

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
三倉文子	主査 教授 木下 光雄 副査 教授 黒岩 敏彦 副査 教授 大槻 勝紀 副査 教授 島原 政司
主論文題名 Association of <i>Tenascin-W</i> Expression with Mineralization in Mouse Calvarial Development (マウス頭蓋冠の発育における <i>Tenascin-W</i> の発現と石灰化との関連)	
学位論文内容の要旨	
《目的》 Tenascin ファミリーは、共通の構造を持つ一群の糖蛋白であり、細胞外マトリックスを構成する。Tenascin ファミリーは、近年報告された新しい蛋白で、4つのサブタイプがあることが報告されているが、いずれもその働きなど詳しいことは解明されていない。マウス <i>Tenascin-W</i> は、当初マウス成獣の脳や腎臓、脾臓に発現し、細胞増殖や粘着、移動に関与するとされていたが、その後の研究で軟骨内骨化と骨折治癒に関連して、軟骨膜/骨膜で発現することが報告されている。我々はこの <i>Tenascin-W</i> がマウス胎児の頭蓋冠に発現していることを発見し、その発現パターンを、発育段階を追って検討した。 《方法》 In situ hybridization の技法を用いて、胎児期・成長期の頭蓋冠における <i>Tenascin-W</i> の発現パターンを検討した。また、骨芽細胞分化モデルとして細胞培養を行い、分化誘導をかけた際の <i>Tenascin-W</i> の増減を調べた。	

《結 果》

まず、胎児期のマウス頭蓋冠においては、Tenascin-W は胎齢15日頃より発現が認められ、胎齢17日にかけて石灰化していく骨ドメインの先端に発現していた。そこで胎齢16日のマウス前頭縫合部の凍結標本を作成して、より詳しく発現部位を観察したところ、骨化の後期マーカーである Osteocalcin や Bone sialoprotein の発現している石灰化が進んだ骨ドメインには発現が見られず、今後石灰化が進んでいく前骨芽細胞および骨芽細胞に発現していた。

in vitro においては、マウスの歯髄細胞、クサ-A1 骨芽細胞系の細胞に石灰化誘導をかけ、Tenascin-W の発現量を quantitative RT-PCR で定量したところ、石灰化に伴って Tenascin-W が誘導されることが確認できた。

次に Tenascin-W による石灰化の関与を明らかにする目的で、生後におけるマウス頭蓋冠の Tenascin-W の発現を検討した。マウスの頭蓋冠はヒトと同様に複数の骨が縫合によって結合し、そのほとんどの縫合は一生を通じて開存を維持するが、前頭骨間にある前頭骨間縫合は、前方部 (AF) 及び後方部 (PF) に区分され、PF suture のみが生後3週までに閉鎖する。

Tenascin-W の発現は、生涯開存を維持する AF suture においては4週目まで発現が維持されたのに対し、PF suture においては縫合閉鎖の始まる2週頃から反応が抑制され、縫合が閉鎖する生後3週では完全に発現が消失した。

我々は以前、FGF2 (fibroblast growth factor 2) が頭蓋冠において、骨芽細胞の分化を促進するが最終段階である石灰化は抑制するということを報告してきた。そこで、子宮外胎児手術法を用いて胎齢15.5日の冠状縫合部に FGF2 ビーズを挿入し、骨芽細胞の分化及び石灰化の抑制を誘導した。その結果、冠状縫合に発現していた Tenascin-W の発現は、FGF2ビーズを挿入した24時間後には消失していた。

《結 論》

以上の結果から、Tenascin-W は骨芽細胞の骨分化の過程、中でも石灰化の際に発現し、石灰化が終了するに伴い発現が消失すると考えられ、石灰化に関与すると考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第	号	氏名	三倉文子
論文審査担当者			主査教授 木下 光雄	
			副査教授 黒岩 敏彦	
			副査教授 大槻 勝紀	
			副査教授 島原 政司	
主論文題名				
Association of <i>Tenascin-W</i> Expression with Mineralization in Mouse Calvarial Development				
(マウス頭蓋冠の発育における <i>Tenascin-W</i> の発現と石灰化との関連)				
論文審査結果の要旨				
<p>マウス <i>Tenascin-W</i> は、軟骨内骨化と骨折治癒に関連して、軟骨膜および骨膜で発現することが報告されている。申請者は、<i>Tenascin-W</i> がマウス胎児の頭蓋冠に発現していることを新たに発見し、その発現パターンを、発育段階を追って検討している。その結果、胎児期のマウス頭蓋冠においては、<i>Tenascin-W</i> は石灰化していく骨ドメインの先端に発現しており、骨芽細胞の石灰化に関与することが予測された。詳細に <i>Tenascin-W</i> の発現部位を観察したところ、石灰化が進んだ骨ドメインには発現が見られず、石灰化が進んでいく前骨芽細胞及び骨芽細胞に発現している所見を得ている。培養細胞においても、マウスの歯髄細胞、クサ-A1 骨芽細胞系の細胞に石灰化誘導をかけ、<i>Tenascin-W</i> の発現量を定量し、石灰化に伴って <i>Tenascin-W</i> が誘導されることを確認している。生後にマウス頭蓋冠の縫合における <i>Tenascin-W</i> の発現を検討し、生涯開存を維持する縫合においては発現が維持されたのに対し、閉鎖する縫合では抑制され、縫合が完了する段階では完全に発現が消失していることを確認している。これは、この頃から骨芽細胞の骨化が抑制されるためと考えられた。また、子宮外胎児手術法を用い、石灰化を抑制するとい</p>				

うことが知られている FGF2 ビーズを冠状縫合部に挿入し、骨芽細胞の分化及び石灰化の抑制を誘導すると、Tenascin-W の発現は消失した。

以上の結果から、申請者は Tenascin-W は骨芽細胞の骨分化の過程、中でも石灰化の際に発現し、石灰化が終了するに伴い発現が消失することを証明した。

申請者は、Tenascin ファミリーの一員である、Tenascin-W が骨芽細胞の石灰化に関与していることを明らかにした。

今後、頭蓋冠における縫合の癒合メカニズムを解明することによって、頭蓋骨縫合早期癒合症に対して、今後より有効な治療手段を模索できると考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Congenital Anomalies 49(2): 77-84, 2009