

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ゼブラフィッシュの膜ヒレ再生モデルを用いた、再生細胞の生存機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	長谷川智也
Author(English)	Tomoya Hasegawa
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10421号, 授与年月日:2017年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:川上 厚志,工藤 明,桑 昭苑,立花 和則,山口 雄輝,白木 伸明
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10421号, Conferred date:2017/3/26, 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	長谷川 智也	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	川上 厚志	准教授	山口 雄輝	教授
	審査員	工藤 明	教授	白木 伸明	准教授
		糸 昭苑	教授		
立花 和則		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「ゼブラフィッシュの膜ヒレ再生モデルを用いた、再生細胞の生存機構の解析」と題し、全7章で構成されている。**第1章「緒言」**では、本論文の背景である、「再生」と「ゼブラフィッシュ」について述べている。再生現象を対象組織や機構に基づいて分類し、本論文が付加再生の解析を通じて、普遍的な再生原理の解明を目指したことを述べている。また、生物間の再生能力の差についても言及し、付加再生を含む再生能力の違いが生物学における未解明の問題の一つであることを述べている。さらにゼブラフィッシュモデルについて、生態やモデル生物としての歴史と有用性などについて触れ、特に魚類が再生能力に優れており、多様な器官、組織を再生できることを説明している。次に、付加再生研究に用いられている尾ヒレの再生機構について詳しく説明し、本論文において用いられている変異体やトランスジェニック (Tg) の作製技術の歴史の変遷や利用方法についても、最先端の研究を交えながら説明している。

第2章「膜ヒレ再生不全を示す *cloche* 変異体 (*clo*) の解析」では、ゼブラフィッシュの *clo* を用いた実験結果が記載されている。*clo* の膜ヒレ再生不全表現型が、細胞増殖の欠損と細胞死の増加に起因することを明らかにし、細胞死について詳細な解析を行っている。細胞死の時空間的解析の結果、*clo* の細胞死は組織の切断によって誘導された再生細胞で起きていることを示し、さらに、細胞死が *bc12* の過剰発現でレスキューできたことから、*Bc12* に依存したアポトーシスによることを明らかにしている。

次に、細胞移植実験から、*clo* の細胞死が細胞非自発的であることを示し、再生細胞における細胞死は *clo* 遺伝子産物そのものが再生細胞において機能するのではなく、*clo* が再生細胞以外に作用していることを示している。このことはさらに、*clo* と同様に血球、血管細胞を欠損した *tall/sc1* 変異体 (*tall*) が *clo* と同じ細胞死表現型を示すことによって検証し、血球、血管細胞が膜ヒレの再生および再生細胞の生存に必要なであることをエレガントに示している。

またさらに、各種血球、血管細胞のノックダウン実験により、ミエロイド細胞をノックダウンすると、*clo* と同様の再生細胞における細胞死が起こることを示し、ミエロイド細胞が再生細胞の生存に必要なことを証明している。ミエロイド細胞が再生細胞の生存を維持するための分子 (再生細胞生存因子) を分泌する可能性を検証するため、尾部外植体培養系の確立を行い、外植体を用いた実験により、再生細胞生存活性が野生型の体液中に存在することを明らかにしている。

第3章「Interleukin 1b (*il1b*) の膜ヒレ再生における機能」では、第2章で示された *clo* の細胞死メカニズムを解析している。トランスクリプトーム解析によって、*il1b* の発現が *clo* において顕著に上昇していることを見出し、実際に *in situ* hybridization 解析、RT-PCR 解析を通じて、*clo* が野生型よりも長時間 *il1b* の発現を示すことを見出している。さらに、*il1b* の BAC トランスジェニックを作製し、*clo* と野生型両者において、上皮細胞が *il1b* を発現することを示している。

加えて、*il1b* アンチセンスモルフォリノオリゴ (MO) や、抗炎症作用をもつデキサメタゾンを用いたノックダウン実験により、*il1b* が *clo* の細胞死の原因であることを証明している。さらに、熱誘導によって *il1b* を発現する Tg (*hsp70l: il1b*) を作製し、実際に、*il1b* の発現や、それを介した炎症反応が細胞死を引き起こすという結論を強固なものにしている。

これら *clo* 変異体における細胞死への *Il1b* の関与を示す一方で、*Il1b* は再生関連遺伝子の発現を誘導することを明らかにし *il1b* の発現および炎症反応は正常な膜ヒレ再生に必要なことを示している。さらに最後に、*il1b* の過剰発現は、稚魚の膜ヒレだけでなく、成魚のヒレにおいても再生阻害と細胞死の増加を起こすことを示し、*Il1b* の再生における作用が成魚においても保存されていることを明らかにしている。

第4章「結言」では、以上の結果をまとめ、今後の展望が述べられている。

第5章、第6章、第7章ではそれぞれ、「実験手法」、「参考文献」、「謝辞」が記載されている。

以上を総合すると、本論文は、ゼブラフィッシュの膜ヒレ再生モデルと変異体 *clo* を用いたことで、再生細胞が通常の細胞とは異なる *Il1b* への感受性を持つことを発見し、マクロファージに由来する因子が *il1b* の発現を抑制することによって、再生細胞の生存を維持していることを明らかにした最初の論文である。また重要な発見として、*Il1b* シグナルやそれによって誘導される炎症反応は、通常の再生にとって不必要なものではなく、再生の進行にとって不可欠の役割も持つことを見だし、*Il1b* シグナルが組織再生において2面性を持ったシグナルであることを明らかにしている。本論文は、遺伝学的な再生欠損変異体の解析から出発し、分子遺伝学的な手法、ケミカルバイオロジーの手法、トランスジェニックを用いたイメージング解析などを駆使し、これまで知られていなかった、組織再生における *Il1b* シグナル、マクロファージ、アポトーシスの意義を解明している。よって、博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。