

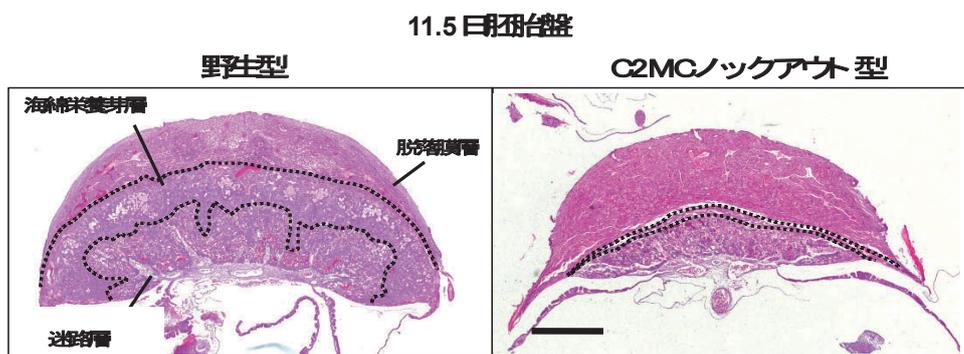
22 胎盤形成におけるマイクロRNAクラスターの機能解明	井上 貴美子
------------------------------	--------

**【目的】** 本研究においては、胎盤形成時における胎盤発現マイクロRNA (miRNA) クラスター (MC) の役割とそれにより制御されるがん抑制因子との関連性を明らかにすることを目的としている。我々は実験動物を用いたこれまでの研究により、胎児期の胎盤成長にはタンパク質をコードしない短いRNAであるmiRNAの適切な発現が重要であることを報告している(下図)。この過程で胎盤形成に必須とされるmiRNAは2番染色体上に72個の遺伝子を含む大規模なクラスター構造(chromosome2MC:C2MC)を取っており、その標的遺伝子として多くのがん抑制因子が含まれていることを明らかにした。C2MCは齧歯類特異的MCであるが、ヒトには同様に胎盤で高発現を示すMCであるChromosome19MC(C19MC)が存在する。C19MCは、46個の連続したmiRNA遺伝子を含むヒトゲノム上で最大のMCの一つであり、C2MCとの配列類似性も示唆されているものの、その機能は未だ明らかにされていない。本研究では、胎盤形成において抑制的に制御されているがん抑制因子とmiRNAとのカスケードを明らかにすると共に、ヒト型C19MCが胎盤形成においてどのような役割を持っているのかを明らかにするためにマウスモデルを作製することを目的としている。

**【方法】** 本研究では、第一に、胎盤形成過程においてC2MCにより抑制的な制御を受けているとされる102個の遺伝子のうち、(1) C2MC KO マウス胎盤で発現上昇が大きいこと、(2) 胎盤での機能が未知であること、を指標として12個の遺伝子を本課題に供する遺伝子として選別し、これら12種類の遺伝子において、Triple target CRISPRと呼ばれるゲノム編集方法によりノックアウト産仔を作製した。Founder世代にて妊娠満期である19.5日齢で帝王切開を行い、(1) 産仔体重、胎盤重量を測定した。また、(2) 遺伝子発現量を測定した上で、(3) 胎盤形態を観察した。得られた産仔は里親に哺乳させ、(4) 離乳まで成長を観察した。Negative controlとしてチロシナーゼ遺伝子をターゲットとすることで、産仔体重・胎盤重量、離乳率を測定し、同時に毛色を観察することで、同手法を用いたゲノム編集効率も測定した。齧歯類型のC2MCに対して、ヒトにはこれに類する胎盤発現性のC19MCが存在している。本研究ではC19MCの機能を明らかにするために、マウス受精卵にヒト大腸菌人工染色体(bacterial artificial chromosome:BAC)を導入することで、C19MCを導入したモデルマウスを作製することも試みた。

**【結果】** Negative controlとして行ったチロシナーゼ遺伝子ノックアウトによるゲノム編集効率は97%であった。同様の方法を用いて、12種類の遺伝子においてノックアウト産仔の作製を行ったところ、1遺伝子において胎盤重量の低下が観察された。また、3遺伝子においては産仔体重の低下が観察された。4種の遺伝子においては胎盤重量に有意差はないものの、胎盤の層構造に変動が見られた。また、C19MC導入マウスを作製するために、ヒトBACを用いて、マウス受精卵への遺伝子導入を行った。現状では、遺伝子導入が認められる生存個体は得られていないが、胚移植後、妊娠中に死亡した胎仔には導入されていることが認められた。したがって、C19MCの過剰発現は、胎仔の正常な発生に影響している可能性が示唆される。

野生型とC2MCノックアウト型における胎齢11.5日胎盤形態



スケールバー: 1mm