

マウス受精卵がもつ全能性の割球への継承性の解析

東田（前村），万里野

<https://hdl.handle.net/2324/4496000>

出版情報：Kyushu University, 2021, 博士（理学），課程博士
バージョン：
権利関係：

氏 名 : 東田 (前村) 万里野

論 文 名 : マウス受精卵がもつ全能性の割球への継承性の解析

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

生殖は、すべての既知の生物に見られる本質的な特徴である。哺乳類の生殖では、異形配偶子である卵子と精子の受精により形成される接合子（受精卵）が、多様な細胞から構成される新個体を生み出す発生プログラムを起動する。胚発生を補助する環境下（哺乳類の場合は子宮が該当する）において、単一細胞から生殖能を備えた成体を生み出す受精卵の能力を **totipotency**（全能性）といい、全能性を有する細胞を **totipotent** 細胞（全能性細胞）という。全能性細胞が全ての多細胞生物の源であることを踏まえると、全能性をより深く理解することは、生命科学のみでなく一般社会へも幅広い影響を与える。しかし、全能性に関する我々の知識は乏しい。本研究では、哺乳類における全能性の分子基盤解明に向けて、マウス全能性細胞の存在様式の解明を目的とし、着床前初期胚の単一割球がもつ発生能を多角的に評価することで、受精卵がもつ全能性の子孫割球への継承性を調べた。

まず、単一割球の個体発生能の評価により、マウス 2 および 4 細胞期胚の単一割球から成体を得ることに成功した。一方、8 細胞期胚の単一割球からは出生を得られなかった。本成果は、マウスの全能性細胞が受精卵と 2 細胞期胚の割球のみであるというこれまでの概念を覆し、マウス受精卵の全能性が 4 細胞期胚の割球まで継承されうることを明らかにした。次に、単一割球の着床前初期胚発生能の評価により、桑実期胚のほとんどの割球が胚盤胞（胞胚腔を形成し、**inner cell mass** (ICM) および **trophectoderm** の分化が生じた胚) へ発生せず、マウス受精卵の全能性は桑実期胚の割球には継承されないことが示唆された。さらに、単一割球の着床期胚発生能の評価により、8 細胞期胚の割球が ICM 内で正常な **epiblast** (EPI) および **primitive endoderm** (PrE) を形成した胚に発生せず、マウス受精卵の全能性は 8 細胞期胚の割球にも継承されないことが示唆された。これらの結果は、マウス受精卵がもつ全能性の子孫割球への継承が、4 細胞期胚の割球までであることを支持するものであった。

単一割球由来疑似胚盤胞のトランスクリプトーム解析により、胚発生に必須のトランスクリプトームを確立する **zygotic genome activation** 期間中の割球の単離が、単一割球由来胚のトランスクリプトームに影響を及ぼすことを明らかにした。

姉妹割球間の発生能の差異に関する解析により、8 細胞および桑実期胚の姉妹割球間では、全ての姉妹割球に等しく胞胚腔形成能が継承されないことが示唆された。さらに、4 細胞期胚の姉妹割球間では、全ての姉妹割球に等しく EPI および PrE 形成能が継承されないことが示唆された。これらの結果、マウス受精卵の全能性は、2 細胞期胚まではその全ての姉妹割球に継承されうるが、4 細胞期胚ではそのような全能性の継承は生じないことが示唆された。

受精卵がもつ全能性の子孫割球への継承メカニズムに関して、着床期の胚発生能と ICM の細胞数

との間に相関性が見られた。受精後、胚が胞胚腔を形成するまでの時間は、割球を単離しても変わらない。したがって、発生ステージの進行した胚から単離された割球ほど残された卵割の回数が少なくなり、胚を構成する細胞数が少ない状態で胞胚腔を形成してしまう。しかし、着床期の胚の ICM では EPI および PrE の形成がパラクラインシグナルと細胞間相互作用の組合せにより非細胞自律的に制御されており、そのような制御機構には一定数以上の細胞が ICM に存在する必要性が高い。そのため、単一割球が作り出すことのできる ICM の細胞数が発生の進行に伴い減少することで EPI および PrE の形成不全が生じ、受精卵全能性の子孫割球への継承が途絶えることが示唆された。一方、姉妹割球への不均等な全能性の継承が生じる原因として、卵割の際に生じる姉妹割球間の細胞構成成分の差異が示唆された。この姉妹割球間の差異は、卵割により姉妹割球が生じる際の細胞構成成分の不均等分配が原因と考えられる。その結果、単一割球においては、出生までの胚発生に必要な分子的要素の欠損を引き起こし、姉妹割球へ全能性が等しく継承されないことが示唆された。

以上の結果、本研究ではこれまでの概念を覆し、マウスでは全能性細胞が 4 細胞期胚まで存在することを明らかにした。さらに、マウス受精卵がもつ全能性の子孫割球および姉妹割球間の継承性を明らかにし、そのメカニズムの一端が示唆された。今後の研究では、本研究で明らかにした全能性細胞と非全能性細胞の混成である 2 および 4 細胞期胚において、姉妹割球間の分子的な差異と発生能との関連を調べていくことで、全能性の分子的特徴および基盤の理解に繋がると考えられる。