

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：西谷 友里

専攻分野：外科学（小児外科）

指導教授：古田 繁行

主論文の題目：

The Expression of Transcription Factors in Fetal Lamb Kidney

（羊胎仔腎における転写因子発現についての検討）

共著者：

Kohei Kawaguchi, Kosuke Kudo, Takuya Kawaguchi, Juma Obayashi, Kunihide Tanaka, Kei Ohyama, Hideki Nagae, Shigeyuki Furuta, Yasuji Seki, Junki Koike, Kevin C. Pringle, Hiroaki Kitagawa

緒言

哺乳類の腎は、後腎間葉とウォルフ管の相互作用より発生し、多数の転写因子が発現・消失を繰り返して遺伝子が活性化あるいは不活化されることでネフロン及び集合管が形成される。In vitro の研究で、wilms' tumor 1 (WT1) や hepatocyte nuclear factor-1-beta (HNF1 β)、paired box2 及び 8 (pax2、pax8) などの転写因子が、この腎発生に重要な役割を担っていることが証明されている。我々は羊胎仔腎を用いて、それらの因子について in vivo における腎発生での発現時期と局在を免疫組織化学的に検討した。

方法・対象

妊娠雌羊に麻酔を施し、胎生 50 (n=4)、60 (n=5)、70 (n=2)、80 (n=2)、90 (n=4)、100 (n=5)、110 日 (n=4)、および満期 (145 日) (n=4) の胎仔を帝王切開で娩出し犠牲死させた。その後、胎仔の腎を摘出し、10%ホル

マリンで固定した。腎を縦に分割し、腎の切断面からサンプルを採取し、パラフィンブロックに包埋した。このパラフィンブロックから作成した切片を用いてヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色または免疫組織化学を行い、組織像と転写因子の発現を検討した。母羊 (成羊) の腎 (n=3) も同様に摘出し検討した。免疫組織化学では、一次抗体として抗 WT1 マウスモノクローナル抗体、抗 HNF1 β マウスポリクローナル抗体、抗 Pax8 マウスモノクローナル抗体、抗 Pax2 ウサギモノクローナル抗体を用いた。

なお本研究は、ニュージーランド・オタゴ大学の動物倫理委員会から承認を得て実施した。(承認番号 WAEC 8-03, W03/07, W02-11, W01-12, AEC4-14, AEC 1-16)

結果

胎生 50 日の羊胎仔の腎の被膜下には、尿管芽や後腎間葉細胞、C 字体及び S 字体を含む nephrogenic zone (NZ) がみられた。また、皮質の深部と髄質の近くに成熟した糸球体と尿細管が確認された。NZ は、胎生 50、60、70、80、90、100、110 日の胎仔の腎でみられ、妊娠の経過とともに菲薄化していた。胎生 145 日 (満期) の胎仔腎では NZ が消失していた。

コントロールとした成羊の腎では、WT1 は糸球体上皮細胞とボウマン囊上皮細胞に発現し、Pax2 は集合管上皮細胞でのみ弱く発現していた。Pax8 は尿細管上皮細胞、ボウマン囊上皮細胞、集合管上皮細胞で発現がみられた。HNF1 β は近位および遠位尿細管上皮細胞、ボウマン囊上皮細胞、集合管上皮細胞に発現していた。

WT1 の発現は、NZ がみられる胎生 110 日までの胎仔腎では後腎間葉細胞、C 字体及び S 字体、糸球体上皮細胞、ボウマン囊上皮細胞、髄質間質細胞に発現がみられた。その中で腎小胞、C 字体及び S 字体においては主に髄質側の細胞で強く発現していた。NZ が消失した満期胎仔腎で

は糸球体上皮細胞、ボウマン囊上皮細胞、髓放線間質細胞で発現がみられ、成羊と類似した所見であった。

Pax2 の発現は、胎生 110 日までの胎仔腎では尿管芽、C 字体及び S 字体、集合管上皮細胞にみられた。腎小胞と C 字体の中央から末梢側にかけて発現し、S 字体では中枢側に発現していた。満期では、集合管上皮細胞のみ陽性であり、成羊と同様の所見であった。

Pax8 の発現は、胎生 110 日までの胎仔腎では尿管芽、C 字体及び S 字体、尿細管上皮細胞、ボウマン囊上皮細胞、集合管上皮細胞でみられた。腎小胞と C 字体及び S 字体では極性はなく全体的に発現していた。満期ではボウマン囊上皮細胞、尿細管上皮細胞、集合管上皮細胞でみられ、成羊と同様の所見であった。

HNF1 β の発現は、胎生 110 日までの胎仔腎では尿管芽、C 字体及び S 字体、尿細管上皮細胞、一部のボウマン囊上皮細胞、集合管上皮細胞にみられた。腎小胞、C 字体及び S 字体では主に中央部分に発現が強く、WT1 よりやや腎被膜側で発現していた。満期ではボウマン囊上皮細胞、尿細管上皮細胞、集合管上皮細胞に発現がみられ、成羊と同様の所見であった。

考察

今回の研究では上記の結果から、WT1 は尿管芽周囲で後腎間葉細胞からボウマン囊上皮細胞に発現しており、ボウマン囊上皮細胞から末梢の尿細管上皮細胞では発現が消失していることから、主として糸球体の podocyte とボウマン囊の壁側上皮の発生に関与していると考えられた。HNF1 β は、WT1 とは異なり、ネフロンにおける末梢上皮、すなわち尿細管上皮細胞の発生に関与していることが示唆された。また、集合管上皮にも強い発現が認められたことは、ネフロンの発達と同時に集合管系の発生にも関与していると考えられた。Pax2 はボウマン囊上皮細胞と尿細管上皮細胞に発現が認められなかったのに対し、Pax8 はその両者に

発現が認められていた。成羊腎でこの発現状態が保存されていることは、Pax8 の発現がボウマン嚢上皮細胞及び尿細管上皮細胞の機能に關与している可能性が示唆された。

結論

WT1、HNF1 β 、Pax2、Pax8 の免疫組織化学的解析は、腎発生における転写因子の評価に役立つと考えられた。今回の結果から、WT1 は主にネフロンの発生に關与し、HNF1、Pax2、Pax8 はネフロンの成熟や、集合管を形成するウォルフ管の発生に關与している可能性が示唆された。