

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	発生に応じたメダカの赤血球の数と大きさの調節
Title(English)	
著者(和文)	泰松清人
Author(English)	Kiyohito Taimatsu
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9929号, 授与年月日:2015年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:工藤 明,川上 厚志,立花 和則,徳永 万喜洋,山口 雄輝
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9929号, Conferred date:2015/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	泰松 清人	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	工藤 明	教授	山口 雄輝	教授
	審査員	川上 厚志	准教授		
		立花 和則	准教授		
徳永 万喜洋		教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

泰松清人君(以下、筆者)が提出した本論文は「発生に応じたメダカの赤血球の数と大きさの調節」と題し、発生期のメダカにおける赤血球の数と大きさが、特異な細胞周期によって制御されていることを明らかにした研究をまとめたもので、8章より構成されている。

第1章は序論である。血管形成が活発な発生期における全身の血流保持のためには赤血球の数と大きさが制御される必要があるが、発生期の赤血球の数と大きさの変化とそのメカニズムについての詳細な報告は乏しい。発生期における血流が観察しやすいメダカをモデル生物として選定し、細胞周期の観点から解析していくことを述べている。第2章は材料と方法であり、詳細に記述している。

第3章は結果である。まず筆者はメダカの発生における血流変化を phase1: 赤血球の形成が行われるが、まだ血流は開始していない、phase2: 血流は開始したが、まだ背側大動脈や卵黄静脈のような太い単純な血管しか流れない、phase3: 肝臓血管、体節間血管、中脳血管や鰓弓血管の血流が同時期に開始し成体の血流循環の基本型が出来上がる、という三段階に分類した。また、発生期のメダカ赤血球の数と大きさを観察するにあたり、当研究室の変異体スクリーニングによって得られていた赤血球が大きい *kyoho(kyo)* 変異体を用いた。解析においては、最初に各胚体を細胞浮遊液としフローサイトメトリーにかけることで赤血球の数を測定し、続いて採血して赤血球の大きさを測定した。その結果、野生型の赤血球数は phase3 の初期まで増大し続けた後に約 18000 で一定となること、一方 *kyo* においては phase2 における増殖が生じない事を明らかにした。大きさに関しては、野生型では phase2 から phase3 への移行に際し一過的に小型化することを明らかにした。増殖に関して、EdU の取り込み率が赤血球数の倍増する発生区間において 70-90% と高率であったことから、血液中の赤血球が細胞分裂していることが示唆された。また M 期阻害剤コルヒチンの処理により、phase2 から 3 の移行期での一過的な小型化は細胞分裂によるものであることが示された。*kyo* の原因遺伝子は、ポジショナルクローニングにより、細胞周期の調節、特に S 期への移行において重要である転写因子 TFDP1 であることが示された。*kyo* の赤血球の細胞周期異常を明らかにするために、WT と *kyo* それぞれの赤血球の DNA 量をフローサイトメトリーで定量した結果、①WT において赤血球の DNA 量は phase1 では 2 倍体の細胞周期制御下にあるが phase2 は 4 倍体の細胞周期制御下となり、phase3 以降は 4 倍体に落ち着く②*kyo* においては phase1 においては WT と変化がないものの、phase2 以降は 8 倍体が多数となること、を明らかにした。phase2 の赤血球の核型に関しては、野生型の赤血球の染色体標本を作製した結果、血管中の赤血球は 4 倍体の細胞周期制御下にあることが確かめられた。また、S 期阻害剤アフィジコリンの処理によって赤血球の大型化が生じることから、*kyo* の赤血球の大型化は S 期の遅延により間接的に引き起こされているものと考えられた。このように筆者は、メダカの赤血球の数と大きさは、発生における血管形成の段階に応じて、血液中の赤血球が 4 倍体の細胞周期制御下で増殖することにより調整されていることを明らかにした。

第4章は考察である。血管内の赤血球が増殖能を有することは、より早く赤血球を増やすこと、血流中の赤血球を一過的に小型化することに有益であると述べている。*kyo* に関しては、TFDP1 異常の表現型が血流中の赤血球に生じたのは、血流中の赤血球が増殖を行うためであると述べている。また、phase2 以降の赤血球が 4 倍体であることについては、先行研究においては 2 倍体よりも 4 倍体のカエルのほうがヘモグロビン合成能が高く、赤血球数が少ないことが明らかにされているため、メダカ発生においては、赤血球が 4 倍体であることで低酸素濃度に適応したり、あるいは赤血球を少なくして血流を流れやすくしている可能性を考察している。

第5章は総括、第6章は図表、第7章は引用文献、第8章は謝辞である。

以上を要するに、筆者は本研究において、メダカの胚発生期全体に渡り赤血球の数と大きさを解析し、ほぼ全ての胚性赤血球の血流中での分裂と、数と大きさの調整、血管形成との関係を明らかにした。血流中の赤血球の細胞分裂が明瞭に示されたのは初めてであり、その細胞周期制御もまた、これまでに知られていない特異なものであることを明らかにしており、細胞生物学上で貢献するところが大きい。よって本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値が有るものと評価した。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。