



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ウシミトコンドリアDNAの混在がマウス個体発生間の遺伝子発現に及ぼす影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	小松, 雅也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14817号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85466
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Komatsu_Masaya_review.pdf, 審査の要旨



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 小松 雅也

審査担当者	主 査	准 教授	川 原 学
	副 査	教 授	上 田 宏一郎
	副 査	教 授	西 邑 隆 徳
	副 査	教 授	高 橋 昌 志 (国際食資源学院)
	副 査	助 教	唄 花子

学 位 論 文 題 名

ウシミトコンドリア DNA の混在がマウス個体発生間の遺伝子発現に及ぼす影響

本論文は7章からなり、図 30、表 11、文献 92 を含む頁数 144 の和文論文であり、別に参考論文 2 編が添えられている。

細胞中のエネルギー分子 ATP の産生を担うなど生物に必須なミトコンドリアの機能は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の遺伝子によって支えられている。種の維持のために、種特異的な mtDNA 配列の同一性は重要であると考えられるが、異種 mtDNA 混在による個体への影響は不明であり、核 DNA に比べて種内維持機構は全くわかっていない。本研究では、当研究室が過去に開発したウシ mtDNA を保持したマウス (Xenon) の作出系を用いて、異種 mtDNA の混在が個体発生に及ぼす影響を胎子系列および胎盤系列細胞の遺伝子発現調節の観点から調べた。

(1) ウシミトコンドリア DNA 混在マウス新生子由来肺組織における網羅的遺伝子発現解析

Xenon では出生直後に自発呼吸不全が多発したため、肺に着目して網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、Xenon 肺ではコントロールとは全く異なる遺伝子発現パターンを示していた。中でも、ミトコンドリア機能関連遺伝子の低発現と、広範な遺伝子発現制御を行う miRNA の高発現が特徴的であった。Xenon 肺において、ミトコンドリア関連遺伝子のうち ATP 合成を行う呼吸鎖複合体遺伝子群の有意な発現低下と、miRNA 群の有意な発現増加を定量 PCR によって確認した ($P < 0.05$)。これより、Xenon 肺における呼吸鎖複合体の活性低下および miRNA 群発現変動によるグローバルな遺伝子発現変化への影響が推察された。

(2) ウシミトコンドリア DNA 混在がマウス肺株化細胞の遺伝子発現に及ぼす影響

Xenon 肺における呼吸鎖複合体遺伝子と miRNA の発現異常の原因はウシ mtDNA の混在であることを決定すべく、マウス肺由来細胞に血小板由来ウシ mtDNA を導入したサイブリッド細胞の遺伝子発現解析を行った。その結果、サイブリッド細胞においても Xenon 肺と同様に、呼

吸鎖複合体遺伝子の発現低下と miRNA の発現増加がみられたことから、ウシ mtDNA の混在がこの発現変化の原因であることが裏付けられた。

(3) ウシミトコンドリア DNA の混在が miRNA の転写調節領域における DNA メチル化状態に及ぼす影響

遺伝子発現調節領域の CpG アイランドにおけるメチル化修飾は、遺伝子発現を負に制御する。ウシ mtDNA 混在による遺伝子発現変化の直接的な原因を探るべく、Xenon 肺およびサイブリッド細胞において発現増加した miRNA の DNA メチル化状態を解析した。その結果、いずれも複数の miRNA の CpG アイランドが低メチル化状態となっており、ウシ mtDNA 混在による miRNA 発現増加の一因であることが示された。

(4) ウシミトコンドリア DNA の混在がマウス胎盤の表現型および遺伝子発現に及ぼす影響

Xenon 胎盤ではコントロールと比較して重量の増加がみられるが、その原因はわかっていなかった。そこで Xenon 胎盤の組織学的解析を実施し、同じく胎盤肥大化が観察されている体細胞クローンマウス胎盤の知見に基づいて遺伝子発現解析を行った。

Xenon 胎盤では、胎盤を構成する海綿栄養芽層がコントロールに比較して肥大化していた。さらに、体細胞クローンマウス胎盤で海綿栄養芽層肥大化の原因遺伝子とされる *Sfmbt2* の発現を調べたところ、Xenon 胎盤でも発現量が増加していた。体細胞クローンマウス胎盤でもエビジェネティック制御の破綻が *Sfmbt2* 発現異常の原因であることから、Xenon 胎盤でも同様の機序で胎盤海綿栄養芽層の肥大化が起きたのではないかと推察された。

本研究をまとめると、マウス肺細胞ではウシ mtDNA の混在により核 DNA のメチル化状態が変化し、それに伴い発現増加した miRNA の影響も相まって、網羅的な遺伝子発現パターンが変化することが示された。胎盤においても、ウシ mtDNA の混在が遺伝子発現および形態異常を引き起こした。したがって、遺伝子発現変動による致死的影響が、異種 mtDNA の遺伝を強固に阻止していると推察された。

以上より、異種 mtDNA 混在によってメチル化状態の変化を介し核 DNA の遺伝子発現調整が行われることを発見した本研究は、異種 mtDNA と核 DNA の相互作用の存在を示した。さらに、本研究結果は mtDNA-核 DNA の協調関係の種内での統一が個体発生の成否を定めていることを初めて証明するものであり、発生生物学および遺伝学において極めて重要な知見を与えるものである。よって、審査員一同は、小松雅也が博士（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。