

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 口 甲口保 乙 口 乙口保 口 修	第 470 号	氏 名	神尾 強司
審 査 委 員	主 査 山本 朗仁 副 査 藤猪 英樹 副 査 工藤 保誠			

## 題 目

Expression of *fibroblast growth factor receptor1*, *-2c*, and *-3c* transcripts in mouse molars after tooth eruption

(マウス臼歯萌出後における線維芽細胞受容体 (*Fgfr*) 1, *-2c*, *-3c* 転写産物の発現)

## 要 旨

本研究では萌出後のマウス臼歯歯髄から RNA を回収する方法について検討した上で、歯髄内における *Fgfr1*、*-2c*、*-3c* 転写産物の経時的発現パターンと発現細胞について解析した。

2、4、8、12、16、20 週齢の ICR マウスを灌流固定 (4%PFA) 後、下顎第一臼歯 (M1) および上顎第一臼歯 (M1) を採取し、さらに 1 日間固定した。次に脱灰 (8% EDTA) を 1 週間実施したものを Quantitative real-time PCR (qPCR) に、2~3 週間実施したものを HE 染色および *in situ* hybridization (ISH) に使用した。qPCR 用の試料は Proteinase K 溶液を用いて、45°C で 70 分間処理し、さらに 70°C で 20 分間熱処理を加えた後にホモジナイズした。cDNA 合成時の逆転写には、遺伝子特異的なプライマーを用い、その後 PCR を行った。

まずは M1 を用い、RNA 回収方法の妥当性を評価した。*β-actin* 転写産物の qPCR における Cq 値を比較した結果、固定は Cq 値を増加させるが、固定と脱灰を行った各週齢間においては Cq 値の有意差は認められず、本回収方法は有効であると判断した。M1 における qPCR の結果は、*Dentin sialo phosphoprotein (Dspp)* および *Fgfr2c* 転写産物の発現レベルが生後 2 週齢で最も高く、4 週齢以降で低下した。一方、*Fgfr1* と *Fgfr3c* 転写産物のレベルは実験期間中一定であった。ISH により 2 および 4 週齢の象牙芽細胞に *Dspp*、*Fgfr1*、*Fgfr3c* 転写産物が検出された。また、8 週齢において修復 (反応) 象牙質に面した象牙芽細胞の一部に *Dspp* と *Fgfr1* の転写産物が認められた。

萌出歯から RNA を抽出する方法を改良することで、マウス臼歯における *Dspp* と *Fgfr* の発現パターンが明らかになった。また、FGF-FGFR シグナル伝達が、二次・三次象牙質形成を含めた萌出後の象牙質形成の制御に関与している可能性が示唆された。