

京都大学	博士 (医学)	氏 名	杉並 亜希子
論文題目	Rudiment incisors survive and erupt as supernumerary teeth as a result of USAG-1 abrogation (新規BMP拮抗分子USAG-1の歯数制御に関する機能解析)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>過剰歯とは乳歯もしくは永久歯が通常の歯数よりも過剰であることを指し、その分子メカニズムはほとんど明らかではない。BMPは歯牙の形態発生における重要分子の1つであることはよく知られている。Uterine Sensitization Associated Gene-1 (USAG-1)はBMPの拮抗分子の一つであり、器官形成に重要な働きをする分子と考えられていた。</p> <p>USAG-1欠損マウスの上顎において25匹中すべてに切歯部では過剰歯が、臼歯部では歯数減少及び癒合歯が認められ、下顎において25匹中11匹で切歯部に、15匹で臼歯部に過剰歯が認められた。一方ヘテロ型マウス12匹中及び野生型マウス5匹中すべてに過剰歯は認められなかった。以上より過剰歯が上顎切歯においてUSAG-1欠損マウスすべてで認められたため、以下の解析は上顎切歯部において行った。</p> <p>野生型及びUSAG-1欠損マウスを用いて、胎生11日から生後5日までHE染色を行ったところ、従来報告されているように野生型では痕跡的な乳切歯が胎生15日まで発生が進むが、以後縮小・消失していくのに対し、USAG-1欠損マウスでは、胎生15日以降も発生が進み、生後5日目にはエナメル質を伴った歯牙の形成を認めた。</p> <p>そこで、上顎切歯部の痕跡的な乳切歯にUSAG-1が発現しているか、胎生11日から胎生15日の野生型マウスを用いて、in situ hybridization法を用いて解析した。USAG-1の発現は胎生14日目までは痕跡的な乳切歯の上皮に限局しているが、胎生15日目では間葉にも認められるようになった。</p> <p>マウスでは通常歯牙が形成されない歯隙部において痕跡的な小臼歯がapoptosisによって退化・消失するという報告に基づき、野生型及びUSAG-1欠損マウスを用いて、胎生14、15、16日で痕跡的な乳切歯部分のapoptosisを比較したところ野生型の歯間葉細胞において多く認められ、そのapoptosisのピークは胎生15日であった。</p> <p>上顎切歯部の痕跡的な乳切歯にBMPが発現しているか、胎生14、15日の野生型マウスを用いて免疫染色を行ったところ、上皮細胞ではBMP2, 4, 6が、また間葉ではBMP4, 6の発現が認められた。</p> <p>そこでBMPシグナリングの下流の分子であるMsx1とDlx2、及びリン酸化Smad1/5/8の発現をそれぞれin situ hybridization法、及び免疫染色を行って解析したところ、USAG-1欠損マウスの痕跡的な乳切歯部ではMsx1とDlx2の発現の亢進が認められ、また同部の歯間葉細胞ではリン酸化Smad1/5/8抗体陽性細胞数がUSAG-1欠損マウスで有意に多かった。</p> <p>Wntの拮抗分子の一つであるWiseとUSAG-1は同じ分子であり、Wntの下流の分子であるβカテニンの核移行を免疫染色にて解析したところ、USAG-1欠損マウスの痕跡的な乳切歯の間葉ではβカテニンの核移行像の増加が認められた。</p> <p>USAG-1欠損マウス及び野生型マウスの上顎切歯部の器官培養を行ったところ、USAG-1欠損マウスでは歯数増加を認めたが、BMP拮抗分子の一つであるnogginを添加したところ歯数増加のphenotypeはrescueされ正常な歯数となった。</p> <p>以上よりUSAG-1欠損マウスにおける過剰歯の形成は、同部でUSAG-1欠損によりBMPのシグナリングが増強したことにより歯間葉細胞のapoptosisが抑制され、本来なら退化・消失していくはずの痕跡的な乳切歯の発生が進み萌出したのではないかと考えられた。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>歯数は厳密に制御されているがその分子メカニズムは明らかでない。過剰歯が見出された新規BMP拮抗分子USAG-1欠損マウスを用いて、歯数制御の分子メカニズムを利用した歯牙再生を目指し、過剰歯の分子機構の解析を行った。</p> <p>過剰歯は上顎切歯においてUSAG-1欠損マウス25例中全例で認められたため、上顎切歯部にて解析を行った。wild-typeマウスでは、痕跡的乳切歯が胎生15日まで成長し以後縮小消失していくが、USAG-1欠損マウスでは、胎生15日以降も成長し歯牙形成を認めた。胎生15日の痕跡的乳切歯の間葉においてTUNEL法にてアポトーシス細胞を比較したところwild-typeマウスで多く認められた。また同部ではリン酸化smad1/5/8抗体陽性細胞数がUSAG-1欠損マウスで有意に多く、BMPシグナリング下流分子のMsx1とDlx2の発現の亢進が認められた。USAG-1欠損マウスの上顎切歯部の器官培養においてBMP拮抗分子のnogginを添加したところ、歯数増加のphenotypeはrescueされ正常歯数となった。</p> <p>以上より過剰歯の形成は、USAG-1欠損によりBMPシグナリングが増強し歯間葉細胞のアポトーシスが抑制されたためではないかと考えられた。</p> <p>ヒトにおいても痕跡的な第3歯堤の存在が報告されており、本研究は歯数制御の分子機構の解明に貢献し歯牙再生医療の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお本学位授与申請者は、平成20年6月11日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--

要旨公開可能日： 年 月 日以降