

## 論文審査の結果の要旨

氏名 掛田 実

本論文は1章からなり、脊椎動物の血球発生の仕組みを調べるためにツメガエル胚の系を使って、トロンボポイエチン/c-MPLの役割について述べられている。造血系は、多分化能と自己複製能をもつ造血幹細胞から各細胞系の前駆細胞そして各血球細胞へと分化・増殖して構成される。ツメガエルの場合、腹部血島(VBI)において胚型造血が始まり、その後背側側板(DLP)中胚葉から成体型血球細胞が発生し、それらの起源は32細胞期の異なる割球に由来することが明らかとなっている。また、ツメガエルの発生過程では哺乳類の造血制御転写因子及び造血マーカーホモログの経時的発現が認められる。これらのことは、哺乳類と両生類において類似の造血発生制御機構が働いていることを示唆している。トロンボポイエチン(TPO)は、巨核球系細胞の増殖・血小板産生制御を行うサイトカインとして1994年に哺乳類において同定された。分子の大きさが約300余アミノ酸の糖タンパク質である。掛田氏は発生過程における分子機能解析を考えた場合、ツメガエルは哺乳類では困難な発生メカニズムの解析を行うことができる有用なモデル動物であると考えて研究を進めた。掛田氏は、ツメガエルを用いて血球細胞発生におけるTPO/c-MPLシグナルの役割について解析を行った。その結果、以下の知見を得ることができた。まず、造血に対する増殖因子の影響を*in vitro*で評価するのに最適なアニマルキャップ血球分化増殖評価系を確立したことである。そしてアニマルキャップの血球細胞誘導反応性及び増殖因子に対する応答性は、胞胚期の中でも経時的に異なることを明らかにした。次に、外植体において、外来性のTPOはアクチビン・BMP-

4により誘導された赤・白血球の増殖を TPO 用量依存的に促進し、TPO による増殖刺激は、ツメガエル c-MPL 様分子により伝達されることを明らかにした。このような系を使って、造血制御転写因子および血球細胞マーカー分子の発現解析の結果から、造血誘導時の外植体では胚と同様の分子現象が経時的に誘導されることが示した。更に、胚において、TPO を過剰発現させると VBI および DLP 中胚葉における造血が亢進した。これより TPO/MPL シグナルは造血幹・前駆細胞の発生段階からその増殖・分化を促進することが示唆されたといえる。このように掛田氏は、TPO が個体発生初期のステージから血球細胞の発生・増殖を促進することを示した最初の報告を行った。今回得た知見から、TPO/MPL システムが、脊椎動物において血球細胞の発生に重要な役割を担っていることが示されたことになる。このように掛田氏は、主としてほ乳類で行われていた血球分化のシステムを両生類のツメガエルにも導入することができることを初めて示したことになる。特に、TPO/c-MPL シグナル系と両生類胚の造血関係を明らかにしたことは今後の造血発生研究への寄与が大きいものと思われる。

なお、本論文は久野順一、加藤尚志、西川光郎、浅島誠との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析・検定及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。