

シンポジウム

着床前期胚のトランスクリプトーム解析

慶應義塾大学医学部・産婦人科学教室
浜谷 敏生

現在のゲノム医学や分子生物学はゲノムおよび遺伝子の網羅的塩基配列解析の成果を礎に発展してきた。2001年2月にヒトゲノム、2002年12月にはマウスゲノムの全配列が発表されている。また、それに並行して cDNA ライブラリープロジェクトが進められ、様々な組織で実際に発現している遺伝子の mRNA 両端の塩基配列 (ESTs) が収集され、ゲノム情報を基に遺伝子全長配列も明らかにされてきた。さらに、これらの遺伝子配列情報を利用してマイクロアレイが開発され、網羅的遺伝子発現解析が可能となった。しかし、初期胚や生殖細胞では cDNA ライブラリー作成に十分な組織量が得られず、このような組織でのみ特異的に発現する未知遺伝子に関する情報は稀少である。

着床前期胚発生では胚性ゲノムの活性化 (ZGA) に加え、「ゲノムの若返り」、すなわちエピゲノムの初期化、テロメアの伸長などが起こり、分化全能性が獲得されるが、これらを制御する分子生物学的機構については未だ十分に解明されていない。さらに臨床的見地からも、生殖補助医療 (ART) における卵や着床前期胚の質的向上が重要課題である。また、ART 児にはインプリンティング異常症を認める頻度が高いとの報告もあり、ART が着床前期の分子機構に与える影響を解明する必要がある。

そこで我々は RNA 増幅技術を用いて、マウス着床前期各ステージ胚について網羅的発現解析を行った (Hamatani T et al. Dev Cell 2004)。12,179 個の遺伝子が着床前期に有意な発現変化を示し、K-mean clustering を行うと、1-2 細胞期で ZGA、4-8 細胞期で MGA (mid-preimplantation gene activation) の胚性発現パターンが観察され、また受精後急速に分解される卵性 RNA や、8 細胞期以降でも比較的保持される卵性 RNA のパターンなどが観察された。

エネルギー代謝に関する遺伝子に注目すると、ピルビン酸代謝に関わる遺伝子が割球期から発現上昇を示す一方、解糖・糖新生に関わる遺伝子は胚盤胞期になって高発現を示した。また、脂肪酸代謝に注目すると、中鎖脂肪酸 β 酸化に寄与する遺伝子は割球期から発現を認めたが、長鎖脂肪酸の代謝遺伝子は胚盤胞期になってから発現を認めた。そこで、マウス着床前期胚を培養後に培養液を回収し、同条件で胚を入れずに培養した対照群と共にキャピラリー電気泳動質量分析計に供した (Yamada M et al. Sci Rep 2014)。その結果、中鎖脂肪酸 octanoate (OA) の有意な減少が観察された。OA はアルブミン (BSA) に結合して培養液中に持ち込まれる。脂肪酸除去 BSA を用いて脂肪酸枯渇培地とした場合、8 細胞期への発生率は $42.0 \pm 12.6\%$ と有意に低下したが、OA を加えると発生率は $65.6 \pm 14.9\%$ にまで回復した。さ

らに、グルコースとピルビン酸を除去してエネルギー基質完全枯渇培地とした場合、8 細胞期への発生率は $9.8 \pm 2.9\%$ だったが、OA を添加すると発生率は $50.4 \pm 2.9\%$ と有意に回復した。さらに安定同位体 ^{13}C で標識した OA を脂肪酸枯渇培養液中に添加し、OA の代謝産物を検索した結果、TCA 回路の中間代謝産物で高率に ^{13}C を検出したことから、OA は β 酸化を経て TCA 回路で代謝され着床前期胚に有用なエネルギー源になると考えられた。

また、網羅的発現解析結果や EST 頻度を用いた *in silico* 解析から着床前期特異的に発現すると考えられた新規遺伝子の機能解析を行った。例えば、Scan ドメインをもつ 2 つの転写因子 Zscan4、Zscan5b はいずれもゲノム安定性に寄与することが明らかとなった。Zscan4 は 2 細胞期胚と胚性幹(ES)細胞でのみ発現を認め、テロメア伸張に関わることが明らかにされた (Falco G et al. Dev Biol 2007)。Zscan5b タンパク質はヒストン H1 と結合し、クロマチン構造の安定化に寄与するため、Zscan5b の機能を喪失させると、体細胞および ES 細胞にランダムな染色体異常が引き起こされることが明らかとなった (Ogawa S et al. Stem Cell Rep 2019)。最近では次世代シーケンサー (NGS) 技術の発展により、着床前期胚における遺伝子発現のみならず、whole genome/epigenome の網羅的解析も可能となっているため、今後は着床前期胚の「ゲノムの若返り」機構の更なる解明が期待され、これらの研究成果が臨床における着床前期胚のゲノム品質管理に寄与すると考えられる。