

## 論文内容の要旨

申請者氏名 熱田 勇士

上皮細胞で構成された管状組織は、多くの器官の基盤的構造であり、それぞれの器官特有の生理機能の発揮に重要な役割を担っている。個体発生の過程において、血管や気管など多くの管状組織は、組織の伸長と細胞の上皮化を中心とした様々な過程が協調的に進行することで形成される。しかしながら、羊膜類の生体内において、これらの過程がどのようにコーディネートされるのかについては、殆ど明らかになっていない。その原因の一つに、複雑な生体内で、管構造過程を細胞・分子レベルで解析可能である良好なモデルの不足が挙げられる。

そこで申請者は、有用な管形成モデルを検討し、ニワトリ胚のウォルフ管 (Wolffian duct、腎管ともいう。以下「WD」) に注目した。WD は直線状に伸長し形成される単純な構造の管組織である。まず、WD 形成過程において、細胞が如何に振る舞い 3 次元管構造を構築していくかを解析するため、WD への遺伝子導入法および *in vivo* ライブイメージング法を確立した。この独自に構築した解析系を駆使し、生体内における WD 細胞挙動の可視化や、RhoA によるアクチンストレスファイバー形成が必要であることを示した。

次に、WD 形成において組織伸長と細胞の上皮化が協調的に進行するために、どのようなメカニズムが働くのかを探り、周辺環境が FGF/MAPK シグナルを介して、それらの過程を制御することを突き止めた。申請者はまず、トリ胚特有の組織移植実験から、WD 先端部の細胞 (Front 細胞) の周辺組織が、WD に対する誘引能を持つことを示した。さらに FGF8 発現細胞塊や FGF 受容体阻害剤を用いた実験により、Front 細胞の周辺組織から分泌される FGF8 が、誘引因子の実体であることを見出した。加えて、FGF シグナルの下流経路の中で、Ras/MAPK 経路が WD 伸長に必要であることも、機能阻害実験により明らかにした。また、上皮化メカニズムを解析し、FGF シグナルの活性化が WD 細胞の上皮化を阻害するという結果や、反対に FGF シグナル阻害が上皮化を惹起するという結果を得ている。FGF/MAPK シグナル下流のエフェクターとして Cdc42 が働くことにより、細胞形態変化が制御されるといった興味深い可能性も示されている。これらの結果から、WD 先端部では FGF シグナルが Front 細胞を誘引し伸長させる一方で、WD 後方部では FGF シグナルが低下し細胞上皮化が進行するというメカニズムが明らかになった。

上記の結果に加えて、WD 細胞が伸長軸と平行方向に分裂し管伸長に寄与することを示唆する、全く新規な観察結果も得ている。管形成過程を包括的に理解しようとする本研究から得られたこれらの知見により、ほとんど謎であった生体内での管形成メカニズムの理解が進むことが期待できる。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 熱田 勇士

申請者は、発生過程において管状組織がどのように形成されるのかに興味を持ち、トリ胚のウォルフ管 (WD) をモデルとして研究を進めた。

これまで3次元培養系を用いた解析や、ショウジョウバエを用いた遺伝学的な解析から管形成に必須の分子実体が徐々に明らかにされつつある。しかしながら羊膜類では、良好なモデルが不足していたこともあり、それらの分子がどのような細胞挙動を制御し管形成に寄与するのかは未だ不明な点が多い。申請者は、単純な管構造であるトリ胚のWDに着目し、新たなモデル系を立ち上げた。具体的には、独自に考案したWD特異的な遺伝子操作法と *in vivo* ライブイメージング法を組み合わせることで、1細胞レベルで管形成細胞の挙動を解析できる方法論を確立した。実際に、この解析系を用いて、RhoA が移動中のWD細胞の形態維持に必要な不可欠な働きを担うことを明らかにした。以上の結果は、申請者が筆頭著者である論文 (Atsuta et al., *Dev. Growth Differ.*, *in press*) などで報告されている。

さらに申請者は、多くの管形成過程でみられる組織伸長と細胞上皮化の制御メカニズムについて研究を行い、極めて新規な知見を得ている。これまで解剖学的な知見などから、これらの過程が協調的に進行することで、適切な管形成が達成されると考えられてきたがそのメカニズムは不明であった。申請者は、管組織であるWDの先端部の周辺環境がWD細胞に対する誘引作用を示し、その分子実体がFGF8であることを見出した。さらに、前述の遺伝子操作法やライブイメージング法を利用し、FGFシグナルの消失が、WD細胞をより静的な状態(上皮化)へと導くことを明らかにした。すなわち、WD形成過程において、周辺組織がFGFシグナルを介して、WD細胞の形態変化を制御することで、組織伸長と細胞上皮化が協調的に進行するよう、巧みに調節されるという新規の知見が示された。

今後、本研究で得られたこれらの知見は、血管網や肺胞などに代表される様々な管状組織の成り立ちの理解や、管上皮構造の破綻に起因するガンなどの病態解明の足がかりになると期待される。

以上のように本論文は、申請者が自ら構築したモデル系を駆使し、管の周辺組織が組織伸長と細胞上皮化のコーディネーションを制御するという管形成メカニズムを明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。