

論文の内容の要旨

論文題目 全胚胎仔培養を用いた血管内皮由来赤血球系造血の解析

指導教官 新井賢一教授

東京大学大学院医学系研究科

平成11年4月入(進)学

医学博士課程

分子細胞生物学専攻

氏名 杉山大介

哺乳類胎生期において、血管内皮細胞と血液細胞の関係が密接であることはわかっているが、実際に *in vivo* で、血管内皮細胞から血液細胞が発生し、血流へ放出されているのかどうかは証明されていない。この関係を解明するため、胎齢 10.0 日目マウス胎仔の心臓へ注射する方法を開発した。マウス胎仔へ Ac-LDL-Dil (Acetylated low-density lipoproteins conjugated Dil) の略。血管内皮細胞とマクロファージに

特異的に取り込まれる) を注射し、血管内より生理的に血管内皮細胞を標識した。注射した胎仔を 1 時間ないし 12 時間全胚胎仔培養し、解析した。培養 1 時間後、組織学的所見では Dil の蛍光は血管内皮層に沿って取り込まれ、フローサイトメトリー解析では組織の Dil 陽性細胞は CD31 陽性、CD34 陽性、CD45 陰性だった。以上の結果より、Ac LDL-Dil で標識した細胞は、血管内皮細胞由来であることがわかった。次に、培養 12 時間後胎仔の血液サンプルより、Dil 陽性細胞をソーティングで採取し検鏡したところ、様々な成熟段階の赤血球系細胞が認められた。注射の時期が 29 体節期を過ぎると、赤血球系細胞は減少した。この時期には、胎仔肝臓で造血細胞が出現しはじめる。この Dil 陽性細胞は、フローサイトメトリー解析では Ter119 (赤血球系のマーカー) を発現しており、RT-PCR 解析では成体型グロビン遺伝子のみを発現していた。この Dil 陽性細胞でメチルセルロースカルチャーを行ったところ、成体型グロビン遺伝子のみを発現している赤血球系前駆細胞が検出された。以上の結果より、マウス胎仔では *in vivo* において、血管内皮細胞から成体型赤血球系細胞ならびに前駆細胞が産

生まれ、血流中へ放出されることが明らかになった。また、これらの細胞は、肝臓へ移動・定着し、最初の成熟成体型赤血球を産生する事が示唆された。