

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 高里 実

本論文はイントロダクションとそれに続く 2 章からなる。

イントロダクションではマウスの腎臓発生に関する形態的、分子生物学的知見が適切に紹介されており、論文提出者の研究に十分な必然性を与えていると見なせる。

第 1 章では、前半で胎生期マウス腎間葉系細胞に発現する遺伝子の網羅的な同定について、後半で重要遺伝子のスクリーニングについて述べられている。第 1 章の前半では、*Sall1-GFP* ノックインマウスを使用して、マウス胎生期腎臓の間葉系細胞のみを単離し、マイクロアレイによって腎間葉系遺伝子を網羅的に同定している。その結果、約 400 遺伝子が腎間葉系細胞で発現していることが明らかにされた。マイクロアレイの結果は以下の理由により非常に信頼のおけるものである。第一に、*Sall1* や *GDNF*、*Pax8* などの既知の腎間葉系遺伝子が多数含まれていたこと。第二に、*in situ* ハイブリダイゼーションによって上位 50 の遺伝子のうち 84% が実際に腎間葉系細胞に発現していることを確認したこと、である。また、新規の間葉系遺伝子を多数同定すると共に、胎生期腎臓におけるそれら遺伝子の詳細な発現パターンを明らかにしている点で、新規性のある興味深い研究である。

第 1 章の後半では、網羅的に同定された遺伝子群の中から、ジーンターゲットイング（いわゆるノックアウトマウス）の対象とする遺伝子を 3 つの方法で選定している。1 つ目の方法では、*in situ* ハイブリダイゼーションにより、新規間葉系遺伝子 50 遺伝子の胎生期腎臓における詳細な発現パターンを解析し、組織特異的な発現パターンを持つ遺伝子を候補としている。2 つ目の方法では、*Sall1* ノックアウトマウスを用いて、腎間葉系遺伝子の中から *Sall1* ノックアウトマウスの胎生期腎間葉で発現の低下している遺伝子を探索し、同定された遺伝子を候補としている。3 つ目の方法では、パブリックデータベースを利用して、腎がんと発生期腎臓で共通に発現している遺伝子を探索し、同定された遺伝子を候補としている。論文提出者は以上の 3 つの選定方法によって、計 9 種類の候補遺伝子を同定している。選定された候補遺伝子群には、高確率で腎臓発生に重要な既知の遺伝子が含まれており、この結果はスクリーニングの妥当性を証明するものであると認められる。

第 2 章では、第 1 章で選定した *TRB2* 遺伝子のノックアウトマウスの解析について述べられている。第 2 章ではイントロダクションにおいて、糸球体発生における分子機構の知見、主に *Notch* 遺伝子に関する知見が紹介されている。その上で、論文提出者は *TRB2* 遺伝子が *Notch* 遺伝子の下流遺伝子である可能性を示した先行研究を紹介し、実際に胎生期腎臓における *TRB2* と *Notch3* の発現パターンが一致していることを述べている。このイントロダクションは、*TRB2* ノックアウトマウス作製の必然性を示すに

十分な記述である。

第2章ではイントロダクションに続いて、*TRB2-LacZ*ヘテロマウスを用いた、*TRB2* 遺伝子のマウス全身における発現パターンの解析を記述している。その結果、発生期に *TRB2* 遺伝子は後腎、中腎、精巣、血管内皮、後根神経節、筋肉、心臓、眼、骨、等で発現していることを示すと共に、*TRB2* 遺伝子は腎臓以外でも、精巣や血管内皮、中腎などで *Notch* 遺伝子と発現が重なることを明らかにしている。次に、*TRB2* ノックアウトマウスの表現型を解析している。その中では、*TRB2* はマウスの発生や、腎臓の形成に決定的な役割を持っていないことが示されている。また、論文提出者は *TRB* ファミリーの他の遺伝子が *TRB2* 遺伝子の機能を代理する可能性にも言及し、その可能性が完全には否定できないことを示している。

本論文で論文提出者は、マウスの腎臓発生に働く遺伝子を網羅的に同定し、重要遺伝子のスクリーニングの後に *TRB2* ノックアウトマウスを解析している。それらの結果はどれも新規性があり、今後の腎臓発生研究に貢献する研究内容である。また、本研究及び研究の各過程を行う際の根拠となる知見・論理も適切に記述されており、論文提出者が本論文の研究内容に対して十分な学識を有していることが認められる。

なお、本論文第1章は、長船 健二 博士・松本 祐子 氏・藤原 (片岡) 由起 氏・吉田 進昭 教授・目黒 裕子 氏・油谷 浩幸 教授・浅島 誠 教授・西中村 隆一 教授、との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、本委員会は本論文提出者が博士 (理学) の学位を授与できると認める。