

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2006～2010

課題番号：18108004

研究課題名（和文） 妊娠の制御と成立機構のリモデリング

研究課題名（英文） Remodeling on molecular mechanisms of pregnancy establishment  
And regulation

研究代表者

今川 和彦 (Imakawa Kazuhiko)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：00291956

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード：動物、遺伝子、発現制御、妊娠、リモデリング、インターフェロン、トロホプラ  
スト細胞、着床

#### 1. 研究計画の概要

トロホプラスト細胞から時期（着床期）特異的な発現をする IFNT 遺伝子の発現制御機構と、この遺伝子の発現によって誘導される母体側や胚仔側の遺伝子群を明らかにすることによって、受胎の認識、胚の接着、浸潤から初期胎盤の形成までの理解を深め、着床・妊娠の制御機構の新たなモデルを提唱する。具体的な目標として、以下の5項目を掲げた。

トロホプラスト細胞株 IFNT 遺伝子発現制御モデル

人為的制御可能な IFNT 遺伝子を持つトロホプラスト細胞株と子宮細胞での接着や浸潤過程の解析

遺伝子改変トロホプラスト細胞株による接着から胎盤形成過程の解析

IFNT 遺伝子改変 ES 細胞を用いてトランスジェニックや遺伝子ノックアウト・シバヤギの作出

早期妊娠診断法の開発や上記知見のクローン動物への応用のための基礎実験

#### 2. 研究の進捗状況

研究計画 ~ は、概ね順調に進んでいる。シバヤギからの ES 細胞や TS 細胞の作出は、初年度から2年目にかけて行ったが、失敗に終わった。の早期妊娠診断法の開発は、まず、組換え IFN やその抗体の作出に成功したので、これから始めていくことができる。

#### 3. 現在までの達成度

IFNT 遺伝子発現制御法の確立には、至っ

てはないが、この研究領域では今も世界をリードしている。また、胚仔の子宮への接着や浸潤、それに続く胎盤形成へ向けての培養細胞での解析もかなり進展した。

シバヤギ ES 細胞や TS 細胞開発の失敗を踏まえ、まず、マウスで進めることを考えた。事実、昨年度よりマウスの ES、TS や iPS 細胞を取得することが出来た。それらの細胞に遺伝子改変作業を行ったり、細胞塊（スフェロイド）を作らせ、正常の胚盤胞をコントロールに偽妊娠マウス子宮への胚移植実験を行っている。細胞塊が着床し母親の反応である脱落膜形成も起こし、胎盤様の構造を作るまでになった。

#### 4. 今後の研究の推進方策

ウシ・トロホプラスト細胞株と子宮内膜細胞の共培養実験系に、ヒツジ妊娠 15 日や 17 日の子宮灌流液を添加すると、トロホプラスト内遺伝子発現が、in vivo で見られるものと同じようになった。今後は、この解析系をもっと in vivo に近づけるとともに、子宮灌流液のプロテオーム解析を行い、どのタンパク因子群がトロホプラスト細胞の遺伝子発現を制御しているのかを明らかにする。この解析から、着床過程の遺伝子発現を絞り込み、その因子の制御機構を見つけ出していく。

細胞塊移植実験は、塊そのものを胚盤胞に近づけていくことで、胚盤胞の形成や胚盤胞の外側と内側の遺伝子群発現とその制御から、着床過程のメカニズムを明らかにしていきたい。この解析法は、今のところ、日本にも世界にも存在しない。そこで今後は、これ

をさらに発展させ、胚仔の接着や浸潤(着床)だけではなく、胎盤形成そのものをコントロールするようにし、それらの過程での遺伝子発現とそれらの制御法を開発していく。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 15 件)

Imakawa K, Kim M-S, Matsuda-Minahata F, Ishida S, Iizuka M, Suzuki M, Chang K-T, Echternkamp SE, Christenson RK. Regulation of the ovine interferon-tau gene by a blastocyst-specific transcription factor, Cdx2. *Mol. Reprod. Develop.*, 73: 559-567 (2006).

Imakawa K, Imai M, Sakai A, Suzuki M, Nagaoka K, Sakai S, Lee A-R, Chang K-T, Echternkamp SE, Christenson RK. Regulation of conceptus adhesion by endometrial CXC chemokines during the implantation period in sheep. *Mol. Reprod. Develop.*, 73: 850-858 (2006).

Takahashi T, Isuzugawa K, Murase Y, Imai M, Yamamoto S, Iizuka M, Akira S, Bahr GM, Momotani E, Hori M, Ozaki H, Imakawa K. Up-regulation of NOD1 and NOD2 through TLR4 and TNF-alpha in LPS-treated murine macrophages. *J. Vet. Med. Sci.*, 68: 471-478 (2006).

Rider V, Isuzugawa K, Twarog M, Jones S, Cameron B, Imakawa K, Fang J. Progesterone initiates Wnt-beta-catenin signaling but estradiol is required for nuclear activation and synchronous proliferation of rat uterine stromal cells. *J. Endocrinol.*, 191: 537-548 (2006).

Nagaoka K, Tanaka T, Imakawa K, Sakai S. Involvement of RNA binding proteins AUF1 in mammary gland differentiation. *Exp. Cell Res.*, 313: 2937-2945 (2007).

Kim E, Lee JW, Baek DC, Lee SR, Kim MS, Kim SH, Imakawa K, Chang KT. Identification of novel retromer complexes in the mouse testis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 375: 16-21 (2008).

Haneda S, Nagaoka K, Nambo Y, Kikuchi M, Nakano Y, Matsui M, Miyake Y, Macleod JN, Imakawa K. Interleukin-1 receptor antagonist expression in the equine endometrium

during the peri-implantation period. *Domest. Anim. Endocrinol.*, Jan. 7 (2009).

Nagaoka K, Aoki F, Hayashi M, Muroi Y, Sakurai T, Itoh K, Ikawa M, Okabe M, Imakawa K, Sakai S. L-amino acid oxidase plays crucial role in host defense in the mammary glands. *FASEB J.*, Mar. 10 (2009).

Sakurai T, Sakamoto A, Muroi Y, Bai H, Nagaoka K, Tamura K, Takahashi T, Hashizume K, Sakatani M, Takahashi M, Godkin JD, Imakawa K. Induction of endogenous tau interferon gene transcription by CDX2 and high acetylation in bovine non-trophoblast cells. *Biol. Reprod.*, Feb. 11 (2009).

[学会発表](計 18 件)

櫻井敏博、坂本淳史、Godkin JD、Ealy AD、今川和彦 エピジェネティックによる胚性インターフェロン・タウの時期・細胞特異的な発現制御機構の解明 第100回日本繁殖生物学会大会、東京大学(2007年)

金 民洙、櫻井敏博、佐藤大祐、坂本淳史、室井喜景、Chang K-T、Ochs GJ、Roberts MP、Godkin JD、今川和彦 転写因子 Oct-4 によるインターフェロン・タウ遺伝子の発現調節機構 第100回日本繁殖生物学会大会、東京大学(2007年)

坂本淳史、櫻井敏博、金 民洙、高橋 透、橋爪一善、酒井仙吉、永岡謙太郎、今川和彦 第100回日本繁殖生物学会大会、東京大学(2007年)

佐藤大祐、金 民洙、室井喜景、櫻井敏博、坂本淳史、永岡謙太郎、今川和彦 トロホプラスト細胞特異的転写因子 Eomes による時期特異的な胚性インターフェロン・タウ遺伝子発現機構の解析 第100回日本繁殖生物学会大会、東京大学(2007年)

室井喜景、櫻井敏博、永岡謙太郎、今川和彦 ウシ・トロホプラスト細胞の着床期に発現変化するレトロトランスポゾン由来新規遺伝子の機能解析 日本畜産学会 第109回大会、茨城大学(2008年)

唄 花子、櫻井敏博、坂本淳史、室井喜景、永岡謙太郎、中島弘美、今川和彦 IFNT 遺伝子のトロホプラスト細胞特異的な発現制御機構に関する転写因子の探索 日本畜産学会 第109回大会、茨城大学(2008年)

室井喜景、櫻井敏博、柳田絢加、永岡謙太郎、今川和彦 ウシ・トロホプラストの着床期に発現変化するレトロトランス

ポゾン由来遺伝子の機能解析 第 101 回  
日本繁殖生物学会大会 九州大学 (2008  
年)

佐藤大祐、櫻井敏博、唄 花子、室井喜  
景、奥田 潔、永岡謙太郎、今川和彦 子  
宮灌流液と子宮内膜上皮細胞によるウシ  
栄養膜細胞の遺伝子発現調節機構の解析  
第 101 回 日本繁殖生物学会大会 九州  
大学 (2008 年)

櫻井敏博、唄 花子、室井喜景、永岡謙  
太郎、今川和彦 転写因子 Cdx2 による  
インターフェロン・タウ遺伝子座におけ  
るヒストン H3 アセチル化就職の可能性  
第 101 回 日本繁殖生物学会大会 九州  
大学 (2008 年)

山越祥子、唄 花子、櫻井敏博、室井喜  
景、永岡謙太郎、岡田幸之助、友金 弘、  
今川和彦 IFNT 遺伝子発現制御機構へ  
の TEAD4 の関与 日本畜産学会第 110  
回大会 日本大学生物資源科学部  
(2009 年)

櫻井敏博、唄 花子、室井喜景、永岡謙  
太郎、今川和彦 転写因子 CDX2 による  
クロマチン構造変化 日本畜産学会第  
110 回大会 日本大学生物資源科学部  
(2009 年)

唄 花子、櫻井敏博、室井喜景、永岡謙  
太郎、今川和彦 トロホプラスト細胞に  
ける転写因子 GATA ファミリーの発現動  
態および発現部位 日本畜産学会第 110  
回大会 日本大学生物資源科学部  
(2009 年)

室井喜景、窪田健太郎、櫻井敏博、永岡  
謙太郎、今川和彦 膜タンパク質 CD9 は  
ヒト・トロホプラスト細胞における  
syncytin-1 の発現を制御する 日本畜産  
学会第 110 回大会 日本大学生物資源科  
学部 (2009 年)

今川和彦、櫻井敏博、室井喜景 レトロ  
エレメントのダイナミズム「家畜の胎盤  
形成」 第 147 回 日本獣医学会学術集  
会 宇都宮 (2009 年)

今川和彦、永岡謙太郎 家畜における  
生殖内分泌研究の現状「ウマ胚の妊娠認  
識の同定」 第 147 回 日本獣医学会学  
術集会 宇都宮 (2009 年)

〔図書〕(計 1 件)

今川和彦 いざ“生”の扉へ：クローンとエ  
ピジェネティックの新展開、アドスリー(販売  
丸善)180 ページ(2006)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕