

京都大学	博士 (医学)	氏 名	喜 早 ほ の か
論文題目	Interactions between BMP-7 and USAG-1 (Uterine Sensitization-Associated Gene-1) Regulate Supernumerary Organ Formations (BMP-7 と USAG-1 との相互作用による歯数制御に関する機能解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>哺乳類の歯は、大臼歯を除いて 1 度だけ生えかわる 2 生歯性である。2 生歯性においても、通常は萌出する前にアポトーシスにより消失する次の歯堤が存在し、ヒトの場合には第 3 歯堤が存在することが報告されている。マウスにおいては、ヒトの第 3 歯堤と同じくアポトーシスにより退化消失する痕跡的乳切歯が存在することが報告されており、BMP の拮抗分子である USAG-1 (Uterine Sensitization-Associated Gene-1) 遺伝子 (<i>Sostdc1</i>) の欠損マウスでは、本来は退化消失するはずの痕跡的乳切歯が生き残った結果、過剰歯として萌出することを当研究グループで既に確認している。</p> <p>一方、<i>Bmp7</i> の Conditional null マウスでは上顎の歯の成長が停止するという報告があるため、マウスの上顎切歯部では USAG-1 は BMP-7 に拮抗して上顎の痕跡的乳切歯を退化消失させ、歯数制御に関与するという仮説を立てて検証した。</p> <p>まず、<i>Sostdc1</i> と <i>Bmp7</i> の上顎切歯部における発現部位を <i>Sostdc1/lacZ</i> ノックインマウス (<i>Sostdc1^{+/lacZ}</i>) と <i>Bmp7/lacZ</i> ノックインマウス (<i>Bmp7^{+/lacZ}</i>) マウスを用いてそれぞれ検討したところ、胎生 13-15 日で <i>Sostdc1</i> と <i>Bmp7</i> はともに痕跡的乳切歯部で発現していることがわかった。</p> <p>そこで、胎生 15 日と生後 0 日のマウス矢状断切片の H-E 染色により上顎切歯部を検討したところ、<i>Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}</i> では痕跡的乳切歯が成長しているのに対し、<i>Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{-/-}</i> では、野生型と同じく退化消失していることがわかった。</p> <p>次に、痕跡的切歯部におけるアポトーシスを比較するために、胎生 15 日のマウス矢状断切片の TUNEL 染色を行ったところ、陽性細胞は歯間葉細胞の一部に認められた。<i>Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}</i> の TUNEL 陽性細胞数は他と比べて有意に少なかった。</p> <p>痕跡的乳切歯部における BMP の発現を調べるため、BMP シグナリングの下流分子である <i>Msx1</i> と <i>Dlx2</i> の発現を in situ hybridization 法、Smad 1/5/8 のリン酸化を免疫染色によってそれぞれ解析したところ、<i>Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}</i> の痕跡的乳切歯部では <i>Msx1</i> と <i>Dlx2</i> の発現亢進が認められた。また、<i>Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}</i> の痕跡的乳切歯部の歯間葉細胞では抗リン酸化 Smad 1/5/8 陽性細胞数は有意に多かった。</p> <p><i>Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{-/-}</i> マウスでは、野生型と同じく、上顎の痕跡的乳切歯は退化消失することがわかり、上顎の痕跡的乳切歯部では USAG-1 が BMP-7 の拮抗分子である可能性が示唆された。</p> <p>そこで次に、<i>Sostdc1^{-/-}</i>、<i>Sostdc1^{+/+}</i>、野生型マウスの上顎切歯部の外植片に BMP-7 を投与し、歯数制御に BMP-7 が与える影響について検討した。胎生 15 日のマウスの上顎切歯部と BMP-7 を含浸させたゼラチンハイドロゲルとを合わせて腎皮膜下に移植し、成長させた。対照群では <i>Sostdc1^{-/-}</i> のみ過剰歯が確認されたのに対し、BMP-7 を投与すると <i>Sostdc1^{-/-}</i> に加えて <i>Sostdc1^{+/+}</i> においても過剰歯が確認された。</p>			

以上より、BMP-7 により *Sostdc1* の表現型が回復することが示唆され、マウスの上顎切歯部では USAG-1 は BMP-7 に拮抗し、歯数制御に関与する可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

USAG-1 遺伝子 (*Sostdc1*) 欠損マウスでは上顎の痕跡的乳切歯が成長し、過剰歯として萌出する。一方、*Bmp7* の Conditional null マウスでは上顎の歯は欠如するという報告がある。今回、USAG-1 は BMP-7 を阻害し上顎の痕跡的乳切歯を退化消失させ、歯数を制御するという仮説を立てて検証した。

Sostdc1 と *Bmp7* はともに胎生 13-15 日の上顎の痕跡的乳切歯部で発現していた。*Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}* では生後 0 日でも上顎の痕跡的乳切歯は成長していたが、*Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{-/-}* では退化消失していた。胎生 15 日の痕跡的乳切歯部における *Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}* の TUNEL 陽性細胞数は有意に少なかった。*Sostdc1^{-/-}/Bmp7^{+/+}* の同部では *Msx1* と *Dlx2* の発現亢進と、リン酸化 Smad 1/5/8 陽性細胞数の増加を認めた。さらに、*Sostdc1* 変異マウスの上顎切歯部の外植片に BMP-7 を投与し、歯数制御に与える影響について検討したところ、*Sostdc1^{+/+}* においても過剰歯が確認された。

以上より、マウスの上顎切歯部では USAG-1 は BMP-7 に拮抗し、歯数制御に関与する可能性が示唆された。

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、今後、歯の再生医療の発展に寄与するところが多い。

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。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 7 月 18 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降