

2019年5月31日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

## 受精卵・幹細胞のゲノム安定性の維持機構を解明 — 遺伝子による染色体構造の保護作用と DNA 修復 —

慶應義塾大学医学部産婦人科学(産科)教室の山田満穂専任講師、小川誠司助教(研究当時)(現 那須赤十字病院第二産婦人科副部長)、浜谷敏生専任講師らの研究グループは、国立成育医療研究センターの梅澤明弘副所長、阿久津英憲部長、宮戸健二室長らとの共同研究にて、受精卵から ES 細胞を樹立する過程で発現する遺伝子 *Zscan5b* を同定し、マウスモデルを用いた検討により *Zscan5b* が染色体構造を安定させるとともに、体細胞分裂期の DNA 損傷修復を介して、ES 細胞におけるゲノム(注1)安定性に寄与することを明らかにしました。

受精卵から樹立される ES 細胞と、体細胞から樹立される iPS 細胞は、いずれも未分化能および多分化能を有し、細胞治療や疾患モデルへの臨床応用が期待されています。しかしながら受精卵および幹細胞に多くみられる染色体異常は、安全な生殖補助医療と再生医療の実現化にとって障壁となっています。

共同研究グループは、*Zscan5b* 遺伝子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、DNA 修復遺伝子 (*Rad51l3*, *Bard1*) の発現が上昇するにもかかわらず DNA 損傷修復されないことを明らかにしました。

さらに、*Zscan5b* がヒストン H1 と結合し、クロマチン構造を安定化させるとともに、体細胞分裂過程における DNA 損傷修復を介して ES 細胞におけるゲノム安定化に寄与することを示唆する結果を得ました。

今回の成果は、健全な受精卵の発育や幹細胞の樹立を通して、より安全な生殖補助医療および再生医療の実現に大きく寄与することが期待されます。

本研究成果は、2019年5月30日11時(米国東部時間)に、国際幹細胞学会(ISSCR)の公式科学誌『Stem Cell Reports』のオンライン版に掲載されました。

### 1. 研究の背景と概要

晩婚化が進み、7組に1組のカップルが不妊となっている日本では、年間50,000人以上が体外受精関連技術で出産しています(日本産科婦人科学会 ART データブック 2016)。受精卵の染色体異常は女性の「妊娠しにくさ」の原因としてよく知られており、不妊治療における大きな問題となっています。この問題を解決するために、いつ、どのようにして染色体異常が起こるかを解明することが求められてきました。

受精卵および ES 細胞、iPS 細胞といった幹細胞に多く観察される染色体異常は、安全な生

殖補助医療および再生医療を実現する上での障壁となっています。受精後に起こる染色体異常は、年齢と関係なく受精卵の 25%程度で起こることが知られています。これまでの知見から、受精後に発現する遺伝子は、幹細胞のゲノム安定性や DNA 複製において重要な働きを担っていると考えられています。

本研究では、受精卵に発現する遺伝子 *Zscan5b* に着目し、遺伝子の機能を喪失させたマウスをモデルとして用いて、受精後の体細胞分裂時の染色体異常とゲノム安定性における役割、発生への影響について検討しました。

## 2. 研究の成果と意義

受精後約 3.5 日目の「胚盤胞」と呼ばれる状態のマウス胚は内部細胞塊（将来胎児になる細胞部分）を有し、内部細胞塊からは ES 細胞が樹立されます。ES 細胞はほぼ無限に自己を複製する能力とさまざまな種類の細胞に分化する能力を持つため、細胞治療や疾患モデルへの臨床応用が期待されています。

*Zscan5b* はドメイン解析の結果から SCAN domain と C2H2 zinc-fingers をコードして DNA に結合する転写因子（注 2）と予想されます。*Zscan5b* と共通した構造的特徴を有する *Zscan4* や *Zscan10* はそれぞれ、ES 細胞の染色体構造を保護するテロメア伸張およびヒト加齢成人から樹立した iPS 細胞の DNA 修復を改善させることが知られており、*Zscan5b* も受精卵や ES 細胞の体細胞分裂過程においてゲノム安定性に関与することが期待されます。そのため、*Zscan5b* が受精卵の発生過程の時期に発現するのかを解析しました。結果として、*Zscan5b* は受精後早期の 2 細胞期から胚盤胞期に発現することが分かりました（図 1）。

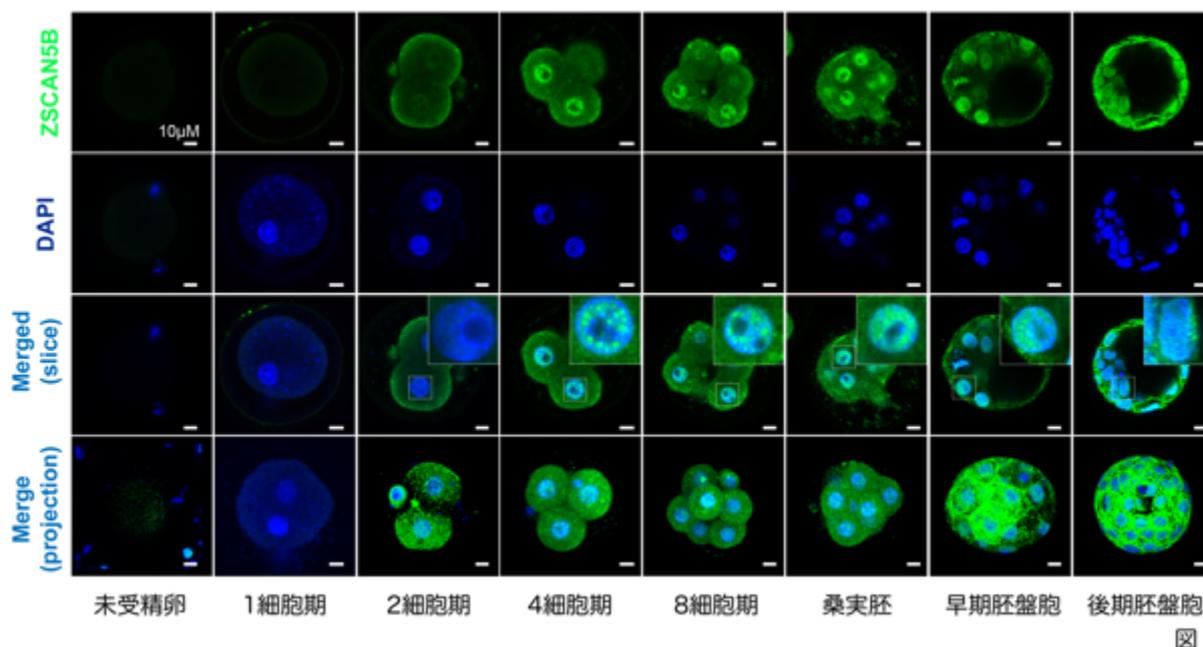


図 1. *Zscan5b* は受精後の初期に生じる遺伝子発現に伴い発現し、2 細胞期から胚盤胞期にかけてタンパクが翻訳される。

また、マウス成体の精巣、および ES 細胞の樹立過程を通して、*Zscan5b* は高発現することが確認されました。

さらに、*Zscan5b* の妊娠する力への関与を検討するために、*Zscan5b* 遺伝子を欠失させたマウスモデルを作成しました。この遺伝子をもたない父母のマウスから得られる産仔数をカ

ウントしたところ、正常のマウスと同等であり、*Zscan5b* の欠失が発生能に影響を持たないことが示されました。また、*Zscan5b* を欠失させた胚盤胞から ES 細胞を樹立し分化誘導したところ、すべての体細胞に分化しました。しかしながら、これらの細胞は悪性胚細胞性腫瘍（注 3）を形成しました。

悪性腫瘍を形成するような細胞においては、染色体異常がおこり、ゲノム安定性が損なわれていることが推測されます。そこで、*Zscan5b* 欠失マウスの体細胞と、*Zscan5b* を欠失した受精卵から樹立した ES 細胞の染色体検査を行ったところ、いずれも染色体切断（注 4）をはじめとした多様な染色体構造異常を起こしていることが明らかになりました。

さらに、*Zscan5b* の染色体構造への関与を検討するため免疫沈降法を用い *Zscan5b* と DNA のヌクレオソーム構造を構成する他の関連分子との相互作用を調べた結果、*Zscan5b* は、ヌクレオソームを折りたたみむことで、染色体を構成するクロマチン線維の構造維持に関わるヒストン H1 タンパクと結合することが分かりました。

このことから、*Zscan5b* が欠失しているとクロマチン構造を保つことができず、染色体を傷つける環境的要因から染色体を守ることができなくなります。その結果として、染色体切断の頻発につながり、染色体切断症候群が生じることが推測されます。

さらに、DNA 分子の安定性への関与を検討するために放射線照射を *Zscan5b* 欠失 ES 細胞に行った結果、DNA が損傷したことを表す  $\gamma$ H2AX マーカーの発現頻度が野生型と比較して有意に上昇しました。一方、*Zscan5b* 欠失 ES 細胞に *Zscan5b* を過剰発現させると  $\gamma$ H2AX の発現頻度は減少しました（図 2）。

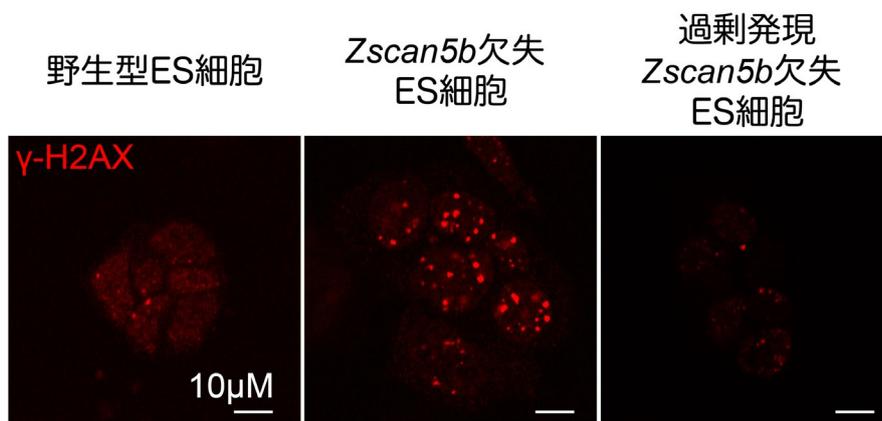


図 2

図 2 : *Zscan5b* を欠失した ES 細胞は、放射線照射を加えると DNA 損傷マーカーの  $\gamma$ H2AX の発現頻度が有意に上昇する。しかし、*Zscan5b* の遺伝子を強制発現させるとその頻度は野生型 ES 細胞と同等程度に低下する。

これらの結果から *Zscan5b* はヒストン H1 と結合することによりクロマチン構造の安定化に寄与するとともに、体細胞分裂期の DNA 修復遺伝子 (*Bard1* など) と DNA 損傷修復に関わる二つのメカニズムを介して、ES 細胞におけるゲノム安定性に寄与すると考えられました（図 3）。

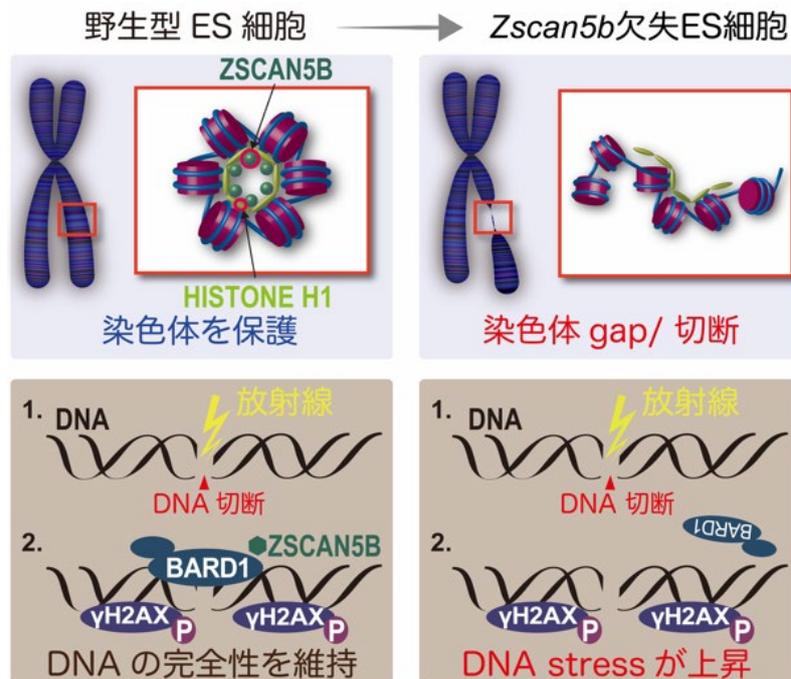


図 3

図 3 : *Zscan5b* は染色体の保護と DNA の完全性を維持することで、ES 細胞のゲノム安定性に寄与する。

### 3. 今後の展開

本研究は、「受精後の初期に生じる遺伝子の機能を喪失させることで体細胞と ES 細胞のゲノム安定性が損なわれ、ランダムに染色体異常が起こりえる」というあらたな概念を提示しました。マウスモデルとヒトにおける遺伝子発現の時期は異なるため、本研究成果がそのままヒトに当てはまるかは今後さらなる検証が必要です。しかし、受精卵の発生および幹細胞の樹立過程に特定の遺伝子の発現を適切に誘導することで、受精卵や ES 細胞、iPS 細胞のゲノム安定性が改善されれば、生殖補助医療と再生医療の発展に貢献できるものと期待されます。

### 4. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP25293345、JP16H05475、JP17H05100、JP23791862、厚生労働科学研究費補助金政策創薬マッチング研究事業(KHD1220)、成育医療研究開発費(NCCHD24-6)、公益財団法人かなえ医薬振興財団 研究助成、公益財団法人武田科学振興財団 医学研究奨励の支援を受けて行われました。

### 5. 論文

タイトル : *Zscan5b* deficiency impairs DNA damage response and causes chromosomal aberrations during mitosis

タイトル和訳 : SCAN-zinc finger 遺伝子 *Zscan5b* は胚性ゲノム活性化に伴い発現し、体細胞分裂過程におけるゲノムの安定性に関わる

著者名：小川誠司，山田満稔\*，中村彰宏，菅原亨，中村茜里，宮島星子，原田裕一郎，  
大岡令奈，大川隆一郎，宮内潤，津村秀樹，吉村泰典，宮戸健司，阿久津英憲，  
田中守，梅澤明弘，浜谷敏生\*（\*：責任著者）

掲載誌：Stem Cell Reports（オンライン版）

DOI：10.1016/j.stemcr.2019.05.002

**【用語解説】**

（注1）ゲノム：DNAの遺伝子情報。

（注2）転写因子：DNAに特異的に結合するたんぱく質。

（注3）悪性胚細胞性腫瘍：腫瘍を形成する未熟な細胞。細胞分化進行により、がん化が予測される。

（注4）染色体切断：DNAが正しく修復されないことで、染色体の数や形態に構造異常がおこる。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

**【本発表資料のお問い合わせ先】**

慶應義塾大学医学部

産婦人科学（産科）教室

専任講師

山田 満稔（やまだ みつとし）

TEL：03-5363-3819 FAX：03-3226-1667

E-mail：mitsutoshi.yamada@gmail.com

**【本リリースの発信元】**

慶應義塾大学

信濃町キャンパス総務課：鈴木・山崎

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL：03-5363-3611 FAX：03-5363-3612

E-mail：med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

※本リリースのカラー版をご希望の方は  
上記までご連絡ください。