

# Wnt signaling promotes tooth germ development through YAP1-TGF- $\beta$ signaling

長野, 良子

<https://hdl.handle.net/2324/7182390>

---

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (歯学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 : © 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.



氏 名 : 長野 良子

論 文 名 : Wnt signaling promotes tooth germ development through YAP1-TGF- $\beta$  signaling  
(Wnt経路はYAP1-TGF- $\beta$ 経路を介して歯胚の発生を促進する)

区 分 : 甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

歯の発生は上皮組織と間葉組織の相互作用により進行し、Wnt、BMP、SHH や Notch 経路などの細胞内シグナル伝達による精緻な機構により制御されている。遺伝子改変マウスにおける歯原性上皮特異的な Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化により、歯胚の形成不全および歯牙腫が発生することが報告されている。

最近、所属する研究室では、歯胚器官培養法を用いて CHIR99021 (GSK-3 阻害剤: 以下 CHIR) 刺激により Wnt/ $\beta$ -catenin 経路を活性化させたところ、細胞増殖を促進する軸索成長因子 Semaphorin3A の発現抑制を介した歯原性上皮細胞の増殖抑制に伴い、歯胚の形態形成の異常が生じることを報告した (Sci Rep. 2019)。また、歯胚器官培養において Semaphorin3A 刺激したところ、CHIR 刺激依存的な歯原性上皮細胞の増殖抑制は回復した一方、歯胚の形態異常は回復せず他の分子基盤を介して制御されていると考えられた。しかし、その詳細な分子基盤は不明である。そこで本研究では、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路が歯胚の形態形成を制御する新たな分子基盤を解明することを目的とした。

細胞増殖の他に Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化により抑制される細胞内シグナル伝達を同定するため、歯原性上皮細胞において CHIR 刺激により発現が減少した遺伝子群の Microarray データを基に、KEGG データベースを用いて Enrichment Pathway 解析を行った。その結果、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化により有意に抑制されるシグナル経路として、YAP1 シグナルおよび TGF- $\beta$  シグナルが検出された。これらの経路は歯の形態形成に関わることが報告されているが、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路との関係は不明であるため、本研究ではこれらのシグナル経路の関係性および、歯胚の形態形成に対する機能解析を行った。

歯原性上皮細胞において CHIR 刺激したところ、上記解析結果と同様に、YAP1 シグナルの下流標的遺伝子 (*Ctgf*, *Cyr61*) の発現が抑制された。また、本シグナルの主要な構成因子である転写共役因子 YAP1 の発現も減少した。そこで、活性型 YAP1 である YAP<sup>5SA</sup> の過剰発現株 (以下 YAP<sup>5SA</sup> 株) を樹立し、YAP<sup>5SA</sup> 株に CHIR 刺激したところ刺激依存的な *Ctgf* および *Cyr61* の発現抑制が回復した。したがって、歯原性上皮細胞における Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化は、YAP1 の発現抑制を介して YAP1 シグナルを抑制

することが示唆された。

一方、TGF- $\beta$  シグナルについても上記 pathway 解析結果と同様に、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化により下流遺伝子 (*Vimentin*, *Acta2*) の発現が抑制された。そこで、YAP1 シグナルの TGF- $\beta$  シグナルに与える影響について検討したところ、YAP1 シグナルは TGF- $\beta$  シグナルを促進することが示唆された。さらに、CHIR 刺激依存的な *Vimentin* および *Acta2* の発現抑制は YAP<sup>5SA</sup> 株において回復した。したがって、歯原性上皮細胞における Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化は、YAP1 シグナルを介して TGF- $\beta$  シグナルを抑制することが示唆された。さらに、TGF- $\beta$  シグナルが Wnt/ $\beta$ -catenin 経路および YAP1 シグナルにより制御されるメカニズムについて検討したところ、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の下流で YAP1 シグナルは TGF- $\beta$ 2 の発現を介して制御している可能性が示唆された。

以上の結果より、歯原性上皮細胞における Wnt/ $\beta$ -catenin 経路は、YAP1 の発現抑制を介して YAP1 シグナルおよび TGF- $\beta$  シグナルを制御することが示唆された。続いて器官培養法を用いて、歯原性上皮細胞における Wnt/YAP1/TGF- $\beta$  シグナルが歯胚の形態形成に与える影響について検討した。

胎生 15 日齢マウスより帽状期歯胚を摘出し CHIR 刺激下で培養したところ、歯原性上皮細胞株と同様に器官培養においても YAP1 シグナルおよび TGF- $\beta$  シグナルが抑制された。1 週間培養後の歯胚の切片を作製し形態形成について検討したところ、CHIR 刺激依存的な歯胚の形態異常は TGF- $\beta$ 1 刺激により回復した。また、その形態異常にはエナメル器の星状網を構成する細胞および星状網の面積の増大が関与している可能性が示唆された。

本研究結果により、歯原性上皮細胞における Wnt/ $\beta$ -catenin 経路は YAP1 の発現制御に依存した TGF- $\beta$  シグナルの活性化を介して、歯胚の形態形成を制御することが示唆された。