

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：13501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22610

研究課題名(和文)体細胞クローン胚の初期胚発生における胎盤と胎仔の関係性の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the relationship between placenta and fetus in early embryonic development of somatic cell nuclear transfer embryos

研究代表者

藤本 由佳 (Fujimoto, Yuka)

山梨大学・大学院総合研究部・特任助教

研究者番号：70829225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：胎盤の過形成はクローン個体特有の顕著な「異常」であるのにも関わらず、依然として未解明のままである。そこで、本研究ではこの過形成は「異常」ではなく逆にクローンにとって必須、つまり生まれるためにプログラムされた「正常」な状態であると考え、解析を行った。着床期以降の胚を用いて組織学的解析を行った結果、胎盤の過形成はクローン胚の発生遅延異常が回復するうえで必要なのではないかとということが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、着床期以降特に胎齢8.5～13.5日のクローン胚を中心的に解析することによって、クローン胚における胎盤形成サイズが胎仔の発生速度に関わっていることが示唆され、これにより胎盤の過形成を「異常」と捉えるのではなくむしろ「正常」の可能性も十分に考えられ、新たな視点に立って、この「クローン胚特有の異常」を解明することが、クローン胚の作製効率を改善することに繋がると期待できる。

研究成果の概要(英文)：Placental hyperplasia is specific "abnormal" phenotype for Cloned mice. However, it has not been clarified yet. In this research, We considered that this hyperplasia is not "abnormal" but rather essential for clones, that is, a "normal" state programmed to be born, and we analyzed. As a result of histological analysis using embryos after the implantation stage, we suggested that placental hyperplasia is a essential phenotype for recover of developmental delay abnormalities of cloned embryos.

研究分野：発生生物学

キーワード：体細胞クローン 胎盤 クローン胚

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

哺乳類のクローン個体の作製効率は長年の研究により当初の 5% から 20% にまで大きく上昇したが、依然として解明されていないクローン個体特有の発生期異常がある。それは、胎盤の形成異常と、着床後の胚発生の停止である。胎盤の異常は 2 種類に分けられ、一つは通常に比べて胎盤の大きさが 2 倍以上になること(過形成の状態)、もう一つは胎子の発生が途中で止まり、胎盤のみが産出されること(胎盤オンリー)である。その一方で、この胎盤過形成は例外なくすべてのクローンマウス個体で起こる表現型であり、なおかつこの状態で生まれてきたクローン動物は正常に発育する場合が多いため、胎盤異常と生きたクローン個体の正常性は無関係な可能性が高い。

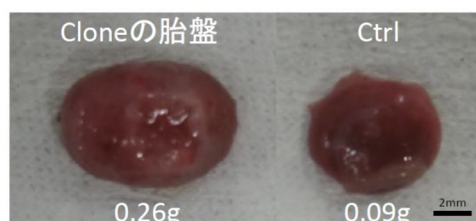


図 1 : 出生時の胎盤比較

### 2. 研究の目的

体細胞クローン胚は着床後 ~ 8.5 日目の間に大きく発生率が低下することから(図 2) この時期がクローン胚の発生の大きなターニングポイントだと考えられている(Wakayama et al. *Semin Cell Dev Biol* 1999)。さらに、マウスの胎盤形成は通常 10.5 日頃に形成が完了する。そのため着床以降 ~ 10.5 日の時期は胎盤と胎子の関係性が構築される重要な時期であると言える。従ってこの着床後を重点的に調べることは、クローン胚特有のプログラムが起こるタイミングやそのメカニズムを解明するために非常に重要であると考え、本研究ではクローン胚独自の胎盤と胎子間の特別な相互関係を解明することを目的とする。

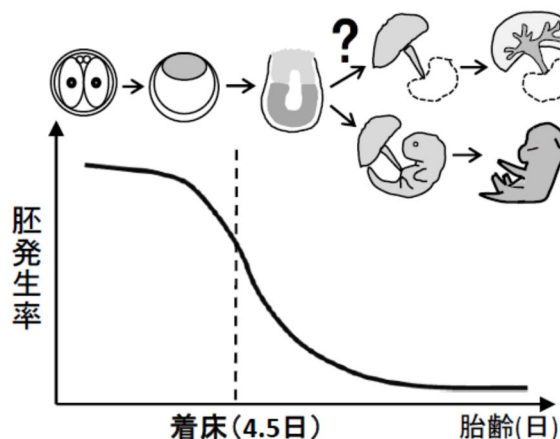


図 2 : クローン胚の発生過程

### 3. 研究の方法

初期胚発生期(胎齢 7.5 日 ~ 9.5 日)と胎盤形成後(10.0 日 ~ 15.5 日)の 2 区間のクローン胎子を 0.5 日間隔で採取を行い、胎盤および胚の形態を正常胚と比較してパターン分けした後、組織学的解析及び形態学的解析を行い、クローンの胎盤と胎子が通常胚の発生と比較してどのように異なっているかを表現型レベルで詳細に解析し特定を行う。

### 4. 研究成果

- (1) 胎齢 13.5 日目以降のクローン胚は胎盤の過形成が起こっており、その重量(平均: 0. はすでにコントロール胚(IVF 胚)の出生時の重量(平均: 0.09g)を大きく上回る大きさのものを形成していた。一方胚発生に関しては、10%ほどの胚で胎齢 11 日目頃の胚が観察され、発生遅延がわずかながら起きていることが確認された。

- ( 2 ) 胎齡 11.5 日目の時期においても、すでに胎盤が過形成状態であることが確認された。また、クローン胎仔の胎齡を確認したところ、胎齡通りの胚は生存していた胎仔のうち 20% しか確認されず、50% 以上の胚で 2 日以上 of 発生遅延が確認された。
- ( 3 ) 胎盤形成が完了する時期である 10.5 日目においては、確認できた胎盤のほとんどが出生時の重量に近い状態 ( 平均 : 0.079 ) になっていたことから、形成過程において過形成化が進んでいることが明らかとなった。一方胚発生に関しては、ほとんどの胚が 10.5 日に満たない発生状態であり 7.5 日前後の胚が多く観察された。
- ( 4 ) ( 1 )・( 2 )・( 3 ) の時に回収できた生存していたクローン胚由来の胎盤を用いて H E 染色を行った結果、内部構造の違いがクローン同士でも確認された ( n=1 のためデータは掲載せず )。胎盤の過形成は一律に起こる表現型のため、おそらくこの構造の違いが、その後の胎生致死が起こる要因の一つになりうる可能性があるかと推察される。

< 引用文献 >

Wakayama T, Yanagimachi R. Cloning the laboratory mouse. *Semin Cell Dev Biol.* 1999 Jun;10(3):253-8

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------