

氏 名	Md. Nurul Islam
学 位	博士
専門分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第4734号
学位授与の日付	平成25年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則(文部省令)第4条第1項該当)
学位論文題目	Runx/Cbfb signaling is involved in postnatal development of the submandibular salivary gland. (Runx/Cbfb シグナリングはマウス顎下腺の成熟と機能維持に関与する。)
学位論文審査委員	松尾 龍二 教授 久保田 聡 准教授 山城 隆 教授

学位論文内容の要旨

The salivary glands in mammals are exocrine glands, consisting of secretory end pieces and duct systems that produce saliva and secrete enzymes to maintain oral health and systemic functions. There are three pairs of major salivary glands, the submandibular gland (SMG), sublingual gland (SLG) and the parotid gland (PG). The ductal system consists of intercalated, striated/granular convoluted tubules and excretory duct cells. Hormonal and genetic factors both play important roles in the development and regulation of salivary gland functions in adulthood.

Core binding factors (CBFs) are dimeric transcription complexes composed of an α unit (*Cbfa*) which binds to DNA and a stabilizing β subunit (*Chfb*). There is only one *Cbfb* subunit while an α subunit (*Cbfa*) is encoded by three mammalian genes: *Runx1*, *Runx2*, and *Runx3*, which all require *Cbfb* for their function. The *Runx* signaling system is known to be involved in the development of several organs made by epithelial-mesenchymal interactions in embryonic stage, furthermore, the development of hair and incisor teeth in adult mice.

This study investigated the role of the Runx signaling system in the development of the salivary gland. All experiments were carried out with *K14-Cre; Chfb^{fl/fl}* male mice which is *Chfb* defected in epithelial cells to investigate the genetic influence of *Runx-Chfb* signaling in salivary gland development. Epithelial *Chfb* deficiency resulted in decreased secretion of saliva and reduction in size of the submandibular salivary gland in adult mice, however, I couldn't find out significant difference in embryonic stage salivary gland. The result of microarray analysis demonstrated a significant reduction in *Fgf9* mRNA in the epithelial *Chfb* defected SMG. I also found out that FGF9 activates the proliferation of human salivary gland cell lines. This fact indicates that the decreased size of salivary gland in *Chfb* defected SMG may be caused by FGF signaling.

Microarray analysis also revealed significant down regulation of biologically active polypeptide genes such as *Egf*, *Ngf* and several *kallikreins* mRNA expression. These data indicate that malfunction of salivary gland might be occurred by epithelial *Chfb* deficiency via the downregulated *Egf*, *Ngf* and *Klks* expression. Additionally, microarray analysis also showed downregulated mRNA expression of cysteine-rich secretory protein 3 (*Crisp-3*), which is a potential biomarker for local androgen effect and also, down regulated mRNA expression of steroid 5alpha-reductases (*Srd5as*) and hydroxysteroid dehydrogenases (*Hsds*), which involve the last step of androgen steroidogenesis. It is likely that epithelial *Chfb* deficiency caused downregulation of local androgen steroidogenesis in SMG.

The present results provide the first genetic and cellular evidence that *Runx/Chfb* genes play a role in the postnatal development of SMG by activating *Fgf9* expression and hormonal regulation in adulthood.

学位論文審査結果の要旨

哺乳類の唾液腺は、口腔内に消化酵素等を含む唾液を分泌し、摂食嚥下機能のみならず口腔衛生状態や口腔内組織の健康状態を維持するために重要な器官である。唾液腺は、長い導管系を有し、腺終末部に漿液細胞と粘液細胞を持つ。一方、Runx/Cbfbシグナリングは、発生や癌化、幹細胞の維持など、多彩な機能をもつことが報告されている。特に、歯や毛包等の器官の上皮に存在する幹細胞の維持や、上皮細胞の分化に関与することが明らかにされている。本論文は、主要な唾液腺の1つである顎下腺に着目し、Runx/Cbfbシグナリングが唾液腺の発生・発達にどのように関与するのかを、Cbfb遺伝子改変動物を用いて検討したものである。

本研究では以下の結果が得られた。1) Runx遺伝子の α サブユニットである*Runx1*および*Runx2*と、 β サブユニットである*Cbfb*のmRNAがマウス顎下腺の導管部に発現していた。2) *K14*プロモーター下で*Cbfb*の機能を阻害した、上皮細胞特異的*Cbfb*ノックアウトマウス（以下*Cbfb* cKOマウス）の唾液腺を観察したところ、胎生期ではその表現型は認められなかった。3) 生後4週では、*Cbfb* cKOマウスの唾液分泌量が有意に減少し、顎下腺の大きさが減少した。4) マイクロアレイ法による*Fgf9*遺伝子群と*Bmp*遺伝子群の発現解析において、*Fgf9*の発現が*Cbfb* cKOマウスにおいて有意に減少した。5) FGF9は、*in vitro*においてヒト唾液腺由来細胞株（HSG細胞）の増殖を活性化した。6) 生後4週の*Cbfb* cKOマウスの顎下腺では、雄の顎下腺に存在する顆粒管組織の占める面積が有意に減少した。7) マイクロアレイ解析の結果では、アンドロゲンシグナリングに関与する複数の遺伝子発現が、*Cbfb* cKOマウスの顎下腺で低下していた。

これらの結果から、Runx/Cbfbシグナリングは顎下腺の上皮において、*Fgf9*の発現の制御を介して生後の唾液腺細胞の増殖に関与すること、アンドロゲンシグナリングの活性を介して顆粒管の出現に関与することを明らかにした。これらは、Runx/Cbfbシグナリングの新たな役割を示した最初の所見である。また、唾液腺の生後の発育、ならびに性差による特徴の違いの分子機構を明らかにする上で新たな知見を与えている。

上記の審査結果より、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。