

|           |   |
|-----------|---|
| Title     | Immunolocalization of SP 6 , LEF 1 and Associated Factors in the Tooth Germ of Rat Molars |
| Author(s) | 小鹿, 真由  |
| Journal   | 歯科学報, 115(2): 154-155   |
| URL       | <a href="http://hdl.handle.net/10130/3570">http://hdl.handle.net/10130/3570</a>           |
| Right     |   |

|         |  |
|---------|--|
| 氏名(本籍)  | こしかまゆ (東京都)  |
| 学位の種類   | 博士(歯学)   |
| 学位記番号   | 第2067号(乙第779号)   |
| 学位授与の日付 | 平成26年6月18日   |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当   |
| 学位論文題目  | Immunolocalization of SP6, LEF1 and Associated Factors in the Tooth Germ of Rat Molars |
| 掲載雑誌名   | Journal of Hard Tissue Biology 第22巻 4号 481-488頁<br>2013年                               |
| 論文審査委員  | (主査) 山本 仁教授<br>(副査) 阿部 伸一教授 東 俊文教授<br>新谷 誠康教授 村松 敬教授                                   |

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

Wnt/Bcatenin 伝達経路の転写因子である LEF1 は象牙芽細胞の分化をコントロールすると考えられている。一方、SP6 は Wnt/Bcatenin 伝達経路に関与する因子と考えられ、その過剰出現により LEF1 が消失し、逆に欠損マウスでは増加すると報告されている。従って LEF1 と SP6 は互いに拮抗して機能し、歯の形成に関与すると考えられている。更に SP6 は BMP 伝達経路にも関連すると考えられているが、これらについて *in vivo* で詳しく検索した報告は見られない。そこでラット臼歯歯胚を用いて、両者に関連するいくつかの因子の局在を免疫組織化学的に検出し、象牙芽細胞とエナメル芽細胞の分化における LEF1 と SP6 の関与、および SP6 と Wnt/Bcatenin 経路や BMP 経路の関係について検索した。

#### 2. 研究方法

前象牙芽細胞と前エナメル芽細胞(分化期)が出現する胎生19日と、象牙芽細胞と分泌期エナメル芽細胞が出現する生後10日と、成熟期エナメル芽細胞の出現する生後15日のラット臼歯歯胚(M1)を試料とした。通法に従ってパラフィン連続切片を作成し、HE染色を行った。更に Wnt/Bcatenin 伝達経路についてはその転写因子である LEF1 と Wnt シグナルの阻害因子である DKK1 を、BMP 伝達経路については Smad の活性化を示す P-Smad1/5/8 を、さらに両伝達経路への関与が示唆されている SP6 について免疫組織化学的に検索した。

#### 3. 研究成績および結論

SP6 と P-Smad1/5/8 の免疫陽性反応は前象牙芽細胞と象牙芽細胞、内エナメル上皮と分泌期エナメル芽細胞において分化とともに強く発現したことから、これらの細胞では SP6 を介する BMP 伝達経路の活性化が示され、象牙芽細胞とエナメル芽細胞の分化やその分泌機能に SP6 と BMP 伝達経路の関与することが示唆された。一方、LEF1 陽性反応は前象牙芽細胞と前エナメル芽細胞に発現し、その分化とともに消失することから、両細胞の分化を制御することが示唆された。

DKK1 の免疫反応は SP6 の反応と同様に象牙芽細胞の分化とともに明瞭な陽性反応を示したことから、SP6 による DKK1 を介する Wnt 伝達経路の下方制御が象牙芽細胞における LEF1 の消失に関与していると考えられた。一方エナメル芽細胞では、分泌期エナメル芽細胞への分化にともない SP6 の陽性反応が明

瞭化した。DKK 1 の免疫反応は両細胞ともに不明瞭であった。したがって SP 6 はエナメル芽細胞における LEF 1 の出現を制御すると考えられるがその過程での DKK 1 の関与については不明である。

以上の所見から、SP 6 は BMP 経路を活性化し、また Wnt/Bcatenin 経路では LEF 1 の出現を制御して、エナメル芽細胞と象牙芽細胞への分化やその後の分泌機能にかかわっていると考えられた。

### 論文審査の要旨

本論文は Wnt/Bcatenin 伝達経路と BMP 伝達経路が象牙芽細胞とエナメル芽細胞の最終分化と分泌機能にどの様に関与しているかを LEF 1 と SP 6 に注目して *in vivo* で免疫組織学的に検索したものである。その結果、Wnt 経路の転写因子である LEF 1 は未分化な細胞に認められるが分化とともに消失した。逆に SP 6 と BMP 経路の活性化を示す P-Smad 1/5/8 は分化とともに反応が増強し、象牙芽細胞では Wnt 経路の阻害剤である DKK 1 も増強を示した。*in vitro* では SP 6 過剰発現が LEF 1 の出現を抑え、BMP 経路を促進させると言われていることから、象牙芽細胞とエナメル芽細胞において SP 6 は両細胞の分化とともに Wnt 経路を制御して(象牙芽細胞では DKK 1 を介して)LEF 1 の出現を抑え、一方で BMP 経路を活性化させての最終分化と分泌機能に関与する事が示唆された。

本審査委員会では 1. 観察したマウスの日齢(胎生19日と生後10日の間に日数が開いてる)について、2. 上下顎臼歯を観察しているが、差の有無について、3. DKK 1 以外の Wnt の阻害因子の関与について、4. 反応の客観的な評価について、などについて質問があった。これらの質問に対し 1. 胎生19日から生後10日の間のマウス歯胚は観察していないが、歯胚の細胞の分化程度で観察しているので特に問題はないと考えている、2. 上下顎の臼歯の発育状態にはわずかに差が見られた、3. DKK 1 以外にも阻害因子が関与していると考えられるが、本研究ではそれらについての検索はしていない、4. mRNA やタンパクの定量が必要であるが、本研究では行っていないので今後の研究課題にしたい、との回答があった。この他、論文中の表の改善等の指摘がなされた。

本研究で得られた結果は、今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。