

論 文 内 容 要 旨

題 目

Effects of *Wnt10a* and *Wnt10b* Double Mutations on Tooth Development

(*Wnt10a*および*Wnt10b*のダブル変異が歯の発生に及ぼす影響)

著 者

Kaoru Yoshinaga, Akihiro Yasue, Silvia Naomi Mitsui, Yoshiyuki Minegishi, Seiichi Oyadomari, Issei Imoto, Eiji Tanaka

内容要旨

① 研究背景

歯牙欠損症は、頭蓋顎顔面領域における先天性疾患の中でも非常に高頻度で歯科においてはう蝕・歯周病に次ぐ臨床上多く遭遇する疾患の1つであり、欠損が6歯以上に亘る場合には、その治療に健康保険が適用されるなど重要な疾患と位置付けられてきた。歯牙欠損症は特に多数歯欠損症において症候性も含め、いくつかの原因遺伝子が非常に古くより同定されてきた。非症候性の多数歯欠損症の原因遺伝子として *EDA*、*MSX1*、*PAX9*、*WNT10A* や *WNT10B* など様々な遺伝子が特定されており、原因遺伝子と歯牙の欠損部位に関して同定されているものもあるが *WNT10A* や *WNT10B* は欠損部位に関して明らかな報告はない。また *in vivo* 実験系で *Msx1*、*Pax9*、*Eda* を knockout したマウスでは口蓋裂や歯数減少が見られるものの *Wnt10a* や *Wnt10b* を knockout したマウスでは歯数減少がみられず、ヒトでの変異報告も孤発例のものが多かった。

② 研究目的

本研究では *Wnt10a* および *Wnt10b* の double mutant マウスを作製することで歯牙形成における *Wnt10a* および *Wnt10b* の機能補完の可能性を示し、双方の遺伝子が歯の発生に及ぼす影響を明らかにする。

③ 結果

- 1) *Wnt10a*^{-/-}、*Wnt10a*^{-/-};*Wnt10b*^{+/-}、*Wnt10a*^{+/-};*Wnt10b*^{-/-} マウスでは歯数の増加がみられ、*Wnt10a*^{-/-} マウスでは過去の報告と同様に下顎第三臼歯後方に第四臼歯が出現した。また *Wnt10a*^{+/-};*Wnt10b*^{-/-} マウスでは下顎 diastema に過剰歯の発現がみられ、*Wnt10a*^{-/-};*Wnt10b*^{-/-} では上顎切歯と上下顎第三臼歯は欠損していた。
- 2) double mutant マウスにおいて歯数だけでなく臼歯の咬頭パターンにも変化が生じておりで歯冠形態にも変化が見られた。
- 3) 上顎臼歯の歯根形態に着目すると *Wnt10a*^{-/-} マウスでは頬側遠心根と口蓋根の癒合が見

られ $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{+/+}$ マウスでも同様の表現型を認めた。 $Wnt10b^{-/-}$ 、 $Wnt10a^{+/+};Wnt10b^{+/+}$ 、 $Wnt10a^{+/+};Wnt10b^{-/-}$ マウスでは歯根の形態に変化はなく、 $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{-/-}$ マウスではすべての歯根が癒合しており単一根を呈していた。

- 4) 下顎臼歯の歯根に関しては $Wnt10a^{-/-}$ マウスでは歯髓腔の拡大がみられタウロドントを呈していた。 $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{+/+}$ マウスでは根分岐部の位置はより根尖側へと移動し、よりシビアなタウロドントを呈していた。 $Wnt10a^{+/+};Wnt10b^{-/-}$ マウスにおいては下顎臼歯の歯根形態に変化は見られず Diastema に存在する過剰歯は単一根であった。 $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{-/-}$ マウスでは近心根と遠心根が癒合しておりタウロドントを呈していた。
- 5) double mutant マウスにおいて体長を計測すると $Wnt10a$ および $Wnt10b$ の single knock out マウスおよび double knock out マウスを除く double mutant マウスでは wild-type と比べて体長に変化はなかったが、double knock out マウスでは著しい体長の減少を認めた。

④ 考察

$Wise^{-/-}$ や $Lrp4$ mutant マウスにおいて diastema における過剰歯の報告がなされており Wnt/β -catenin シグナルの上昇が diastema の歯胚である R2 の生存に寄与していると考えられた。本研究において $Wnt10b$ の single knock out マウスでは歯の数や咬頭のパターンに変化はなかったものの $Wnt10a^{+/+};Wnt10b^{-/-}$ では diastema に過剰歯の出現を認めた。これより $Wnt10a$ および $Wnt10b$ の量的変化が diastema における R2 の生存に繋がっていると示唆された。また $Wnt10a^{-/-}$ と $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{+/+}$ マウスでは下顎第三臼歯後方に第四臼歯の出現を認めた。第四臼歯の出現はこれまでに報告されている過剰歯出現のメカニズムとは異なる機構が関与していると考えられ、 $Wnt10a$ および $Wnt10b$ における functional redundancy の可能性が示唆された。

$Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{-/-}$ マウスでは $Dkk1$ を過剰発現させたマウスと同様に丸みを帯びた小さな歯を呈していた。これより $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{-/-}$ マウスにおける歯数の減少および歯冠形態の変化は Wnt - Shh - $Sostdc1$ ネガティブフィードバックループが関与している可能性が示唆された。また Wnt/β -catenin シグナルの標的遺伝子である EDA をノックアウトしたマウスにおいても同様の表現型が見られ、EDA シグナルをはじめとする他のシグナルの減少も $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{-/-}$ マウスにおける歯数減少に繋がっていると推察された。

また $Wnt10a$ と $Wnt10b$ はおもに β カテニンシグナルを介して骨の形成に関与しており、 $Wnt10a$ および $Wnt10b$ の single knock out マウスでは骨密度減少の報告はあるが体長には変化がなかった。本研究において double mutant マウスを作製したところ $Wnt10a^{-/-};Wnt10b^{-/-}$ マウスにおいて著しい体長減少を認めた。これより $Wnt10a$ と $Wnt10b$ は双方の遺伝子が働くことで全身的な骨の恒常性に寄与していると推察された。

歯数や歯の形態決定において $Wnt10a$ と $Wnt10b$ の両方の機能が重要であることが明らかになった。本研究で得られた知見は今後、歯の spatial patterning に関わるフィードバックループ機構を理解する上で意義があると期待される。