

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

## 主論文の要旨

哺乳類と鳥類における雑種不適合性の分子細胞生物学的研究  
論文題目

氏名 石下 聡

## 論文内容の要旨

人類は、古くから様々な家畜の種間・属間交配を行い、雑種強勢（ヘテロシス）効果を農業や生活の向上のために利用してきた。異なる種や属の間の雑種では、多くの場合、発育不全や不妊などの不適合性が生じる。この雑種不適合性は、種の分化や維持のための生殖隔離機構の一つあり、両親由来の遺伝子の不適合によって生じると考えられている。雑種不適合性の分子基盤の解明は種分化の過程を理解する上で大きな意味を持つと考えられるが、高等脊椎動物における雑種不適合性の分子基盤は理解が進んでいない。哺乳類と鳥類はともに有羊膜類であり発生過程は類似しているが、性決定システムやゲノム刷り込みの有無などの相違もある。どちらの雑種でもホールデンの法則に従って、雑種不適合性は異型接合型の性でより重篤になる。哺乳類では実験用マウスが雑種不適合性の分子生物学的研究によく用いられている。一方、鳥類では、哺乳類と比べて雑種不適合性の分子基盤の研究が進んでいない。そこで、本研究では、雑種不適合性とホールデンの法則の分子基盤を解明することを目的として、*Phodopus* 属ドワーフハムスターに属するキャンベルハムスター (*P. campbelli*) とジャンガリアンハムスター (*P. sungorus*) の種間 F<sub>1</sub> 雑種の雄性不妊と、キジ科のニワトリ (*Gallus gallus domesticus*) とニホンウズラ（以後、ウズラ） (*Coturnix japonica*) の属間 F<sub>1</sub> 雑種の胚性致死に着目し、*Phodopus* 属雑種の精巢と精子、およびニワトリ×ウズラ雑種の染色体と胚発生を分子、細胞、組織レベルで解析することで、それらの表現型を引き起こす要因を明らかにした。そして、本研究の結果とマウスや他の鳥類の遺伝学、生殖生物学、およびゲノム科学研究の最近の知見に基づいて、雑種不適合性の分子基盤について考察した。

**1, *P. campbelli* × *P. sungorus* 種間雑種の減数第一分裂時における XY 性染色体の対合異常と精子の形態異常**

*P. campbelli* の雌と *P. sungorus* の雄の交配によって得られる雑種雄にみられる配偶子形成不全の原因を解明することを目的として、精巣と精子を組織学的・分子細胞遺伝学的に解析することで、(1) 雑種の精巣は親種と比べて小さい、(2) 雑種で一次精母細胞の蓄積と一次精母細胞様細胞のアポトーシスが高頻度に起こる、(3) 雑種の精母細胞では、パキテン期様ステージにおける XY 性染色体の不接合と第一分裂中期 (MI) における XY 性染色体の分離が高頻度に起こる、(4) 雑種の精母細胞では、パキテン期様および MI の各ステージで一価の常染色体は観察されないが、パキテン期様ステージで常染色体と X 染色体または Y 染色体間の誤接合、常染色体間のインターロッキングや部分的接合、常染色体クロマチン上の二重鎖 DNA 切断マーカーであるリン酸化 H2AFX ( $\gamma$ -H2AFX) の残存がみられる、(5) 変性した MI 様の核が高頻度に観察される、(6) 雑種の精巣上体精子のほとんどは頭部形態の異常を呈することを明らかにした。これらの結果から、*Phodopus* 属ハムスターの雑種では、XY 性染色体および常染色体における相同染色体対合や相同組換え修復の異常によって、チェックポイント機構や非シナプス領域での転写抑制機構が働くことによって、減数第一分裂の進行が阻害されることが示唆された。さらに、XY 性染色体間で対合異常が生じやすく、それによって減数分裂の進行が高頻度に阻害されることが、雄性不妊の主たる要因であることが示唆された。また、形成される精子のほとんどが形態異常をとまなうことから、精子の受精能が低下している可能性が示唆された。雑種では、一方で、減数第一分裂の異常を引き起こす因子以外にも不適合性因子が存在する可能性が考えられた。

## 2. ニワトリとニホンウズラの F<sub>1</sub> 雑種胚の発生過程と致死表現型

ニワトリ雄とウズラ雌の人工授精によって得られる属間 F<sub>1</sub> 雑種胚の発生過程と致死表現型を明らかにすることを目的として、雑種胚の発生を経時的に観察し、性比を解析することで、(1) ニワトリ×ウズラ雑種の胚発生は初期段階(孵卵 7 日まで)において、親種と比べてわずかに遅延する、(2) 雑種胚の生存率は胚盤葉期から循環前期にかけて著しく減少し、その後の発生段階でも徐々に減少する、(3) 孵卵 10 日以降も雌の雑種胚は観察されるが、雑種の生存胚の性比は孵化 10 日から雄に偏る、(4) 雑種胚では重度の形態異常が孵卵開始後の多様なステージで高頻度に観察されることを明らかにした。これらの結果から、雑種の胚発生が様々なステージで停止することが示唆された。また、発生初期には胚性致死の性比に偏りは見られないが、後期には雌で有意に胚性致死が起きることが示唆された。そして、雑種では、胚の発生分化に関わる様々な分子経路に異常が生じていることが示唆された。また、性腺の性分化が雌に偏った胚性致死と関係する可能性が考えられた。

## 3. ニワトリとニホンウズラの F<sub>1</sub> 雑種の胚盤葉期胚における遺伝子発現調節の異常

第二章で明らかになったニワトリ×ウズラ雑種の前原条期での胚性致死の原因解明を目的として、ニワトリの染色体特異的 DNA プローブと、ニワトリとウズラから単離したマイクロ染色体特異的反復 DNA 配列を用いた分子細胞遺伝学的解析によって雑種胚の染色体異常を調べた。また、胚盤葉期初期から前原条期への発生の進行にとも

なう遺伝子発現量の変化（増加、下降、または変化なし）をトランスクリプトーム解析によって調べ、親種と雑種で比較することで、(1) 雑種胚の細胞には親種由来の染色体が半分ずつ含まれており、染色体の数的異常はほとんどみられない、(2) 両親種で胚盤葉期から前原条期に発生が進行するにつれて発現量が増加する遺伝子の一部が、雑種胚ではニワトリ由来とウズラ由来の対立遺伝子の両方で発現量が増加しない、(3) 翻訳や細胞増殖など様々な生物学的プロセスに関わる遺伝子の発現調節に異常が生じている、(4) 誤った発現調節を受ける遺伝子の中には、発生初期の原条形成や原腸陥入などに関わる遺伝子が含まれることを明らかにした。これらの結果から、ニワトリとウズラの雑種胚の致死の原因は、染色体の分離異常によって引き起こされる染色体の数的異常ではなく、様々な生物学的プロセスを制御する遺伝子の発現調節の異常である可能性が示唆された。以上の結果から、雑種では、遺伝子発現制御の異常による翻訳や細胞増殖などの生物学的プロセスの不全によって、細胞の移動、増殖、および分化が前原条期で異常になり、その結果、発生が停止することが示唆された。

以上のように、本研究では、*Phodopus* 属ハムスター雑種の第一減数分裂における相同染色体対合と相同組換え修復の異常と精子の形態異常を明らかにした。また、ニワトリ×ウズラ雑種胚において発生過程の様々なステージで発生停止が起こること、雌に偏った致死がこれまで考えられていた時期よりも後期の発生ステージで起こること、染色体の分離異常によって生じる染色体の欠失や重複などの染色体の数的異常はほとんど起こらないこと、そして、前原条期における様々な生物学的プロセスに関わる遺伝子の発現異常が起こることを明らかにした。本研究で得られた知見は、哺乳類と鳥類における雑種不適合性やホールデンの法則の分子基盤を解明する上で重要な手掛かりとなる。よって、本研究は、有羊膜類の雑種不適合性の分子基盤の解明に大きく貢献するものと考えられる。