

## 論文内容の要旨

申請者氏名 大畑 絵美

発生過程において血管の走行パターンが正しく作られることは、生き物が円滑な生命活動を行うために必須である。生体内での血管パターンニングは、細胞の分化や増殖、移動などのさまざまな過程が協調的に組み合わせられて進行する。これまでの知見から、血管形成に必須の遺伝子は多数同定されてきた。しかしながら、それらの遺伝子がどのような細胞挙動を制御しているのかについては、まだ不明な点が多い。そこで申請者は、ニワトリ胚とマウス胚を用いて、Notch およびケモカイン SDF1/CXCR4 を介したシグナルが引き起こす細胞挙動に注目し、発生過程でみられる血管形成について研究を行った。

過去の知見から、初期発生過程において、Notch シグナルが活性化された体節細胞は、背側大動脈に向かって移動した後、血管内皮細胞へと分化することが報告された。そこで、Notch シグナルによって引き起こされる細胞移動が、続いて起こる血管内皮への分化にどれだけ影響を与えるのかについて調べるために、SDF1/CXCR4 を介したケモカインシグナルに注目し、背側大動脈へ細胞を移動させる実験的手段として用いた。さらに、時期特異的遺伝子発現法や Tol2-トランスポゾンを用いた長期遺伝子発現法を駆使し、SDF1/CXCR4 によって人工的に背側大動脈周辺へ集積させた細胞において Notch シグナルを活性化させたところ、それらの細胞は Notch による移動過程を経ていないにも関わらず、血管内皮へと分化した。以上の結果から、Notch シグナルは血管周辺に存在するナイーブな体節細胞を血管内皮へと分化させる過程において決定的な役割を持つことを明らかにした。

加えて CXCR4 ノックアウトマウスの解析から、SDF1/CXCR4 は血管サブタイプの一つである肋間血管の形成に必須であることを見いだした。SDF1/CXCR4 が制御する細胞挙動を明らかにするために、申請者らが新規に開発した血管特異的な遺伝子操作法を用いて CXCR4 を過剰発現させると、本来は伸長が停止した成熟血管である背側大動脈から、異所的な血管の伸長が多数観察された。これとは逆に、RNAi 法を用いて CXCR4 をノックダウンすると、それらの細胞は肋間血管形成には参画しなかった。以上の結果から、SDF1/CXCR4 は血管内皮細胞の分岐や伸長を促進させる一連のステップを惹起させ、その結果として背側大動脈と肋間血管が明瞭に区別される可能性が強く示唆された。本研究から得られた知見により、これまでほとんど謎であった血管サブタイプの決定機構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 大畑 絵美

申請者は、発生過程において血管パターンがどのように形成されるのかに興味を持ち、トリ及びマウス初期胚を用いて、Notch シグナルやケモカインシグナルが制御する細胞挙動に注目して研究を進めた。

これまでの知見から、Notch シグナルは、血管パターンのリモデリングや動脈分化などの過程において重要な役割をもつことが報告されてきたが、実際にどの組織のどのような細胞挙動を制御しているかについては不明であった。申請者は、生体内で最初に形成される血管である背側大動脈の形成を新たなモデル系として立ち上げ、Notch が内皮細胞分化の最終段階で決定的な役割を担うことを初めて明らかにした。本研究から得られた知見を発展させることにより、Notch シグナルの人工操作により、血管の周辺細胞を内皮細胞へとリプログラムできるなど、血管治療や再生医療の分野への応用が期待される。以上の結果は、申請者が筆頭著者である論文 (Ohata et al., *Developmental Biology*, in press) などで報告されている。

さらに申請者は、血管形成過程で見られる様々なサブタイプがどのような機構で生じるかについて研究を行い、極めて新規な知見を得ている。先行研究により、ケモカイン SDF1 とその受容体である CXCR4 を介したシグナルは細胞移動を惹起させること、また CXCR4 ノックアウトマウスでは胃腸管を取り巻く血管が形成不全になることなどが報告されているが、SDF1/CXCR4 の血管形成における役割はよくわかっていなかった。申請者は CXCR4 ノックアウトマウスの解析から、ケモカインシグナルが血管サブタイプの一つである肋間血管において重要な役割をもつことを見出した。さらにトリ胚を用いた分子・細胞レベルでのより詳細な解析から、SDF1/CXCR4 によって血管内皮細胞がより動的な状態へと変化するなど、多くの新規な知見を得ている。今後、既知の血管形成因子や血管細胞接着因子、また血管を取り巻く支持細胞などと SDF1/CXCR4 との関連を明らかにしていくことで、これまでほとんど謎であった血管サブタイプ形成機構の理解が大きく進むと思われる。

以上のように本論文は、申請者が独自に構築したモデル系を駆使して、Notch やケモカインシグナルが血管細胞の分化や血管サブタイプの決定に重要な役割をもつことを初めて示したものであり、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。