

課題番号 63

着床前初期胚発生期に生じた代謝記憶の生殖系列への継承

[1] 組織

代表者：大我 政敏

(麻布大学獣医学部動物応用科学科)

対応者：林 陽平

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

近年では、外部環境からの刺激による経験が世代を超えて次世代へ伝わる (transgenerational inheritance) という概念が生み出されて来た。この現象には、DNA の塩基配列の変化を伴わないエピジェネティックな情報が書き換えられ、その後長期的に保持されることがメカニズムとして推測されている。しかし、その実体はほとんど分かっていない。

本研究の目的は、受精からわずか数日間の胚(F1)が曝される環境変化の記憶が、エピゲノムマークを介して世代を超えて次世代(F2)へと継承されるのかを明らかにすることである。次世代に記憶を伝えるためには、生殖細胞に情報を伝達しなければならない。そこで、着床前初期胚で活発な栄養環境/代謝経路を人為的に攪乱し、生じるエピゲノム変異(Epimutation)が、その後の発生過程に生じる生殖細胞に継承されるのかどうかを調べる。

代謝とエピゲノムは密接に関連している。細胞内で生じる代謝産物はエピゲノムマークを形成するためのメチル基やアセチル基のドナーとしても機能し、また、エピジェネティクス因子の機能や活性を変化させることが知られている (代謝-エピゲノムクロストーク)。よって栄養環境やその影響を受ける代謝の変化はエピゲノム変化のトリガーとなり、遺伝子発現の変化を介して細胞の性質を変化させる。さらに、エピゲノムが長期的に保持されることでこの経験は記憶として長期的に保持される。この一連の流れは代謝記憶と呼ばれ、この代謝記憶により、栄養環境の変化による影響が世代を超えて次世代へ伝わると考えられている。

林氏との共同研究において、着床前初期胚発生の既存のトランスクリプトーム解析から、エピゲノム制御の関与が知られている SGOC (Ser-Gly one carbon metabolism) 経路(図 1)が受精後急激に亢進していることを見出した。このことから、受精後の胚では、SGOC

経路がエピゲノム制御として重要な働きを担うことが推測された。2023 年度では昨年度に続き、SGOC 経路の重要性に関する更なる解析とエピゲノム変異が生じ、発生が停止してしまう SGOC 経路阻害剤 (CBR5884; 以下 CBR) 処理胚において、発生停止のメカニズムを明らかにすることを目的として研究を行った。

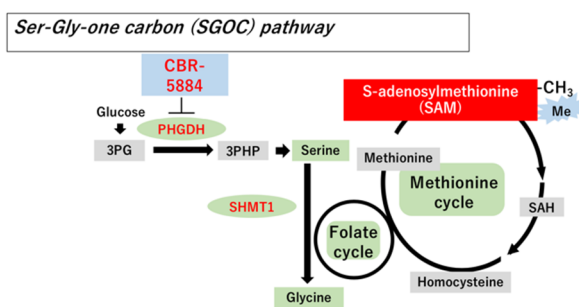


図 1 SGOC 経路の概要

下記の通り、研究打ち合わせを対面方式にて複数回行った。

2023 年 8 月 28, 29, 30 日 (対面)

2023 年 12 月 25 日 (対面)

2024 年 3 月 8 日 (対面)

上記以外にもメールおよび LINE のテキスト送信による進捗報告と方向性についての discussion を頻繁に行っている。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

まず第一に、Phgdh 遺伝子が受精後に転写レベルでは発現が次第に上昇することを見出していたので、タンパク質レベルでの発現量を解析した。その結果、トランスクリプトーム解析の結果と矛盾せず、受精後に発現量が上昇し、桑実胚期にピークとなることがわかった(図 2)。胚盤胞期においては、腔が形成されるため定量的な解析は出来なかったが、強い免疫染色シグナルが観察された(図 2)。以上より、SGOC 経路が受精後のわずかな期間に必須である現象 (下記の詳細を参照) は、Phgdh の発現量のみで単純に説明できるものではないことがわかった。なお、この桑実胚期におけるシグナルは Phgdh に対する siRNA を 1 細胞期に injection するノックダウンにより減少したことから、特異的なシグナルであると考えられた (data not

shown)。

Immunofluorescence (マウス)

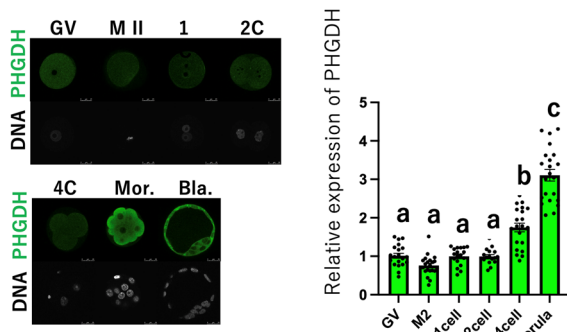


図2. PHGDHの発現量

第二に、SGOC 経路が必須となる受精後の時期について、CBR を用いた検証を以前よりも詳細に解析した結果、1 細胞期から 2 細胞期の前期 (Early 2C) までが SGOC 経路が必須な時期であることがわかった(図 3)。

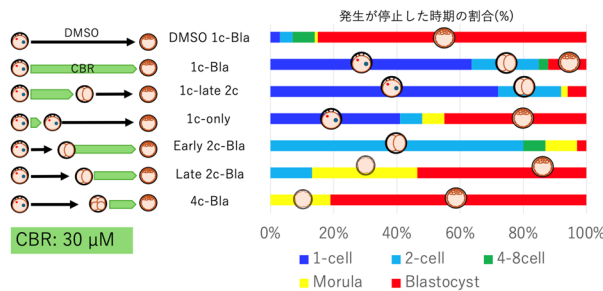


図3. SGOC経路が必須となる発生時期の特定

第三に、これまで2細胞期において解析を行っていた H3K27me3 および H3K4me3 が 1 細胞期においても、CBR 処理により特に雄性前核において急激なメチル化低下を示し、SAM を添加することでメチル化レベルが回復することを見出した(図 4)。この際、胚発生もまた回復した。

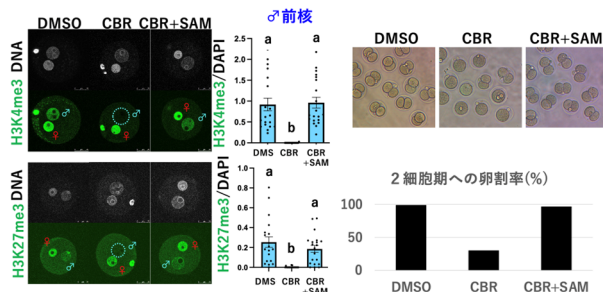


図4. CBR処理による1細胞期発生停止の SAM相補による卵割とエピゲノムの回復

以上の結果は、これまで解析を続けてきた 2 細胞期と同様に 1 細胞期においても SGOC 経路がエピゲノム制御に重要な役割を果たしていることを示唆してい

る。ただ、2 細胞期前期においても SGOC 経路が必須であったことは興味深い(図 3)。何故、2 細胞期の間に SGOC 経路への依存性がここまで変化するのかを明らかにすることが今後の課題だと考えている。

(3-2) 波及効果と発展性など

今回 1 細胞期から 2 細胞期前期に SGOC 経路が必須であることが分かった。この時期はちょうど minor ZGA (Zygotic Gene Activation) と呼ばれる特徴的な転写が生じる時期である。興味深いことに、1-2 細胞期の卵割にこの minor ZGA は必要とされない (転写を阻害しても全く問題なく 2 細胞期の卵割が生じる)。何故遺伝子発現制御に重要なはずのエピゲノムに異常が見られる時に 1 細胞期で胚発生が停止し、SAM の添加により卵割が復活した際にエピゲノムが正常化していたのかは現段階では不明である。しかしながら SAM の添加により卵割が高効率で復活したことから、「メチル化反応」が最初の卵割には必須の役割を果たすものと考えられる。1 細胞期は全能性を獲得するエピゲノムの初期化が生じる時期である。エピゲノムの大幅な書き換えの際に SAM が重要となることは想定内の事柄である。今後、minor ZGA の時期のエピゲノム制御に SGOC 経路が果たす必須の役割を解明することで、全能性獲得を支える代謝制御機構の重要性を明らかにできるかもしれない。そして、全能性獲得時の代謝の攪乱による記憶の形成が次世代に継承されるのか、さらに、その記憶がどのような影響を及ぼすのかを明らかにしたい。

[4] 成果資料

(1) Regulation of early embryogenesis and epigenome by serine metabolism 発表者: Yohei Hayashi et al 新学術・全能性若手の会 2023.6.3-5 湯河原

(2) Metabolic regulation of epigenome and gene expression in early embryogenesis 発表者: Yohei Hayashi et al 2023 年度 先進ゲノム支援 拡大班会議 2023.12.25-26 横浜

(3) 初期胚発生におけるセリン代謝の役割とエピジェネティックな調節機構 発表者: 大我政敏他 第 4 回 有性生殖研究会 2024.03.8 東京大学