

Title	Effects of Usag-1 and Bmp7 deficiencies on murine tooth morphogenesis( Abstract_要旨 )
Author(s)	Saito, Kazuyuki
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-05-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k20561">https://doi.org/10.14989/doctor.k20561</a>
Right	Please note that authors retain copyright of their own published article, and grant any third party the right to use reproduce and disseminate the article, subject to the terms of our copyright and license agreement. Allowing the authors to retain copyright of their work permits wider distribution of their work on the condition it is correctly attributed to the authors. Biomed Central (including all journals with the portfolio) is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) and as such does not condone plagiarism. However, content from any article may be reproduced in any format or medium, provided that Biomed Central is duly identified as the original publisher, and that proper attribution of authorship and correct citation details are given.
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医学)	氏名	斎藤 和幸
論文題目	Effects of Usag-1 and Bmp7 deficiencies on murine tooth morphogenesis (Usag-1 と Bmp7 の発現量減少はマウスの歯の形態形成に影響を与える)		
(論文内容の要旨)			
<p>歯の体積決定に関わる遺伝子には <i>Bmp</i> や <i>Wnt</i> に関連するものが報告されている。そこで、<i>Bmp7</i> とその拮抗分子 <i>Usag-1</i> は歯の発生過程において、歯の体積決定に関わるとの仮説から、各々の改変マウス、DKO マウスを作成し、遺伝子型別の体積変化を解析した。</p> <p>過剰歯が発生する <i>Usag-1</i> 改変マウス (C57BL/6) と <i>Bmp7</i> 改変マウス (ICR) を用いた。<i>Bmp7</i> KO は胚性致死であるため、出生しない。頭部をマイクロ CT にて撮影し、医用画像ソフトウェア INTAGE Realia<sup>®</sup> にて三次元構築を行い、下顎切歯を抽出し、体積測定を行った。歯軸に直交する面で舌側歯槽骨の最上点の部位で切断し、Image J を用いて断面積を求めた。まず、<i>Bmp7</i> 改変マウスの出生後 2 か月の下顎切歯 (野生型 22 匹、ヘテロ 20 匹) を計測した。ヘテロは野生型に比べて体積および断面積が有意に増大していた。次に、<i>Usag-1</i> 改変マウスの出生後 3 か月の下顎切歯 (野生型、ヘテロ、KO 各 21 匹) を計測した。KO が有意に体積、断面積が増大していた。続いて、出生後 4 か月の第二世代 DKO マウスの下顎切歯 (野生型 9 匹、<i>Usag</i>-ヘテロ 12 匹、<i>Usag</i>-IKO 18 匹、<i>Usag</i>-IKO<i>Bmp7</i>ヘテロ 14 匹、<i>Usag</i>-1ヘテロ <i>Bmp7</i>ヘテロ 28 匹、<i>Bmp7</i>ヘテロ 17 匹) の解析を行った。体積と断面積の増加において、<i>Bmp7</i> と <i>Usag-1</i> が相加的に作用する傾向が認められた。応答変数を下顎切歯体積と断面積とし、説明変数を遺伝子型として一般化線形モデルを用いて解析した。<i>Usag</i>-IKO と <i>Bmp7</i>ヘテロは体積と断面積の増加に関連し、<i>Usag</i>-1ヘテロは体積と断面積の減少に関連していた。</p> <p>また、出生後 1 か月の第二世代 DKO マウス下顎大白歯 (野生型 7 匹、<i>Usag</i>-1ヘテロ 16 匹、<i>Bmp7</i>ヘテロ 16 匹、<i>Usag</i>-1ヘテロ <i>Bmp7</i>ヘテロ 31 匹) の解析において、M1、M2、M3 の 3 歯の咬合面の投影面積を測定した。<i>Bmp7</i>ヘテロは野生型より有意に大きく、<i>Usag</i>-1ヘテロは M1 を除いて野生型より有意に縮小していた。一般化線形モデルを用いて解析したところ、<i>Usag</i>-1ヘテロは歯の咬合面の投影面積が減少することに関連し、<i>Bmp7</i>ヘテロはその面積が増加することに関連しており、下顎切歯と同様の結果が得られた。</p> <p>胎生 15 日目の下顎切歯において、BrdU 染色を行い、部位別の細胞増殖率 Labeling Index を測定した。<i>Bmp7</i>改変マウスでは、唇側と舌側の Cervical loop においてヘテロは野生型よりも Labeling index が有意に増加していた。<i>Usag</i>-1改変マウスでは、歯乳頭において、KO が野生型やヘテロよりも Labeling Index が亢進していた。</p> <p>胎生 15 日目の下顎切歯における TUNEL 染色の解析では、<i>Bmp7</i>ヘテロ (ICR)、<i>Usag</i>-IKO (C57BL/6)、<i>Usag</i>-IKO<i>Bmp7</i>ヘテロ (第二世代)、<i>Usag</i>-1ヘテロ (C57BL/6) のそのいずれも歯胚周囲にアポトーシスの発現が少なく、歯の体積の変化にアポトーシスの関与を認めないことが示唆された。</p> <p><i>Usag</i>-IKO マウスでは、過剰歯が発生する。第二世代 DKO マウスにおいて、<i>Usag</i>-IKO 3 匹、<i>Usag</i>-IKO<i>Bmp7</i>ヘテロ 6 匹の過剰歯の合計断面積を測定したところ、<i>Usag</i>-IKO<i>Bmp7</i>ヘテロの方が有意に増大していた。</p> <p>これらの結果より、<i>Bmp7</i> と <i>Usag</i>-1 の発現量の調節を行うことで、再生歯の体積を制御できる可能性が示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

*Usag-1* は、歯の大きさにかかわるとの報告がある *Bmp* と *Wnt* のシグナル伝達を抑制する働きがあり、*Bmp7* とは過剰歯発生に拮抗的な働きを示すことから、*Bmp7* と *Usag-1* は、歯の発生過程において歯の大きさにかかわるとの仮説を立てた。*Bmp7* 遺伝子欠損マウス (ICR)、*Usag-1* 遺伝子欠損マウス (C57BL/6)、それらを交配して得た第二世代マウスについて遺伝子型別の下顎切歯の大きさの変化を解析した。

遺伝子背景別の成獣では、*Bmp7* ヘテロ接合体 (Het) マウスは野生型に比べ、また、*Usag-1* ホモ接合体 (KO) マウスは他の遺伝子型に比べ、下顎切歯の体積と断面積が有意に増大していた。第二世代の成獣では両遺伝子の各遺伝子型の作用は相加的であった。目的変数を下顎切歯の体積あるいは断面積とし、説明変数を遺伝子型とした第二世代における一般化線形モデルの解析では、*Usag*-1<sup>-/-</sup>と *Bmp7*<sup>+/-</sup>は増加、*Usag*-1<sup>+/-</sup>は減少に関連していた。

胎生 15 日目の下顎切歯歯胚の BrdU 染色の結果、*Bmp7* Het マウスでは Cervical loop において、*Usag*-1 KO マウスでは歯乳頭において細胞増殖率が亢進しており、作用機序が異なっていた。

以上の研究は *Bmp7* と *Usag*-1 は歯の大きさの制御に関与していることを示唆し、臨床応用において、再生歯の形態形成に関わる技術開発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 29 年 2 月 22 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。