

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	中 尾 一 祐
論文題目	The effects of C-type natriuretic peptide on craniofacial skeletogenesis (顎顔面の骨格形成における C 型ナトリウム利尿ペプチドの作用)		
(論文内容の要旨)			
顎顔面骨は、膜性骨化と内軟骨性骨化が複雑に混在して成長することが知られている。C 型ナトリウム利尿ペプチド (C-type natriuretic peptide :CNP) は長管骨や脊椎などにおける強力な内軟骨性骨化促進因子であることが知られているが、これまで顎顔面形態への CNP の作用についての報告はなかった。本研究では顎顔面領域における CNP の作用についての検討を行った。 μ CTによる顎顔面骨の形態解析を行ったところ、3 か月齢のCNPノックアウト (<i>Nppc</i>^{-/-}) マウスでは、上下顎の矢状方向への劣成長を認め、反対に軟骨特異的CNPトランスジェニック (<i>Col2-Nppc-Tg</i>) マウスでは、上顎の過成長を認めた。顎顔面領域における内軟骨性骨化による成長部位は主に頭蓋底の蝶後頭軟骨結合部、鼻中隔軟骨、下顎骨の下顎頭軟骨である。CNP欠失あるいは過剰発現による内軟骨性骨化の低下あるいは促進によって、これらの表現型が生じたことが考えられたため、さらなる解析をおこなった。2 週齢、4 週齢<i>Nppc</i>^{-/-}マウスの頭蓋底における蝶後頭軟骨結合部の組織学的解析をおこなったところ、軟骨結合部の幅が狭くなっており、免疫染色により肥大化軟骨細胞層のマーカーである X 型コラーゲンの染色領域の減少を認めた。反対に<i>Col2-Nppc-Tg</i>マウスでは、軟骨結合部の幅が広がっており、X 型コラーゲンの染色領域の増大を認めた。頭蓋底の器官培養において、<i>Nppc</i>^{-/-}マウスより採取した頭蓋底培養体は、野生型 (WT) マウスから採取したものより蝶後頭軟骨結合部の幅が有意に狭かった。反対にWTマウス由来頭蓋底培養体にCNP (10⁻⁸~10⁻⁶M) を添加して器官培養を行ったところ、有意に蝶後頭軟骨結合部の伸長が促進した。組織学的解析においてもin vivoの結果と同様に、<i>Nppc</i>^{-/-}マウス由来頭蓋底培養体の蝶後頭軟骨結合部ではX 型コラーゲンの染色領域の減少を認め、CNP添加群 (10⁻⁸~10⁻⁶M) において増大を認めた。また、下顎頭軟骨におけるCNPの生理的作用について検討するために、<i>Nppc</i>^{-/-}マウスおよびWTマウスの下顎骨の器官培養を行ったところ、<i>Nppc</i>^{-/-}マウス由来下顎骨培養体における下顎頭軟骨の長さは、WTマウス由来培養体における下顎頭軟骨より有意に小さかった。逆に、WTマウス由来培養体にCNP (10⁻⁸~10⁻⁶M) を添加することにより下顎頭軟骨の長さは濃度依存的に増加し、CNP 10⁻⁷および 10⁻⁶M 添加群では有意に下顎骨の長軸方向への伸長が増加した。さらにWTマウスの蝶後頭軟骨結合部、鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨から軟骨細胞を採取して三次元培養を行いCNP (10⁻⁸~10⁻⁶M) を添加したところ、濃度依存的に軟骨組織の厚みが増し、軟骨細胞の肥大化の促進および基質産生の増大が認められた。また、培養した軟骨細胞より採取したRNAを用いて定量的PCRを行ったところ、CNP 10⁻⁶M の添加により X 型コラーゲンおよび軟骨基質のマーカーであるアグリカンの発現が有意に上昇した。 本研究において、CNP は蝶後頭軟骨結合部、鼻中隔軟骨、下顎頭軟骨に作用し軟骨の肥大化、軟骨基質の産生を促進することにより、顎顔面形態に強く影響			

をおよぼすことが明らかとなった。また、臨床的にも CNP の発現量の多寡が、顎変形症の一因となっている可能性が示された。			
(論文審査の結果の要旨)			
顎顔面骨は、膜性骨化と内軟骨性骨化が複雑に混在して成長することが知られている。申請者は内軟骨性骨化促進因子であるCNPの顎顔面形態への作用について検討を行った。3 か月齢のCNPノックアウト (<i>Nppc</i>^{-/-}) マウスでは、上下顎の矢状方向への劣成長を認め、反対に軟骨特異的CNPトランスジェニック (<i>Col2-Nppc-Tg</i>) マウスでは、上顎の過成長を認めた。成長過程におけるCNP の作用を器官培養にて検討したところ、<i>Nppc</i>^{-/-}マウスより採取した頭蓋底および下顎骨培養体は、WTマウスから採取したものより蝶後頭軟骨結合部および下顎頭軟骨の長さが有意に短かった。反対に、WTマウス由来頭蓋底および下顎骨培養体にCNP (10⁻⁸~10⁻⁶M) を添加して器官培養を行ったところ、有意に蝶後頭軟骨結合部および下顎頭軟骨の伸長が促進した。さらに、WTマウスの蝶後頭軟骨結合部、鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨から軟骨細胞を採取して三次元培養を行い、CNP (10⁻⁸~10⁻⁶M) を添加したところ、濃度依存的に軟骨組織の厚みが増し、軟骨細胞の肥大化の促進および基質産生の増大が認められた。 以上の結果より、CNP は蝶後頭軟骨結合部、鼻中隔軟骨、下顎頭軟骨に作用し、軟骨の肥大化、軟骨基質の産生を促進することにより、顎顔面形態に強く影響をおよぼすことが明らかとなった。 以上の研究は顎顔面形態における内軟骨性骨化の意義の解明に貢献し、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2 5 年1 月 1 6 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			