

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：11401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2013

課題番号：23890023

研究課題名(和文)着床前診断における割球除去が胚発育挙動とエピジェネティックなプロセスに与える影響

研究課題名(英文)Effect of blastomere removal in the pre-implantation diagnosis on the epigenetic process and embryonic development

研究代表者

佐藤 恵 (Sato, Megumi)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：90609059

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、胚発育過程で1個の割球を除去することが、その後のその他の割球成分の分布にどのように影響するかを明らかにすることを目的とした。マウス初期胚の割球の1つを蛍光ビーズでマーキングし、胚発育における1個の割球成分の挙動を検討した。2細胞期に一つの割球にビーズを注入した胚を胚盤胞まで培養し検討した。

研究の結果、内部細胞塊にのみビーズが局在するもの、栄養膜細胞層にのみ局在するものがほぼ同様の発現率で認められた。これは胚性ゲノム転写前の全能性を有すると考えられる割球にも分化の運命が決まっている可能性が存在することを示し、初期胚における割球除去の安全性の検討をさらに追試する必要性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify how it affects the distribution of the remained blastomeres to eliminate one blastomere from embryo in embryonic development process. I examined the motion of one blastomere marked with fluorescent beads of the early mouse embryo in embryonic development

We also cultured and observed two-cell stage embryos which injected with beads to one blastomere. It was observed in the almost equal incidence rate that those beads are localized only in the inner cell mass or only in the cytotrophoblast cell layer. This study showed that there is a possibility that the fate of differentiation is determined to blastomeres that are considered to have a totipotency before embryonic genome transcription. This result indicates that we need additional investigation to confirm the safety of blastomere removal in the early embryo.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：産婦人科学

キーワード：着床前診断 割球細胞 胚発育

1. 研究開始当初の背景

医学に人体外でのヒト配偶子操作、すなわち生殖補助技術 (ARTと略す) が導入されてから約30年が経過しようとしている。その安全性の評価は通常の医療技術で行われる、動物実験の後の臨床導入のような過程は存在せず、科学的な検証は行われていないのが実情である。ARTの進歩により技術的には導入可能となった出生前診断の方法が**着床前診断**である。世界的な傾向として着床前診断はその適応の幅を広げつつあり、本邦においても臨床への導入に関して種々の議論が展開されていることは周知の事実である。着床前診断の開発の歴史を現在まで辿ると、割球を摘出すること自体が発生に与える影響に関しての基礎的な検証が殆ど行われていないのに気づく。 着床前診断とは、初期胚が割球を1個ないし複数個摘出し目的の遺伝子診断を行う方法である。本来、極めて旺盛な生命力を保持する胚は割球除去による侵襲にも耐え生存しうるポテンシャルを保持している。この時期の胚の割球除去が可能である論拠は、割球摘出時期の胚はまだ全能性を持っているためとされる。しかし、その行為が正常な生体の発育にどのような影響を与えているかに関して私たち人類がこれまで行っている検証は極めて貧弱である。すなわち、1989年に Trounson らがマウス初期胚で割球を摘出することは、その後の着床率に影響を与えないことを報告した。翌年には速やかに Handyside らによる、ヒト胚を用いた初の着床前診断 (性別判断) が報告されている (Science 1990)。このレポートで著者らがヒト胚の割球診断に踏み切った唯一の論拠は実は上記先年の報告のみである。その後一部の国では、割球診断は企業の商業的な戦略とも絡み合い、早い速度で普及している。着床前診断の安全性の生物学的な検証、とくに初期胚の割球を除去するという自然ではありえない、極めてラジカル

な操作が、出生する次世代の人類に及ぼす影響の有無とその評価を下すことは、医学、生物学の急務であると考えられる。

2. 研究の目的

世界的な傾向として着床前診断はその適応の幅を広げつつあり、本邦においても臨床への導入に関して種々の議論が展開されていることは周知の事実である。着床前診断の開発の歴史を現在まで辿ると、割球を摘出すること自体が発生に与える影響に関しての基礎的な検証は報告されていない。

最近、生殖補助技術で行われる配偶子、胚の体外操作がその発生過程でのエピジェネティックなプロセスに異常を来していることが示唆されている。そこで本研究は ヒトおよびマウス割球除去後胚の発育挙動とそのエピジェネティックなプロセスの変化を検討し、本技術の人類の将来に対する影響に関する情報を発信することを目的とする。

3. 研究の方法

着床前診断で行われるヒト初期胚割球除去操作自体が我々人類に及ぼす影響とその安全性の検証のために以下の検討を行う。

体外受精施行時凍結余剰卵子を用いた、割球除去後ヒト胚の発育挙動の連続観察による正常胚との比較 (ハッチングまでの経過に関する発育挙動曲線の作成)

割球除去がヒト胚の胚遺伝子転写開始時期に与える影響の検討

マウスモデルを用いた割球除去胚発育の細胞生物学的検討 (蛍光ナノドットの割球内注入による分割期マウス胚のそれぞれの割球細胞質の胚発育における挙動観察)

マウスモデルを用いた割球除去後発育胚のゲノムインプリント解析と正常胚との比較検討。

、 に関してはマウスモデルで注視すべき知見が得られた場合、凍結保存余剰胚を用いてヒト胚における知見を集積する。

以上の知見を統括して、着床前における割球除去がヒト胚発育に与える影響：その発育挙動とエピジェネティックな変化に関する解析と題した報告を作成する。

4. 研究成果

世界的な傾向として着床前診断はその適応の幅を広げつつあり、本邦においても臨床への導入に関して種々の議論が展開されていることは周知の事実である。着床前診断の開発の歴史を現在まで辿ると、割球を摘出すること自体が発生に与える影響に関しての基礎的な検証は報告されていない。最近、生殖補助技術で行われる配偶子、胚の体外操作がその発生過程でのエピジェネティックなプロセスに異常を来たしていることが示唆されている。

そこで本研究はヒトおよびマウス割球除去後胚の発育挙動とそのエピジェネティックなプロセスの変化を検討し、かつ胚発育過程で1個の割球を除去することが、その後のその他の割球成分の分布にどのように影響するかを明らかにすることを目的とした。マウス初期胚の割球の1つに蛍光マイクロビーズをマイクロインジェクション マーキング し胚発育における1個の割球成分の挙動を胚盤胞から産仔の期間で検討した。胚発育に影響をあたえず、かつ蛍光顕微鏡でその分布の同定が可能な注入するビーズの大きさと濃度に関する予備検討をおこなった。

その後、2細胞期に一つの割球にビーズを注入した胚を胚盤胞まで培養しビーズの局在を検討した。内部細胞塊にのみビーズが局在するもの、栄養膜細胞層にのみ局在するものがほぼ同様の発現率で認められた。この事実は胚性ゲノム転写前のいわゆる全能性を有すると考えられる割球にもある程度分化の運命が決まっている可能性が存在することを示し、初期胚における割球除去の安全性の検討はさらに追試してゆく必要性が考えられた。割球除去後の産仔のインプリント遺伝子の遺伝子DNAのメチル化解析に関しては現時点では未だ明確な結論は得られていない。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 恵 (Sato Megumi)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：90609059