

Title	Lvrn expression is not critical for mouse placentation
Author(s)	飛田, 知央
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72566
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 飛田 知央

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 杉 誠
	副 査	大阪大学教授 木 村 正
	副 査	大阪大学教授 関 田 雅 人

論文審査の結果の要旨

本研究は、妊娠高血圧症候群発症患者の胎盤で発現量が増加している遺伝子Laeerin (LVRN) に着目し、遺伝子改変マウスを用いてLVRNの生理的意義および妊娠高血圧症候群との関連を解析したものである。

- 一. レンチウイルスベクターを用いて胎盤特異的にLvrnを強制発現させ、妊娠マウスや胎仔、胎盤を解析した。その結果、妊娠マウスの血圧は正常値であり、胎仔、胎盤の発育にも問題はなかった。
- 二. マウスLvrnの生理的機能を調べるため、Lvrnのノックアウト (KO) マウスを作製した。KOマウスの妊娠中の血圧は野生型と比較して有意に変動することはなく、胎仔、胎盤の重量および胎盤の組織構造にも変化はなかった。

以上、本論文はLVRNの生理機能を過剰発現および遺伝子欠損の両アプローチから個体レベルで初めて明らかにしたものであり、博士 (医学) の学位に値するものと考えられる。

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	飛田 知央
論文題名 Title	<i>Lvrn</i> expression is not critical for mouse placentation (<i>Lvrn</i> の発現はマウス胎盤形成に必須ではない)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>哺乳類の妊娠において、胎盤は胎児発育に必要な不可欠な臓器である。胎盤の形成異常は、胎児だけでなく母体の生命を脅かす疾病を引き起こすことも知られており、妊娠高血圧症候群(Preeclampsia, PE)は、全妊婦の3-5%に発症し、母体の高血圧、腎・肝機能障害や胎児の発育不全といった症状を呈する。重症化すると母児ともに生命の危険にさらされるため、PEの発症メカニズムの解明と予防・治療法の開発が望まれている。</p> <p>近年、健常な胎盤と、PEに罹患した胎盤の遺伝子発現を比較した論文が複数報告されている。我々はその中で、PE発症胎盤で発現量が増加している遺伝子<i>Laeverin</i> (<i>LVRN</i>)に着目した。ヒト<i>LVRN</i>は、胎盤特異的に発現している遺伝子であり、胎盤形成への関与が示唆されている。我々は、<i>LVRN</i>の生理的意義およびPE発症の関連を調べるため、レンチウイルスベクターを用いた胎盤特異的遺伝子過剰発現マウス、およびゲノム編集技術による遺伝子欠損マウスを作製し、表現型解析を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>マウス組織や胎仔、胎盤における<i>Lvrn</i>のmRNAの発現量をRT-PCRにより確認したところ、<i>Lvrn</i>のmRNAは胎仔および胎盤だけでなく、脳などの複数の臓器に発現していた。次に、胎盤特異的に<i>Lvrn</i>を強制発現させるレンチウイルスベクター(LV-<i>Lvrn</i>)を胚盤胞に感染させて偽妊娠マウスに移植し、妊娠マウスの血圧や胎仔、胎盤の発育、胎盤の組織構造を確認した。その結果、LV-<i>Lvrn</i>感染胚を移植したマウスの血圧は、妊娠期間中に対照群と比較して優位に上昇することはなく、胎仔、胎盤の発育も正常であった。さらに、胎盤の組織像をヘマトキシリン・エオシン染色(HE染色)、胎仔トロホプラスト細胞のマーカータンパク質であるCK8の免疫組織化学染色により検討したが、LV-<i>Lvrn</i>感染胎盤に明確な組織構造の異常は認められなかった。</p> <p>マウス<i>Lvrn</i>の生理的機能により迫るため、CRISPR/Cas9ゲノム編集技術を用いて<i>Lvrn</i>のKOマウスを作製した。Cas9タンパク質とsgRNAを共発現するpX330プラスミドをマウス受精卵の前核に注入し、12匹の変異マウスを得た。これらの変異体の中から、<i>Lvrn</i>遺伝子の開始コドンを含む62塩基を欠失した変異マウスを用いて、妊娠中の血圧、胎仔、胎盤の発育測定、胎盤の組織学的解析を行った。KOマウス同士を交配させた場合でも、妊娠中の血圧は野生型と比較して有意に変動することはなかった。また、ヘテロ変異、ホモ変異体の胎仔、胎盤の重量は、野生型の個体と変化はなかった。最後に、胎盤の組織構造をHE染色、CK8の免疫染色にそれぞれ検討したが、KOマウスの胎盤で明確な組織構造の変化は観察されなかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>ヒトPE患者で報告されている胎盤での<i>Lvrn</i>発現量の増加をマウスで模倣したが、PE様の症状は現れなかった。さらに、<i>Lvrn</i>遺伝子をKOしても胎盤の機能や構造に異常は観察されず、<i>Lvrn</i>の発現はマウスの胎盤形成や機能に必要ではないことが明らかになった。</p>	