

平成 21 年 6 月 2 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008年

課題番号：18592255

研究課題名 (和文)

器官培養法とRNA干渉法を用いたマウス下顎骨形成におけるBMP2の機能研究

研究課題名 (英文) Function of BMP2 in the development of mouse mandible by organ culture and siRNA

研究代表者福井 只美 (FUKUI TADAYOSHI)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：10267544

研究成果の概要：

骨形成因子 (BMP) は様々な組織・器官の発生・発達に重要な役割を果たしている増殖因子である。この研究ではマウス胎生期下顎および舌形成に BMP の果たす役割について調べた。その結果 BMP2 が金属プロテアーゼ 13 (MMP13) と MMP 阻害因子 1 (TIMP1) の発現バランスを調節することによりマウス胎生期の舌形成を制御していることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：BMP2、RNA干渉法、TIMP1、舌筋、器官培養法、マウス、メッケル軟骨、MMP13

1. 研究開始当初の背景

(1) BMP はさまざまな組織・器官の発育、発達

に重要な役割をはたしていることはすでに知られていた。

(2) メッケル軟骨、舌などの下顎の発育、発

達における BMP の役割の詳細についてはほとんど知られていなかった。

- (3) MMP、TIMP、両者のバランスがさまざまな組織・器官の発育、発達に重要な役割をはたしていることはすでに知られていた。
- (4) どのようなメカニズムが下顎の発育、発達において MMP、TIMP の発現及び両者のバランスを調節しているかはまだ明らかになっていなかった。

## 2. 研究の目的

- (1) メッケル軟骨、舌などの下顎の発生の調節における BMP の役割を明らかにする。
- (2) メッケル軟骨、舌などの下顎の発生の調節における MMP、TIMP の役割を明らかにする。
- (3) メッケル軟骨、舌などの下顎の発生の調節における BMP と MMP、TIMP との関係を明らかにする。

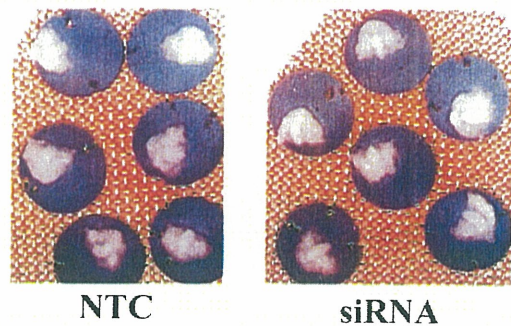
## 3. 研究の方法

- (1) 免疫組織化学的方法を用いて胎齢 11~15 日のマウス下顎における BMP、BMP 受容体、MMP、TIMP の発現を調べた。
- (2) 下顎器官培養法と RNA 干渉法を組み合わせるにより BMP2 の発現を抑制した。
- (3) 培養した下顎における BMP2、MMP13 の発現をウェスタンブロッティング法により解析した。
- (4) 培養した下顎における TIMP1~4 の発現を定量的 PCR 法により解析した。
- (5) 培養した下顎における BMP、MMP、TIMP の局在を免疫組織化学的方法により解析した。

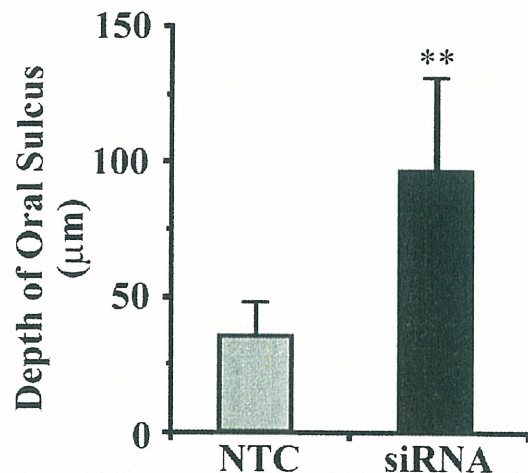
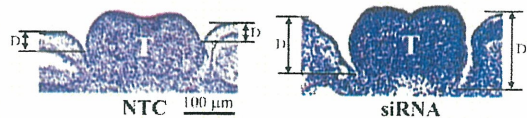
## 4. 研究成果

- (1) BMP2、4 が胎齢 11~15 日のマウス舌に発現が認められた。
- (2) BMP2 のレセプター (I 型、II 型、ActR-I) が胎齢 11~15 日のマウス舌の表層に発現していた。
- (3) TIMP1 が胎齢 11~15 日のマウス舌の表層に発現していた。
- (4) BMP13 の発現は胎齢 11~15 日のマウス舌の表層には観察されなかった。
- (5) BMP2 siRNA 処理はメッケル軟骨の形態形成に影響を与えた。

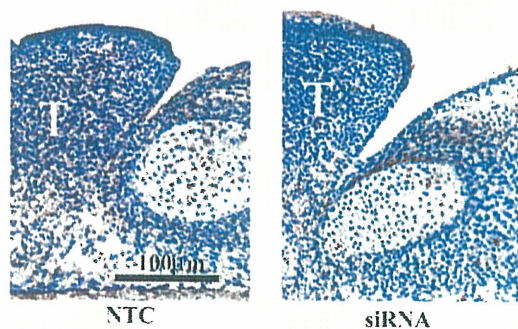
- (6) BMP2 siRNA は培養下顎全体の形やサイズに影響を与えなかった。



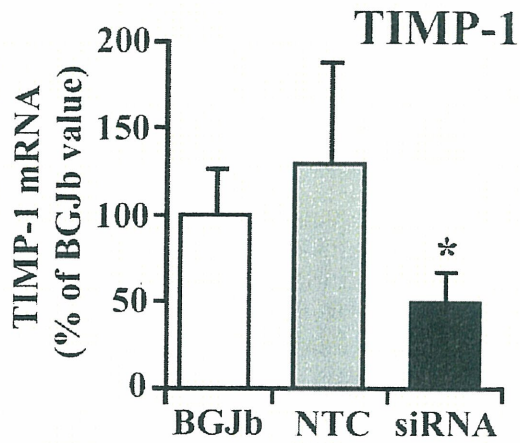
- (7) BMP2 siRNA 処理により約 3 倍舌の側溝が深くなった。



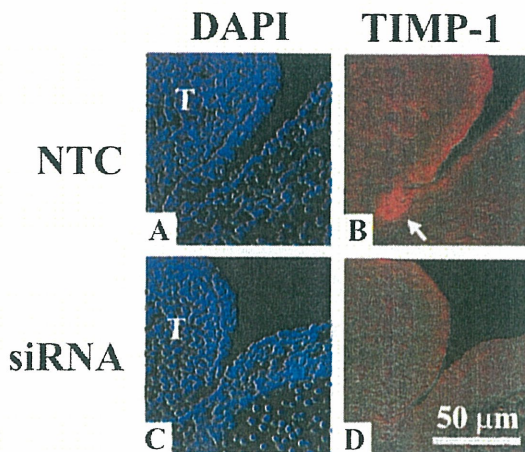
- (8) BMP2 siRNA 処理により舌の側溝の形成がおこる上皮領域では BMP2 の顕著な発現抑制が観察された。



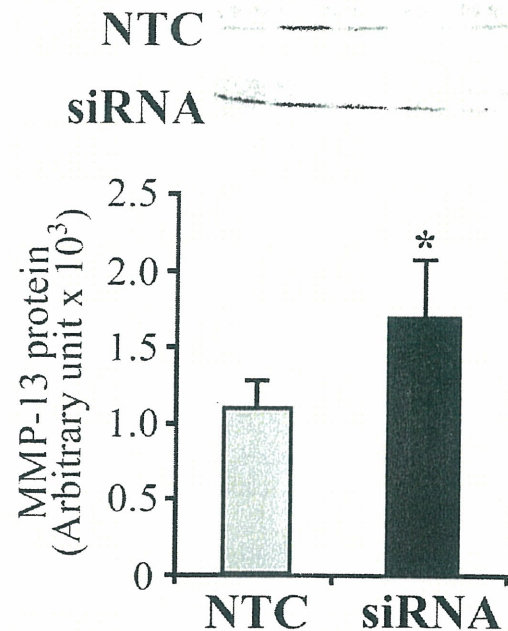
(9) BMP2 siRNA 処理は TIMP1 mRNA 発現を抑制した。



(10) BMP2 siRNA 処理は側溝形成部での TIMP1 蛋白質発現を抑制した。



(11) BMP2 siRNA 処理により、舌の側溝が形成される上皮領域に MMP13 の顕著な発現の上昇が認められた。



In Vivo の実験結果から BMP2 が舌筋の形成に関与している可能性が示唆された。また、In vitro の実験結果から BMP2 siRNA により BMP2 の発現を抑制すると、TIMP1 発現が抑制、MMP13 発現が促進、舌の側溝形成が促進されることが示された。BMP2 は MMP13、TIMP1 の発現バランスを変化させることにより、舌の側溝形成を調節している可能性が考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 8 件)

- ① KOTA, Y., YAMANE, A., TOMOHIRO, T. and ASADA, Y. : Contribution of occlusal activity on synaptogenesis in masticatory muscles. J. Dent. Res. In pres
- ② YAMANE, A., FUKUI, T., SUGA, T., IIDA, R. and MORITO, M. : TGF · 3 is expressed in differentiating muscle of the embryonic mouse tongue. Int. J. Dev.

- Biol. In press
- ③ LUAN, X., ITO, Y., HOLLIDAY, S., WALKER, C., DANIELL, J., GALANG, T. M., FUKUI, T., YAMANE, A., BEGOLE, E., EVANS, C., and DIEKWISCH, T. G. II.: Extracellular matrix-mediated tissue remodeling following axial movement of teeth. *J. Histochem. Cytochem.* 55(2): 127-140, 2007
  - ④ SUGA, T., FUKUI, T., SHIINOHARA, A., LUAN, X., DIEKWISCH, T. G. II., MORITO, M. and YAMANE, A.: BMP2, BMP4, and their receptors are expressed in the differentiating muscle tissues of mouse embryonic tongue. *Cell Tissue Res.* 329(1):103-117, 2007
  - ⑤ TOMOHIRO, T., YAMANE, A. and ASADA, Y.: Characterization of excess hard tissue occurring in the mesio-labial surface of the mandibular first molar in microphthalmic mouse. *Archs. Oral Biol.* 52 (9) :828-835, 2007
  - ⑥ SUGA, T., FUKUI, T., MORITO, M. and YAMANE, A.: Expressions of BMP2, BMP4, and their receptors during the development of mouse tongue muscle. *Jpn. J. Gerodontol.* 22(3):280-287, 2007
  - ⑦ AKUTSU, S., SHIMADA, A. and YAMANE, A.: Transforming growth factor · s are up-regulated in the rat masseter muscle hypertrophied by clenbuterol, a · 2 adrenergic agonist. *Brit J. Pharmacol.* 147(4):412-421, 2006
  - ⑧ MATSUMOTO, T., AKUTSU, S., WAKANA, N., MORITO, M., SHIMADA, A. and YAMANE, A.: The expressions of insulin-like growth factors, their receptors, and binding proteins are related to the mechanism regulating masseter muscle mass in the rat. *Archs. oral Biol.* 51(7):603-611, 2006

[学会発表] (計 8 件)

- ① 山根 明、福井只美: 器官培養系を用いたマウス舌形態形成の研究 生体運動合同班会議、東京大学駒場キャンパス、2009年1月11日
- ② 山根 明、福井只美: 分化過程のマウス舌筋細胞における TGF $\beta$  およびその受容体、シグナル伝達因子の発現 第50回歯科基礎医学会学術大会・総会、有明コンベンションセンター、2008年9月25日
- ③ 山根 明、福井 只美、菅 武雄、篠原 暁子、森戸 光彦: トランスフォーミング増殖因子 $\beta$ はマウス舌筋分化調節過程に関与している 日本動物学会第78回大会、弘前大学、2007年9月22日

- ④ 菅 武雄、山根 明、森戸光彦: 活発に分化しているマウス舌筋組織に BMP およびその受容体が局在している 第18回日本老年歯科医学会総会学術大会、札幌市教育文化会館、2007年6月22日
- ⑤ YAMANE, A.: BMP2 functions as a negative regulator for the differentiation of muscle, but not as an inducer for cartilage and bone in the embryonic development of mouse tongue Gordon Research Conference "Myogenesis", Il Ciocco, Italy, May 16, 2007
- ⑥ 山根 明、福井只美、菅 武雄、篠原暁子: BMP2はマウス舌筋芽細胞分化において負の制御因子として機能している 第80回日本薬理学会年会、名古屋国際会議場、2007年3月16日
- ⑦ YAMANE, A., NAGATA, J., FUKUI, T. and SUGA, T.: BMP2 inhibits the differentiation of tongue myoblasts 14th Conference of the international Society of Differentiation, Congress Innsbruck, October 8, 2006
- ⑧ YAMANE, A., NAGATA, J., FUKUI, T. and IIRASHITA, A.: Roles of BMP in the differentiation of tongue myoblasts 第40回日本発生生物学会大会、広島国際会議場、2006年6月2日

[図書] (計 1 件)

- ① 山根 明著、永末書店、スタディ歯科薬理学、2009年、216頁

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福井 只美 (FUKUI TADAYOSHI)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号: 10267544

### (2) 研究分担者

山根 明 (YAMANE AKIRA)

鶴見大学・歯学部・准教授

研究者番号: 20166763

(3) 連携研究者