

論文内容の要旨

申請者氏名 高瀬 悠太

血管ネットワークはからだの隅々にまで規則正しいパターンで張り巡らされており、各組織への酸素・栄養供給や老廃物の運搬など、生理機能の根幹的役割を担っている。規則正しい血管パターンの多くは、未熟で無秩序な血管網が一定のパターンをもった動静脈ネットワークへと「リモデリング」することで形成される。この血管リモデリングの過程では、血管内皮細胞がダイナミックな挙動をしていると考えられる。しかし技術的な問題などから研究は進んでいない。本論文では、トリ胚の胚体外血管ネットワークをモデル系として以下を明らかにした。

まず、トリ胚血管ネットワークの簡便な可視化法を確立した。市販されているインク 50 種に対して、水性顔料に分類される蛍光インクのいくつかは血管ネットワークを明瞭にラベルできることを示した。また、蛍光インクは血管の内腔側のみをラベルできることを明らかにした。さらに、蛍光インク注入による血管の可視化は、少なくともマウス胚においても利用できることを明らかにした。

次に、胚体外血管ネットワークのリモデリング過程における内皮細胞の挙動を明らかにした。トリ 1.5 日目 (E1.5) ~ E2.5 の胚体外血管網において、無秩序な袋状の血管網が明瞭なパターンを持つ卵黄動脈へとリモデリングしていく過程を解析し、高粘度の液体 (Glycerol) を注入することで血流を一時的に止めると袋状の血管網から卵黄大動脈へのリモデリングが阻害されることを示した。このことから胚体外血管網のリモデリングには血流が必須であることが示唆された。また内皮細胞を EGFP でラベルしてその形態を観察し、血管内皮細胞は lamellipodia 様の突起を血流に逆らって延ばすことを見だし、血流を停める lamellipodia 様の突起の方向性が失われたため、この内皮細胞の血流依存的な挙動がリモデリングに関与することが示唆された。

さらに胚体外血管ネットワークのリモデリング制御因子(群)の探索する手法を確立した。内皮細胞に mRNA や siRNA を導入できる条件およびその導入効率を検証しプラスミドや mRNA、siRNA を用いた遺伝子導入法を組み合わせることで、胚体外血管網のリモデリングに関する細胞・分子レベルでの解析できることを示した。その手法を利用して、血流が Rho family small G タンパク質のひとつ Rac1 の活性化 (または RhoA の不活性化) を誘導していることを見いだした。

以上の結果から、本論文ではトリ胚の胚体外血管ネットワークをモデル系として、血管ネットワークのリモデリングのメカニズムに対する解析手法を確立し、メカニズムの一部を明らかにすることができた。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 高瀬 悠太

ヒトを含めた動物において、血管は体の隅々まで酸素や栄養を運び、老廃物等を組織から運び出し、さらに免疫、生体防御の基盤となる重要な器官である。体の隅々まで血管が配置される必要があることから、発生過程では体の形態変化に応じて血管ネットワークがリモデリングされることが必要であり、そのメカニズムを明らかにすることは、個体としての発生・形態形成の理解に必須であり最も重要なことであるといえる。本論文では申請者は、トリ胚をモデル系として、血管ネットワークのリモデリング機構の研究をおこない、その研究手法の確立とメカニズムの一部の解明をおこなった。

トリ胚は、容易に発生過程を観察できることから、これまでも体節形成や神経発生、眼形成など発生過程のさまざまな形態形成、細胞分化の研究に用いられてきた。特に、胚体外の血管が容易に観察または捜査できることから、血管形成のすばらしいモデルであると判断できる。これらの背景から申請者はトリ胚を用いて血管形成、特に血管ネットワークのリモデリング機構に焦点を絞った。申請者はまず、血管の可視化技術の開発をおこなった。血管の可視化技術はこれまでも存在したが、コスト面や簡便さを大幅に改善させた点から、申請者の開発した手法は高く評価できる。

また、申請者は胚体外血管の中の血流に着目し、研究を進めた。血管内に高粘度のグリセロールを注入し、血流を阻害することによって、血管リモデリングには血流が不可欠であることを発見した。これまでに発生・形態形成にはさまざまなタンパク質・化学シグナルが働いていることは明らかにされてきたが、力など物理的な要素についてはほとんど明らかにされていない。本研究では、血流が及ぼす力などの物理的な要素が血管リモデリングのメカニズムの一部を担うことを示唆したものであり、高く評価できる。さらに血管内皮細胞の極性に着目して、血流依存的に細胞の極性が決まることを見いだした点も評価でき、このことが血管リモデリングのメカニズムのキーとなることが期待される。

以上のように、本論文はトリ胚をモデル系として、血管ネットワークのリモデリング機構の研究手法を開発し、その一部を明らかにしたもので、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。