HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウスゲノム多倍体化が個体発生およびエピジェネティック修飾に及ぼす影響［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	山﨑, 渉
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12710号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65959
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Wataru_Yamazaki_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　山﨑　渉

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　上　田　宏一郎
副　査　名誉教授　中　村　富美男
副　査　助　　教　唄　　花子

学 位 論 文 題 名

マウスゲノム多倍体化が個体発生およびエピジェネティック修飾に及ぼす影響

本論文は 6 章からなり、図 31、表 18、文献 120 を含む頁数 133 の和文論文であり、別に参考論文 2 編が添えられている。

哺乳類におけるゲノムの多倍体化による個体発生阻害の原因は明らかとなっていない。また、ゲノム多倍体化により、一細胞あたりの遺伝子コピー数が増加することから従来の「ジェネティック」な観点より多倍体胚を解析した知見は報告されているものの、近年注目されている DNA 塩基配列の変化を伴わない「エピジェネティック」な遺伝子発現調節機構の観点から解析された報告は無い。そこで本研究では、マウス四倍体胎子を対象にエピジェネティック修飾の一つ DNA シトシンメチル化レベルを調べて、哺乳類特有のインプリント遺伝子発現および分化制御の観点からゲノム多倍体化が個体発生およびエピジェネティック修飾に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

(1) マウス四倍体胚の個体発生

マウス四倍体胚は 2 セットずつの雌性、雄性ゲノムから成り、胎齢 14.5 日で胎生致死を示し、卵筒期におけるアポトーシスの増加、神経系組織の形成異常などが特徴的だが、これらの特徴を裏付ける分子生物学的な報告は少ない。そこで、四倍体胚の発生能を検証するとともに、四倍体胎子の発生学的特徴と関連すると予想されるいくつかの遺伝子について発現解析を行った。四倍体胚は着床後胎齢 10.5 日において発生率の減少、発育不全を示し、脊椎軸形成関連遺伝子 *Hoxc9*、神経発生、眼球形成関連遺伝子 *Map1b*、*Pax6* および *Nestin* の発現低下を検出したことから、マウス四倍体胎子の発育不全の特徴と発生関連遺伝子発現レベルとの関係が示された。

(2)　マウス四倍体胎子のインプリント遺伝子解析および DMR メチル化解析

マウス四倍体胎子の発育不全の原因をより深く分析するため、哺乳類胎生期個体発生に重要な遺伝子で片親性発現を示すインプリント遺伝子群の発現レベルおよび制御機構に着目した。インプリント遺伝子群は、雌雄アリル間で DNA のメチル化状態が異なる領域（DMR）上における、性特異的エピ

ジェネティック修飾、特にDNAメチル化レベルの差異によって制御されている。したがって、四倍体胎子についてDMRのDNAメチル化レベルおよびインプリント遺伝子発現アリルの片親性維持についても調べた。実験の結果、四倍体胎子では、成長に抑制的に働く母性発現インプリント遺伝子群の発現上昇、および、神経発生に重要な機能をもつ*Ndn*および*Ipw*の発現減少を示すことが判明した。しかし、四倍体胎子における主要4領域全てのDMRでは、性特異的メチル化レベルが維持されており、かつ、四倍体胎子におけるインプリント遺伝子は片親性発現を維持していた。以上から、マウス四倍体胎子における表現型の特徴を裏付ける一つの要因としてインプリント遺伝子群の無秩序な発現状態との関連が明らかとなった。しかし、四倍体胎子では主要制御系であるDMR性特異的メチル化レベルや片親性発現は二倍体胎子と同様に維持されていたことから更なる原因究明に取り組んだ。

(3)　マウス四倍体胎子における着床後分化能の検証

過去の知見を参考に、マウス四倍体胎子のDNAメチル化レベルに依存しないインプリント遺伝子発現レベルの変化の原因の一つとして、四倍体胎子細胞の細胞分化能に着目した。四倍体胎子の分化能について、代表的未分化マーカー遺伝子である*Oct4*および*Nanog*のプロモーター部位のDNAメチル化レベルを調べた。発生ステージが同時期の二倍体胎子と比較したところ、胎齢10.5日における四倍体胎子の*Oct4*プロモーター領域のメチル化レベルは同程度であったが、*Nanog*プロモーター領域は低メチル化レベルであった。以上の結果から、マウス四倍体胎子における未分化マーカー遺伝子発現制御の変化が、四倍体胎子の細胞分化能の低下や遅延を引き起こしていることが示唆され、インプリント遺伝子発現変化や発育不全と関連しているものと推察された。

本研究から、哺乳類個体発生におけるゲノムの多倍体化は、DMRの性特異的メチル化レベル非依存的なインプリント遺伝子発現や未分化マーカー遺伝子プロモーター部位のDNAメチル化獲得に影響を及ぼし、個体発育を阻害へと導くことが示唆された。これらの研究結果は哺乳類においてゲノム多倍体化による個体発生への影響をエピジェネティックな観点から実証したもので、発生生物学ならびに分子生物学的に重要な知見と評価され将来的に家畜やヒトのゲノム重複由来疾患の原因解明ならびに新たな治療法の確立に寄与する可能性を持つ。よって、審査員一同は、山﨑　渉が博士（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。