

令和 5 年 5 月 16 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19184

研究課題名（和文）受精胚の染色体異常に関連して発現する動的バイオマーカーの網羅的探索

研究課題名（英文）Comprehensive explore for morphokinetic biomarkers expressed in association with chromosomal abnormalities in fertilized embryos

研究代表者

杉村 智史（Satoshi, Sugimura）

東京農工大学・（連合）農学研究科（研究院）・教授

研究者番号：00728454

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ウシ受精胚の発生動態と胚盤胞の染色体異数性との関係性を解析することで、染色体異常を予測するバイオマーカーの探索を試みた。その結果、前核の形態動態、第一卵割様式、各細胞周期の長さといった形態動態と胚盤胞における染色体異数性との関連性は認められなかった。ライブセルイメージングの結果、初期卵割での染色体分離異常と発生速度との関係性が明らかになった。以上、発生動態は胚盤胞ではなく初期卵割の染色体異数性に関連することが示唆された。今後は、胚盤胞の染色体異数性に関連する発生動態以外のバイオマーカーの探索が必要となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、哺乳動物の発生カイネティクスと染色体異数性との関係性を理解するうえで重要な知見となる。また、本研究成果は家畜生産のみならず、生殖補助医療といった医学分野への応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, by analyzing the relationship between the developmental kinetics of bovine IVF embryos and chromosomal aneuploidy in blastocysts, I try to identify for biomarkers that predict chromosomal abnormalities. As a result, no relationship between morphokinetics such as pronuclear morphological dynamics, first cleavage pattern, and duration of each cell cycle and chromosomal aneuploidy in blastocysts was observed. As a result of live cell imaging, the relationship between abnormal chromosomal segregation at early cleavage and developmental kinetics was demonstrated. Hence, it was suggested that morphokinetics are related to chromosomal aneuploidy in early cleavage rather than to blastocysts. In the future, it will be necessary to search for biomarkers other than morphokinetics related to chromosomal aneuploidy in blastocysts.

研究分野：動物生殖学

キーワード：染色体異数性 形態動態 受精卵 ウシ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、乳用後継牛の確保や和牛素牛の増産のみならず、ゲノム選抜を融合させた育種改良の迅速化が注目を集めている。一方で、グローバルな食糧問題の解決に向けた、新規の家畜生産技術の開発が渴望されている。その基盤技術となるのが体外受精(IVF)技術である。しかしながら、ウシIVF胚の発生率および受胎率は体内で生産された胚に比べ低率であり、このことが、技術の普及に向けた最大の障害となっている。その原因は様々であるが、近年、我々は、IVF胚の生産過程で生じる染色体異常がその一因であること、IVF胚を従来の方法(国際胚技術学会が推奨する評価基準)により形態学に移植可能と判断した受精胚の中にも、約半数の割合で核/染色体異常を有するものが含まれることを明らかにした。これは、市場流通しているIVF胚の半数が染色体異常を有することを示唆している。したがって、染色体異常を有する胚を移植に先駆け予測可能になれば、ウシIVF胚の移植後の受胎率が向上することが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、ウシIVF胚の染色体異常に関連して発現する動的特徴を自動定量システムを搭載したタイムラプスイメージングにより網羅的に解析し、染色体異常の予測バイオマーカーを探索することを目的とする。

3. 研究の方法

1) ウシ胚盤胞の染色体解析技術、すなわち染色体異数性解析技術を確立

ヒト胚の染色体異数性解析で用いられている、VeriSeqシステムを応用し、全ゲノム増幅(WGA)によりDNAを増幅し、DNAを調整後、Miseq(Illumine)によりシーケンスを行う。コピー数多型の予測ソフトウェアはCNV-seqを用いる。

2) 染色体異常に関連して発現する動的パラメータの網羅的解析

受精卵の面積変化、内部細胞塊の面積変化、各発生ステージへの到達時間、各細胞周期の長さ、異常卵割等の自動定量を可能にしたタイムラプスシステムによりIVF胚の動的解析を行う。マイクロウェル培養ディッシュにIVF胚を個別に入れ8日間のタイムラプスイメージングを実施する。胚盤胞に到達した胚は、実験1で確立した染色体解析技術により染色体異常の有無を解析する。染色体解析データと遡及的に解析したタイムラプスデータを紐付けし、染色体異常に関連して発現する動的バイオマーカーを探索する。

4. 研究成果

1) 前核の形態動態と胚盤胞における染色体異数性との関係

前核の出現、前核の消失、前核数と胚盤胞における染色体異数性との関係性は認められなかった。

2) 第一卵割異常、発生速度、胚盤胞の品質と胚盤胞における染色体異数性との関係

第一卵割異常、発生速度、胚盤胞の品質、いずれにおいても胚盤胞における染色体異数性との見関係性は認められなかった。一方、興味深い知見として、雌胚において染色体異数性を有する胚盤胞が多く観察された。

3) 染色体分離異常と初期胚発生との関係

ライブセルイメージングの結果、初期卵割期において染色体分離異常が生じた胚の多くが胚盤胞に到達する前に発生を停止すること、一方、そのような胚でも胚盤胞に到達したものは、正常な子牛になりうるようになった。また、染色体分離異常が生じた胚は発生速度が遅延することが明らかになった。

4) Direct Cleavage と異常受精との関係

前核数や前核移動の異常と第一卵割で生じる direct cleavage (1細胞から3細胞以上に一度に

卵割する異常卵割)に強い相関性が認められた。以上、第一卵割での direct cleavage の有無が異常受精のバイオマーカーになりうることを示された。

以上、ウシ体外受精胚の発生動態は胚盤胞の染色体異常性を予測するバイオマーカーにはなりえないことが示唆された。一方、倍数性に関連すると考えられる異常受精においては、第一卵割様式、特に direct cleavage の有無が関係することが明らかになった。今後は、発生動態以外の胚盤胞における染色体異常性を予測するバイオマーカーの探索が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Komatsu K, Murata K, Iwasaki T, Tokita S, Yonekura S, Sugimura S, Fujishima Y, Nakata A, Miura T, Yamashiro H.	4. 巻 18
2. 論文標題 Changes in ovarian morphology and hormone concentrations associated with reproductive seasonality in wild large Japanese field mice (<i>Apodemus speciosus</i>).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anim Reprod	6. 最初と最後の頁 e20210067
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1590/1984-3143-AR2021-0067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長井博紀、岡田真依、長井陽子、桜庭喜行、岡江寛明、鈴木亮祐、杉村智史
2. 発表標題 異常卵割のウシ胚の自己修復への関与
3. 学会等名 第5回日本胚移植技術研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------