

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲口 甲口保 乙口第 398 号 乙口保 口修	氏名	ARYA ADININGRAT (アリヤ アディニンラト)
審査委員	主査 岩本 勉 教授 副査 羽地 達次 教授 副査 福井 清 教授		

題目 Ctip2-mediated Sp6 transcriptional regulation in dental epithelium-derived cells

歯原性上皮細胞におけるCtip2によるSp6遺伝子の転写制御

要旨 歯の発生・分化は、口腔上皮とその下にある間葉組織の間の相互作用によって生じる連続的な遺伝子発現によって調節されている。遺伝子の機能喪失実験から転写因子の中で、Sp/KLFファミリーのSP6とCTIP2は、それぞれ歯の発生・分化に重要な働きをしていることが報告されており、さらにCTIP2はSp6遺伝子の働きの上流に位置すると報告されている。しかしながら、CTIP2によるSp6の発現制御機序についてはよく分かってはいない。

アリヤ君は、この点に着目し、CTIP2によって制御されるSp6転写調節機序の解明を目指した。

まず、出産後の1日目のラット下顎切歯において、SP6とCTIP2がエナメル芽細胞の核に共局在することを、免疫組織化学的染色法によって示し、これらの2つの分子の間に機能的に接点がある可能性を確認しました。次いで、*in silico*解析により、Sp6遺伝子のプロモーター領域でCTIP2のDNA結合モチーフを探索し、Sp6遺伝子のプロモーター領域にその候補を見出しました。その分析を踏まえて、いくつかのSp6プロモーターレポーターコンストラクトを作製し、Ctip2遺伝子発現ベクターとともに歯原性上皮細胞に導入し、それらのプロモーター活性を測定しました。その結果、CTIP2は歯原性上皮細胞G5において、1番目のSp6プロモーターからでなく、2番目のSp6プロモーターに、強く転写活性を抑制することを確認しました。さらに、2種類のCTIP2アイソフォームのうち、短いアイソフォームは長いものに比べて、より強い転写抑制活性があることを見出しました。また、その抑制効果がCTIP2タンパク質-Sp6遺伝子プロモーター領域への結合を介しているかどうかをChIP-PCR法により解析し、CTIP2が1番目と2番目の両方のSp6プロモーターに結合することを確認しました。このことは、EMSA解析でも確認されました。

本研究によって、転写因子CTIP2は直接Sp6遺伝子プロモーター領域に直接結合し、その活性を調節することで、歯の発生・分化を制御していることを示唆する結果を得ました。

本論文は、歯の発生・分化の理解に必要な基礎的研究で、歯科医学の発展に寄与するところが多大であると考えられた。よって、博士(歯学)の学位授与に相当すると判定した。