

## 論文審査の結果の要旨

氏名：平木 晶子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Analysis of genetic factors influencing susceptibility to dental caries by using a chromosome 2 substitution mouse strain

（第2番染色体置換マウスを用いた齲蝕感受性に関わる遺伝要因の分析）

審査委員：（主 査）日本大学教授 博士（理学） 吉垣 純子

（副 査）日本大学教授 博士（歯学） 久山 佳代

（副 査）日本大学教授 博士（歯学） 清水 武彦

齲蝕は環境要因と遺伝要因が相互に作用しあって生じる最も一般的な慢性多因子性疾患である。これまでに食餌（食事）内容や口腔内細菌叢といった環境要因に関する報告が認められるが、遺伝要因についての報告は少ない。

ヒトにおいて齲蝕の遺伝要因の研究が行われているが、環境要因を均一にできない問題がある。一方マウスにおいては、環境要因をほぼ同一にして齲蝕感受性の研究を行うことが可能である。ヒト齲蝕原因菌である *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) を用いた齲蝕誘発実験において、C3H/HeSlc 系統 (C3H)マウスに比べ C57BL/6CrSlc 系統 (B6)マウスは約 20 倍高いカリエスコアを示した。そのため、B6 マウスが齲蝕高感受性であり、C3H マウスが齲蝕低感受性であることが明らかとなっている。

過去の研究において、この 2 系統マウスを用いた量的形質遺伝解析から、齲蝕感受性に強く影響する遺伝要因が第 2 番染色体に存在する可能性が示された。また、齲蝕高感受性マウス B6 の第 2 番染色体を齲蝕低感受性である C3H の第 2 番染色体と置換した 2 番染色体置換マウス (B6-Chr.2<sup>C3H</sup>) が作製された。この B6-Chr.2<sup>C3H</sup> に齲蝕誘発実験が試みられ、B6-Chr.2<sup>C3H</sup> のカリエスコアは B6 に比べ約 1/6 に低下したため、第 2 番染色体が齲蝕感受性と関連していることが報告されている。

これらの報告を受け、本論文の著者はマウス第 2 番染色体が支配する齲蝕発症に関わる遺伝形質を知る目的で、齲蝕高感受性を示す B6 と齲蝕低感受性を示す C3H そして B6-Chr.2<sup>C3H</sup> の経時的刺激唾液分泌量、唾液緩衝能、顎下腺の組織学的特徴およびエナメル質硬度について比較、検討を行った。また、経時的唾液分泌量に関わる可能性のある遺伝子のうちマウス第 2 番染色体上に存在する遺伝子 (*Slc24a3*, *Slc9a8*) の mRNA 発現量を定量した。

まず経時的刺激唾液分泌量は、イソプロテレノールとピロカルピンの腹腔内投与後に、投与後 30 分まで 10 分ごとにマウス口腔内からピペットにて唾液の採取を行い、採取した唾液重量を測定した。唾液緩衝能は、唾液緩衝能測定装置チェックバフ<sup>TM</sup> (HORIBA Japan) と酸負荷液 (pH4.0 溶液 HORIBA Japan) を用いて、pH 変化量を求めた。顎下腺の組織学的特徴は、一定領域に含まれる導管細胞と腺房細胞の比率を画像解析ソフト (Image J) を用いて求めた。エナメル質硬度は、下顎左側第一臼歯の舌側におけるエナメル質をダイナミック超微小硬度計 (Shimadzu Japan) を用いて測定した。また、マウス顎下腺より抽出した RNA を用い RT-qPCR により *Slc24a3*, *Slc9a8* の発現量を測定した。

本研究により、本論文の著者は次のような結果を得た。

1. 経時的刺激唾液分泌量は、C3H と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> の総唾液分泌量が多く、ともに B6 に対して有意差が認められた。
2. 唾液緩衝能は、B6 が C3H と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> に比べ低い傾向にあったが、3 系統間で有意差は認めなかった。

3. 顎下腺の組織学的比較において、腺房細胞面積比率は C3H が高く、B6 と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> に対し共に有意差を認めた。B6 と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> の系統間では有意差は認めなかった。
4. エナメル質硬度は、C3H が高く、B6 と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> に対し共に有意差を認めた。B6 と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> の系統間では有意差は認めなかった。
5. 第2番染色体上で唾液分泌量への関与が示唆される *slc24a3*, *slc9a8* の顎下腺における mRNA 発現量は、C3H と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> が B6 より高く、2系統と B6 の間で有意差が認められた。

以上の結果から、C3H と B6 においては唾液分泌量、顎下腺の導管細胞と腺房細胞の割合そしてエナメル質硬度に有意差が認められたが、B6-Chr.2<sup>C3H</sup> と B6 においては唾液分泌量のみ有意差が認められたため、第 2 番染色体が支配する齶蝕感受性に関わる遺伝形質の一つは唾液分泌量であると本論文の著者は結論付けている。また、マウス第 2 番染色体上にある *Slc24a3* と *Slc9a8* の mRNA 発現量が、C3H と B6-Chr.2<sup>C3H</sup> において B6 よりも有意に高いことから、これらが顎下腺の唾液生成過程、唾液分泌過程で唾液分泌量に役割を担っている可能性を示した。

以上のことから、マウス第 2 番染色体が支配する齶蝕感受性に関わる遺伝形質の一つは唾液分泌量であることが明らかとなった。本研究は動物モデルを用い齶蝕発症に関わる遺伝要因について新たな知見を得たものであり、小児歯科臨床ならびに齶蝕予防法の発展に大きく寄与するものである。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成28年1月28日