

マウス胚発生における DNA メチル化と生殖細胞形成能の関係

[1] 組織

代表者：望月 研太郎
(University of British Columbia)

対応者：松居 靖久
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：該当無し

研究費：旅費 20 万円

[2] 研究経過

マウスの始原生殖細胞 (PGC) は、胎齢 (E) 6 日前後に多能性細胞エピブラストから 6 個程度の細胞が、BMP4/BMP8A/WNT3 等の誘導シグナルの組み合わせで分化決定を受けると考えられてきた (図1)。しかし、実際には、エピブラストで BMP4/BMP8A/WNT3 影響下にある細胞は、少なく見積もって数十個は存在しており、これはエピブラストの各細胞が PGC 形成に関して等価ではないことを暗示している。

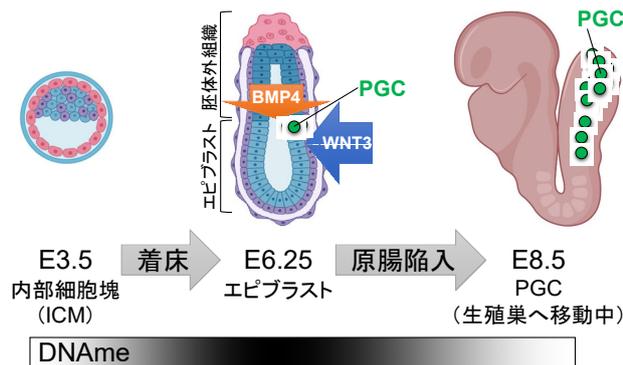


図1 マウス初期胚および PGC 発生の概略

形成された哺乳類 PGC に最も特徴的なエピゲノム状態は低 DNA メチル化 (DNAm) である (図1)。代表者と対応者は以前に、PGC がほとんど全く出現しないノックアウト (KO) 胚をいくつか報告したが、PGC 形成を遂げなかった細胞は、DNA メチル基転移酵素 *Dnmt* 群の強い発現を示しており、高 DNAm 状態にあることが予想された [Mochizuki et al., *Cell Reports*, 2018; Mochizuki et al., *Development*, 2018]。また、代表者は、PGC 分化に重要な遺伝子群を PGC

以外の細胞で発現抑制する機構として、DNAm を含めたエピジェネティックな階層的制御があることを体系的に報告してきた [Mochizuki et al, *PLoS One*, 2012; Mochizuki et al., *Nat Commun*, 2021]。

さらに、ごく最近、Schulz ら (*bioRxiv*, 2022; *Nat Struct Mol Biol*, 2023) は PGC 分化決定の試験管内模倣系を用いて、DNAm を欠失した細胞が PGC 形成能を高く持つことを示した。

したがって、上述の事項をヒントに、エピブラスト中の低 DNAm の細胞が優先的に PGC へと分化するメカニズムを説明する遺伝子発現調節を検証した。

なお、下記の通り、研究打ち合わせを in person でまたはメール・スカイプを用いて行った。

打ち合わせ実施日：(1) 2023 年 5 月 17 日
(2) 2023 年 6 月 2 日
(3) 2023 年 7 月 27 日

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

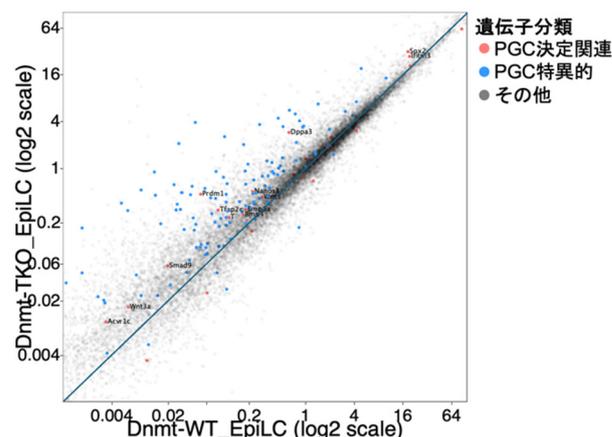


図2 *Dnmt*-TKO EpiLC における遺伝子発現変化

エピブラスト模倣細胞 (Epiblast-Like Cell; EpiLC) において、DNAm を付加する DNMT1, 3A, 3B を全て欠損させた (*Dnmt* Triple (T)KO) 後、RNAseq によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、多くの PGC 特異的遺伝子が *Dnmt*-TKO で発現上昇していることが捉えられた (図2)。また、BMP4/8A シグナル経路で働く遺伝子 (*Bmp4*, *Bmp8a*, *Acrv1c*, *Smad9*)、WNT3 シグナル経路で働く遺伝子

(*Wnt3*, *Wnt3a*)、さらにそれらの下流で PGC 決定を左右する重要な転写因子 (*T*, *Prdm1*, *Tfap2c*) の発現上昇も見出された (図2)。以上のことから、DNAm を欠失した EpiLC で、BMP4/BMP8A/WNT3 シグナル経路の活性化と下流の転写プログラムが早熟に活性化した結果、少なくとも部分的に PGC 分化決定が既に始まっていることが示唆された。また、そういった細胞は、上述の誘導シグナルの組み合わせが満たされない条件でも PGC を形成し易いことが推察された。

(3-2) 波及効果と発展性など

今回の結果と以前の報告から、発生中の胚において生殖細胞に寄与する細胞のエピゲノム特徴 (特に低 DNAm) を明らかにできつつある。環境・遺伝・病的な各種要因が母胎内胎児の DNAm 変化を誘発する可能性が示唆されている。本研究で得られた知見は、将来的にヒトの不妊の原因究明、予防や治療の新たな足がかりとなることが期待される。

[4] 成果資料
記載該当無し。