

京都大学	博士 (医学)	氏名	富田 真弓
論文題目	<b>Bmp7 Maintains Undifferentiated Kidney Progenitor Population and Determines Nephron Numbers at Birth</b> (Bmp7 は腎前駆細胞を未分化な状態で維持することで出生時ネフロン数を決定する)		
(論文内容の要旨)			
<p>低出生時体重は高血圧や糖尿病、心血管疾患、慢性腎臓病のリスクと関連する。低出生時体重は腎臓の機能単位であるネフロンの数と相関することが報告されており、ネフロン数が少ないと代償性糸球体肥大と将来の腎機能低下をもたらすと推察されている。しかしながら、ネフロン数を決定する分子機構はほとんど解明されていない。</p> <p>腎臓は後腎間葉系細胞と尿管芽の相互作用によって形成され、尿管芽の周囲に凝集した後腎間葉系細胞が上皮化した後、糸球体上皮細胞から遠位尿細管までのネフロンの大部分へと分化する。従って、ネフロン前駆細胞は後腎間葉系細胞に存在すると考えられている。</p> <p>骨形成因子 <b>Bmp7</b> ノックアウトマウスのネフロン数は極めて少ないが、同マウスでは腎発生がごく早期に停止してしまうため、<b>Bmp7</b> の詳細な機能は不明であった。本研究では、<b>Bmp7</b> コンディショナルノックアウトマウスと全身性 <b>Cre</b> 誘導マウスを交配し、母体マウスにタモキシフェンを投与することで腎発生 of 任意の時点で <b>Bmp7</b> をノックアウトする手法を用いて、腎発生における <b>Bmp7</b> の役割を解析した。</p> <p>胎生 12.5 日にタモキシフェンを投与し胎生 14.5 日で解析したところ、腎臓の <b>Bmp7</b> 発現は約 20% に低下した。腎臓の大きさや後腎間葉系細胞数はコントロールと同等であったが、後腎間葉系細胞のアポトーシスは有意に増加していた。また、ノックアウト腎では、コントロール腎ではほとんどみられない成熟糸球体が認められた。</p> <p>次に、胎生 12.5 日にタモキシフェンを投与し胎生 18.5 日で解析したところ、腎臓の <b>Bmp7</b> 発現は約 10% であった。コントロール腎に比し、ノックアウト腎は小さくネフロン数が低下し、後腎間葉系細胞数も減少していた。後腎間葉系細胞のアポトーシスが増加しており、これによって後腎間葉系細胞が減少したと考えられた。さらに、胎生 14.5 日と同様に、不相応に成熟した早熟糸球体がコントロール腎より有意に多く認められた。ネフロンあたりの近位尿細管長も増加しており、遠位尿細管についても同様の傾向がみられたため、ノックアウト腎では尿細管も早熟していると考えられた。</p> <p>後腎間葉系細胞の上皮化がネフロン形成の初期過程であるため、<b>Bmp7</b> ノックアウトマウスでは後腎間葉系細胞の上皮化が促進された結果ネフロンが早熟するという仮説を立て、この仮説を検証するため腎器官培養系を利用した。<b>Bmp7</b> コンディショナルノックアウトマウスと全身性 <b>Cre</b> 誘導マウスを交配し、胎生 12.5 日で両側の腎臓を採取、一侧をタモキシフェン入り培地、対側腎をコントロールとして溶媒入り培地で培養し、72 時間後に回収したところ、<b>Bmp7</b> 発現は約 10% に低下した。上皮化のマーカである <b>Jagged1</b> 染色にて、ノックアウト腎ではコントロール腎に比し後腎間葉系細胞の上皮化が有意に促</p>			

進していることが確認された。

次に、マウスの後腎間葉系細胞をフィーダー細胞と共培養し分化すると上皮化してシート状のコロニーを形成する実験系、コロニーアッセイを用いてさらに解析を行った。この系に **Bmp7** を添加すると、投与量依存性にコロニーの形成が抑制され、**Bmp7** のアンタゴニストである **Noggin** を同時添加すると抑制作用が解除された。従って、この系でも **Bmp7** による後腎間葉系細胞の分化抑制作用が示された。

以上より、**Bmp7** は腎前駆細胞のアポトーシスと分化を抑制することで前駆細胞プールを維持し、ネフロン数を決定していることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

腎臓の機能単位であるネフロンの数が先天的に少ないことは腎疾患進展リスクと関連するが、ネフロン数を決定する分子機構はほとんど解明されていない。骨形成因子 **Bmp7** ノックアウトマウスのネフロン数は極めて少ないが、腎発生がごく早期に停止してしまうため、**Bmp7** の詳細な機能は不明であった。本論文では、**Bmp7** コンディショナルノックアウトマウスと全身性 **Cre** 誘導マウスを用いて、腎発生 of 任意の時点で **Bmp7** をノックアウトすることで、**Bmp7** の腎発生における役割を解析した。

胎生期 **Bmp7** ノックアウト腎では、ネフロン前駆細胞のアポトーシスが增加する一方で、ネフロンの早熟が認められた。次に、腎器官培養系を用いた解析では、**Bmp7** ノックアウトを行ったところ、コントロール腎に比してネフロン前駆細胞の上皮化が有意に促進していた。ネフロン前駆細胞が上皮化するとシート状のコロニーを形成する実験系を用いてさらに検証した。この系に **Bmp7** を添加すると、コロニーの形成が抑制された。従って、胎生期 **Bmp7** ノックアウトマウスでは、ネフロン前駆細胞の上皮化が促進された結果、ネフロンが早熟すると考えられた。

以上より、**Bmp7** は腎前駆細胞のアポトーシスおよび過度の分化を抑制することで前駆細胞プールを維持し、ネフロン数を決定していることが示唆された。

以上の研究は、ネフロン数決定分子機構の解明に貢献する研究である。したがって、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 26 年 5 月 15 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降