

の臓器には明らかな異常は認められなかった。ヒト *SALL1* の変異は Townes-Brocks 症候群という遺伝病を引き起こすことが報告されている。これは多指症や外耳・内耳の異常を主体とし、ときに腎や心臓の形成障害を伴う常染色体優性遺伝である。つまりヘテロ接合体でも症状を有し、マウスの *Sall1* ヘテロ接合体に異常を認めないことと一致しない。また、マウス *Sall1* ホモ欠失体でも指や耳の異常を認めなかった。

ヒト *SALL1* のファミリーである *SALL4* は、眼球運動障害や上肢形成異常を示し、聴覚障害、心臓や腎の異常などの症状を示す Okihiro 症候群の原因遺伝子である。著者らが *Sall4* 欠失マウスを作成・解析したところ、*Sall4* ノックアウト胚は子宮着床直後に死亡し、内部細胞塊の増殖が著明に低下していた⁷⁾。ちなみに再生医療などで注目されている ES(胚性幹)細胞は内部細胞塊由来の細胞である。そこで ES 細胞で *Sall4* を欠失させると、その増殖が著明に低下し、*Sall4* が ES 細胞に必須であることが明らかになった。さらに、*Sall1*, *Sall4* のそれぞれのヘテロマウスでは腎に異常を認めないが、二重ヘテロマウスの一部では腎欠損がみられたため、*Sall1* と *Sall4* が協調して腎形成することが示唆された。これらから、後腎間葉と ES 細胞という 2 つの未分化な細胞において *Sall* ファ

ミリー共通の分子機構が存在する可能性があり、これを解明することによって幹細胞維持の一般則を導き出せるのではないかと期待している(「サイドメモ」参照)

後腎間葉には多能性前駆細胞が存在する

後腎間葉は、Wnt4 による MET を経て糸球体、近位尿細管、遠位尿細管へと分化していくため、この間葉のなかにこれら三系統の前駆細胞が存在すると考えられる。そこで胎生 11.5 日の後腎間葉を解離し Wnt4 を発現する細胞上で培養すると、1 個の細胞からシート状コロニーが形成され、糸球体、近位尿細管、遠位尿細管などのマーカーを発現した。これは最初にまかれた 1 個の細胞が多系統に分化したことを示し、間葉中に腎の多能性前駆細胞が存在することを示している⁸⁾(図 2-A~C)。

前述のとおり *Sall1* は後腎間葉に発現しているため、*Sall1* の遺伝子座に蛍光蛋白質 GFP を挿入したマウスを作成した。そして、GFP の蛍光を指標として後腎間葉を flow cytometry (FACS) で選別したところ、GFP を強発現する分画のみからコロニーが形成された。つまり、この分画に多能性前駆細胞が存在することになる。さらに、この分画を再凝集させ、Wnt4 を発現する細胞上で器官培養すると糸球体や尿細管などの三次元構造を構築した(図 2-D~J)。これは、*Sall1* を強発現する前駆細胞分画をいったん解離して再集合させただけでも、ある程度腎らしき構造を取りうるということである。また、この実験系では発生期の腎が前駆細胞から分化していく過程を単一細胞レベルで解析できると考えられる。さらに、ES 細胞などを分化させ、その細胞が腎前駆細胞の特徴を備えているかを検定する系として使用できる可能性があり、腎の再生医療に役立つと考えられる。

サイド メモ

SALL1 蛋白の N 末端は抑制的 (dominant negative) に働く

Sall4 のヘテロマウスは肛門と心臓の異常を呈し、ヒト *SALL4* の変異が原因である Okihiro 症候群の症状の一部を再現できた。さらに、*Sall1* と *Sall4* のダブルヘテロマウスでは腎欠損を認め、外脳症や鎖肛、心室中隔欠損などの *Sall4* ヘテロにみられる症状の重症化を認めた。これらと *in vivo* のデータから、*Sall1* と *Sall4* が協調して臓器形成にかかわることが明らかになった。さらに、*Sall1* 蛋白の N 末端が *Sall4* に対し抑制的 (dominant negative) に働くことを解明した。すなわち、ヒト *SALL1* の変異による Townes-Brocks 症候群では *SALL1* の N 末端が産生され *SALL4* の機能を阻害する。このため *SALL1* 欠損だけでなく、*SALL4* の機能抑制による症状が出現する。これがヒトのほうがマウスより症状が重い原因と考えられる。

おわりに

腎発生は複雑で、その機構には不明な点が多かった。近年、その謎が徐々に明らかになっており、腎発生を踏まえた腎再生が夢物語でなくなる日も近いと考えている。著者らは腎の分化・誘導はかならずできると信じ、この領域の研究に取り

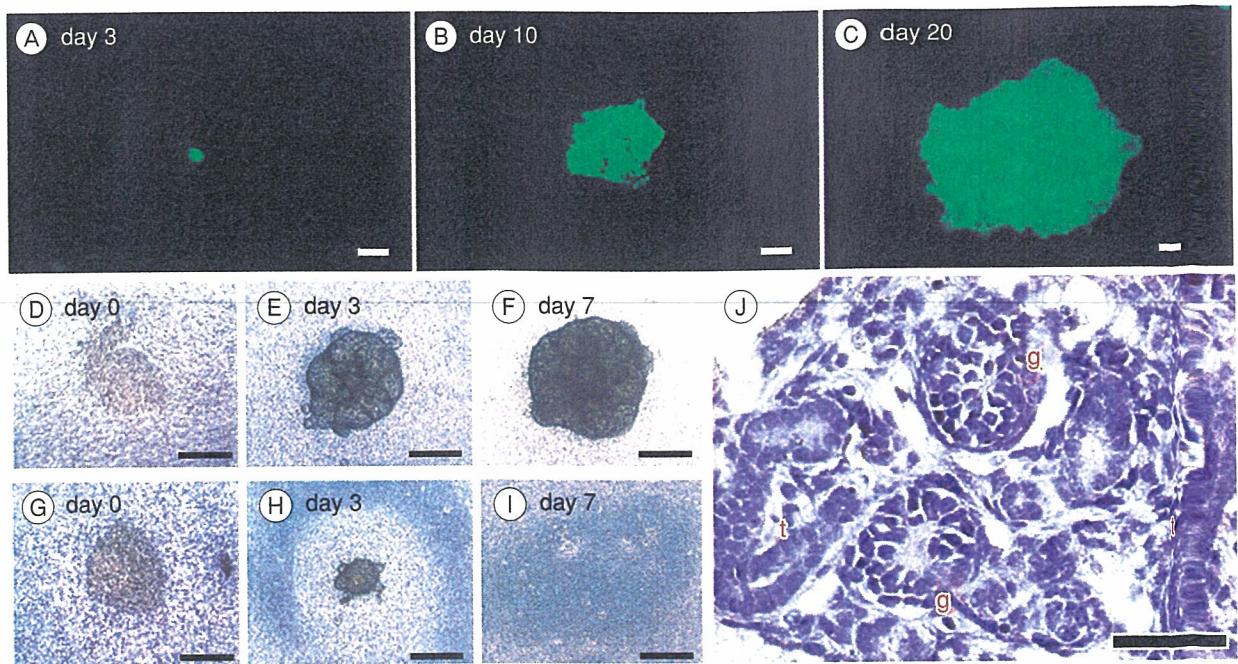


図 2 後腎間葉細胞の培養

A~C: Wnt4 を発現する細胞上で後腎間葉細胞を培養すると 1 個の細胞からコロニーを形成し多系統への分化を示した. bar: 50 μ m.

D~F: *Sall1* 遺伝子座に GFP をノックインしたマウスの後腎間葉から *Sall1*-GFP^{high} の細胞群を選別・再凝集させ器官培養すると三次元立体構造を構築した. bar: 500 μ m.

G~I: *Sall1*-GFP^{low} の細胞群を選別・再凝集させ器官培養しても, この現象を認めない. bar: 500 μ m.

J: *Sall1*-GFP^{high} の細胞群を選別・再凝集させ 10 日間培養し, 切片を HE 染色. 糸球体様構造と管腔様構造を認める. g: 糸球体様構造, t: 管腔様構造, bar: 25 μ m.

組んでいる. この分野に医・理・工学などの英知が結集し, 1 日も早く実現できることを期待する.

文献

- 1) 高里 実, 西中村隆一: 発生・分化再生研究 2005 一腎臓発生の分子機構. 実験医学, **23**: 100-106, 2005.
- 2) Pichel, J. G. et al.: Defects in enteric innervation and kidney development in mice lacking GDNF. *Nature*, **382**: 73-76, 1996.
- 3) Basson, M. A. et al.: Sprouty1 is a critical regulator of GDNF/RET-mediated kidney induction. *Dev. Cell*, **8**: 229-239, 2005.
- 4) Batourina, E. et al.: Vitamin A controls epithelial/mesenchymal interactions through *Ret* expression. *Nat. Genet.*, **27**: 74-78, 2001.
- 5) Carroll, T. J. et al.: Wnt9b plays a central role in the regulation of mesenchymal to epithelial transitions underlying organogenesis of the mammalian urogenital system. *Dev. Cell*, **9**: 283-292, 2005.
- 6) Nishinakamura, R. et al.: Murine homolog of *SALL1* is essential for ureteric bud invasion in kidney development. *Development*, **128**: 3105-3115, 2001.
- 7) Sakaki-Yumoto, M. et al.: The murine homolog of *SALL4*, a causative gene in Okhiro syndrome, is essential for embryonic stem cell proliferation, and cooperates with *Sall1* in anorectal, heart, brain and kidney development. *Development*, **133**(15): 3005-3013, 2006.
- 8) Osafune, K. et al.: Identification of multipotent progenitors in the embryonic mouse kidney by a novel colony-forming assay. *Development*, **133**: 151-161, 2006.

* * *