

論文審査の結果の要旨

氏名 小林 寛基

本論文は2章からなる。第1章は、*Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスと *Six1* 遺伝子変異マウスをもちいた研究によって初期腎発生の重要な現象である尿管芽の後腎間充織への引寄せにおいて、*Gdnf*の発現を *Six1* と *Six4* が協調して制御することによって腎発生に関わっていることについて述べられている。加えて、*Six1* と *Six4* による他の腎形成に必須な遺伝子の制御についても述べられている。まず、*Six1* と *Six4* がともに発生期の腎形成間充織に発現している事が確認された上で、*Six4* 遺伝子の欠損によって *Six1* 遺伝子変異マウスの腎臓における尿管及び後腎間充織の表現型が重篤化していることが形態的及び組織学的に記述されている。そして、*Six1* 遺伝子変異マウスと比べ、*Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスでは尿管芽が全く形成されないことに関しては、必須な尿管芽の誘因因子である *Gdnf*の発現が *Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスにおいてはじめて完全に欠損していることから説明されている。また、後腎間充織における *Sall1* や *Pax2* の発現に加えて、あらたに発現が同定された *Pax8* の後腎間充織での発現が *Six1/Six4* 遺伝子変異マウスによって欠損していることが示され、後腎間充織の表現型の重篤化の一因である可能性についても述べられている。一方で、中腎領域における中腎細管の形成には *Six1* 遺伝子のみが必須であり、*Six4* 遺伝子との機能的重複がみられないことが組織学的に示されている。さらに、中腎細管における *Six1* 依存的 *Pax2* の発現が中腎細管の形成に必須であるという可能性についても遺伝子変異マウスの解析によって示されている。確かに、定性的評価のみで定量的評価がかけられている点及び分子生物学的解析が不十分であるという指摘がある。しかし、従来、*in vitro* において *Six1* と *Six4* の機能的研究がされてきたにも関わらず、実際の *Six1* と *Six4* の機能の解明は不十分であった中、*in vivo* における *Six1* と *Six4* による機能的類似性及び違いがあることを示している点において十分評価しうると考えられる。本論文の第1章における研究は、*Six4* 遺伝子変異マウスの解析では *in vivo* における機能が未知であった *Six4* が、腎発生において機能している事を示した点において新規であり意義があると考えられる。また、中間中胚葉及び、中間中胚葉由来の二つの組織（ウォルフ管と腎形成間充織）に発現している *Pax2* 及び *Pax8* の発現がウォルフ管と腎形成間充織で異なる制御を受けている事が遺伝子変異マウスの解析から示唆されている点においても、初期腎発生における二つの構造体（ウォルフ管と腎形成間充織）の発生の違いを研究する手がかりを与え得ると考えられ意義があると考えられる。加えて、従来の *Six1* 遺伝子変異マウスの腎臓に関する解析において、報告された論文間で結果の齟齬が生じていた *Pax2* 及び *Gdnf* の発現に関して、正確な結果を示した点、及び、間違っ記述されていた中腎領域における表現型を明らかにした点においても *Six* の腎発生における機能の解明において意義

があるものになっていると考えられる。

第2章は、*Six1* と *Six4* 遺伝子両方を欠損させることで初めて見いだされた *Six* 遺伝子が性腺の雄の性分化に必須であることについて述べられている。まず、*Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスのXY型の性腺において、雄に特徴的な構造が外見上及び組織学的に観察されないことに関して述べられており、加えて、発生期の性腺の雄への分化が切り替わった直後の段階から雄に特徴的な構造変化、及び雄特異的な体細胞（セルトリ細胞及びライディッヒ細胞）への最終的分化が生じていないことについて、形態的またはマーカー遺伝子によって確認されている。雄から雌型の性腺への分化の切り替わりが生じている根拠として、XY型の *Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスの性腺ではRT-PCRによって雌優位の遺伝子である *Fst* の発現の上昇及び、胎生期には雌の性腺でしか生じない生殖細胞の減数分裂が確認されることから述べられている。確かに、例数が少ない並びに全ての個体が完全に雌化していないという指摘がある。しかし、XX型の *Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスでは雄型化した生殖器は観察されない点及び、XY型の *Six1/Six4* 二重遺伝子変異マウスの性腺に関して異なる複数の観察から示唆されており、*Six1* 及び *Six4* 遺伝子の欠損の結果、性腺の分化が雄型から雌型への切り替わりが誘発されていると考えることができる。本論文第2章における研究は、従来マウスだけでなく他の動物種において全く予想もされていない雄の性腺の性分化に関して *Six* 遺伝子が必須である事を示している上で、*Six* 遺伝子の機能の新側面の解明に結びつく点、ならびに発生学上非常に興味深い性分化という現象の解明に前進を与える可能性がある点において、非常に新しく意義があるものと考えられる。

なお、本論文第1章は、浅島 誠・川上 深・西中村 隆一との共同研究であるが、論文提出者が主体となって *Six* 遺伝子の腎臓における機能の分析及び検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。