



Title	Gene expression of cytokeratin EndoA and EndoB during embryogenesis and in adult tissues of mouse
Author(s)	橋戸, 和夫
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3060152">https://doi.org/10.11501/3060152</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	橋 戸 和 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 0 1 5 3 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 生理系専攻
学位論文名	<b>Gene expression of cytokeratin <i>EndoA</i> and <i>EndoB</i> during embryogenesis and in adult tissues of mouse</b> (マウス胚発生及び成体組織におけるサイトケラチン <i>EndoA</i> および <i>EndoB</i> 遺伝子の発現)
論文審査委員	(主査) 教 授 松代 愛三 (副査) 教 授 吉川 寛 教 授 島田 和典

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

マウス受精卵は卵割を繰り返し 8 細胞期をへて胚盤胞へと発生していく。形態的には等価であった各割球が胚盤胞期では外側を取り巻く栄養外胚葉と内側に位置する内部細胞塊に分化する。この分化がマウス胚における一番最初の分化であると考えられており、この時期の分化の仕組みを知ることは初期胚発生の仕組みを理解する上で非常に重要である。

マウス *EndoA* および *EndoB* は胚盤胞期における栄養外胚葉の分化マーカーとして同定されてきた中間系フィラメントを構成するサイトケラチンタンパクである。*EndoA*, *EndoB* はそれぞれ分子量と等電点の違いから type II と type I の 2 種類に分類され、ヘテロダイマーを形成することによって 1 本のフィラメントを形成する。この分化マーカー遺伝子の発現調節の仕組みを調べることは初期胚発生の分化の仕組みを理解する上で重要な知見をあたえてくれることが考えられる。ところが現状では初期胚での遺伝子発現ばかりか、胚発生過程における遺伝子発現および成体マウスの臓器における発現パターンすら詳しく調べられていない。そこで我々は Northern blot analysis および *in situ* hybridization によって着床以後の胚発生における *EndoA* および *EndoB* の遺伝子発現について解析した。

#### (方 法)

胚および成体各組織から total RNA を抽出し Northern blot analysis を行った。さらに、発現している細胞を同定するために各発生段階の胚および成体組織を固定・パラフィン包埋後、切片を作製し、T7 RNA polymerase および SP 6 RNA polymerase によって合成した RNA probe によって *in situ* hybridization を行った。

## (結 果)

Northern blot analysis により、脱落膜ごとで調べた場合は *EndoA*, *EndoB* いずれも胚発生 7 日目から遺伝子発現が確認され、その発現は 10 日目で著しく強まっていた。脱落膜を除去し胚体のみで調べた場合は 12 日胚以後で弱くなっていることから遺伝子発現の主たる場所は胚体外の部分であることが予想された。*EndoA* と *EndoB* は胚発生過程で同時に発現されていたが発現量は必ずしも等量ではなかった。さらに *in situ* hybridization によって発現部位を調べたところ、主要な発現場所は胚盤胞の外側に位置する栄養外胚葉に由来する栄養芽層の細胞系譜の細胞で強いことが明かとなった。これらの細胞は直接胚体を構成するわけではないが胎盤の一部となったり、脱落膜中に浸潤していくうえで非常に重要な役割を果たしている細胞である。また、栄養芽層細胞系譜以外では、内部細胞塊の原始内胚葉に由来する遠位内胚葉や臓側卵黄嚢の内胚葉においても発現が認められた。臓側卵黄嚢は胎児期の肝臓に相当する様な造血、栄養の供給などの役割を果たしている器官である。胚体部分では肺・十二指腸・鼻腔などの単層上皮において微量の発現が認められた。

成体マウスにおいては胃・小腸・輸卵管などのような単層上皮構造を持つ組織で発現が認められたほか、膀胱のような移行上皮を持つ組織での発現が確認された。*EndoA* を発現している組織では *EndoB* の発現も同時に確認された。しかしながら、1 つの組織においては *EndoA* と *EndoB* の発現量は必ずしも 1 対 1 の比になっておらず、小腸のように *EndoA* が極端に多い場合や、膀胱のようにほぼ等量の発現があるもの、肺のように *EndoB* の発現がやや多いもの、というように組織毎で様々な違いが見られた。

## (総 括)

*EndoA*・*EndoB* の発現は胚盤胞期の栄養外胚葉から始まるが、その発現は初期胚に特異的なものではなく胚体外部分の一部を構成する栄養芽層や栄養芽層巨細胞において発現が継続していることから *EndoA* と *EndoB* により構成されるサイトケラチンフィラメントは妊娠及び胚発生に何等かの役割を果たしていることが示唆される。サイトケラチンの一般的な機能は今のところほとんど解っていないが胎仔の腸上皮などでは非常に弱い成体の腸上皮では非常に強いこと、胎仔期では胎盤の一部を構成する栄養芽層細胞系譜で非常に強いことを考え合わせると、形態的に上皮細胞に分化するだけではサイトケラチンはほとんど必要ないが、機能的な上皮細胞へ分化し、物質の輸送や分泌を盛んに行うようになるとサイトケラチンが重要な役割を果たしていることが示唆される。また、胎仔期、成体のどちらにおいても *EndoA*・*EndoB* は必ず同時に発現していることが確認された。このことはそれぞれの遺伝子の転写を開始するためには共通の調節機構が存在していることを示唆する。一方、発現量は胚発生の各段階、成体の各組織において *EndoA*・*EndoB* それぞれで異なることから発現を増強するための仕組みは *EndoA*・*EndoB* それぞれで別々の機構が存在していることが示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は Northern blot analysis に及び *in situ* hybridization を用いてマウス初期胚の胚盤胞の栄養外胚葉において発現が増強されるサイトケラチン EndoA 及び EndoB 遺伝子の胚発生及び生体組織における発現部位を同定することを目的としたものである。

実験の結果, *EndoA* 及び *EndoB* 遺伝子は常に同一の細胞で発現しているがその発現量は必ずしも同一ではないこと, 主たる発現部位は発生の過程においては栄養外胚葉に由来する栄養芽層細胞及び栄養芽層巨細胞であり, 成体組織では消化管等の単層上皮細胞であることが明かとなった。

これらの結果から, *EndoA* 及び *EndoB* 遺伝子の協調的な発現調節, 独立した発現量増強の調節のしくみが示唆される。本研究ではマウス初期胚の遺伝子発現の調節機構を考える上で重要な知見を与えるものであり, 学位を授与するに値するものと認める。