

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小澤 秋沙

Sox17 遺伝子は内胚葉形成、血管、血球系等の初期発生に関わっていることが報告されており、獣医解剖学研究室では、*Sox17* ハプロ不全による *Sox17* ヘテロマウス (*Sox17*^{+/-}マウス) での胎齢後期における肝臓辺縁の変性原因について解析が進められていた。*Sox17*^{+/-}マウス肝臓での血管形成及び血球系について異常は認められなかったことから、*Sox17* ハプロ不全による肝炎の一次原因は肝臓以外にあると考えられた。前腸内胚葉から発生した原基からの胆嚢・胆管系への分化には *Sox17* の発現が必須であることが報告されている。しかし、*Sox17* 遺伝子が胆嚢原基から分化した後の胆嚢・胆管系形成にどのように関わっているかは不明であり、そのため胆嚢・胆管系の形成不全によって起こるヒトでの新生児胆道閉鎖症のような疾患の成因についてもまだ明らかになっていない点が多い。新生児胆道閉鎖症は進行性の肝臓の線維化が特徴の疾患であり、肝臓の線維化は胆道閉鎖による胆汁うっ滞が原因で起こると考えられている。また、胆道閉鎖の一因として胎児期の胆管形態形成不全が考えられているが、現在の主な治療方法である外科的処置による胆嚢摘出時には、胆嚢は線維化しており痕跡程度しか認められないため、詳細な検討が困難となっている。そのため、成因が解析可能な疾患モデルマウスの作出が望まれている。以上を踏まえて本研究では、*Sox17* ハプロ不全の原因及び *Sox17* 遺伝子の胆嚢・胆管形成における役割を解明することを目的として、第 1 章で *Sox17*^{+/-}マウスの新生児胆道閉鎖症のモデルマウスとしての有用性を示し、第 2 章で胆嚢・胆管系形成の分子機構の解明を試みた。

〈第 1 章〉成体の *Sox17*^{+/-}マウス胆嚢は低形成となることが明らかとなり、*Sox17* 発現が胆嚢・胆管分化後の形成過程においても重要な役割があることが示唆されたことから、胆嚢・胆管系形成期について解析を行った。野生型で胎齢 15.5 日から 17.5 日にかけて、胆嚢上皮は偽重層上皮を形成する一方、*Sox17*^{+/-}胆嚢上皮では、上皮細胞の増殖率の低下がみられ、上皮の偽重層化は起こらず単層であった。さらに、*Sox17*^{+/-}マウスでは上皮細胞が脱落し管腔内を閉塞している様子が確認された。胆嚢の器官培養により、野生型では生体内と同様に胆嚢の伸長がみられ、胆嚢は組織自律的に伸長すると考えられたが、*Sox17*^{+/-}胆嚢は伸長せず、膨化が認められた。さらに、*Sox17*^{+/-}胆嚢上皮では基底膜の形成不全が明らかとなり、基底膜成分のラミニンが減少した部位での上皮細胞の脱落が認められた。以上のことから、胆嚢・胆管系形

成における *Sox17* 遺伝子発現の低下による胆嚢上皮の基底膜形成不全により、上皮細胞の脱落が起こり、胆道を閉塞することで胆汁がうっ滞することから、*Sox17*^{+/-}胆嚢マウスでは胎齢後期の肝炎が発症すると考えられた。

〈第 2 章〉 *Sox17*^{+/-}胆嚢上皮は胆嚢管上皮と形態が類似していることから、*Sox17*^{+/-}胆嚢が胆嚢管化している可能性について検討した。胆嚢管の分子マーカーとして有用性が示された *Sox9* 発現が *Sox17*^{+/-}胆嚢では増加しており、*SOX17*^{+/-}胆嚢は胆嚢管化していることが示唆された。次に胆嚢管化していると考えられる *Sox17*^{+/-}胆嚢、野生型胆嚢及び胆嚢管の遺伝子発現をマイクロアレイ解析を用いて網羅的に比較することで、*Sox17* 遺伝子の下流には *Sonic hedgehog* (*Shh*) 遺伝子があることが示唆された。野生型では *Shh* は胆嚢上皮、その下流である *Ptch* 及び *Gli* は胆嚢周囲の間葉系組織に発現し、*Sox17*^{+/-}胆嚢で *Shh* 発現が低下が認められた。また、*Shh* ノックアウトマウスでは胆嚢上皮における *Sox17* 発現及び細胞増殖率に影響は認められなかったが、胆嚢周囲平滑筋形成不全がみられ、*Sox17*^{+/-}胆嚢周囲の間葉系組織では平滑筋の密度が低下していることから、*Shh* シグナルは胆嚢・胆嚢管形成において、*Sox17* の下流で間葉系組織での平滑筋形成を調節していることが示唆された。さらに、外因的な SHH により *Sox17*^{+/-}胆嚢上皮周囲の間葉系組織の平滑筋形成及び上皮の偽重層上皮化をレスキューすることを確認した。以上を第 1 章の結果と合わせて考えると *Sox17*^{+/-}胆嚢では、胆嚢上皮の細胞増殖率が減少すること及び *Shh* 発現低下により胆嚢周囲の間葉系組織での平滑筋の密度が低下することによる形態の保持不全により、胆嚢上皮は偽重層上皮化せず、単層上皮となると考えられた。

本研究では *Sox17* 遺伝子が胆嚢・胆管系形成において、*Shh* シグナルを介し、平滑筋形成を調整することにより胆嚢の形態維持を行っていることを明らかにし、*Sox17* ハプロ不全による肝炎が胆嚢上皮破綻による胆道閉鎖が原因であることを示唆したことから *Sox17*^{+/-}マウスの新生児胆道閉鎖症モデルマウスとしての有用性が示された。これらの研究成果は、獣医学学術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（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。