口唇裂の発生機序に関する研究 ——A/WySnJ マウス全胚培養法を用いて——

近藤 定彦

Development of cleft lip in cultured ——A/WySnJ mouse embryos——

Sadahiko KONDO

Abstract: The following results were obtained for the development of the upper lip and the pathogenesis of cleft lip based on studies using whole embryo cultures of A/WySnJ mouse from D. 11.5 (T.S.=19) for 24 hours.

1. Complete cleft lip occurred in embryos with underdeveloped facial prominences and a long distance between prominences.
2. Complete cleft lip occurred in embryos with a deep nasal groove due to tearing off of the nasal groove.
3. Incomplete cleft lip occurred in embryos with a normal nasal groove and a short distance between facial prominences.
4. Normal primary palates resulted in the development of a normal upper lip or an incomplete cleft lip with a persistent labial groove between the medial nasal and the maxillary prominences.
5. These results suggested that the pathogenesis of cleft lip is due to insufficient development of the facial prominences. Early onset of underdevelopment resulted in a severe cleft lip, while later onset resulted in a mild cleft lip.

Key words: cleft lip (口唇裂), whole embryo culture (全胚培養), labial groove (唇溝), nasal groove (鼻溝)

結 言

口唇裂発生機序については古くは His¹⁾ の癒合不全説で解釈されていたが, Peter²⁾, Patten³⁾ や Stark⁴⁾ は下部の間葉組織の異常説を唱え, 広く信じられてきた。

一方1960年代に入り1次口蓋顔面隆起の接触部での上皮癒合と上皮板の崩壊^{5,6)}, 1980年代には1次口蓋顔面隆起の最表上皮癒合における細胞変化が報告され^{7,8)}, 顔面隆起の癒合が再認識されるに至った。

しかしこれらの報告は同一胎児または胎仔の追跡観察を行ったわけではなく, 形態形成の一断面を捕えているにすぎなかったが, 朝田 (1987)⁹⁾, 中村 (1991)¹⁰⁾ は口唇裂疾患モデルマウスを鼻窩の陥入時期より1次口蓋完成時期まで, すなわち胎齢10.5日から11.5日まで全胚培養することに成功し, 口蓋裂発生に内側鼻隆起と外側鼻隆起の癒合不全が関与することを同一胎仔の経時的観察により証明した。このように1次口蓋の形成において顔面隆起の癒合が関与していることは認められてきたが, 上唇の形成の最終期についてはいまだ不明な点がある。

そこで口唇裂自然発生の A/WySnJ マウスの全胚培養法を利用し, 胎齢11.5日以降の上唇の発育について同一胎仔の経時的観察を行い, 上唇形成と口唇裂発生について興味ある知見を得たので報告する。

愛知学院大学歯学部口腔外科学第二講座

(主任: 河合 幹教授)

The Second Department of Oral and Maxillo-facial Surgery, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University (Chief: Prof. Tsuyoshi Kawai)

受付日: 平成5年10月13日

写真 1 培養開始時(尾体節数19)の正常1次口蓋 P-0型(×100)

内側鼻隆起と外側鼻隆起および上顎隆起は強固に結合している。内側鼻隆起と外側鼻隆起の境界をなす鼻溝(ノの示す部位)、内側鼻隆起と上顎隆起の境界をなす唇溝(←の示す部位)を確認できるが浅い

写真 2 培養開始時異常1次口蓋 P-1型(×200)

唇溝は深い(ノの示す部位)、鼻溝は浅く鼻腔底は形成されている。

実験材料および実験方法

1. 使用動物

口唇裂自然発生系 A/WySnJ マウスの雌雄一対を夜8時から翌朝10時までで交配して、腔栓を確認したものを妊娠0日と規定し同様に胎仔の胎齢を0日とし、10匹のA/WySnJ マウスの母獣より胎齢11.5日の胎仔56匹を全胚培養に供した。なお全胚培養法の口唇裂発生に対する影響をみるために、口唇裂発生抵抗系の C57BL/6 マウスの母獣5匹より胎仔31匹を対照としての培養を併せ試みた。

2. 全胚培養法

培養期間は顔面隆起の癒合が完了する尾体節数¹¹⁾19の時期である胎齢11.5日から解剖学的上唇部を確認しうる24時間後までとした。

胎齢11.5日にエーテル麻酔下の母獣から胎仔を無菌的に取り出しタイロッド液中にて脱落膜ライトヘルト膜を除去し、卵黄嚢に切開を加え羊膜を開放し培養系に移した^{9,10)}。

培養液はラット I.C. 血清 (immediately centrifuged serum) を使用し 2 mg/ml ブドウ糖, 40 U/ml のペニシリン, 40 μg/ml のストレプトマイシンを添加した^{9,10)}。

培養装置は New の回転培養装置の改良型を用い、培養液 (3 ml/vial) の入った培養瓶 (25 ml) を用い、温度 38℃, 15~20 rpm/min の回転数で培養した。気相は 95% O₂ と 5% CO₂ 混合ガスを連続供給し、胎仔の発育と分化に合わせて流量を調節した^{9,10)}。

心拍数、卵黄嚢と胎仔の血液循環、頂臀長、尾体節数を経時的に観察し培養胎仔の全身発育分化の指標とした。さらに培養終了時に湿重量を計測した^{9,10)}。

また胎齢12日を過ぎると、尾体節数が算定しにくくなるため前肢形態分化¹³⁾を全身の成長分化の指標とした。

3. 培養マウスの上唇発育の観察法

胎齢11.5日から24時間、全胚培養中の同一胎仔における左右上唇部発育の経時的観察を実体顕微鏡 (Zeiss SV-8) で行った。

なお培養開始時の尾体節数19の時期には上唇とみなされる部位は未発達であり、1次口蓋の完成度を判別しうる程度であるが、浅い唇溝をみる程度で正常とみなされるものから、1次口蓋裂を判別しうるものまで種々の段階がみられるので、内側鼻隆起と外側鼻隆起と上顎隆起および破裂の部位と程度から正常を含め下記の5型に分類し、以降の口唇発育を観察した。

P-0型(正常): 内側鼻隆起と外側鼻隆起および上顎隆起は強固に連結している。内側鼻隆起と上顎隆起の間の唇溝、内側鼻隆起と外側鼻隆起の間の鼻溝は浅い陥凹として認められる(写真1)。

P-1型: 唇溝は深い、鼻溝は浅く鼻腔底は形成されている(写真2)。

P-2型: 唇溝の幅が広く、鼻溝は深く残存している(写真3)。

P-3型: 上顎隆起と内側鼻隆起は離開し、鼻溝は深く残存している(写真4)。

P-4型: 上顎隆起と内側鼻隆起は大きく離開し、さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も大きく離開している(写真5)。

なお以上のような培養開始時口唇形態は、実体顕微鏡で観察しうるが、胎仔は培養液中に浮遊して心拍動があるため、明瞭な写真撮影が不可能である。そこで上記の

写真 3 培養開始時異常1次口蓋 P-2 型 (×200)
唇溝の幅が広く、鼻溝は深く残存している。

写真 5 培養開始時の異常1次口蓋 P-4 型 (×200)

上顎隆起と内側鼻隆起は大きく離開し、さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も大きく離開している。

写真 4 培養開始時の異常1次口蓋 P-3 型 (×200)

上顎隆起と内側鼻隆起は離開し (✓の示す部位) 鼻溝は深く残存している。

写真 6 尾体節数19の前肢形態 pentagonal (×95)

5型を、実験に供した以外の同じ発育段階(尾体節数19)の胎仔の走査型電子顕微鏡像で示した(写真1～5)。

また培養経過中は実体顕微鏡で口唇形態を観察するが、培養終了時には走査型電子顕微鏡(日本電子社製JSM-6400 FX)で形態観察した。

結 果

1. 全胚培養胎仔の成長分化

A/WySnJ 培養胎仔は、培養開始時に比較すると、頂

臀長で7.0 mm から8.7 mm、湿重量で46.2 mg から74.4 mg と有意な成長を示した(表1)。

C57BL/6 培養胎仔も頂臀長で7.1 mm から8.9 mm、湿重量で49.0 mg から77.2 mg と有意な成長を示した(表1)。

前肢形態分化は A/WySnJ マウス、C57BL/6 マウスともに pentagonal (写真6) から indented (写真7) へと成長分化した。

以上のようにマウス胎仔の胎齢11.5日、尾体節数19より24時間の全胚培養は全身的な成長分化に影響を及ぼさなかった。

表 1 A/WySnJ マウスと C57BL/6 マウス胎仔の全胚培養実験における発育分化

	頂腎長 (mm)		湿重量 (mg)		前肢形態分化	
	培養開始時	培養終了時	培養開始時	培養終了時	培養開始時	培養終了時
A/WySnJ マウス n=20	7.0±0.7	→ 8.7±0.7*	46.2±2.3	→74.4±2.7*	pentagonal	indented
C57BL/6 マウス n=20	7.1±0.5	→ 8.9±0.5*	49.0±2.1	→77.2±3.0*	pentagonal	indented

平均値±SE, * p<0.01

表 2 A/WySnJ マウスと C57/BL マウス胎仔の培養前の 1 次口蓋の状態と培養後の口唇裂発現

	培養開始時		培養終了時	
	正常 1 次口蓋	異常 1 次口蓋	正常上唇	口唇裂
A/WySnJ マウス n=56, 母獣=10	43 (76.8%)	13 (23.2%) 片側性 6 (10.7%) 両側性 7 (12.5%) 右側=3 左側=3	23 (41.1%)	33 (58.9%) 片側性 20 (35.7%) 両側性 13 (23.2%) 右側=10 左側=10
C57/BL マウス n=31, 母獣=5	31 (100%)	0 (0%)	31 (100%)	0 (0%)

表 3 全胚培養 A/WySnJ マウス胎仔 (n=56, 112側) 培養前後の上唇形態の変化

注：培養経過中に正常型から裂を生じたもの、結合部が離開して裂が拡大したものは太線で示した

2. 全胚培養前後の口唇の変化

培養前 A/WySnJ マウス胎仔では 56 例中 13 例 (23.2%) に 1 次口蓋裂を認めたが、培養終了時には 33 例 (58.9%) に口唇裂を認めた。しかし C57BL/6 マウス胎仔では 31 例中培養開始前後ともに口唇裂を全く認めなかった (表 2)。

3. 全胚培養後の上唇発育の観察結果

1) A/WySnJ マウス胎仔について
培養開始時の P-0 (正常な 1 次口蓋) は 92 側 (56 頭 112 側中) にみられたが、その中の 66 側は培養後に正常上唇を形成した。1 次口蓋を構成する上顎隆起と内側鼻隆起および外側鼻隆起の発育、とくに上顎隆起の大きな発育により、唇溝と鼻溝および内側鼻隆起の正中溝は消

写真 7 A/WySnJ マウス胎児培養終了時の前肢形態 indented ($\times 85$)

写真 9 培養開始時の P-0 型 (正常) より生じた軽度不完全口唇裂 ($\times 50$)
右側に唇溝の残存 (ノの示す部位) がみられる。

写真 8 培養開始時の P-0 型 (正常) の培養終了時の左右正常上唇 ($\times 50$)

3つの顔面隆起は前正中方向へ発達し、とくに上顎隆起の大きな発達により上唇が形成されている。

写真 10 培養開始時の P-1 型より生じた左側不完全口唇裂 ($\times 110$)

内側鼻隆起と上顎隆起が唇溝 (ノの示す部位) において離開しているが、鼻腔底は形成されている。

失し上唇が形成されている (写真8, 表3)。

しかし培養開始時の P-0 の残りの26例は、唇溝の残存がみられる程度の軽度不完全口唇裂となった。唇溝は浅いものから深いものまでさまざまであったが、唇溝付近の内側鼻隆起と上顎隆起の発育障害が特徴的であった。しかし鼻溝は消失して鼻腔底は完全に形成されていた (写真9, 表3)。

培養開始時の P-1 型 (唇溝は深い、鼻溝は浅く鼻腔底は形成されているもの) は、5例にみられ、培養終了時に全例内側鼻隆起と上顎隆起が唇溝において離開しているが、鼻溝は消失し鼻腔底は形成され、不完全口唇裂になっていた (写真10, 表3)。

培養開始時の P-2 型 (唇溝の幅が広く、鼻溝は深く残

存しているもの) は、2側に認められたが、培養終了時には2側とも内側鼻隆起と上顎隆起が唇溝において幅広く分離している。鼻腔底はわずかに残存するが鼻溝は深く残存しており、高度の不完全口唇裂となっていた (写真11, 表3)。

培養開始時の P-3 型 (上顎隆起と内側鼻隆起は離開し、鼻溝は深く残存しているもの) は、4例に認められたが、培養終了時には全例鼻溝の部分のわずかな結合が引きちぎれて外側鼻隆起と内側鼻隆起の間が離開し、さらに上顎隆起と内側鼻隆起の間も大きく離開して完全口唇裂となっていた (写真12, 表3)。

培養開始時の P-4 型 (上顎隆起と内側鼻隆起は大きく離開し、さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も大きく離開し

写真 11 培養開始時の P-2 型より生じた右側不完全口唇裂 (×200)

内側鼻隆起と上顎隆起は完全に分離している。鼻腔底は存在するが鼻溝は深く残存している (＼の示す部位)。

写真 13 培養開始時の P-4 型より生じた完全口唇裂 (×50)

上顎隆起と内側鼻隆起は大きく離開し、さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も大きく離開している。

考 察

1. 実験動物について

今回実験群として使用した A/WySnJ マウスは、CL/Fr マウス、A/J マウスと同様 A 系由来であり Juriloff¹⁴⁾ により紹介されている。A/WySnJ マウスは、国立遺伝研究所より 1990 年分与を受けて、飼育、維持しているもので、胎齡 18 日における胎仔の口唇裂発現率は 31.3% であり¹⁵⁾、唇溝の残存がみられる軽度な不完全口唇裂から完全口唇裂まで多様な裂型が観察できるので今回の研究に利用した。

また C57BL/6 マウスは口唇裂発生抵抗系であるが、このような抵抗系においては、全胚培養が口唇裂発生に影響を与えないことを証明するためには対照群として用いた。

2. マウス全胚培養について

過去においてヒト胎児や疾患モデルマウス胎児においても、同一個体を追跡観察することはできなかったが、1978 年 New により確立された全胚培養により、それが可能となった。全胚培養法の利点は、1) 胎仔を生かしたままで発育を追跡観察できること、また種々のマーカーを利用して細胞の分化や移動を追跡証明できること、2) 母性効果を除去して発育を観察できること、3) 胎仔に対する種々の因子の直接作用が検索できることなどである¹⁶⁾。

1979 年に Figueroa ら¹⁷⁾ はラットを用いて鼻窩陥入時期から 1 次口蓋の完成時期の培養を成功させ、1987 年朝田 (CL/Fr マウス)⁹⁾ および 1991 年中村 (A/J マウス)¹⁰⁾ は、胎齡 10.5 日から 11.5 日までのマウス胎仔を全胚培養し、口唇裂胎仔における披裂発生の過程を経時的

写真 12 培養開始時の P-3 型より生じた左側完全口唇裂 (×110)

上顎隆起と内側鼻隆起は離開し、左側鼻溝のわずかな結合部も培養途中に引きちぎれていた。

ているもの) は、9 側に認められが、培養終了時には上顎隆起と内側鼻隆起は大きく分離し、さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も完全に分離して完全口唇裂となっていた。またすべての顔面隆起は発育が著しく悪かった (写真 13, 表 3)。

2) C57BL/6 マウス胎仔について

前項で記述したように、全例正常な上唇が形成された (表 2)。形態的には培養前には全例 (31 匹 62 側) が P-0 型の形態を示し、培養終了時にも全例正常な上唇が形成されていた。

に観察している。

著者は胎齡11.5日以降の口唇裂の発生過程をくわしく知るために、A/WySnJ マウス胎仔を用いて研究を行った。

全胚培養の方法としては、Cockroft¹²⁾の手法に従い卵黄嚢に切開を加えて、羊膜をやぶりと胎仔を開放し、朝田⁹⁾や中村¹⁰⁾の手法に従い臍動静脈の荷重負担を軽減するために回転数を小さくしガス流量を多くして培養を行ったが、頂腎長、尾体節数、湿重量、前肢形態分化などからみて培養胎仔の全身の成長分化は満足する結果が得られた(表1)。

しかしラット、マウスの全胚培養胎仔は、in uteroに比較して全身の成長分化が遅れることは認められており^{9,10,12,16,17)}、これが口唇裂発生に影響するとも考えられる。実際に今回の全胚培養におけるA/WySnJマウスの口唇裂胎仔発現率はin uteroの31.3%¹⁵⁾より58.9%と高率になっていた。しかし対照群のC57BL/6マウスの全胚培養による口唇裂発現率が0%であることは、全胚培養法が口唇裂を誘発しないことを示しており、朝田⁹⁾や中村¹⁰⁾の研究でも、同じ結果が示されている。このことは朝田⁹⁾が述べているように、A/WySnJマウスの培養後の口唇裂発現率上昇は、母性効果の除去にあることを示している。

3. 実験結果について

P-0(正常1次口蓋)では培養開始時に内側鼻隆起と上顎隆起が合体して1次口蓋の部分は完成しているが、いまだ上唇は未発達で、唇溝と鼻溝および内側鼻隆起の正中溝が確認できる(写真1)。

しかし培養を進めるに従って92側のうち66側では、上顎隆起、内側鼻隆起、外側鼻隆起は大きく發育し、唇溝と鼻溝および内側鼻隆起正中の溝は消失した。この間の上顎隆起の正中方向への發育はとくに大きくその結果正常な上唇が形成された(写真8, 表3)。マウスの上唇の形成にあたっては内側鼻隆起と外側鼻隆起の関与が大きいという考えもあるが¹⁸⁾、この実験結果からはヒト⁹⁾と同様に、マウスにおいても上唇の大部分は上顎隆起と内側鼻隆起で構成されていることが確認できた。

この時期における口唇の發育は、唇溝消失の所見からみて、上皮下の間葉の増生による陥凹部の押し上げ²⁾(merging³⁾あるいはsimply flatten out¹⁹⁾)によるものと推察される。

しかし培養開始時に正常と判断した1次口蓋(P-0型)の92側のうち26側は、培養終了時に内側鼻隆起と上顎隆起の境界である唇溝が残存する不完全口唇裂となった(写真9, 表3)。1次口蓋の正常とみられるP-0型の一部が培養開始以後新たに口唇裂となったことは、胎齡11.5日以降にも口唇裂が発生することを示しており、唇溝が消失しなかった所見は、唇溝下層のmerginが不全であったためと推察される。

培養開始時P-1型(唇溝は深い、鼻溝は浅いもの)からは、不完全口唇裂を生じた(写真10, 表3)。この型の不完全口唇裂は、鼻溝下層でのmergingは順調であるが、唇溝下層のmergingは不全であったと推察される。

培養開始時P-2型(唇溝の幅が広く、鼻溝は深く残存しているもの)からは、高度の不完全口唇裂を生じた(写真11, 表3)。この型の不完全口唇裂は1次口蓋の形成初期から内側鼻隆起と上顎隆起の發育が不良で、さらに唇溝下層でのmerging不全もあるが、鼻溝下層においてはmergingが順調であったものと推測される。

培養開始時P-3型(上顎隆起と内側鼻隆起は離開し、鼻溝は深く残存しているもの)からは、鼻溝のわずかな結合部が引きちぎれ完全口唇裂が生じる過程が観察できた(写真12, 表3)。この型も1次口蓋形成の初期から各顔面隆起の發育不良により口唇裂を生じると推測されるが、とくに興味深いのは培養経過中に鼻溝の基部の結合が引きちぎられる現象で、この部分でmergingの不全が推測される。また鼻溝における引きちぎれ現象において、一部の結合が残るとSimonart帯を生ずるのではないかと推測される。

培養開始時のP-4型(上顎隆起と内側鼻隆起は大きく離開し、さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も大きく離開しているもの)からは、高度の完全口唇裂を生じた。またすべての顔面隆起は成長が著しく悪かった(写真13, 表3)。

この型では初めから各顔面隆起の發育不良で、各隆起間が離開したままに経過したものと推測される。

以上の成績を総括すると、

1) 口唇裂発生は1次口蓋形成の初期段階からの顔面隆起の發育不全が推測され、とくに完全口唇裂を生ずるような型においてその傾向が強い。

2) 顔面隆起の發育がある程度進行したあとにおいても、下層の間葉組織の増殖能不全が推測され、とくに不完全口唇裂においてその所見がみられた。

3) P-3型における鼻溝の引きちぎれ現象も下層の間葉組織の増殖能不全を推測させるものであり、Simonart帯の発生について説明しやすい所見と思われる。

4) P-0型より生ずる不完全口唇裂も、下層の間葉組織の増殖能不全と上皮押し上げの不全(いわゆるmergingの不全)を推測させるものと思われた。

結 語

口唇裂疾患モデルマウスのA/WySnJを胎齡11.5日(尾体節数19)から24時間全胚培養し、上唇の形成および口唇裂の発生について以下の結論を得た。

1. 培養開始時期において、顔面隆起の發育が不良で、隆起間の離開がみられるものや、唇溝・鼻溝が深いもの

は口唇裂を生じた。

1) P-1 型 (唇溝は深い, 鼻溝は浅いもの) からは, 不完全口唇裂を生じた。

2) P-2 型 (唇溝の幅が広く, 鼻溝は深く残存しているもの) からは, 高度の不完全口唇裂を生じた。

3) P-3 型 (上顎隆起と内側鼻隆起は離開し, 鼻溝が深く残存するもの) からは, 完全口唇裂を生じた。

4) P-4 型 (上顎隆起と内側鼻隆起は大きく離開し, さらに外側鼻隆起と内側鼻隆起も大きく離開しているもの) からは, 高度の完全口唇裂を生じた。

2. 培養開始時に正常な 1 次口蓋と判断された P-0 型 (唇溝や鼻溝の浅いもの) からは正常上唇を形成するものと, 唇溝の残存がみられる程度の軽度不完全口唇裂を形成するものの両者を生じた。

3. これらの成績より, 口唇裂の発生は各顔面隆起の発育不良が主因であり, それが早期に起きるほど高度の裂となり, 後期に起きるほど軽い裂となることが推測された。

稿を終えるに臨み, 終始ご懇切なるご指導, ご校閲を賜りました河合 幹教授に深甚なる感謝の意を表します。さらに本研究の遂行にあたり全胚培養法技術と研究の方向についてご教授頂いた東京医科歯科大学歯学部発生機構制御学江藤一洋教授に心から感謝いたします。

また, 終始ご指導, ご助力を賜りました本学口腔外科学第二講座の諸先生方に心からお礼申し上げます。

なお本論文要旨は, 第70回 IADR 総会 (1992年7月, Glasgow, Scotland) にて発表した。

引用文献

- 1) His, W.: Beobachtungen zur Geschichte der Nasen- und Gaumenbildung beim menschlichen Embryo. Abh. Sächs. Ges. (Akad.) Wiss. 27: 349-389 1901.
- 2) Peter, K.: Atlas der Entwicklung der Nase und des Gaumens beim Menschen. Fischer Jena 1913.
- 3) Patten, B.M.: The normal development of the facial region. Pruzansky, S. (ed): Congenital anomalies of the face and associated structures. Thomas, Springfield, Illinois, 1961, p 11-45.
- 4) Stark, R.B.: Embryology, pathogenesis and classification of cleft lip and cleft palate. Pruzansky, S. (ed): Congenital anomalies of the face and associated structures. Thomas, Springfield, Illinois, 1961, p 66-84.
- 5) Tondury, G.: On the mechanism of cleft formation. Pruzansky, S. (ed): Congenital anomalies of the face and associated structures. Thomas, Springfield, Illinois, 1961, p 85-101.
- 6) Gaare, J.D. and Langman, J.: Fusion of nasal swellings in the mouse embryo: Regression of the nasal fin. Am J Anat 150: 477-500 1977.
- 7) Millicovsky, G. and Johnston, M.C.: Active role of embryonic facial epithelium: New evidence of cellular event in morphogenesis. J. Embryol. exp. Morph. 63: 53-66 1981.
- 8) Hinrichsen, K.: The early development of morphology and patterns of the face in the human embryo. Adv. Anat. Embryol. Cell Biol. 98: 1-79 1985.
- 9) 朝田総一郎: 全胎仔培養法を用いた CL/Fr マウスの唇裂発現に関する研究. 口病誌 54: 47-56 1987.
- 10) 中村友保: A/J 系マウスの全胚培養法を用いたエストロジオールの口唇裂発生抑制作用の検討. 日口外誌 37: 351-364 1991.
- 11) Trasler, D.G.: Pathogenesis of cleft lip and its relation to embryonic face shape in A/J and C57 mice. Teratology 1: 33-50 1968.
- 12) Cockroft, D.L.: Development in culture of rat fetuses explanted at 12.5 and 13.5 days of gestation. J. Embryol. exp. Morph. 29: 473-483 1973.
- 13) Rugh, R.: The Mouse. Burgess Publishing Co, Minneapolis, 1968, p 210-212.
- 14) Juriloff, D.M.: Differences in frequency of cleft lip among the A strain of mice. Teratology 25: 361-368 1982.
- 15) Kondo, S., Kawai, T. et al.: Incomplete cleft lip formation in cultured A/WySnJ mouse embryos (abstract). J. Dent. Res. 72 special issue: No-1349 1992.
- 16) Copp, A. and Cockroft, D.L.: Postimplantation mammalian embryos: A practical approach. IRL Press, Oxford, 1990.
- 17) Figueroa, A.A. and Pratt, R.M.: Autoradiographic study of macromolecular synthesis in the fusion epithelium of the developing rat primary palate *in vitro*. J. Embryol. exp. Morph. 50: 145-154 1979.
- 18) 高橋庄二郎: 口唇裂・口蓋裂の発生機序と発生原因. 日口蓋誌 15: 49-61 1990.
- 19) Streeter, G.L.: Developmental horizons in human embryos: Description of age groups 15, 16, 17, and 18, being the third issue of a survey of Carnegie collection. Contrib. Embryol. Carnegie Inst. 32: 133-203 1951.