

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 吉 田 志 朗

本研究は初期胚における血管形成(vasculogenesis)に必要な条件を明らかにするため、アフリカツメガエル胚胞胚期における外胚葉予定領域を摘出し、中胚葉誘導因子であるアクチビン A と血管内皮増殖因子 VEGF を作用させ培養する系にて、血管の誘導の有無及び血管の誘導に関与する組織の形成について、免疫組織化学的手法及び *in situ hybridization* 法により検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 内皮細胞の最も早期のマーカーである Flk-1 を用いた組織免疫染色において、外胚葉予定領域をアクチビン A 1~10ng/ml で 2 時間処理した後、VEGF 1~10ng/ml で 2 日間ないし 3 日間培養した場合、内皮細胞による管腔構造を形成する血管が誘導されることが示された。VEGF で処理した後アクチビン A を作用させ培養した場合、血管は誘導されなかったことから、血管形成において VEGF が血管内皮増殖作用を示すためには、中胚葉誘導が既に行われていることが必須であることが示された。外胚葉予定領域をアクチビン A 10ng/ml で 2 時間処理した後、VEGF 10ng/ml で 2 日間培養したものに、抗 Flk-1 抗体を用いて *whole mount in situ hybridization* を行ったところ、網目様構造を伴う血管が密に形成されていることが示された。
2. 内皮細胞のマーカーである Tie-2、EphB4 及び PECAM を用いた組織免疫染色において、外胚葉予定領域をアクチビン A 10ng/ml で 2 時間処理した後、VEGF 10ng/ml で 2 日間培養する条件では、血管形成及び血管新生(angiogenesis)の段階までは誘導されるものの、動静脈の分化までは誘導されないことが示された。
3. 外胚葉予定領域をアクチビン A 10ng/ml で 2 時間処理した後、VEGF 10ng/ml で 3 日間培養した場合、アクチビン A 単独で 3 日間培養した場合よりもよりアクチビン A 低濃度の条件で脊索の形成率が増加することが示された。脊索が、VEGF を産生し内皮細胞を自らの近傍に遊走させることで背側大動脈の位置を規定する後索を誘導することは既知であったが、本培養系において、脊索-後索間に VEGF を介したフィードバック機構が存在することが推測され、VEGF は脊索誘導を促進する正のフィードバック作用を有することが示唆された。

以上、本論文はアフリカツメガエル胚外胚葉予定領域に中胚葉誘導を行った後 VEGF を作用させることで、未分化胚細胞における血管の誘導に必要な条件を明らかにし、また

VEGF を介した脊索-後索間のフィードバック機構が存在する可能性を提起した。本研究は未だ詳細が明らかとされていない初期胚の血管形成機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。