

論文内容の要旨

論文提出者	高良 憲洋
論文題目	Morphological study of tooth development in podoplanin-deficient mice
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>【研究目的】</p> <p>腎糸球体上皮抗原 podoplanin は、骨芽細胞から骨細胞に分化する osteogenesis 初期の骨細胞マーカーで、頭頸部ではエナメル上皮と象牙芽細胞で発現が見られ、エナメル芽細胞と象牙質形成後の象牙芽細胞では消失することから、硬組織発生の機能分子である可能性が考えられる。このことを提言する多くの <i>in vitro</i> 実験とマウス胚の報告があるが、podoplanin 遺伝子 (<i>Pdpn</i>) 欠損マウスはリンパ管形成不全と呼吸不全のため出生直後に死亡し、conditional KO (cKO) マウスの報告はない。そこで本研究は、<i>Pdpn</i> KO マウスと <i>Wnt1-Cre; Pdpn^{fl/fl}</i> を作出して硬組織発生における podoplanin の役割を検討した。</p> <p>【材料および方法】</p> <p>ターゲティング胚を TIGM と EUCOMM から購入し、<i>Pdpn</i> KO1st (<i>Pdpn^{+/-}</i>) と <i>Pdpn^{fl/+}</i> を作出した。<i>Wnt1-Cre</i> マウスと <i>Pdpn^{fl/fl}</i> を交配させ、神経堤外胚葉由来組織の <i>Pdpn</i> cKO マウス <i>Wnt1-Cre; Pdpn^{ΔΔ}</i> を作出した。胎生 18.5 日の <i>Pdpn</i> KO1st (<i>Pdpn^{-/-}</i>) マウス及び生後 2 週齢の <i>Wnt1-Cre; Pdpn^{ΔΔ}</i> マウス腎・肺の凍結切片および無脱灰の頭部切片を川本法にて作製した。podoplanin, nephrin, TTF-1 の蛍光免疫染色を行い、キーエンス顕微鏡ならびに共焦点レーザー顕微鏡で観察、ImageJ で定量し ANOVA 検定した。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p><i>Pdpn^{+/-}</i> マウスおよび <i>Pdpn^{+/+}</i> マウスの骨・腎・肺・頭頸部において podoplanin の発現が観察されたが、<i>Pdpn^{-/-}</i> マウスで観察されず、KO マウスの確立を確認した。<i>Pdpn^{-/-}</i> マウスで肺の萎縮が観察された。<i>Pdpn^{+/-}</i> マウス肺の podoplanin 発現量は <i>Pdpn^{+/+}</i> マウスの半量であったことから、podoplanin は heterozygous deletion の影響を受けることが考えられた。肺腺癌と II 型肺胞上皮マーカーである転写因子 TTF-1 の免疫染色では、<i>Pdpn^{-/-}</i> マウス肺胞管は TTF-1 陽性 II 型肺胞上皮で構成し、肺胞形成が見られなかったこと、呼吸不全で生下時致死であることから、podoplanin は肺胞上皮の II 型から I 型への分化に重要である事が示された。<i>Pdpn^{-/-}</i> マウス歯胚と頭蓋顔面骨に形態異常はなく、<i>Pdpn</i> は歯と頭蓋顔面骨の発生に必須ではないことが示された。<i>Wnt1-Cre; Pdpn^{ΔΔ}</i> マウスでは、神経堤由来の象牙芽細胞と歯槽骨に podoplanin 発現はなく、<i>Pdpn</i> cKO の個体が初めて示された。しかし、歯と頭蓋顔面骨に形態異常は観察されず、podoplanin はこれらの生育に必須でないことが示された。</p>	