



Title	ウシ胚盤胞期胚の内部細胞塊および栄養外胚葉への二極化に伴う細胞分化機構に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	長友, 啓明
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第11164号
Issue Date	2013-12-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/54635">http://hdl.handle.net/2115/54635</a>
Rights(URL)	<a href="http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Hiroaki_Nagatomo_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

# 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学） 氏名 長友 啓明

審査担当者 主 査 准教授 川 原 学  
副 査 教 授 高 橋 昌 志  
副 査 教 授 中 村 富美男

## 学 位 論 文 題 名

### ウシ胚盤胞期胚の内部細胞塊および栄養外胚葉への 二極化に伴う細胞分化機構に関する研究

本論文は5章からなり、図27、表9、文献76を含む頁数108の和文論文であり、別に参考文献2編が添えられている。

哺乳類の個体発生は、生殖細胞の接合を介した2倍体の構築による受精卵に始まり、有糸分裂の繰り返しと特定組織への細胞分化の結果として次世代個体が形成される全過程を意味する。細胞の分化は古くから発生生物学者の研究対象として膨大な研究報告がなされているが、動物種間の相違を含めて未だその全容解明には至っていない。一方、哺乳類では母体子宮に着床する前段階として胚盤胞期胚とよばれる共通したステージを経ることが知られており、この時期に将来胎子あるいはそれ以外の組織へと大まかに2種類の細胞へと機能が分離することから細胞分化解析モデルとして注目されている。分化した細胞のうち、一方を内部細胞塊（ICM）、他方を栄養外胚葉（TE）とよび、それぞれが特定の遺伝子群を発現させ、特有の細胞機能を獲得していく。近年の研究で、胚盤胞期における細胞分化過程での分子制御機構が哺乳類間で異なるということが徐々に明らかになってきた。しかし、マウス以外の哺乳類種ではウシを含め、胚発生に関与する遺伝子の特定やその発現動態の解明が充分になされておらず、ウシ胚でのICM/TE二極化制御機構の実態は不明である。そこで本研究では、ウシ胚盤胞期胚の分化制御機構解明を目的とし、とくに胚盤胞期胚における遺伝子発現パターンをICM/TE部位別に精査し、検出された遺伝子の初期胚発生における機能を探り以下の知見を得た。

1. 受精卵の置かれた環境や作製手順の違いによる胚盤胞期胚ICMおよびTE細胞二極化に伴う遺伝子発現動態に及ぼす影響を調べるため、体内由来胚(Vivo)胚、体外由来胚(Vitro)胚、体細胞クローン(SCNT)胚の3種の胚を用いて、顕微操作により分断した部位別の遺伝子発現パターンをマイクロアレイ解析によって比較した。その結果から、Vivo胚は生体の置かれた環境に大きく依存して遺伝子発現パターンが大きく変動するものの、Vitro胚ではサンプル間誤差の少ない斉一性のあるデータを示すこと、そして、SCNT胚では形態学的にはICM/TEへの二極化はみられるものの遺伝子発現に異常をきたしている

ることが明らかとなった。

2. ICMおよびTEのそれぞれで高発現する遺伝子をより高精度に検出するために、Vitro胚におけるICM細胞のみからなる細胞サンプルの調製を試み、検出遺伝子群についてWhole mount in situ hybridization(WISH)と定量PCRを実施した。界面活性剤処理によるICM細胞精製法の正当性は、TE特異的に発現する既知転写因子CDX2の免疫染色法を用いて証明した。ICMおよびTEそれぞれについて高発現を示す候補遺伝子を30個選択し、発現動態をWISHおよび定量PCRにより詳細に調べた。その結果、21個のウシ胚盤胞期胚部位特異的発現を示す遺伝子と決定した。また、*ID2*、*NASP*、*IFITM1*、*FGF2*の4遺伝子の発現がマウス胚とは異なる挙動を示すことが判明し、ウシ胚初期胚発生におけるこれら遺伝子の固有の機能が推測された。
3. 胎子形成に関与するICMにおいて高発現を示すことが明らかになった*NASP*および*CIITA*の2遺伝子について着目し、shRNAによる発現抑制法によってウシ初期胚発生における役割を調べ、マウス胚において報告されている知見と比較した。*NASP*のノックダウン(KD)胚の胚盤胞期胚への発生率を調べた結果、コントロールと比べて有意に低下していた。さらに、着床時に必須となる透明帯からの脱出を示した*NASP* KD胚の割合を調べた結果、コントロールに比べて有意に減少していた。一方、*CIITA* KD胚では、*NASP* KD胚よりもさらに顕著な胚盤胞期胚への発生率の低下がみられた。以上の結果から、本研究で明らかにしたウシ胚盤胞期胚部位特異的発現を示す遺伝子群のうち*NASP*および*CIITA*は、ともにウシ胚盤胞期胚への発生に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

本研究で調べられたウシ胚におけるICM/TE二極化に伴う遺伝子発現プロファイルは、これまで謎に包まれてきた反芻類家畜受精卵の細胞分化特性を明らかにしていく上で極めて重要な知見であるといえる。よって、審査員一同は、長友 啓明が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。