

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	後 藤 朋 子
論文題目	Id2 controls chondrogenesis acting downstream of BMP signaling during maxillary morphogenesis (Id2 遺伝子は上顎骨形成時に BMP シグナリングの下流で軟骨形成を制御する)		
(論文内容の要旨)			
上顎骨と下顎骨の形態形成時の不調和により、上顎劣成長、下顎前突症などの顎変形症が発症する。発症率には人種差があり全人口の 1～23%である。顎変形を伴う症候群は顎変形症全体の 5%以下で、ほとんどの顎変形症は、出生時には異常がなく、成長に伴い顎変形が出現し、思春期以降に顕著になる。脳頭蓋底は数カ所の骨化成長点として機能する軟骨結合部により構成される。この結合部での軟骨細胞の増殖、分化、成熟度が脳頭蓋底の前後軸方向への伸長に重要であるとともに顎骨の形態形成に関与するとされている。分化抑制因子 Id2 は basic helix-loop-helix 型転写因子の機能抑制因子の一つで、細胞増殖、分化などを調整する。Id2 の発現は BMP-Smad シグナリングによって制御されている。 Euclidean Distance Matrix Analysis (EDMA) を用いて、μ CT にて生後 12 週成熟マウスの頭蓋顎顔面部を計測した結果、Id2 遺伝子欠損マウスでは 89 の計測項目のうち、5 項目の上顎骨の前後径の評価項目を含んだ 32 項目で前後径の短縮を認めた。前後径の短縮は出生直後には認められず、成長に伴い顕著となった。Id2 遺伝子欠損マウスが、出生後成長とともに顎変形が観察される点でヒトの臨床的特徴を有した初めての顎変形症モデルマウスであることを示した。 脳頭蓋底軟骨結合部の蝶形骨間軟骨結合部 (PSS) および蝶後頭軟骨結合部 (SOS) の組織学的解析を行ったところ、生後 2 週 Id2 遺伝子欠損マウスで肥大軟骨細胞層の狭小化を認めた。BrdU 法では増殖軟骨細胞層における BrdU 陽性細胞数は野生型マウスと比較し有意に少なかった。このことから軟骨細胞の肥大化の障害と増殖能の減少が成長期の異常に深く関与することが示された。 Semi-quantitative RT-PCR 法にて脳頭蓋底軟骨結合部における Id2 の発現を解析したところ、出生直後～12 週まで、発現は同等レベルで維持されていた。<i>in situ</i> hybridization 法では PSS および SOS の各細胞層で Id2 の発現を認めた。 生後 1 週マウス頭蓋底の器官培養を行い、BMP-2、4、7 の機能を解析した。野生型マウスでは BMP-2 添加で肥大軟骨細胞層が増大し、BMP-4 添加で肥大軟骨細胞が異所性に増加し、BMP-7 添加で増殖軟骨細胞層を増大させたのに対し、Id2 遺伝子欠損マウスでは明らかな変化を示さなかった。さらに脳頭蓋底軟骨結合部における Id2 の機能を解析するために、BMP シグナリングに関わる分子の semi-quantitative RT-PCR を行った。その結果、Id2 遺伝子欠損マウスにおいて抑制型 Smad7 の発現が増加したが、他の BMPRI、II および Smad1、5、6 に明らかな変化は認めなかった。またリン酸化 Smad1、5、8 による免疫組織学的解析では、Id2 遺伝子欠損マウスの脳頭蓋底軟骨結合部において陽性軟骨細胞数が減少しており、BMP シグナリングが抑制されていることが示された。 以上より、Id2 が Smad7 の発現を抑制することで BMP シグナリングを制御し、脳頭蓋底軟骨結合部の軟骨細胞の分化増殖をコントロールしていることが示された。本結果は、BMP の下流で Id2 遺伝子が軟骨内骨化に関与することを <i>in vivo</i> で初めて示したもの			

で、Id2 遺伝子欠損により BMP シグナリングが抑制されたことにより成長期の脳頭蓋底軟骨結合部の軟骨細胞の分化増殖が障害され、顎変形症が発症したと考えられた。 （論文審査の結果の要旨） 顎変形症は上顎骨と下顎骨の形態形成時の不調和により発症する。顎変形症の分子メカニズムの一端を明らかにすることを目指し、Id2 遺伝子欠損マウスの解析を行った。Euclidean Distance Matrix Analysis を用いて、Id2 遺伝子欠損マウスの頭蓋顎顔面部を計測した。上顎骨の前後径の短縮は、出生直後には認めず、成長に伴い顕著となった。生後 2 週 Id2 遺伝子欠損マウスの脳頭蓋底軟骨結合部において肥大軟骨細胞層の狭小化と増殖軟骨細胞層での BrdU 陽性細胞数の減少を認めた。生後 1 週野生型マウス脳頭蓋底の器官培養において、BMP-2、4 添加で肥大軟骨細胞が、BMP-7 添加で増殖軟骨細胞が増加したのに対し、Id2 遺伝子欠損マウスでは変化を示さなかった。Id2 遺伝子欠損マウスの脳頭蓋底軟骨結合部において、BMP シグナリングに関わる分子の semi-quantitative RT-PCR の結果、抑制型 Smad7 の発現が増加した。また、リン酸化 Smad1、5、8 陽性軟骨細胞数が減少した。以上より、Id2 遺伝子欠損により Smad7 の発現が増強し、BMP シグナリングが抑制されたことにより成長期における脳頭蓋底軟骨結合部の軟骨細胞の分化増殖が障害され、顎変形症が発症したと考えられた。 以上の研究は顎変形症発症の遺伝要因の解明に貢献し、今後の顎矯正治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 23 年 12 月 7 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			