

父親のいないマウス

David A. F. Loebel and Patrick P. L. Tam

哺乳動物では、生存可能な子孫を作るには、一般に両親双方からのゲノムが必要とされる。しかし、「インプリンティング」を受けた遺伝子の発現を変化させてやると、父親からのゲノムはなくても済むらしい。

原文：Genomic imprinting: Mice without a father

Nature Vol. 428(809)/22 April 2004; www.naturejpn.com/digest

動物の有性生殖では、それぞれの個体は両親からそれぞれひとりの遺伝子を受け継ぐのが普通である。だが、植物や大部分の動物では単為生殖によって、父親由来の遺伝子はいっさいなく母親由来の遺伝子だけをもち、なおかつ生存能のある子が生まれる。その例外が哺乳類で、父親が必要とされる。これはなぜなのか。本誌4月22日号 p. 860で河野たち¹は、ゲノム刷り込み(ゲノム・インプリンティング)という現象が父親なしの生殖を阻む障壁であることを示す動かめ証拠を提示している。

哺乳類では父方と母方両方の遺伝子を併せ持つことが大事だというのは、母系染色体が父系染色体のどちらかだけをもつマウス胚の研究から明らかになった。母親由来の染色体のみをもつ胚では、胚の形成には関与しないが胚の成長を支えるのに必要な「胚体外組織」が十分に発達せず、胚は子宮内に着床してまもなく死んでしまう^{2,3}。これに対して、父親由来の染色体のみをもつ胚では発生が進まないが、胚体外組織は比較的良好に発達する^{2,3}。このことからみて、一部の遺伝子の父方のコピーは胚体外組織の発達に重要であり、また、他の一部の遺伝子では母方のコピーが胎児の発達に不可欠だと考えられる。

この説明として最も説得力があるのは、母系ゲノムと父系ゲノムはまったく対等ではなく、異なる「刷り込み」を受けており、これが胚での遺伝子発現の違いにつながるという説である。ゲノム刷り込み、あるいは「後成的修飾」により、各遺伝子の2個のコピーに、母親と父親のどちらから受け継がれたかを示す刻印がなされる。これはDNAまたはタンパク質に施される化学的変化であり、細胞分裂をしても受け継がれるが、DNA塩基配列を変えてしまうことはない。

刷り込みを受けるゲノム領域は通常、100万塩基対かそれ以上の広い染色体領域にわたっており、数個の遺伝子の協調した制御にかかわっているらしい。例えば *Igf2* と *H19* はゲノム刷り込みを受ける遺伝子であり、マウスの7番染色体上に100キロ塩基離れて位置している。この2つの遺伝子は相反する刷り込みを受ける。つまり、発現するのは、*H19* では母方のコピー、*Igf2* では父方のコピーである(図1)。発現の調節には近くの数カ所のDNA領域が関与しており、これらの領域は遺伝子発現にかかわるエンハンサーやプロモーター、インスレーター(文字どおり「絶縁体」として働く。

このインスレーター(境界要素ともいう)は *H19* の上流の *Igf2* までの間にあり、特有のメチル化を受けたドメイン(DMD)であることが突き止められている。現行のモデルによると、この領域は *H19* の下流にあるエンハンサー要素と協同で働く。母方の染色体上では、エンハンサーを阻害するタンパク質(CCCTC というDNA塩基配列を認識するCTCF)がこのDMDに結合して、エンハンサーが *Igf2* のプロモーターと相互作用するのを妨げ、*H19* の発現に好都合に働く^{4,5}。しかし父方の染色体上では、この境界要素のDNAがメチル化されていてCTCFが結合できないため、*Igf2* は発現されるが *H19* は発現されない。

母方ゲノムの後成的修飾は卵細胞成熟の過程で起こる。河野たちは以前の研究⁶で、マウス新生仔から得た未成長期の卵と、完全に成長し成熟した卵とから得た染色体全数を組み合わせた単為生殖胚は、普通の単為生殖胚よりも4日間長く生きられることを見つけている。1組の染色体を卵形成初期の段階で採ったため、これには母方の刷り込みがまだなされておらず、そのため、正常な胚発生ならば

父系染色体でしか発現されないいくつかの遺伝子を発現させることができたと思われる。

これと同じ技術を用いて河野たち⁷は、ゲノム刷り込み状態をもっと変化させることで単為生殖胚の発生能に影響が出るかどうかをみるため、*H19* 遺伝子領域⁸を欠如した未成長期卵の「刷り込みを受けていない」ゲノムが胚の生存能にどんな影響を与えるかを調べた。実際、*H19* のコピーを1個欠いた単為生殖胚は出産予定日近くまで生き延びたが、胎盤の形成不全で死亡した。これらの胚は明らかに、正常胚と同様に1組の染色体からの *H19* の発現がなかった。しかし、未成長期の卵に由来する染色体にはDMDがメチル化されないまま存在しているため、*Igf2* の発現が妨げられたのだろう。

そして河野たち¹は今回、*H19* と *Igf2* の両方を削除したマウス⁹を使って、同様の実験を行った。彼らはこのマウスを *H19*^{A13} マウスと名づけた(図1)。そして、この変異マウスから採取した未成長期卵細胞の染色体と、正常マウスの成熟した卵細胞から得た染色体とを組み合わせた。理論的には、未成長期卵細胞のゲノムから *H19* を削除することで、父親由来 *H19* の不活性化と同じ効果が得られるはずである。そして、DMDも欠如しているため、阻害タンパク質CTCFはDMDに結合できない。その結果、通常の父親由来の *Igf2* と同じように、この場合の *Igf2* も発現できるはずである。ここまでの予想はされていたものの、その結果はなんとも驚くべきものだった。見た目も正常な雌が無事に2匹生まれ、そのうち1匹は成体まで成長して、妊娠・出産までやってのけたのである。

さらなる驚きが、マイクロアレイ法で1万1,000個を超える遺伝子の発現を解析した結果からもたらされた。この生き残った *H19*^{A13} ▶

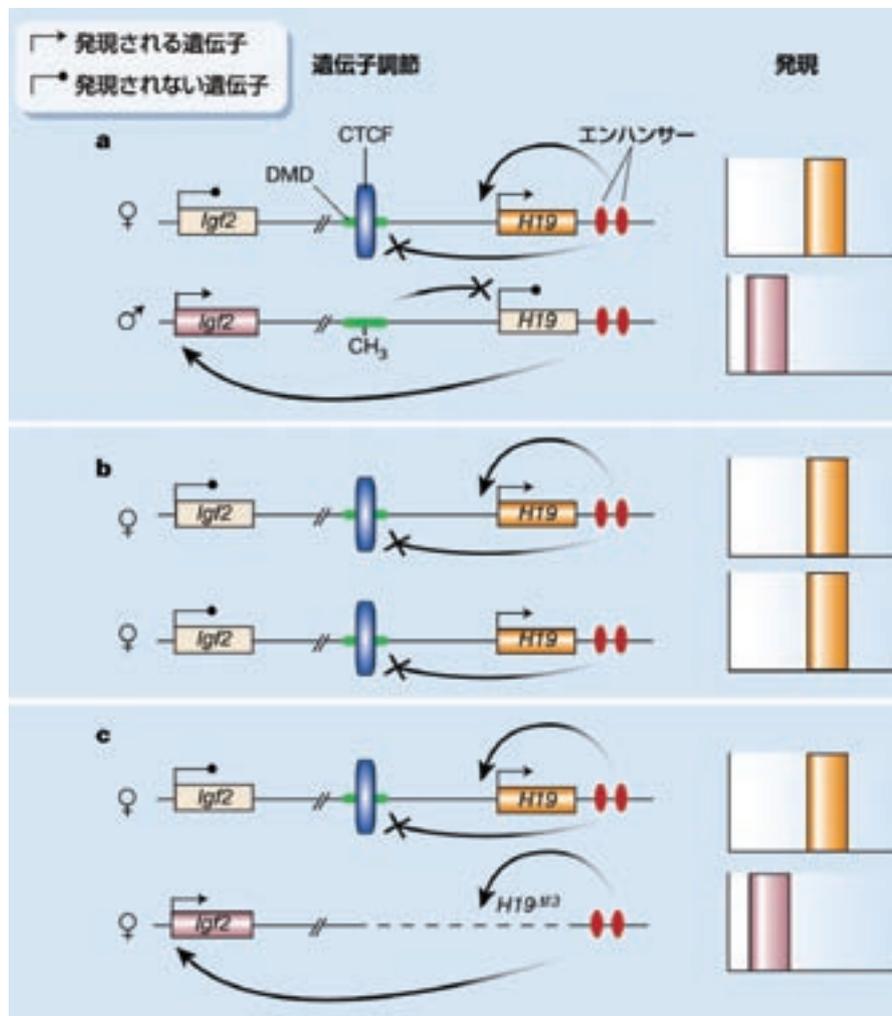


図1 もう雄はいらない？

a, *H19*と*Igf2*の2つの遺伝子はマウスの同じ染色体上にあり、相反する「刷り込み」を受ける。つまり、正常な胚では*H19*は母系染色体にあるコピーのみが発現し、*Igf2*は父系染色体にあるコピーのみが発現する。母系染色体上では、タンパク質であるCTCFが特異的メチル化ドメイン(DMD)に結合して、*Igf2*にエンハンサーが接近するのを妨げる。すると代わりに*H19*が発現される。父系染色体ではDMDがメチル化され(図中でCH³として表記)、そのためCTCFは結合できず、したがってエンハンサーが*Igf2*に近づいて*Igf2*が発現され、*H19*は発現されない。図は参考文献5から改変したもの。

b, 通常の母系ゲノムを2個もつ単為生殖マウスでは*Igf2*が発現されず、胚は死んでしまう。

c, 河野たち¹は、完全に成長しきった卵(母方のゲノム刷り込みがすべて終わっている)からの染色体と、DMDと*H19*を取り除いた未成長期の卵(*H19*^{D13})の染色体とを組み合わせた。これらを削除することで、父系*H19*の不活性状態が擬似的に作り出され、*Igf2*の発現が可能となって、生存能のある成獣マウスが得られたわけである。

をもつ単為生殖マウスでは、1,000個を超える遺伝子の発現レベルが、*H19*の完全なコピーを2個もつ単為生殖マウスのものよりも、正常に受精した胚のものに近かったのである。遺伝子発現に現れたこの広範な作用は、*H19*のコピーが1個欠如したことの直接的な効果だとみなすことはできない。一つの可能性として考えられるのは、遺伝子発現に見られた変化が、*H19*^{A13}をもつ単為生殖マウスの良好な生育をもたらした間接的な効果だといこ

とだ。しかし、わずか2個の刷り込み遺伝子の発現を変化させることでゲノムの残り部分に波及効果を及ぼさうというのには、びっくりさせられる。

なかでも興味深いのは、刷り込みを受ける他の遺伝子の発現に及ぼす影響である。正常に发育する*H19*^{A13}単為生殖マウスでは、*H19*と*Igf2*の発現に加えて、*Dlk1*と*Gtl2*の発現も、正常なマウスの場合に匹敵していた。*Dlk1*と*Gtl2*はやはり相反する刷り込みを受

ける遺伝子対で、*H19*と*Igf2*とは違う染色体上にある。しかし、发育の悪い*H19*^{A13}単為生殖マウスでは、*Dlk1*と*Gtl2*が正常レベルで発現されていなかった。以上を総合すると、河野たちの研究成果^{1,6,7}によって、哺乳類で自然の単為生殖が起こり得ない主な理由の一つは、刷り込みを受ける遺伝子が不適切に発現してしまうためであることが実証されたことになる。片親のみの生殖に対するこうした障壁がなぜ進化したのかについては、今後の説明が待たれる。

今回の研究¹については、単為生殖胚のうちごく一部しか生存しなかったのはなぜか、また、遺伝子発現に現れる影響にこれほどばらつきがあるのはなぜかといった疑問も出てくる。こうした疑問の一部はおそらく、研究に使われたマウス系統の異系交配の特性によって説明できるだろう。特に肝要なのは、*H19*遺伝子の活性を変化させることで、これほど多くの遺伝子の発現、とりわけ一見互いに無関係に見える刷り込みを受ける遺伝子類の発現がどう変化するかを見きわめることだろう。ゲノム刷り込みを受ける遺伝子が発生において果たす役割やその調節機構が完全に解明されるまでは、生殖活動への父親の参画は必要とされ続けるはずだ。

筆者の David A. F. Loebel と Patrick P. L. Tam は、シドニー大学小児医療研究所発生学部門 (the Embryology Unit, Children's Medical Research Institute, University of Sydney, Wentworthville, New South Wales 2145, Australia) に所属している。e-mail: dloebel@cmri.usyd.edu.aum, ptam@cmri.usyd.edu.au

1. Kono, T. *et al. Nature* **428**, 860-864 (2004).
2. Surani, M. A., Baron, S. C. & Norris, M. L. *Nature* **308**, 548-550 (1984).
3. Barton, S. C., Surani, M. A. & Norris, M. L. *Nature* **311**, 374-376 (1984).
4. Thorvaldsen, J. L., Duran, K. L. & Bartolomei, M. S. *Genes Dev.* **12**, 3693-3702 (1998).
5. Arney, K. L. *Trends Genet.* **19**, 17-23 (2003).
6. Kono, T., Obata, Y., Yoshimizu, T., Nakahara, T. & Carroll, J. *Nature Genet.* **13**, 91-94 (1996).
7. Kono, T., Sotomaru, Y., Katsuzawa, Y. & Dandolo, L. *Dev. Biol.* **243**, 294-300 (2002).
8. Ripoche, M. A., Kress, C., Poirier, F. & Dandolo, L. *Genes Dev.* **11**, 1596-1604 (1997).
9. Leighton, P. A., Ingram, R. S., Eggenschwiler, J., Efstratiadis, A. & Tilghman, S. M. *Nature* **375**, 34-39 (1995).