

論文内容の要旨

報告番号		氏名	仲川 雅人
<p>Identification of novel genes related to tooth morphogenesis.</p> <p>歯の形態形成に関与する新規遺伝子の解明</p>			

論文内容の要旨

歯が咀嚼や発音、審美といった役割を果たすためには、それぞれの部位や役割ごとに適切な形態が形成されることが重要である。歯の複雑な形態形成過程における細胞増殖や分化、および移動の時空間的な調節は遺伝子発現により支持されており、これまでに歯の発生に関与する様々な遺伝子の発現が解明されてきた。しかし、歯の形態形成の根底にある分子メカニズムは完全には理解されておらず、その理解をさらに深めるためには未知の遺伝子の解明が重要である。そこで本研究では、歯の発生に関わる未知の遺伝子を明らかにするため、歯の発生の各段階における遺伝子発現を解析した。

はじめに、歯胚の発生に関与する遺伝子についてスクリーニングするために、胎齢 11、12、14、16、18 日の C57BL/6 マウスの歯胚を外科的に摘出し、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。同定された遺伝子の中で特徴的な遺伝子を選択し、それぞれの遺伝子の発現部位を明らかにするために、胎齢 12、14、16 日のマウス頭部切片を用いて臼歯歯胚における遺伝子発現を *in situ* hybridization により解析をした。さらに、発現の局在について確認するために、胎齢 12、14、16 日の歯胚を外科的に摘出し歯胚全体を RNA 抽出した群と上皮、間葉を分離しそれぞれを RNA 抽出した群を作成し、リアルタイム qPCR により遺伝子発現を解析した。

マイクロアレイによるスクリーニングの結果、41,252 のプローブが歯胚の発生過程において差次的に発現することが明らかになった。その中で、発現強度が中央値よりも高く、さらに 4 倍以上の発現量の変化を認めた 2,574 遺伝子を同定した。続いて、2,574 遺伝子の中でも歯の発生の初期に強い発現を認めた 327 遺伝子に着目し、*in situ* hybridization により解析した結果、17 の遺伝子において特徴的な発現が明らかとなった。*Pcdh10* は歯胚周囲の間葉で発現し、*Pdzd2*, *Ahnak*, *Nfib*, *Plec1*, *Slc7a5* は歯胚の上皮間葉いずれにおいても発現することが明らかになった。また、*Kremen2*, *Nr2f2*, *Jakmip2* はエナメルノット、*Ablim1* は上皮、*Penk1*, *Igfbp3*, *Cxcl14*, *Cnd2*, *Emid2*, *Loxl1*, *Tnfaip6* は間葉において発現することが明らかになった。さらに、これらの発現の局在について、リアルタイム qPCR により解析したところ、*Pdzd2*, *Ahnak*, *Nfib*, *Plec1*, *Slc7a5* は歯胚の上皮間葉いずれにもにおいて、*Kremen2*, *Nr2f2*, *Jakmip2*, *Ablim1* は上皮優位に、*Pcdh10*, *Penk1*, *Igfbp3*, *Cxcl14*, *Cnd2*, *Emid2*, *Loxl1*, *Tnfaip6* は間葉優位に発現することが明らかになり、*in situ* hybridization による解析結果と同様の発現傾向が示された。本研究の結果と、過去の他器官発生における各遺伝子の機能や、歯の発生において同様の部位で発現する遺伝子の機能との比較から、同定した 17 遺伝子はそれぞれ歯胚の領域決定や、細胞の未分化性や細胞周期の維持などに関与することが示唆された。今後これらの遺伝子の機能について解析をすすめることにより、歯の発生のプロセスの統合的な理解につながることを期待される。