

氏名	かん ば とも み 神 波 大 己
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2572 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Failure of ureteric bud invasion: A new model of renal agenesis in mice (尿管芽侵入異常ミュータントマウスにおける腎形成不全に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 鍋 島 陽 一 教授 塩 田 浩 平 教授 小 川 修

### 論 文 内 容 の 要 旨

FUBI (Failure of ureteral bud invasion) は近交系 DDY マウスを背景に確立された腎形成不全を自然発症するミュータント系である。本系では、約60%という高い頻度で片側(50%)ないし両側(10%)の腎形成不全がみられ、残り40%のマウスは両側腎とも正常に発生する。この比率は両親マウスの表現型の組み合わせに関わらず一定である。両側腎形成不全の場合、生後2日以内に致死となる。FUBI は生殖器や骨格系など他の器官の異常を合併せず腎形成不全のみを唯一の表現型として示す点で非常にユニークなマウス系統であり、腎の発生過程を研究するモデル動物として非常に有用であると考えられる。

形態学的な観察から FUBI における腎形成不全は、胎生11日周辺で尿管芽が同側後腎間葉組織へ侵入することができないために後腎、尿管芽相互の分化誘導がかからず後腎の間葉系細胞がアポトーシスに陥るために引き起こされると考えられた。胎生11.5日での FUBI 腎原基を実体顕微鏡下で観察すると、尿管芽が後腎間葉組織に侵入しておらず分枝も見られないもの(57%)と既に尿管芽が後腎間葉組織に侵入・2分枝しているもの(43%)があった。この頻度は FUBI における最終的な正常腎発生(40%)と腎形成不全(60%)の頻度によく一致していた。それら腎原基を器官培養し胎生11日以降の腎発生過程の再現を試みたところ、前者では分化が進行せず後者では正常な分化が認められた。更に胎生11.5日の FUBI 後腎組織を同個体の背側脊索で分化誘導してやると正常な分化能を示した。これらの事実から FUBI の後腎組織そのものは正常であり、尿管芽の側に何らかの欠損がある可能性が示唆された。

マイクロサテライトマーカーを用いた遺伝解析の結果、FUBI 腎形成不全と連鎖する遺伝子座のひとつをマウス第2番染色体上、セントロメアから約65cMの位置にマップし、この遺伝子座を *fubi1* と命名した。この領域には FUBI の原因となりうる2つの候補遺伝子、*Wilms' tumor 1 (WT1)* および *formin (Fmn)* が存在する。これらの遺伝子はともに腎発生において非常に重要な役割を果たしている。これら2つの遺伝子の胎生11.5日における腎組織での発現を RT-PCR 法にて検討したが、正常対照マウス NFS/N との間に発現の差は確認されなかった。*Fmn* は大きい遺伝子で多くの変異が記載されておりその大部分は下肢の変異を伴うが、FUBI と非常に近い表現型を示すものも知られている。*Fmn* に関してはコード領域のシーケンスを行ったが変異は見つからなかった。

*Fubi1* の腎発生への影響をより深く解明する目的で FUBI と NFS/N の間で相互にこの *fubi1* に関するコンジェニック系統を作成した。ところが *fubi1* のみ FUBI 由来のコンジェニック系統 NFS-*fubi1*<sup>FUBI</sup> では腎形成不全は認められず、*fubi1* 座位は腎形成不全の原因遺伝子座ではなく修飾遺伝子座のひとつであることが示唆された。またコンジェニック系統と親系統との間の交配実験から *fubi1* の腎形成不全に与える効果は dose dependent であった。これらの観察から FUBI における腎形成不全には少なくとも2つの遺伝子座の相互作用が必須であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

FUBI (Failure of ureteric bud invasion) は近交系 DDY マウスを背景に確立された腎形成不全を自然発症するミュータント系である。生殖器や骨格系など他の器官の異常を合併せず腎形成不全のみを唯一の表現型として示す点で非常にユニークなマウス系統であり、腎の発生過程を研究するモデル動物として有用であると考えられる。

形態学的な観察から FUBI における腎形成不全は、胎生11日周辺で尿管芽が同側後腎間葉組織へ侵入することができないために後腎、尿管芽相互の分化誘導がかからず、後腎の間葉系細胞がアポトーシスに陥るために引き起こされると考えられた。器官培養実験の結果、FUBI の後腎組織そのものは正常であり尿管芽の側に何らかの欠損がある可能性が示唆された。

マイクロサテライトマーカーを用いた遺伝解析により、FUBI 腎形成不全と連鎖する遺伝子座のひとつを第2番染色体セントロメアから約65cM の位置にマップし、この遺伝子座を *fubi1* と命名した。この領域には FUBI の原因となりうる2つの候補遺伝子、*Wilms' tumor 1 (WT1)* および *formin (Fmn)* が存在する。これらの遺伝子はともに腎発生において非常に重要な役割を果たしているが、RT-PCR およびシーケンス解析では FUBI への関与は否定的であった。

FUBI と NFS/N の間で相互にこの *fubi1* に関するコンジェニック系統を作成し、*fubi1* の腎発生への影響を検討した。*fubi1* は腎形成不全の原因遺伝子座ではなく修飾遺伝子座のひとつであり、FUBI における腎形成不全には少なくとも2つの遺伝子座の相互作用が必須であることが示唆された。

以上の研究は腎臓発生の理解に貢献し、臓器発生の分子機構の解明に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成15年1月22日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。