

Molecular detection of maturation stages in the developing kidney

長沼, 英和

<https://hdl.handle.net/2324/4495962>

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (医学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

(別紙様式2)

| | |
|--------|-------------------------------------------------------------------|
| 氏名 | 長沼 英和 |
| 論文名 | Molecular detection of maturation stages in the developing kidney |
| 論文調査委員 | 主査 九州大学 教授 目野 主税 副査 九州大学 教授 加藤 聖子 副査 九州大学 教授 新井 文用 |

論文審査の結果の要旨

近年、多能性幹細胞から *in vitro* で腎オルガノイドを作製できるようになった。しかしながら、*in vitro* の腎オルガノイドは未熟なステージで留まっており、これを免疫不全マウスに移植することでオルガノイドの成熟を進めることが可能である。このような研究の進展にも関わらず、発生中の腎臓のステージに依存した遺伝子発現に関する包括的情報が欠如しているため、オルガノイドの正確な成熟ステージを決定することは困難であった。

そこで、本研究はマウス胎仔 (E15.5、E17.5) 及び新生仔 (P0) の腎臓の single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) を行なった。データ解析によって、細胞は45のクラスターに分類され、細胞特異的マーカーによってクラスターのほとんどの細胞タイプを同定することができた。また、細胞特異的マーカーを選択し、対応するクラスター間でE15.5と比較してP0で発現が亢進する遺伝子に着目することで、各細胞系譜でステージに依存して発現する遺伝子を多数同定した。ほとんどの遺伝子はE17.5にはP0相当の発現レベルに達しており、成熟がE15.5からE17.5の間に起こることが示唆された。同定した一部の遺伝子については、*in situ* hybridizationもしくはRNAscopeによってE15.5及びP0の腎臓で発現変動を確認した。次に、移植された腎臓が生理的な成熟プロセスをたどるか確認するために、E12.5の腎臓を精巣上体の脂肪に移植し、12日後に移植腎のscRNA-seqを行い、E15.5及びP0の腎臓のデータと比較した。すると、移植腎のUMAPプロットは新生仔腎臓と類似のクラスターパターンを示したが、ネフロン前駆細胞及び尿管芽先端を示すクラスターが消失していた。さらに、移植腎のポドサイトや近位尿細管における、ほとんどの成熟依存的遺伝子の発現レベルはP0腎臓と同程度であったが、集合管における遺伝子発現レベルはP0腎臓よりも低いものであった。これらの結果から、成熟はすべての細胞系譜で必ずしも同調的に起こるものではないことが示唆された。

以上の結果は、この領域の研究に新たな知見を加えた意義あるものと考えられる。

本論文についての試験は、論文の研究目的、方法、研究結果などについて説明を求め、各調査委員より専門的な観点から論文内容および関連事項について種々質問を行ったが、いずれについても概ね適切な回答を得た。

よって、調査委員合議の結果、試験は合格とした。