

氏 名	う え だ お と や 上 田 乙 也
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論農博第 2631 号
学位授与の日付	平成 19 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	着床時期周辺におけるマウス胚発生調節機構の研究

論文調査委員 (主査) 教授 矢野秀雄 教授 今井裕 教授 久米新一

### 論 文 内 容 の 要 旨

哺乳動物における受精や胚発生および胎仔発生は、雌生殖道内の環境や、胚と母体との相互関係の中で緻密な調節を受ける。マウスにおいて子宮内膜が胚を受容可能な期間は“Window of implantation”と呼ばれており、その期間は内分泌学的に厳密な支配を受ける。過去の報告によると、この期間は24時間程度と、ごく限られた期間であると考えられてきた。一方、胚側の条件としては、子宮側が受容可能な時期に胚盤胞まで発生していなくてはならない。このように、排卵に始まり、受精、胚発生、着床および胎仔発生と進行していく初期発生は、胚と母体との精緻な相互関係と調節のもとに成り立っている。しかしその一方で、マウス胚を受容雌に移植する場合は、移植時における胚の発生段階によることなく、たとえ発生が数日進んだ胚を Day0 の受容雌の卵管内に移植したとしても、受容雌の妊娠日齢に従って分娩に至ることが知られている。つまり、胚と母体との相互関係は厳密である側面を持つ一方で、柔軟な側面も有しており、そこには胚発生を調節する何らかの機構が存在することが推察される。本研究では、マウス胚の着床前後の発生の調節機構を明らかにすることを目的として、いくつかの条件におけるマウス胚の移植後の着床および発生の検討を行ない、成績をまとめたものである。

第1章では、本研究の背景と目的を述べている。

第2章では、抗癌剤投与雄マウスの受精能試験への生殖工学的な手法の応用の検討を述べている。すなわち、抗癌剤を投与した雄マウスの交配に由来する卵子を回収し、受精卵を培養に供して *in vitro* での発生率を検討しつつ、一部の胚を受容雌へ移植することによって着床および胎仔への発生率を同時に評価する実験系を検討した。この系を利用して同一個体由来する胚の培養下における *in vitro* での発生能低下と *in vivo* での着床率、胎仔発生率の低下など、同時に検討することができた。また、抗癌剤投与雄マウスとの交配に由来する卵子に受精成立の遅延が観察され、発生調節を考慮するうえで興味深かったが、抗癌剤が生殖細胞にもたらす異常が、染色体上に誘発されるランダムな変異によるものであると考えられたため、この実験系を胚発生の調節機構の解析に使用するのには困難と判断した。

第3章では、発生段階の異なるマウス胚を同一受容雌に移植した場合の胚発生を検討した。この実験の目的は、希少系統の胚凍結保存を行う場合など、発生段階の揃った胚が適当数得られないような場合を想定して、これらを同一受容雌に移植することが可能か否かを検討することであった。その結果、同一受容雌に移植した場合の胎仔への発生には影響は認められず、いずれからも正常に産仔が得られ、発生段階の揃った胚を準備できない際などにも、受容雌を効率的に利用することが可能であることが示された。また、この成績は、移植時に存在した発生段階の差を胚発生の過程において調節する機構が存在することを示唆するものであった。

第4章では、第3章で示唆された胚発生の調節機構がどのように機能するかを検討するために行なった実験について述べた。すなわち、体外受精によって得た前核期受精卵(PN)および、それを2日間培養に供した8細胞期胚(8-cell)のマウス胚を同一受容雌に移植した。その結果、8-cell では移植後42時間にてすでに着床が認められ始め、66および90時間における着床が約70%に安定するのに対して、PN では移植90時間後において初めて着床が認められ、着床率は移植114時間後にピークとなった。さらに、着床後の胚発生を経時的に追跡した結果、発生段階の異なる移植胚は、移植後162時間までに形

態的に同期化されることが見出された。これらの成績は、発生段階の進んだ胚は、遅れた胚に先駆けて着床するが、遅れた胚も正常に着床し、それらは神経盤、前胎節期周辺において同期化されることが明らかとなった。本実験の結果より、マウスにおける初期胚の着床可能な時期である“window of implantation”は、これまで信じられてきた24時間以内という限られた期間を超えて延長させることが可能であることが強く示唆された。

第5章では、本研究によって得られた成績を要約している。

## 論文審査の結果の要旨

哺乳動物の発生過程において、受精や胚発生および胎仔発生は、雌生殖道内の環境や、胚と母体との相互関係の中で緻密な調節を受ける。特に、胚の着床過程は内分泌学的な厳密な支配を受けるため、子宮内膜が胚を受容可能な期間は、“Window of implantation”と呼ばれ、マウスにおいては24時間以内という限られた期間であると信じられてきた。一方で、マウス胚を受容雌の卵管内に移植する場合、偽妊娠0日目の受容雌は、着床前の発生段階であれば、胚の日齢によらず受け入れることができることが知られている。本論文は、このような厳密な側面と柔軟な側面を有している胚発生調節の過程を明らかとする目的にて、マウスを用い、いくつかの条件にて移植後の胚発生過程を検討したものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 抗癌剤投与雄マウスの受精能試験への生殖工学的技術の応用については、同一雌に由来する胚の発生能を体外培養系と胚移植系に分割して検討することにより、受精率および着床前の胚発生過程を経時的に追跡したうえで、*in vivo*における胎仔への発生の過程を検討することが可能となり、従来の試験系での成績を補完するような情報を得ることができた。その中で観察された受精成立の遅延を、母体と胚の相互関係を考察する発想へとつなげた。

2. 発生段階の異なるマウス胚を同一受容雌に移植する実験系を用いて、発生段階の揃った胚が移植に適当な数だけ揃わないような場合においても、同一受容雌への移植が可能であることを示した。

3. 発生段階の異なるマウス胚を同一受容雌に移植した場合には、発生の進んだ胚が先行して着床するが、発生が遅れた方の胚も本来のタイミングにて正常に着床することが明らかとした。このことは、従来、内分泌学的な厳密な支配を受けるため24時間以内であると信じられてきた“Window of implantation”の期間が人為的に延長しうることを示唆している。

4. 上記の条件において、同一受容雌の子宮内膜に対して、別々の時期に着床した胚の発生を経時的に追跡することにより、それらの発生が徐々に調節され、神経盤・前体節期あたりに同期化されることを示した。

以上のように、本論文では、主に発生段階の異なる初期胚を同一受容雌に移植する実験系を用いることにより、同一受容雌の生殖道内で胚発生が調節されることを示した。その調節機構は着床時期を一致させることではなく、着床後に徐々に同期化させていく機構であることが示された。また、受容雌の胚を受容可能な時期が人為的に延長させることが可能であることを示した。従って、畜産学、生殖生理学並びに実験動物学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成18年12月21日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。