

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	宇野 亘
論文題目	マウス胚尿生殖洞上皮を用いた初期前立腺発生における FGF10、WNT、レチノイン酸シグナルの機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>前立腺は精子の保護および精子への栄養供給を担う前立腺液を分泌する器官である。胚において前立腺発生は、膀胱直下の尿生殖洞(Urogenital sinus, UGS)と呼ばれる領域が、精巣由来テストステロンの影響を受け始まる。その後、尿生殖洞上皮(Urogenital epithelium, UGE)と尿生殖洞間充織(Urogenital mesenchyme, UGM)の間でシグナル分子の相互作用が起こる事により、前立腺芽の出芽が起こる。先行研究では UGS を用いたシグナル分子の機能解析が行われてきていたが、UGS は UGM と UGE から構成されるため、先行研究の方法では UGM から分泌される前立腺形成抑制因子の影響を除外できなかった。加えて、出芽が起きる前の“pre-budding 期”において雌雄で遺伝子発現に差異が生じている事が近年の研究で示されているが、pre-budding 期の前立腺分化に関してはこれまでほとんど調べられていなかった。</p> <p>申請者は、Embryonic day 13.5(E13.5)のマウス胚 UGS から酵素処理によって UGE を単離して培養する事で、前立腺の分化におけるシグナル分子の UGE に対する直接的影響を解明する事を目的とした研究を行った。</p> <p>本研究で申請者はマウス胚由来 UGS から UGE を酵素処理によって単離し、マトリゲル中で培養する事により、間充織細胞フリー環境におけるシグナル分子の UGE に対する直接的影響を評価する方法を開発した。更に、早期の pre-budding 期である E13.5 の UGS を使用する事により、pre-budding 期における前立腺系譜への分化の解析が可能となった。</p> <p>上述の方法を用いて解析を行った結果、FGF10 は UGE に対して出芽を引き起こす為に必要である一方で、FGF10 存在下においてテストステロンは前立腺系譜への分化に大きな寄与をせず、FGF10 とテストステロンが共に前立腺遺伝子の発現上昇に不十分である事が判明した。次に、pre-budding 期の分化におけるシグナル因子の役割を組織培養によって解析したところ、カノニカル WNT と低濃度 FGF10 が pre-budding 期における前立腺系譜の分化を促進する一方で、レチノイン酸は尿道系譜への分化を促進する事が判明した。更に、出芽が起きた後の“budding 期”における前立腺芽の分化および伸長には、レチノイン酸と高濃度 FGF10 が必要である事が明らかにされた。加えて、本研究で示されたテストステロンを含まないシグナル因子の組み合わせを用いることにより、オス UGE と同様、メス UGE においても前立腺芽が誘導された。更に、<i>in vitro</i> で誘導したオス前立腺芽を同ステージの UGM と組み合わせ、マウスの生体内に移植したところ、成熟化した前立腺上皮が発生した。これにより、FGF10、WNT、レチノイン酸により誘導された前立腺芽が、前立腺として成熟化する能力を有していたことを示した。</p> <p>以上の結果から、胚性前立腺の分化における FGF10、カノニカル WNT、レチノイン酸の UGE に対する直接的、および時期特異的な機能の一端が解明された。加えて、前立腺の分化においてこれまで解明が不十分であった pre-budding 期における分化の過程が解析された。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

前立腺の発生には、UGMから分泌される様々なシグナル分子が関与している。本論文は、胚性の前立腺である前立腺芽の分化に関わるシグナル因子を解明するために、組織培養後の形態および遺伝子発現の変化を解析したものである。

先行研究で用いられた、UGSに対するテストステロン処理による前立腺系譜への分化という方法には、UGMから分泌される前立腺形成抑制因子の影響を除外できないという問題が存在した。加えて、前立腺芽の出芽が起きる前の“pre-budding期”において雌雄で遺伝子発現に差異が生じているが、pre-budding期の前立腺分化に関してはこれまで十分に解析されていなかった。そこで本研究では、Embryonic day 13.5(E13.5)の Maus胚UGSから酵素処理によってUGEを単離して培養し、前立腺の分化におけるシグナル分子のUGEに対する直接的影響を解析した。申請者は初めに、先行研究において前立腺発生への必要性が示されている、テストステロンとFGF10に関して、UGEに対する前立腺芽誘導能をUGEの組織培養によって解析した。結果、FGF10はUGEに対して出芽を引き起こす為に必要である一方で、テストステロンは出芽を誘導できず、FGF10存在下においてもテストステロンが前立腺系譜への分化に大きな寄与をしない事が判明した。更に、経時的な遺伝子発現変化の解析結果から、FGF10とテストステロンが共に前立腺遺伝子の発現上昇に不十分である事も判明した。前立腺の発生におけるテストステロンの重要性を示す従来の知見に、時空間的特異性を付与する重要な知見と言える。

次に、pre-budding期の分化におけるシグナル因子の役割を組織培養によって解析したところ、カノニカルWNTとFGF10がpre-budding期において、前立腺前駆細胞系譜への分化を促進する一方で、尿道系譜への分化を抑制する事が判明した。逆に、レチノイン酸は前立腺前駆細胞への分化を抑制し、尿道系譜への分化を促進する事が判明した。出芽が起きた後の“budding期”における前立腺芽の分化におけるシグナル因子の機能を解明するために、WNTアゴニストとFGF10で2日間培養したUGEを、更に2日間別のシグナル因子を添加して培養を行った。その結果、高濃度のFGF10とレチノイン酸が前立腺芽の誘導に必要な事が示された。具体的には、高濃度のFGF10は前立腺芽の形成に必要な一方で、レチノイン酸はFGF10存在下では出芽には必要ではないが前立腺芽マーカー遺伝子の発現上昇並びに前立腺芽の伸長に必要な事が判明した。本研究で確立されたシグナル因子の組み合わせは、オスUGEと同様、メスUGEにも出芽を誘導し、胚性前立腺のマーカー遺伝子の発現上昇を引き起こす事が示された。これは、一連のシグナル因子によって、UGE単体で前立腺芽の発生を可能にしたことを示すものである。

最後に、UGMとの組み合わせおよび免疫不全マウスへの移植によって前立腺上皮の成熟が起った事から、誘導された前立腺芽が成熟能を維持する事が示された。本研究で明らかにされた知見は今後、ヒト多能性幹細胞由来の前立腺系譜組織の誘導方法の開発に活かされることが期待される。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、発生生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい手法や概念等が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和5年7月11日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日