HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A systematic analysis for localization of predominant growth fac tors and their receptors involved in the murine tooth germ differentiation by use of in situ hybridization technique [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	久本, 芽璃
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11708号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58669
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Meri_Hisamoto_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　氏名　久本芽璃

審査担当者
主査　教授　横山敦郎
副査　教授　網塚憲生
副査　教授　進藤正信
副査　教授　岩永敏彦（医学研究科）

学位論文題名

A systematic analysis for localization of predominant growth factors and their receptors involved in the murine tooth germ differentiation by use of in situ hybridization technique
（In situ hybridization 法によるマウス歯胚の分化に関連する成長因子と受容体の局在解析）

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

学位申請者が説明した論文の内容を以下に示す。

歯胚の発生は、隣接した組織から分泌される様々な成長因子のクロストークにより制御されている。近年、この分野の研究は進歩し様々な成長因子が同定されているが、in vivo におけるシステマティックな解析は不十分である。歯胚の分化の全体像を理解する上で、成長因子の局在と、因子同士の相互関係およびシグナル経路について明らかにする必要がある。本研究では in situ hybridization 法を用いて、胎子と新生子のマウスの歯胚における様々な成長因子と受容体の発現を調べた。

上皮間葉相互作用に関連する TGF-β のシグナルは、胎子では上皮から間葉へ向かい、特に TGF-β2 は歯根形成に関わる重要な因子と言える。一方、新生子では TGF-β1 が象牙芽細胞に、TGF-βR2 と Smad3 がエナメル芽細胞に発現した。以上より、TGF-β は胎子では象牙細胞の分化を、歯胚の成長が進むとエナメル芽細胞の分化を誘導すると予想された。BMP2/4 のシグナルは胎子では enamel knot から歯乳頭へ発せられた。新生子では BMP2 は象牙芽細胞からエナメル芽細胞へシグナルを発するが、BMP4 は BMP2 と異なりエナメル芽細胞に中程度に発現した。さらに新生子の Smad5 がエナメル芽細胞に発現したことから、新生子の BMP/Smad シグナルはエナメル芽細胞の分化に影響を与えると思われる。

PDGFA もまた上皮間葉相互作用の重要な因子であり、間葉と象牙芽細胞の分化を誘導すると言える。CTGF は胎子ではエナメル上皮に発現し、新生子では象牙芽細胞に発現したことから、発現部位が上皮から間葉へ移行するもう一つの例を示した。

歯小嚢には胎子では IGF-1、IGF-2、IGFBP3 が発現し、新生子ではそれらに加え CTGF と PDGFα が発現したことから、これらは歯周支持組織の分化に関連する重要な因子と言える。

また、胎子と新生子の IGF-1R と PDGFRα が中間層に発現したことから PDGFA と IGF-1 は協調して中間層の機能に影響を及ぼしている可能性がある。

咬頭の形成に関連する成長因子については、FGF4、BMP2、BMP4 が enamel knot に発現した。また、PDGFα が enamel-free area に発現したが、この部位の機能を明らかにするためには更なる研究が必要である。

申請者は、以上の学位論文の結論として、歯胚の発生には様々な成長因子が相互に絡み合って、複雑な歯牙の形態形成をしていくことを示した。

審査における各委員からの主な質問と回答は以下の通りであった。

1. cDNA probe はどのように作成したか？
   目的の mRNA の 45 塩基配列を２種類選択したものを外注にて相補的 DNA プローブを作製した。
2. FGF2 ではなく、FGF4 を選択した理由は何か？
   FGF２も検索したが、胎子、新生子ともに反応がなかったため FGF4 を選択した。
3. サービカルループのラベリングされた部位の細胞の増殖はあるか？
   発現する遺伝子のみを検索しているため細胞の増殖に関してはこの実験方法では確認できない。
4. PDGF の発現は様々であるが PDGF の歯の発生における役割は何か？
   本研究においては胎子、新生子ともに歯乳頭からその後に続く象牙芽細胞の分化を誘導する役割を果たすことが示されたが、過去の報告において、PDGFA は咬頭の形成に関連し、PDGFB が間葉の分化に影響を与えるとの報告があり、本研究とは異なる結論である。
5. Secondary enamel knot では BMP2 や FGF4 は発現するか？
   BMP2 は発現したが FGF4 は発現しなかった。これは過去の文献と一致する。
6. IGF のレセプターの分布について
   IGF-１R は胎子、新生子ともに中間層に強く発現したことから、IGFs/IGF-1R のシグナリングのメカニズムの解明が中間層の機能を考えるうえで重要であると思われる。

以上の様に、主査ならびに副査からの質問に対して、学位申請者は十分に説明し、回答をするとともに、今後の研究に対する展望が示された。

学位申請者は、本研究において歯胚の発生には様々な成長因子が相互に絡み合って、複雑な歯牙の形態形成をしていくことを示し、その内容は高く評価された。よって学位申請者は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。