを用い、遺伝子型の判定によるインターバルマッピングを行った。結果はマウス染色体 11 番上の D11Mit298, D11Mit145, D11Mit10 および D11Mit104 と、14 番上の D14Mit113, D14Mit34 において有意に A ホモ接合体の高い遺伝子型比が得られた。このことよりコルチゾン投与により A/WySn 系統マウス唇顎口蓋裂を発症する感受性遺伝子がマウス染色体 11 番と 14 番に存在することが示唆された。

Key Words マウス, 唇顎口蓋裂, 候補染色体, インターバルマッピング, コルチゾン

緒 言:

ヒトにおいて口唇裂, 口蓋裂 (以下口唇口蓋裂) は最も発生頻度の高い先天顔面奇形であり, その発症率は人種によって差異があるが, 約 1~2/1000 である¹⁻³⁾。妊娠期間にコルチコステロイドの全身また局所の使用により新生児の口唇口蓋裂を発症する危険率が増加することが報告されている^{4,5)}。様々な環境要因と複数の遺伝因子と相互作用により, 口唇口蓋裂を発症することは知られているが, 原因遺伝子は未だ解明されていない^{6,7)}。また, 口唇裂は単独発症と, 口蓋裂との合併発症があり, すなわち唇顎口蓋裂である。口唇裂, 唇顎口蓋裂, 口蓋裂の各裂型別頻度では, 唇顎口蓋裂が約 50%と最も高い^{8,9)}。唇顎口蓋裂児の機能的, 審美的, 心理的問題は大変強く, それらの発生機序と発生原因を解明することは極めて重要である。

マウスとヒトの高い遺伝的相同性より, マウスモデルにおいて疾患の責任遺伝子を同定できれば, ヒトにおける相同疾患の候補遺伝子を見出せる可能性がある^{10,11)}。従って, ヒトの口唇口蓋裂の発生原因および発生機序を解明するために, マウスを用いた研究が数多く行われている。

著者ら¹²⁾は過去の研究にて, 近交系の A/WySn 系統マウスと C3H/He 系統マウスを用い, 2 系統間の遺伝学的な交配を行い, 妊娠マウスにコルチゾンを投与し, その胎仔を観察したところ, A/WySn 系マウスと N_2 バッククロスマウスにおいて唇顎口蓋裂が認められ, C3H/He 系マウスと交雑 F_1 マウスにおいて唇顎口蓋裂の発症は認められなかった。また, 唇顎口蓋裂を有する胎仔において性差は認められなかった。その結果より, A/WySn 系統マウスにおけるコルチゾン投与による唇顎口蓋裂の発症は常染色体劣性遺伝性であることが報告されている。

本研究では著者らは, A/WySn 系統と C3H/He 系統マウスの 2 系統間の遺伝学的な交配より得られた唇顎口蓋裂を有する N_2 マウスの常染色体の遺伝子型について, DNA マーカーを用いたインターバルマッピングを行い, コ

ルチゾン投与による A/WySn 系統マウスにおける唇顎口蓋裂の発症に関与する遺伝子が存在する候補染色体について検討を行った。

材料および方法：

1. 唇顎口蓋裂を有する N₂ マウス胎仔

国立遺伝学研究所および三協ラボサービス株式会社より供与された A/WySn 系統と C3H/He 系統を交配し、交雑 F₁ マウスを得た。そして F₁ マウスを A/WySn 系統マウスに戻し交配し、妊娠 11 日目から 14 日目までの 4 日間、妊娠マウスにリン酸緩衝生理食塩水に溶解した 25mg/ml の酢酸コルチゾン懸濁液、100mg/kg/day を腹部に皮下投与した。妊娠 18 日目に妊娠マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、N₂ バッククロスマウス胎仔を子宮から摘出し、生存胎仔の 1031 匹を得た。それらを実体顕微鏡下で観察したところ、37 匹¹²⁾に唇顎口蓋裂を確認し、今回の実験で用いた。

2. DNA マーカー

A/WySn 系統マウス、C3H/He 系統マウスおよび F₁ マウスについて、Mouse Genome Database (<http://www.jax.org/>) のデータを基準にし、マウス全常染色体上に配置された遺伝的距離が可及的に 35 センチモルガン (cM) を超えないように、136 個の Mit (Massachusetts Institute of Technology) マーカーを選択した。そのうち A/WySn と C3H/He の 2 系統マウス間で多型を有する 82 個¹³⁾の Mit マーカーを確認し、今回の実験で用いた。

3. 唇顎口蓋裂を有する N₂ マウス胎仔の DNA の抽出

Laird ら¹⁴⁾の方法に従って、唇顎口蓋裂を有する 37 匹の N₂ マウス胎仔の皮膚から DNA を抽出した。

4. 唇顎口蓋裂を有する N₂ マウス胎仔の遺伝子型の判定によるインターバルマッピング

TaKaRa 480 thermal cycler (TaKaRa 社) を使用し、唇顎口蓋裂を有する 37 匹の N₂ マウス胎仔の DNA を 82 個の Mit マーカーの特定な領域について PCR 法を用いて増幅した。PCR 産物を 4%アガロースゲルにて電気泳動後、エチジウムブロマイドにて 25 分間染色し、UV ライト下で撮影した後、A ホモ (A=A/WySn) あるいは A/C3H ヘテロ (A=A/WySn, C3H=C3H/He) の遺伝子型を判定し、インターバルマッピングを行った。

5. コントロール群 (正常な口唇口蓋を有するマウス胎仔) における遺伝子型の判定

上記の方法に従い、正常な口唇口蓋を有する 30 匹の N₂ マウス胎仔の DNA を抽出し、唇顎口蓋裂を有する N₂ マウス胎仔において A ホモ接合体遺伝子型の発現値の有意に高いところの Mit マーカーを用い、正常な口唇口蓋を有する N₂ マウス胎仔の遺伝子型を判定した。

6. 連鎖解析による候補染色体の検出

DNA マーカーと原因遺伝子が連鎖していないと仮定すると、N₂ マウスの遺伝子型比は A ホモ接合体 : A/C3H ヘテロ接合体が 1 : 1 になる。この理論値と実際に得られた個々マーカー座位の N₂ マウス胎仔の遺伝子型発現値との差の検定には χ^2 検定を用い、危険率 0.5% を有意水準として DNA マーカーと原因遺伝子が存在する領域との連鎖を評価した。

なお、本実験は日本大学松戸歯学部動物実験倫理規定に従った。

結果：

表 1 に常染色体上に配置した 82 個 Mit マーカーにおける唇顎口蓋裂を有する 37 匹の N₂ マウス胎仔の遺伝子型および連鎖解析の結果を示す。表 2 に正常な口唇口蓋を有する 30 匹の N₂ マウス胎仔における染色体 11 番と 14 番上の連鎖解析の結果を示す。

染色体 11 番において χ^2 値が有意であったのは、40.0cM [69.1Mbp (M base pair)] に位置するマーカーの D11Mit298, 57.5cM (97.4Mbp) に位置するマーカーの D11Mit145, 63.0cM (104.3Mbp) に位置するマーカーの D11Mit10 および 79.0cM (119.0Mbp) に位置するマーカーの D11Mit104 であった。特に D11Mit10 においてはすべての唇顎口蓋裂を有する N₂ マウス胎仔の遺伝子型は A ホモ接合体であり、最も高い A ホモ接合体の遺伝子型

比が得られた (A ホモ接合体 : A/C3H ヘテロ接合体 = 37 : 0, $\chi^2 > 33.11$, $p < 0.00001$).

染色体 14 番において χ^2 値が有意であったのは, 25.0cM (51.8Mbp) に位置するマーカーの D14Mit113 および 40.0cM (63.4Mbp) に位置するマーカーの D14Mit34 であった。

一方, コントロール群として正常な口唇口蓋を有する 30 匹の N_2 マウスにおいて, 染色体 11 番と 14 番上に唇顎口蓋裂を有する N_2 マウス胎子の遺伝子型が有意に A ホモ接合体の高い遺伝子型を得たところの Mit マーカーを用い, 遺伝子型を判定した。結果はいずれも χ^2 検定にて有意な検定値は認められなかった。

表 1 唇顎口蓋裂を有する N_2 マウスにおけるマーカーとの連鎖解析

染色体	マーカー	マーカーの位置		遺伝子型比		χ^2	染色体	マーカー	マーカーの位置		遺伝子型比		χ^2
		cM	Mbp	A	A/C3H				cM	Mbp	A	A/C3H	
1	D1Mit294	8.3	11.8	24	13	3.27	10	D10Mit180	64.0	117.9	19	18	0.03
	D1Mit251	38.1	70.8	19	18	0.03	11	D11Mit71	1.1	6.8	17	20	0.24
	D1Mit48	54.0	88.5	20	17	0.24		D11Mit306	12.0	20.1	23	14	2.19
	D1Mit26	62.1	112.1	19	18	0.03		D11Mit298	40.0	69.1	29	8	11.92 ^b
	D1Mit227	81.6	158.3	15	22	1.32		D11Mit145	57.5	97.4	36	1	33.11 ^c
2	D1Mit151	101.0	181.1	15	22	1.32		D11Mit10	63.0	104.3	37	0	>33.11 ^c
	D2Mit80	10.0	21.1	20	17	0.24		D11Mit104	79.0	119.0	28	9	9.76 ^a
	D2Mit323	31.7	55.3	22	15	1.32	12	D12Mit58	6.0	17.2	18	19	0.03
	D2Mit381	42.6		24	13	3.27		D12Mit233	52.0		16	21	0.68
	D2Mit272	47.5	90.4	27	10	7.81		D12Mit8	58.0	108.2	16	21	0.68
3	D2Mit132	52.5	115.7	25	12	4.57	13	D13Mit16	10.0	19.7	15	22	1.32
	D2Mit451	73.2	155.7	22	15	1.32		D13Mit64	30.0	44.5	13	24	3.27
	D2Mit200	107.0	179.5	19	18	0.03		D13Mit122	36.0	59.0	15	22	1.32
	D3Mit185	29.5	57.6	13	24	3.27		D13Mit231	39.0	73.6	17	20	0.24
	D3Mit254	64.1	132.6	16	21	0.68		D13Mit108	45.0	91.4	18	19	0.03
4	D4Mit291	5.0	21.2	24	13	3.27		D13Mit226	59.0	99.9	20	17	0.24
	D4Mit84	37.6	75.5	22	15	1.32		D13Mit78	75.0	115.8	19	18	0.03
	D4Mit146	53.6	108.1	24	13	3.27	14	D14Mit207	5.5	18.4	23	14	2.19
	D4Mit233	75.5	143.6	21	16	0.68		D14Mit113	25.0	51.8	28	9	9.76 ^a
5	D5Mit419	18.0	31.7	17	20	0.24		D14Mit34	40.0	63.4	29	8	11.92 ^b
	D5Mit201	42.0	73.9	14	23	2.19	15	D15Mit175	9.9	9.2	21	16	0.68
	D5Mit406	64.0	114.7	12	25	4.57		D15Mit267	10.9	24.4	21	16	0.68
	D5Mit292	80.0	138.1	10	27	7.81		D15Mit154	18.8	43.8	17	20	0.24
6	D6Mit223	19.0	45.3	20	17	0.24		D15Mit144	32.2	68.6	17	20	0.24
	D6Mit184	26.4	53.2	18	19	0.03	16	D16Mit165	10.3	13.7	21	16	0.68
	D6Mit322	35.2		19	18	0.03		D16Mit4	27.3	36.1	24	13	3.27
	D6Mit132	40.0	97.0	19	18	0.03		D16Mit203	55.0		22	15	1.32
7	D6Mit366	50.5	115.6	20	17	0.24	17	D17Mit213	9.3	15.4	17	20	0.24
	D7Mit76	3.4	10.5	22	15	1.32		D17Mit173	11.8		20	17	0.24
	D7Mit247	16.0	25.6	19	18	0.03		D17Mit33	18.8	33.2	19	18	0.03
	D7Mit91	28.1	46.1	16	21	0.68		D17Mit49	23.2	43.5	20	17	0.24
	D7Mit181	37.0	66.7	17	20	0.24		D17Mit238	34.3		20	17	0.24
	D7Mit126	50.0		19	18	0.03		D17Mit96	54.6	89.7	22	15	1.32
	D7Mit186	64.0	118.2	19	18	0.03	18	D18Mit64	2.0	6.3	21	16	0.68
8	D8Mit224	17.0	32.0	18	19	0.03		D18Mit12	17.0		20	17	0.24
	D8Mit65	22.5	42.1	18	19	0.03		D18Mit51	37.0	61.6	19	18	0.03
	D8Mit242	47.0	101.1	21	16	0.68		D18Mit154	47.0	76.1	14	23	2.19
	D8Mit91	67.0	123.8	24	13	3.27	19	D19Mit69	6.0	13.2	17	20	0.24
10	D10Mit3	21.0	28.9	17	20	0.24		D19Mit80	22.0	22.6	16	21	0.68
	D10Mit115	38.4	70.1	16	21	0.68		D19Mit46	24.0	32.2	15	22	1.32
	D10Mit230	49.0	89.9	15	22	1.32		D19Mit70	51.0	50.1	17	20	0.24

A : A ホモ接合体遺伝子型 ; A/C3H : A/C3H ヘテロ接合体遺伝子型

a : $p < 0.005$; b : $p < 0.001$; c : $p < 0.00001$

表 2 正常な口唇口蓋を有する N_2 マウスにおける染色体 11 番と 14 番上のマーカーとの連鎖解析

染色体	マーカー	マーカーの位置		遺伝子型比		χ^2	染色体	マーカー	マーカーの位置		遺伝子型比		χ^2	
		cM	Mbp	A	A/C3H				cM	Mbp	A	A/C3H		
11	D11Mit298	40.0	69.1	14	16	0.13	14	D14Mit113	25.0	51.8	15	15	0.00	
	D11Mit145	57.5	97.4	16	14	0.13			D14Mit34	40.0	63.4	14	16	0.13
	D11Mit10	63.0	104.3	17	13	0.53								
	D11Mit104	79.0	119.0	16	14	0.13								

考 察：

本研究得られた唇顎口蓋裂を有する N_2 マウス胎仔の遺伝子型の A ホモ接合体：A/C3H ヘテロ接合体の発現値は理論値との有意な差が認められ、さらに正常な口唇口蓋を有する N_2 マウス胎仔の遺伝子型の A ホモ接合体：A/C3H ヘテロ接合体の発現値が理論値との有意差は認められなかった。このことから、マウス染色体 11 番および 14 番上に A ホモ接合体の有意に高い遺伝子型比が得られたマーカーは、A/WySn 系統マウスにおけるコルチゾン投与による唇顎口蓋裂発症の感受性遺伝子との連鎖が存在することが示唆された。

Juriloff ら¹⁵⁾は、A/WySn 系統マウスにおいて自然発生の口唇裂（唇顎口蓋裂を含める）の遺伝子がマウス染色体 11 番と 13 番に存在し、遺伝子座位として 11 番に存在する主な *clf1* と 13 番に存在する *clf2* であることを報告している。本研究では、最も高い A ホモ接合体遺伝子型比を得たところはマウス染色体 11 番上の D11Mit10 (63.0cM, 104.3Mbp) が位置するところであり、自然発生日唇裂の主な遺伝子座位の *clf1* が存在する領域と相同であることを示した。ステロイドの投与 (E12) によりマウス口蓋裂は高頻度に誘発されるが、口唇裂の発症率はステロイドにより有意な変化がないことが報告されている¹⁶⁾。また著者ら¹⁷⁾は、マウス口唇の形成完成する（約 E11.5）直前の E11 目から妊娠マウスにコルチゾンを投与し、高頻度の口蓋裂を誘発したが、口唇裂発症率の増加は認められなかったことを報告している。従って、本研究の結果から得られた A/WySn 系統マウス口唇裂の発症はコルチゾンの影響でなく、口唇裂発症の関連遺伝子がマウス染色体 11 番に存在することが考えられた。

一方本研究では、自然発生日唇裂の遺伝子座位の *clf2* との連鎖を示したマーカーの D13Mit231 を用い、唇顎口蓋裂を有する 37 匹の N_2 マウス胎仔の遺伝子型を判定したところ、有意な検定値が得られなかった。即ちコルチゾン投与による A/WySn 系統マウス唇顎口蓋裂の感受性遺伝子が D13Mit231 との連鎖は認められず、*clf2* はコルチゾン投与による A/WySn 系統マウス唇顎口蓋裂発症の候補遺伝子座位として認められなかった。コルチゾン投与による A/WySn 系統マウス唇顎口蓋裂の発症に関与する感受性遺伝子がマウス染色体 14 番に存在することが示唆された。A/WySn 系統マウスにおいて染色体 11 番と 14 番上に存在する遺伝子の相互作用により唇顎口蓋裂を発症すると推測された。

マウスの口唇口蓋裂に関する他の研究では、*Tcfap2a*¹⁸⁾（マウス染色体 13 番, 25.0cM）、*Tbx10*¹⁹⁾（マウス染色体 19 番, 2.0cM）が口唇裂の候補遺伝子として報告されている。*Tgfb2*²⁰⁾（マウス染色体 1 番, 101.5cM）、*Dlx2*²¹⁾（マウス染色体 2 番, 44.0cM）、*Msx1*²²⁾（マウス染色体 5 番, 21.0cM）、*Gabrb3*²³⁾（マウス染色体 7 番, 28.6cM）、*Pax9*²⁴⁾（マウス染色体 12 番, 26.0cM）、*Tgfb3*²⁵⁾（マウス染色体 12 番, 41.0cM）および H-2 領域²⁶⁾（マウス染色体 17 番, H-2S/H-2D 領域）が口蓋裂の候補遺伝子として報告されている。また、ヒトの口唇口蓋裂に関する研究のうち、*MSX1*²⁷⁾、*TGFB2*²⁸⁾、*TGFB3*²⁷⁾、*GABRB3*²⁹⁾、*MTHFR*³⁰⁾（ホモロジーがマウス染色体 4 番, 76.4cM）、*TGFA*³¹⁾（ホモロジーがマウス染色体 6 番, 35.8cM）、*BCL3*³²⁾（ホモロジーがマウス染色体 7 番, 6.5cM）および *RARA*³³⁾（ホモロジーがマウス染色体 11 番, 57.8cM）が候補遺伝子として報告されている。本研究では、それらの遺伝子の近傍に位置する Mit マーカーを用い、唇顎口蓋裂を有する N_2 マウス胎仔の遺伝子型を判定した。その結果 Rara の近くに位置するマーカーの D11Mit145 において A ホモ接合体と A/C3H ヘテロ接合体の遺伝子型比が 36 : 1 であり、有意に A ホモ接合体の高い遺伝子型比が得られたが、最も高い連鎖を示す領域に含まれなかった。さらに他のマーカーにおいて、得られた A ホモ接合体と A/C3H ヘテロ接合体の遺伝子型比が 1 : 1 の理論値と比較し、有意な検定値は認められなかった。即ちコルチゾン投与による唇顎口蓋裂の発症は、上記の遺伝子との関連性は少ないものと思われた。口唇裂の発症、また口蓋裂の発症は遺伝的な異質性が存在することが考えられ、そしてコルチゾン投与により発症する唇顎口蓋裂は、口唇裂、また口蓋裂と違う遺伝子間の相互作用により発症する可能性も考えられた。

文 献：

- 1) Natsume N, Suzuke T, Kawai T (1988). The prevalence of cleft lip and plate in Japanese. *Br J Oral Maxillofac Surg* 26:232-236.

- 2) Leck I, Lancashire RJ (1995). Birth prevalence of malformations in members of different ethnic groups and in the offspring of matings between them, in Birmingham, England. *J Epidemiol Community Health* 49:171-179.
- 3) Cooper ME, Stone RA, Liu YE, Hu DN, Melnick M, Marazita ML (2000). Descriptive epidemiology of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in Shanghai, China, from 1980 to 1989. *Cleft Palate Craniofac J* 37:274-280.
- 4) Park-Wyllie L, Mazzotta P, Pastuszak A, Moretti ME, Beique L, Hummisett L, Friesen HM, Jacobson S, Kasapinovic S, Chang D, Diav-Citrin O, Chitayat D, Nulman I, Einarson TR, Koren G (2000). Birth defects after maternal exposure to corticosteroids: Prospective cohort study and meta-analysis of epidemiological studies. *Teratology* 62:385-392.
- 5) Edwards MJ, Agho K, Attia J, Diaz P, Hayes T, Illingworth A, Roddick LG (2003). Case-Control Study of Cleft Lip or Palate After Maternal Use of Topical Corticosteroids During Pregnancy. *Am J Med Genet* 120(A):459-463.
- 6) Murray JC (2002). Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clin Genet* 61:248-256.
- 7) Batra P, Duggal R, Parkash H (2003). Genetics of cleft lip and palate revisited. *J Clin Pediatr Dent* 27:311-320.
- 8) 大倉興司 (1991). 口唇裂・口蓋裂. 大倉興司編, 遺伝性疾患への対応. 東京: 講談社. pp. 86-87.
- 9) 森口隆彦, 中川皓文, 森 寿子 (1998). 口唇裂口蓋裂の総合治療—成長に応じた諸問題の解決—. 東京: 克誠堂. pp. 11-14.
- 10) Searle AG, Peters J, Lyon MF, Hall JG, Evans EP, Edwards JH, Buckle VJ (1989). Chromosome maps of man and mouse. IV. *Ann Hum Genet* 53:89-140.
- 11) Searle AG, Edwards JH, Hall JG (1994). Mouse homologues of human hereditary disease. *J Med Genet* 31:1-19.
- 12) 韓 娟, 清水武彦, 清水邦彦, 前田隆秀(2004). コルチゾン投与によるマウス唇顎口蓋裂の遺伝形式の検討. 小児歯誌 42:512-517.
- 13) Han J, Shimizu T, Shimizu K, Matsunaga R, Maeda T (2005). Detection of informative markers for searching a causative gene(s) of cleft lip with palate in A/WySn mice. *Ped Dent J* (in press)
- 14) Laird PW, Zijderveld A, Linders K, Rudnicki MA, Jaenisch R, Berns A (1991). Simplified mammalian DNA isolation procedure. *Nucleic Acids Res* 19:4293.
- 15) Juriloff DM, Harris MJ, Brown CJ (2001). Unravelling the complex genetics of cleft lip in the mouse model. *Mamm Genome* 12:426-435.
- 16) Biddle FG, Fraser FC (1986). Major gene determination of liability to spontaneous cleft lip in the mouse. *J Craniofac Genet Dev Biol Suppl* 2:67-88.
- 17) 韓 娟, 清水武彦, 前田隆秀 (2003). A/WySn マウスと C3H/He マウスにおける口唇裂, 唇顎口蓋裂および口蓋裂の発症率の検討. 小児歯誌 41:887-892.
- 18) Nottoli T, Hagopian-Donaldson S, Zhang J, Perkins A, Williams T (1998). AP-2-null cells disrupt morphogenesis of the eye, face, and limbs in chimeric mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:13714-13719.
- 19) Bush JO, Lan Y, Jiang R (2004). The cleft lip and palate defects in Dancer mutant mice result from gain of function of the Tbx10 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:7022-7027.
- 20) Sanford LP, Ormsby I, Gittenberger-de Groot AC, Sariola H, Friedman R, Boivin GP, Cardell EL, Doetschman T (1997). TGFbeta2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGFbeta knockout phenotypes. *Development* 124:2659-2670.
- 21) Qiu M, Bulfone A, Ghattas I, Meneses JJ, Christensen L, Sharpe PT, Presley R, Pedersen RA, Rubenstein JL (1997). Role of the Dlx homeobox genes in proximodistal patterning of the branchial arches: mutations of Dlx-1, Dlx-2, and Dlx-1 and -2 alter morphogenesis of proximal skeletal and soft tissue structures derived from the first and second arches. *Dev Biol* 185:165-184.
- 22) Satokata I, Maas R (1994). Msx1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat Genet* 6:348-356.
- 23) Homanics GE, DeLorey TM, Firestone LL, Quinlan JJ, Handforth A, Harrison NL, Krasowski MD, Rick CE, Korpi ER,

- Makela R, Brilliant MH, Hagiwara N, Ferguson C, Snyder K, Olsen RW (1997). Mice devoid of gamma-aminobutyrate type A receptor beta3 subunit have epilepsy, cleft palate, and hypersensitive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:4143-4148.
- 24) Peters H, Neubüser A, Kratochwil K, Balling R (1998). Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities. *Genes Dev* 12:2735-2747.
 - 25) Kaartinen V, Voncken JW, Shuler C, Warburton D, Bu D, Heisterkamp N, Groffen J (1995). Abnormal lung development and cleft palate in mice lacking TGF-beta 3 indicates defects of epithelial-mesenchymal interaction. *Nat Genet* 11:415-421.
 - 26) Gasser DL, Yadavish KN, Trammell MA, Goldman AS (1988). Recombinants in the H-2S/H-2D interval of mouse chromosome 17 define the map position of a gene for cleft palate susceptibility. *Teratology* 38:571-577.
 - 27) Vieira AR, Orioli IM, Castilla EE, Cooper ME, Marazita ML, Murray JC (2003). MSX1 and TGFB3 contribute to clefting in South America. *J Dent Res* 82:289-292.
 - 28) Tanabe A, Taketani S, Endo-Ichikawa Y, Tokunaga R, Ogawa Y, Hiramoto M (2000). Analysis of the candidate genes responsible for non-syndromic cleft lip and palate in Japanese people. *Clin Sci* 99:105-111.
 - 29) Scapoli L, Martinelli M, Pezzetti F, Carinci F, Bodo M, Tognon M, Carinci P (2002). Linkage disequilibrium between GABRB3 gene and nonsyndromic familial cleft lip with or without cleft palate. *Hum Genet* 110:15-20.
 - 30) Martinelli M, Scapoli L, Pezzetti F, Carinci F, Francioso F, Baciliero U, Padula E, Carinci P, Tognon M (2001). Linkage analysis of three candidate regions of chromosome 1 in nonsyndromic familial orofacial cleft. *Ann Hum Genet* 65:465-471.
 - 31) Ardinger HH, Buetow KH, Bell GI, Bardach J, VanDemark DR, Murray JC (1989). Association of genetic variation of the transforming growth factor-alpha gene with cleft lip and palate. *Am J Hum Genet* 45:348-353.
 - 32) Gaspar DA, Matioli SR, Pavanello RC, Araujo BC, Andre M, Steman S, Otto PA, Passos-Bueno MR (2002). Evidence that BCL3 plays a role in the etiology of nonsyndromic oral clefts in Brazilian families. *Genet Epidemiol* 23:364-374.
 - 33) Shaw D, Ray A, Marazita M, Field L (1993). Further evidence of a relationship between the retinoic acid receptor alpha locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (CL+/-P). *Am J Hum Genet* 53:1156-1157.

注：本研究は、2004年3月11日『82nd IADR/AADR/CADR』にて展示発表、2004年5月20日『第42回日本小児歯科学会大会』にて口演発表、2005年5月27日『第43回日本小児歯科学会大会』にて展示発表、『小児歯科学雑誌』（2003年12月VOL41巻）、『小児歯科学雑誌』（2004年9月VOL42巻）、『小児歯科学雑誌』（2005年3月VOL43巻）および『PEDIATRIC DENTAL JOURNAL』（2005年3月VOL15）に掲載。

作成日：2005年3月8日