

「ゲノムの構造と機能」
平成10年度採択研究代表者

石野 史敏

(東京工業大学遺伝子実験施設 助教授)

「哺乳類特異的ゲノム機能」

1. 研究実施の概要

生物のゲノムにはその生物種の持つ個々の遺伝子の情報と、それら遺伝子全体の発現を制御する個体発生に関係する情報が含まれている。このように生物の個体発生はその生物ゲノムの持つ全体的な機能発現といえる。さらにゲノムにはその生物種の生物進化の歴史である系統発生の情報が含まれている。個体発生と系統発生では扱われる時間軸が大きく異なるが、これらをつなぐ鍵は特定の生物群にのみ見られるゲノム機能であろう。体制の大きく異なる生物群の出現(大進化)には、突然変異だけでなく大幅なゲノム構造の再編までも含めた、新しいゲノム機能の獲得が必要であったと考えられる。現在見ている個体発生は、そのような生物群に特異的ゲノム機能と生物共通に存在する普遍的ゲノム機能の集積の結果の現れであろう。

ゲノムインプリンティングは高等脊椎動物では哺乳類にのみ見られる遺伝子発現制御機構である。われわれはこれまでのインプリンティング遺伝子群の体系的分離と解析から、この遺伝子発現機構が哺乳類の個体発生のみならず、哺乳類の進化に重要であったことを示唆するデータを得ている。そこで本プロジェクトでは、このゲノムインプリンティングを哺乳類特異的ゲノム機能と考え、個体発生、系統発生の問題から哺乳類の発生工学の問題まで、基礎科学、応用科学の枠を超えた新しいゲノム科学の展開をめざしている。

2. 研究実施内容

「哺乳類特異的ゲノム機能」プロジェクトの大きな柱は、

- (1) 哺乳類の個体発生やヒト遺伝病に関わる個々のインプリンティング遺伝子の分離と機能の解明。
- (2) ゲノムインプリンティングの分子機構の解明および分子機構と個体発生、系統発生との関係の解析。
- (3) 哺乳類の初期胚操作実験におけるゲノムインプリンティングの制御。

からなる。平成11年度の研究実施内容としては

- 1) 新規インプリンティング遺伝子の分離・同定
 - ・ サブトラクション・ハイブリダイゼーション法により胎児期後期から新生

児期の致死を引き起こすマウス染色体12番遠位部に新規インプリンティング遺伝子 *Meg3* を同定した。また、ヒト染色体14番に存在する相同遺伝子 *MEG3* も母性発現を示すことを証明した(論文発表)。これらのインプリンティング領域には胎盤機能、骨格形態形成に重要なインプリンティング遺伝子、精神遅滞の原因インプリンティング遺伝子が予想されており、これら疾患遺伝子の同定を目指している。

- ・ 初期胚致死を引き起こすインプリンティング領域であるマウス染色体6番近位部のインプリンティング遺伝子の探索の結果、*Peg1/Mest* 遺伝子の周辺領域に新規インプリンティング遺伝子を発見した(論文準備中)。この遺伝子と出生前後の成長不良を引き起こすシルバーラッセル症候群との関連を解析している。」

2) ノックアウトマウス、トランスジェニックマウスによるインプリンティング遺伝子の機能解析

- ・ あるインプリンティング遺伝子のトランスジェニックマウスが糖尿病を発症することを発見した。新しい糖尿病モデルマウスとして、このマウスで糖尿病の発症過程の詳細を解析している(論文投稿準備中)。
- ・ 行動異常、生殖細胞系列の発育不良となるトランスジェニックマウス系統を分離した。このマウスでは無精子症により雄が不妊となる。しかし、精細胞をもちいた顕微受精では子供が生まれることから原因は精子の形態形成にあることが判明した。現在、原因遺伝子の探索を行っている。

3) ヒトのインプリンティング遺伝子の機能解析とヒト遺伝疾患の原因遺伝子の同定

- ・ ヒト染色体19q13.4 に存在する *PEG3* は成体では脳で特異的に発現しているが、ヒト脳腫瘍であるグリオーマで発現が著しく減少している。この遺伝子をグリオーマ細胞株に導入することにより癌抑制活性を示すことを明らかにした。これが生体内でのグリオーマ発症の原因となっているかどうかを明らかにするために、悪性度の低い段階の腫瘍を解析したところ、オリゴデンドログリオーマでは初期の段階から *PEG3* の発現が激減していることがあきらかになった。また腫瘍部分の *PEG3* 遺伝子のメチル化は高メチル化となっているものが存在した。現在、発現量の低下の割合が低いサンプルにおいて遺伝子の変異を解析している。
- ・ ヒト染色体11p15.5 に存在する *IGF2* と同じクラスターに含まれる新規遺伝子 *PEG8* がウィルムス腫瘍で特異的に高発現していることを報告した(論文発表)。発現の昂進は100倍程度あり、*IGF2* とあわせて高発現することにより共同でウィルムス腫瘍の発症に関わっている可能性が示唆された。また、

ウィルムス腫瘍の場合、単にインプリンティングの機構が外れる (Loss of imprinting) のではなく、別の分子機構によりインプリンティング遺伝子の高発現が誘導されていることを明らかにした。現在、細胞株を用いた発ガン実験を行っている。

4) インプリンティングの分子機構の解明

- ・ インプリンティング遺伝子の発現を制御するゲノム上のインプリンティングボックス配列の決定とそれと相互作用する卵巣および精巣内のインプリンティングファクターの分離を試みている。酵母 one-hybrid systemによりインプリンティングボックス配列と考えられるDNA配列に特異的に結合する候補を卵巣および精巣ライブラリー 100万個スクリーニングし、得られた数個の候補遺伝子を現在解析している。

5) 父親性インプリンティングの実態の解明

- ・ 精子形成過程の段階でのインプリンティングを解析している。一部の*Peg* 遺伝子の発現異常があることが明らかになった。

6) クローン動物におけるゲノムインプリンティング

- ・ 国立感染症研究所およびハワイ大学とも共同研究でクローンマウスにおけるゲノムインプリンティングの変化を解析している。クローン動物は生まれるが、出生までの致死率が非常に高い。この原因を探るため、クローン初期胚、出生児および胎盤に関して遺伝子発現の異常の有無を調べた (投稿準備中)。

7) 有袋類におけるゲノムインプリンティング

- ・ オーストラリア、メルボルン大学と共同研究で有袋類 (ワラビー) におけるゲノムインプリンティングを解析している。ワラビー胎児からcDNAライブラリーの作製を行い、マウスの*Peg*、*Meg* 遺伝子群の相同遺伝子の体系的スクリーニングを開始した。これら遺伝子のインプリンティングの有無を見ることにより、哺乳類の進化のどの段階でゲノムインプリンティングが生じたかという問題と有胎盤類と有袋類のゲノム機能の違いを解明する。

3 . 主な研究成果の発表 (論文発表)

Okutsu, T., Y. Kuroiwa, F. Kagitani, M. Kai, K. Aisaka, O. Tsutsumi, Y. Kaneko, K. Yokomori, M. A. Surani, T. Kohda, T. Kaneko-Ishino and F. Ishino. Expression and imprinting status of human *PEG8/IGF2AS*, a paternally expressed antisense transcript from the *IGF2* locus, in Wilms' tumors. , 475-483 (2000).

Miyoshi, N., H. Wagatsuma, S. Wakana, T. Shiroishi, M. Nomura, K. Aisaka, T. Kohda, M. A. Surani, T. Kaneko-Ishino and F. Ishino. Identification of an imprinted gene, *Meg3/Gtl2* and its human homologue *MEG3*, first mapped on mouse distal

chromosome 12 and human chromosome 14q. *Genes to Cells* 5 (3) 211-220 (2000).

Li, L-L, I. Y. Szeto, B. M. Cattanach, F. Ishino and M. A. Surani. Organization of imprinted *Peg3* gene on mouse proximal chromosome 7. *Genomics* 63, 333-340 (2000).

石野史敏、金児 - 石野知子 ” 哺乳類のゲノムインプリンティング ” 遺伝 2000年1月号 (54巻1号) P77-81

石野史敏、金児 - 石野知子 (1999) ” 哺乳類における父親由来、母親由来のゲノム機能の差 ” バイオサイエンスとインダストリー Vol.57 No.9 (99) P9-16

石野史敏 ” 刷込み遺伝子とはなにか ” 哺乳類のゲノム刷込み現象 (その1) 月刊保団連 1999.1 No634 P46 ~ 50

石野史敏 ” *Peg* 遺伝子と *Meg* 遺伝子 ” 刷込み遺伝子とはなにか (その2) 月刊保団連 1999.12 No639 P52 ~ 56

石野史敏 ” ゲノムインプリンティングの生物学的意味について ” 刷込み遺伝子とはなにか (その3) 月刊保団連 2000.2 No642 P68 ~ 73

石野史敏、金児 - 石野知子 (2000) ” 哺乳類の行動遺伝子とゲノムインプリンティング ” 科学 Vol.70 -2000