

2021年9月17日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

## 初期胚の発生に必須な母性 RNA 因子を発見

### ーゴールデンハムスターが切り開く新しいヒトモデル動物の可能性ー

慶應義塾大学医学部共同利用研究室（動物実験センター研究室）の蓮輪英毅専任講師、同医学部分子生物学教室の塩見春彦教授らと、九州大学の共同研究グループは、ゲノム編集技術（注1）をゴールデンハムスター（注2）に応用し、卵子に存在する PIWI タンパク質と 20-30 塩基長の非コード RNA（piRNA）（注3）が欠損すると受精後の胚発生に大きな障害が生じることを明らかにしました（図1）。

これまで哺乳動物における PIWI-piRNA 経路は、雄の生殖細胞でのみ強く発現し精子形成に必須であることが *Piwi* 遺伝子を欠損したマウスの解析から示されていました。ところが、マウスを除くほとんどの哺乳類は雌の生殖細胞でも PIWI 遺伝子を強く発現しているため、ヒトでは卵子でも機能していることが推測されていました。本研究では、ヒトと同じように雌雄の生殖細胞で PIWI 遺伝子を強く発現するゴールデンハムスターを用い、卵子およびその卵子由来の胚における PIWI 遺伝子の機能を解明しました。

今回の研究成果は、(1) 卵子および着床前胚における PIWI 遺伝子と非コード RNA 複合体による遺伝子発現制御とゲノムの構造変化の解明に加え、(2) 新しいヒト疾患モデル動物としての遺伝子改変ゴールデンハムスターの確立につながることで予想されます。

本研究成果は、2021年9月6日（米国東部標準時間）に『Nature Cell Biology』のオンライン版に掲載されました。

#### 1. 研究の背景と概要

トランスポゾン（注4）はヒトやマウスゲノムの40%以上を占めており、その一部は染色体上を移動し、遺伝子を傷つけることで、がんなどの疾病を引き起こすことが知られています。PIWI-piRNA 経路はトランスポゾンの活性を抑え、染色体上の遺伝情報を守る因子として働いていると考えられています。マウスでは、精子が作られる過程で活性化するトランスポゾンを3つの *Piwi* 遺伝子（*Piwil1*, *Piwil2*, *Piwil4*）（注5）が抑制することで正常な精子が作られることがわかっています。一方で、マウスの雌の生殖細胞では *Piwi* 遺伝子の発現は弱く、*Piwi* 遺伝子を欠損しても目立った異常は見られません。これらのことから、哺乳動物の PIWI-piRNA 経路は、雄で精子が作られる時だけに重要な役割をもっていると考えられていました。

ところが、近年の塩基配列解析技術の発展により、ほとんどの哺乳動物はマウスやラット

と異なり 4 つの PIWI 遺伝子があり、雌の生殖細胞（卵子）でも強く発現していることがわかってきました。そのため、ヒトをはじめとするほとんどの哺乳動物の雌の生殖細胞でも、PIWI-piRNA 経路が機能しているのではないかと考えられはじめました。そこで当研究グループは、ヒトと同様に 4 つの PIWI 遺伝子を持ち、雌の生殖細胞でも PIWI 遺伝子を強く発現するゴールデンハムスターを実験モデル動物として研究を行いました。

## 2. 研究の成果と意義・今後の展開

ゴールデンハムスターの卵子や胚は光に当てたり、温度や pH が変化したりすることに弱いため、胚操作が難しい動物として知られています。そのため、動物個体レベルでの遺伝子機能を解析する動物として不向きであると考えられてきました。ところが、近年のゲノム編集技術の発展により、任意の遺伝子の機能を欠損させたゴールデンハムスターを作製することが可能になりました。当研究グループは、卵子で強く発現する *PIWIL1*（マウスでは精巣でのみ強く発現する *PIWI* 遺伝子）と *PIWIL3*（マウスには存在しない *PIWI* 遺伝子）を欠損したゴールデンハムスターを作出し、表現型を解析しました。

*PIWIL1* を欠損した雌から排卵された卵子は外見上の異常は見られず、野生型と同様に精子と受精しました。ところが、受精卵は 2 細胞期までしか発生せず、*PIWIL1* を欠損した雌からは 1 匹も子供は生まれませんでした（図 1）。一方、*PIWIL3* を欠損した雌由来の卵子も外見上は正常であり、受精もしました。受精卵のうち 40%は正常に発生しましたが、およそ半数の胚は発生が遅延しました。残りの 10%の胚は 2 細胞期までしか発生できないことがわかりました。発生が遅延した胚は 2 細胞期の 2 つの割球のうち 1 つが卵割を停止した 3 細胞期、5 細胞期胚といった特徴のある形態の胚が *PIWIL3* を欠損した卵子由来の胚で観察されました（図 1）。さらに、分子レベルの解析を進めると、*PIWIL1* を欠損した卵子はトランスポゾンを含む多くの遺伝子の発現量が変化していることが明らかになりました。一方で、*PIWIL3* を欠損した卵子では、遺伝子の発現量に大きな変化はなかったのですが、排卵する直前の卵子ゲノム中のメチル化された DNA の量が減少していることがわかりました。これらのことが引き金となり、初期胚の発生に障害が生じたことが推測されました。



図 1 *PIWIL1*, *PIWIL3* 欠損による初期発生異常

*PIWIL1* を欠損した卵子由来の胚は 2 細胞期までしか生育しません（左図）。*PIWIL3* を欠損した卵子由来の胚の一部は 3 細胞や 5 細胞期胚のように 2 細胞期胚の片方の割球が発生しない表現型を示します（右図）。

また、この研究では新たな研究の展開として、PIWI-piRNA 経路が老化研究の新しい切り口になることがわかりました。つまり、ゴールデンハムスターの 2 細胞期の胚の核は多数の小さな核

小体（注 6）を形成しますが、*PIWIL1* を欠損した卵子由来の胚は核小体が集合し大きな核小体を形成することがわかりました。この現象は継代を繰り返した培養細胞で見られるものに類似しており、*PIWIL1* が細胞レベルでの老化現象に関わっていることを示します。今後、ゴールデンハムスターはヒト疾患の動物モデルとしてだけでなく、老化現象を研究するツールとしても存在感が増したものと考えられます。

これらの研究成果は哺乳動物の卵子や胚で PIWI-piRNA 経路が機能していることを示した初めての報告になります。ゴールデンハムスターはこれまで感染症やがんの研究に利用されてきましたが、遺伝子を改変したゴールデンハムスターを作製することが極めて難しいため、マウスのように遺伝子機能と生命現象の関係を調べる研究には利用されてきませんでした。ゴールデンハムスターは見た目こそマウスに類似していますが、一部の遺伝子の有無や発現組織がヒトと類似していることが、今回の研究で明らかにされました。そのため、これまでマウスでは再現できなかったことを可能にするヒト疾患のモデル動物としてゴールデンハムスターが利用され、新たな研究が展開されていくことが期待されます。

### 3. 特記事項

本研究は、以下の研究助成の支援を受けて実施されました。

- ・ JSPS 科研費：JP20H03175, JP18H05214, JP19H05753, JP25221003
- ・ 国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）老化メカニズムの解明・制御プロジェクト：「トランスポゾン転移による老化機構の解明」
- ・ 公益財団法人武田科学振興財団医学研究助成

### 4. 論文

英文タイトル：Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters

和文タイトル：ゴールデンハムスターの卵子に発現する PIWI 遺伝子と piRNA は機能的な卵子の発生に必須である

著者名：蓮輪英毅、岩崎由香、Wan Kin Au Yeung、石野響子、増田春海、佐々木裕之、塩見春彦

掲載誌：Nature Cell Biology（オンライン）

DOI：10.1038/s41556-021-00745-3

#### 【用語解説】

（注 1）ゲノム編集技術：ゲノム DNA 上の任意の配列を切断し、その修復過程を利用し、ゲノムに変異を誘導する技術。ほぼ全ての生物に応用可能な技術である。哺乳動物では生殖細胞に分化可能な ES 細胞が樹立されているマウスとラットでのみ、遺伝子进行操作した動物を作製することが可能であったが、ゲノム編集は ES 細胞を必要としないため、多くの哺乳動物にも応用可能である。

（注 2）ゴールデンハムスター：ゴールデンハムスター（Golden Syrian hamsters/golden hamster：Mesocricetus auratus）はヒトの生理学的および薬理学的反応に似た多

くの特徴を示す。そのため、ヒトの病気、特に癌の発症研究や感染症の研究に早くから用いられてきた。しかしながら、マウスのように遺伝子改変技術が発展していないために、遺伝子機能を解析するモデル動物として利用されることはなかった。

(注 3) 非コード RNA : たんぱく質に翻訳される情報をもつ mRNA とは異なり、たんぱく質に翻訳されない RNA 群の総称。その中で 20-30 塩基長のものは小分子 RNA と呼ばれ、遺伝子の発現を調節する新しい分子として 2000 年初頭から着目されている。本研究の研究対象である piRNA は生殖細胞に特異的に存在する小分子 RNA で、主にトランスポゾンの不活性化していると考えられている。

(注 4) トランスポゾン : トランスポゾンはゲノム上を移動 (転移) することのできる動く遺伝子である。とうもろこしでさまざまな色の粒があるのは、トランスポゾンが別の染色体に移動することで、アントシアニン遺伝子の発現に変化が生じるためである。トランスポゾンがゲノム上を転移した際に、癌抑制遺伝子の機能を破壊し、細胞の癌化を誘導する例も報告されている。

(注 5) PIWI 遺伝子は昆虫からヒトにまで存在しており、これらを総称する際の表記法は PIWI を使用します。一方、マウス (またはげっ歯類) に限定した場合の表記は、Piwi を使用します。

(注 6) 核小体 : 核小体は真核生物の核に存在する膜をもたない構造体で、タンパク質の合成の場となるリボソームが作られている。細胞の老化やストレスなど、様々な細胞の現象に関与している。

※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 分子生物学教室

教授 塩見 春彦 (しおみ はるひこ)

TEL : 03-5363-3754 FAX : 03-5363-3266 E-mail : awa403@keio.jp

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課 : 山崎・飯塚・奈良

〒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【本リリースの配信元】までご連絡ください。