

## 審査の結果の要旨

氏名 山口高志

本研究は、マウスにおける効率的な血管・リンパ管内皮細胞の培養システムの確立を目指し、以下の結果を得ている。

1. Cre/loxP 遺伝子組換えにより温度感受性 SV40 tsA58 large T 抗原(以下 tsA58 T Ag)の発現が誘導されるトランスジェニックマウス(T26 トランスジェニックマウス)を樹立した。T26 トランスジェニックマウスの発生・生存性・繁殖能力などには問題は認められず、安定したマウスの供給を実現している。
2. T26 トランスジェニックマウスと、血管・リンパ管内皮細胞で Cre が発現する Tie-2-Cre トランスジェニックマウスを交配することで得られる T26/Tie-2-Cre ダブルトランスジェニックマウスの組織において、血管・リンパ管内皮細胞に特異性の高い tsA58 T Ag の発現が誘導されていることが示された。
3. 同 T26/Tie-2-Cre ダブルトランスジェニックマウスの組織を採取した後、酵素処理および tsA58 T Ag の活性が高くなる温度の 33°C で培養を行うだけで、特別なソーティングすることなく不死化血管・リンパ管内皮細胞集団が選択的に増殖するなど、極めて簡便な内皮細胞獲得システムを確立している。
4. この選択的に増殖してきた不死化血管・リンパ管内皮細胞から、リンパ管内皮細胞マーカーのひとつである Lyve-1 を対象とした MACS を用いて、両者を分離する事が可能であることが示された。この分離された不死化リンパ管内皮細胞に発現する内在性 VEGFR-3 は VEGF-C に応答し、細胞内チロシン残基がリン酸化され、さらに細胞内にシグナルが伝達されている事が MAPK のリン酸化の検出をもって確認された。
5. T26 トランスジェニックマウスと、受精卵の段階で Cre/loxP 遺伝子組換えを引き起こすことのできる CAG-Cre トランスジェニックマウスを交配することで得られる

T26/CAG-Cre ダブルトランスジェニックマウスでは、広範囲の組織における tsA58 T Ag 発現誘導が確認された。このことは、今後、さまざまな Cre 発現トランスジェニックマウスを組み合わせることで、さまざまな部位・時期特異的 tsA58 T Ag 発現トランスジェニックマウスを簡便に作成できる可能性を示している。

以上本論文は、単独の T26 トランスジェニックマウスでは tsA58 T Ag 発現が完全に抑制されているが、Cre 発現トランスジェニックマウスとの交配によって、必要に応じて目的の組織・細胞で tsA58 T Ag の発現が誘導されるトランスジェニックマウスの作成に成功しており、その応用として、*in vivo*での性質をよく保存し、かつ簡便で安定的な臓器・組織別の血管・リンパ管内皮細胞の供給・培養システムを確立している。本研究は、今後の血管・リンパ管内皮細胞の *in vitro*における研究に重要な貢献をなすものであり、学位の授与に値するものと考えられる。