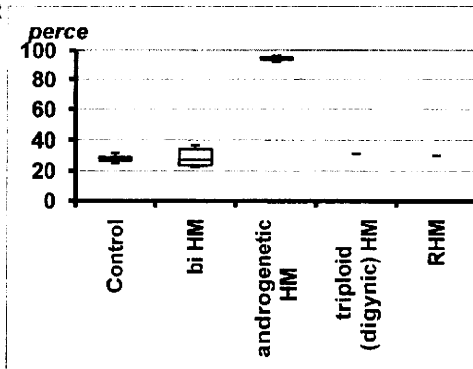
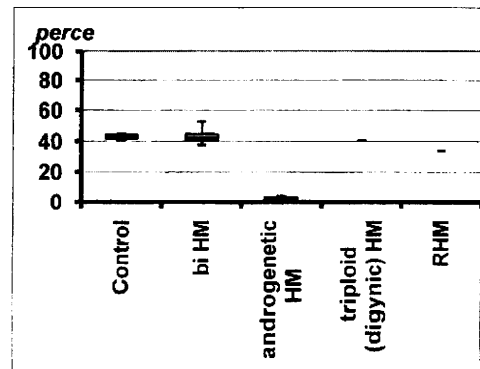


27	55,441,356	rs269945	T>C	Intron 9	T/T	12	2	1	0	0.7397	0.6908	0.3822	0.8261	0.0919	0.9551
					T/C	39	7	2	1						
					C/C	38	12	4	2						
28	55,441,340	rs269944	T>C	Intron 9	T/T	12	2	1	0	0.7397	0.6908	0.3822	0.8261	0.0919	0.9551
					T/C	39	7	2	1						
					C/C	38	12	4	2						
29	55441306.55 441308	rs676928 26	dup G	Intron 9	G/G	12	2	1	0	0.7397	0.6908	0.3822	0.8261	0.0919	0.9551
					G/dupG	39	7	2	1						
					dupG/dupG	38	12	4	2						
30	55,441,209		C>T	Intron 9	C/C	12	2	1	0	0.7397	0.6908	0.3822	0.8261	0.0919	0.9551
					C/T	39	7	2	1						
					T/T	38	12	4	2						
31	55,439,168	rs775870	G>C	Intron 10	G/G	74	18	5	3	0.0017	0.9991	0.0717	0.9648	0.0003	0.9999
					G/C	15	3	2	0						
					C/C	0	0	0	0						
32	55,439,166	rs269933	A>G	Intron 10	A/A	12	2	1	0	0.7397	0.6908	0.3822	0.8261	0.0919	0.9551
					A/G	39	7	2	1						
					G/G	38	12	4	2						
33	55,439,158		G>A	Intron 10	G/G	89	20	6	3	0.6242	0.7319	2.7266	0.2558	0.0861	0.9578
					G/A	0	1	1	0						
					A/A	0	0	0	0						
34	55,438,948		TTTTGT TTTT>	Intron 10	TTTTGTTT TTL/TTTT	12	2	1	0	0.7397	0.6908	0.3822	0.8261	0.0919	0.9551
					TTTTGTTT TTL/TTTT	39	7	2	1						
					TTTTTT/ TTTTTT	38	12	4	2						
					TTTTTT										
35	55,435,269	rs799484	del G	Intron 11	G/G	45	12	4	0	0.0551	0.9728	0.4203	0.8105	3.1859	0.2033
					G/delG	41	9	3	3						
					delG/delG	3	0	0	0						

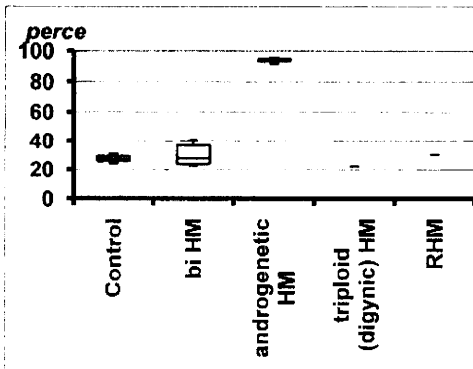
H19-DMR
P1



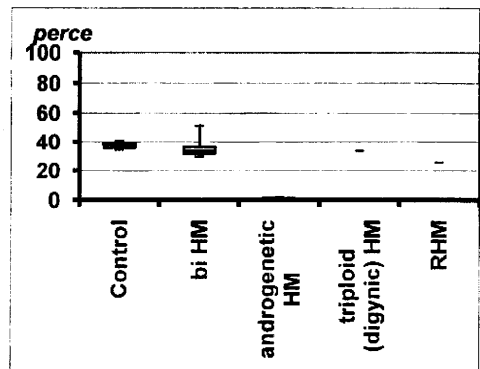
PEG1
P3



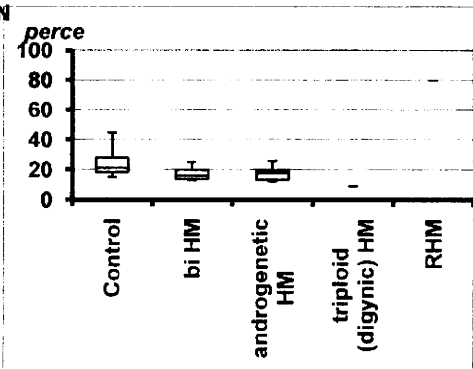
H19-DMR
P1_2nd



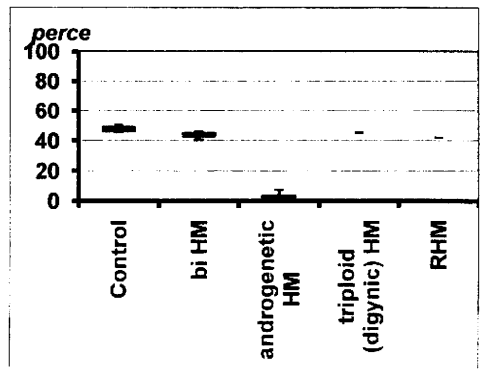
LIT1
P4



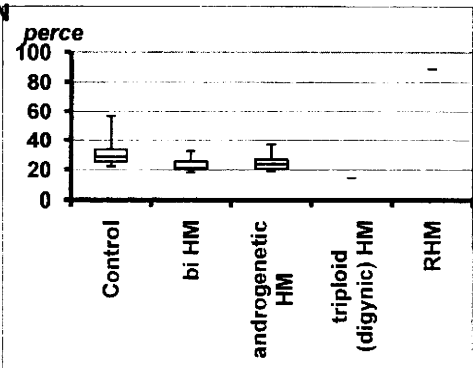
SYNCYTIN
P2



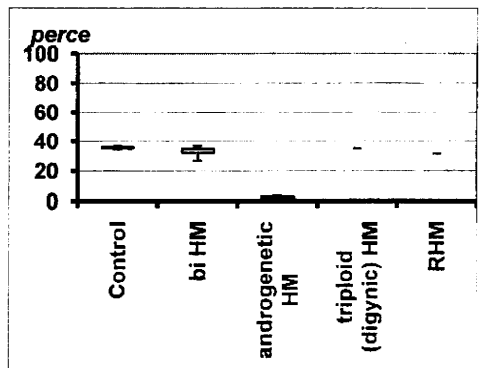
ZAC
P5



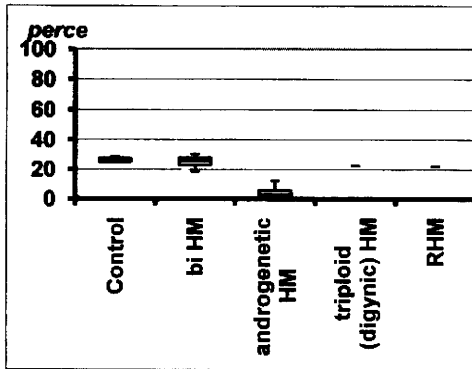
SYNCYTIN
P2_2nd



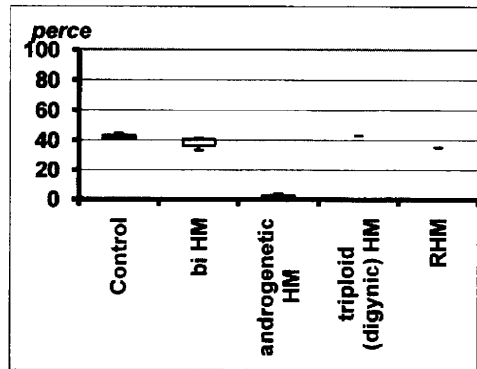
PEG3
P6



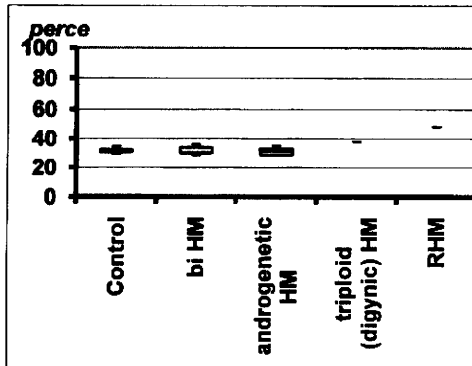
SNRPN
P7



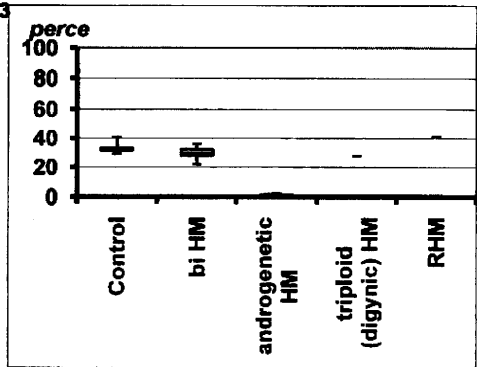
NAP1L5
P13



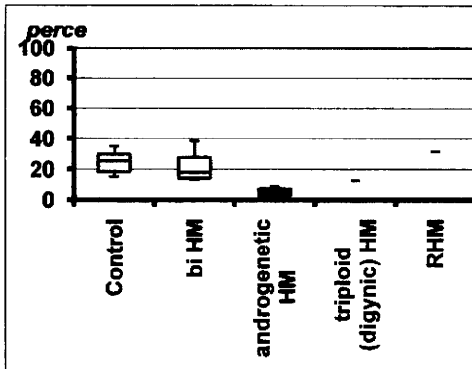
LINE
P8



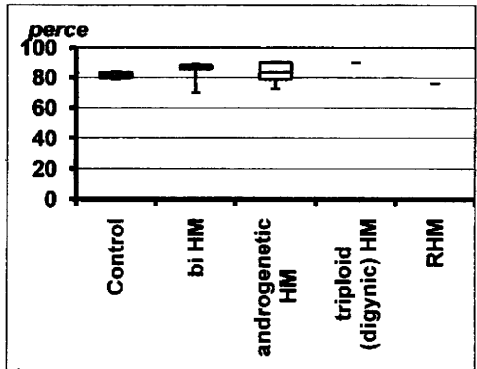
ARHI-CG3
P14



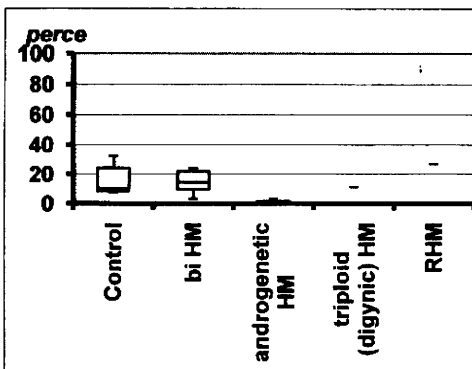
NESPAS-
GNASXL
P10



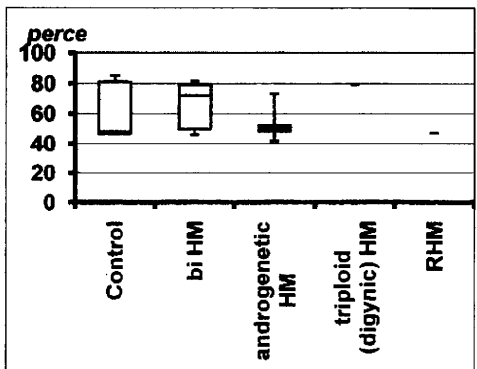
NNAT
P17



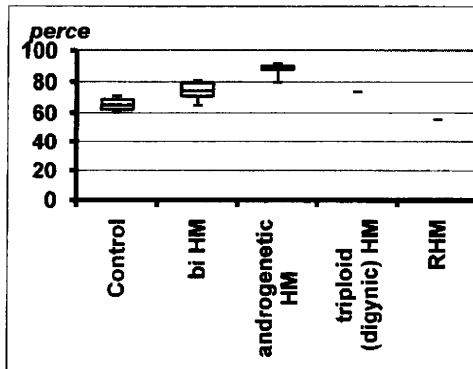
GNAS 1A
P11



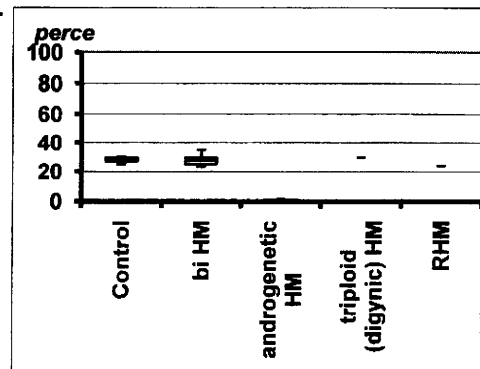
XIST
P19



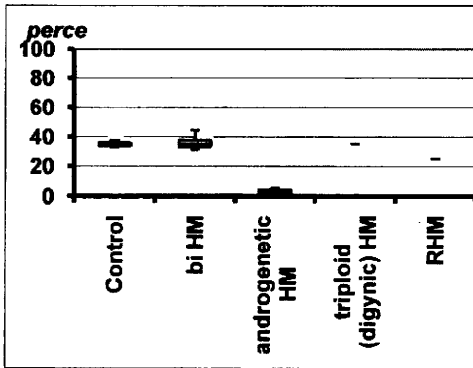
IG-DMR-
CG6
P21



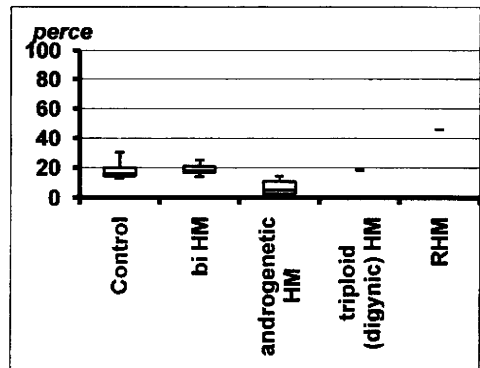
L3MBTL-
CpG3
P25



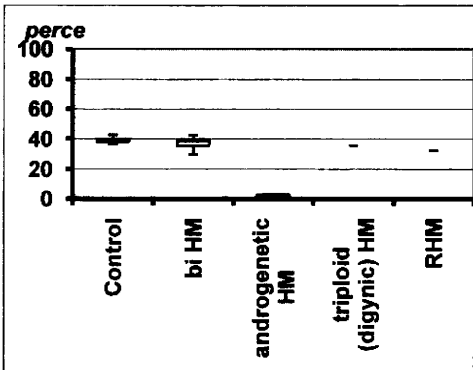
GRB10-
DMR
P22



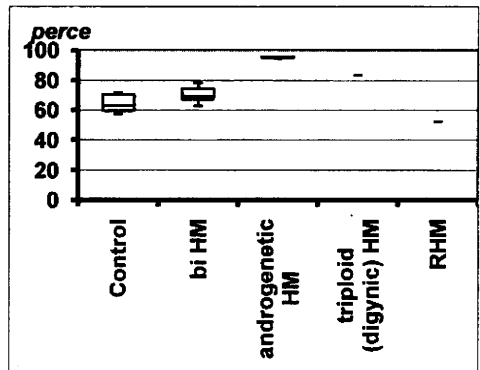
INPP5F-
V2
P26



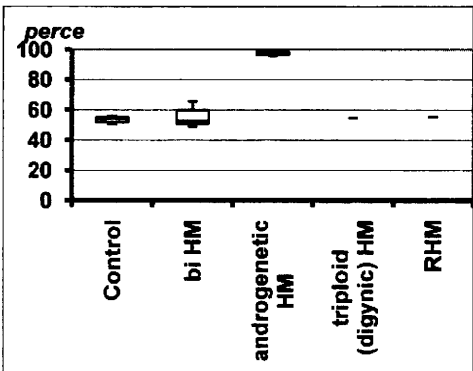
MCTS2-
CG
P23



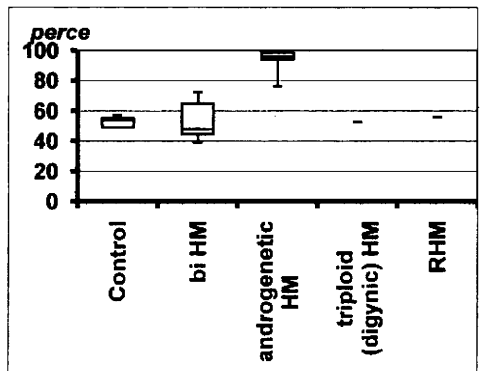
NESP55
P27



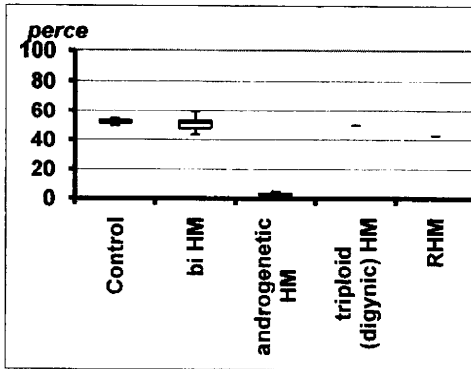
H19-
Promoter
P24



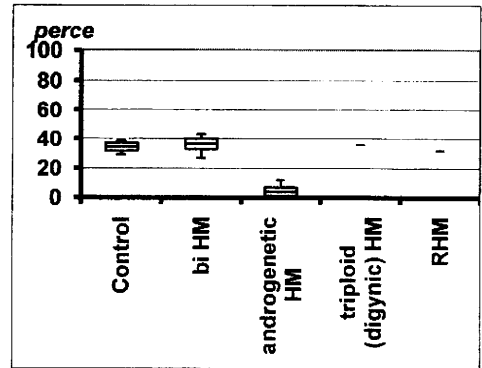
IG-DMR-
CpG4
P31



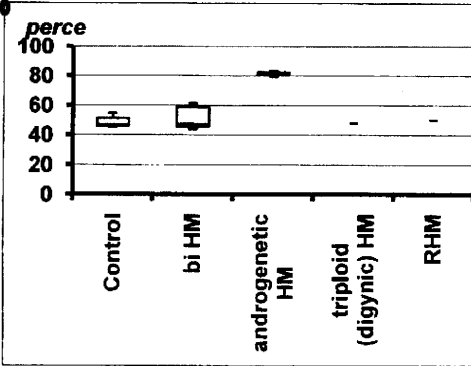
PEG10
P33



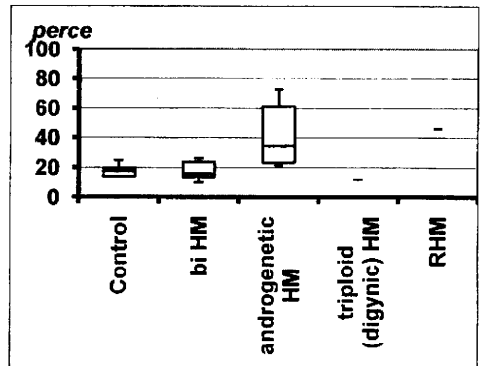
PEG13
P52



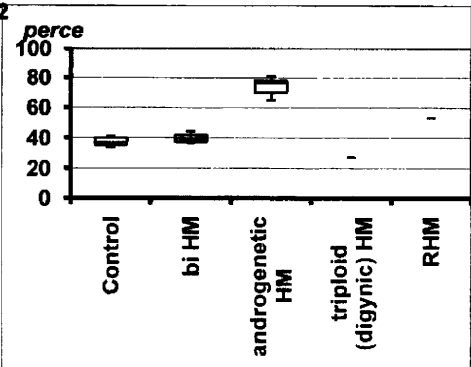
IGF2DMR0
P38



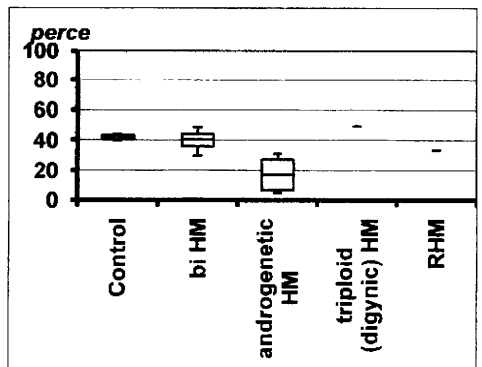
MEG3-
CG7_2
P55



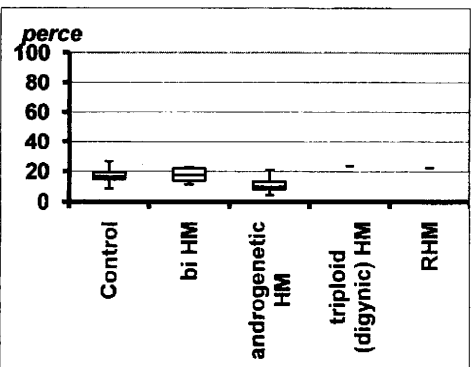
IGF2DMR2
P39



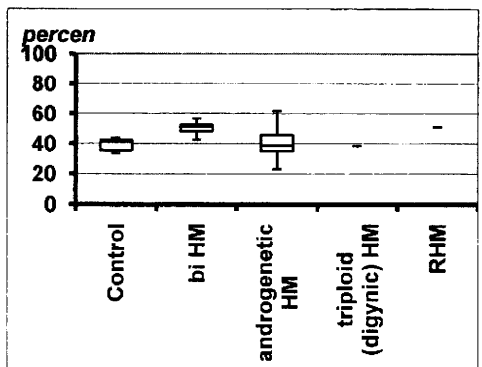
FAM50B
P58



PEG1-T3
P41



RB1
P59



BioCOBRAの結果

Primer sets	Regions	Control (n=11)	bi HM (n=8)	androgenetic HM (n=9)	triploid HM (digynic) (n=1)	RHM (n=1)	Non-repeated measures ANOVA
P1	H19-DMR	28.1	29.0	94.4	31.4	30.2	significant
P1_2nd	H19-DMR	27.5	30.0	93.9	22.1	30.3	significant
P2	Syneytin	25.6	18.3	18.9	9.0	79.9	significant
P2_2nd	Syneytin	33.0	24.6	27.2	14.4	89.2	significant
P3	PEG1	42.8	44.6	2.5	40.5	34.1	significant
P4	LIT1	37.6	39.2	0.8	33.8	25.4	significant
P5	ZAC	47.8	43.6	4.4	45.3	42.1	significant
P6	PEG3	35.4	33.3	2.5	35.0	31.3	significant
P7	SNRPN	25.2	25.2	4.8	22.4	22.0	significant
P8	LINE	31.3	31.7	31.5	37.8	48.1	significant
P10	NESPAS-GNASXL	25.0	23.4	5.5	12.6	31.5	significant
P11	GNAS 1A	16.0	14.3	1.6	11.4	26.9	significant
P13	NAP1L5	42.4	38.7	2.5	43.3	35.2	significant
P14	ARHI-CG3	33.2	29.8	1.2	27.5	41.1	significant
P17	NNAT	81.4	81.8	81.8	89.9	75.9	no significant
P19	XIST	60.7	66.4	53.1	79.5	47.0	no significant
P21	IG-DMR-CG6	64.8	73.9	85.0	73.7	55.7	significant
P22	GRB10-DMR	35.4	37.5	3.2	35.3	24.8	significant
P23	MCTS2-CG	39.1	37.5	2.3	35.6	32.3	significant
P24	H19-Promoter	53.4	55.5	97.4	54.7	55.5	significant
P25	L3MBTL-CpG3	28.1	28.6	0.6	29.7	24.0	significant
P26	INPP5F-V2	18.7	19.1	6.9	18.2	45.8	significant
P27	NESP55	62.9	70.5	95.2	83.5	52.3	significant
P31	IG-DMR-CpG4	53.0	52.8	91.2	52.7	56.0	significant
P33	PEG10	52.2	52.4	3.0	50.0	42.8	significant
P38	IGF2DMR0	49.2	50.9	81.5	47.6	50.0	significant
P39	IGF2DMR2	37.6	40.1	73.7	27.3	53.4	significant
P41	PEG1-T3	18.1	17.4	11.5	23.7	22.5	no significant
P52	PEG13	33.8	35.3	5.4	35.9	31.9	significant
P55	MEG3-CG7.2	17.8	17.9	42.3	12.0	45.8	significant
P58	FAM50B	42.0	39.9	17.5	49.5	33.6	significant
P59	RB1	39.3	50.2	40.7	38.5	51.1	no significant

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

反復胞状奇胎症例の実態調査と臨床情報の収集解析
反復胞状奇胎症例の収集と奇胎の免疫組織学的解析

分担研究者

井篁一彦	和歌山県立医科大学産科婦人科学	教授
齋藤滋	富山大学大学院医学薬学研究部産科婦人科学	教授
生水真紀夫	千葉大学大学院生殖機能病態学	教授
杉浦真弓	名古屋市立大学大学院医学研究科産科婦人科	教授
和氣徳夫	九州大学大学院生殖病態生理学	教授
諸隈誠一	九州大学病院産科婦人科	特任准教授

研究要旨

従来胞状奇胎は、絨毛ののう胞化という病理形態学的な観点から診断がなされてきた。近年、絨毛細胞の発生に関与する分子メカニズムが明らかになりつつあり、父親由来ゲノムが絨毛細胞の発生・増殖・分化に必須であるというゲノムインプリンティングの観点から、父親由来ゲノム量とトロホプラスト過形成の関連を説明する事が可能となった。これらのゲノムインプリンティング研究の成果を踏まえ、海外ではトロホプラスト過形成を考慮した鑑別診断が行われている。本邦の絨毛性疾患取り扱い規約に基づく？胞化絨毛の診断は、全胞状奇胎では正診率が高いが、部分胞状奇胎、顕微鏡的奇胎では低く、多くの雄核発生全胞状奇胎が部分胞状奇胎あるいは顕微鏡的奇胎と診断され、全胞状奇胎娩出後の治療プロトコールを利用されることなく経過観察されている。現行の絨毛性疾患取り扱い規約は、絨毛ののう胞化に焦点を絞っている為上記の様な限界があり、新たな診断基準の確立と管理法の検証は喫緊の課題である。反復胞状奇胎は、組織形態学的に全胞状奇胎と区別ができない為、当然全胞状奇胎と同様の取り扱いを成されていると予想される。そこで本研究では、関連施設および関連学会等へ反復胞状奇胎疑い症例の照会を行うと共に、胞状奇胎の分子遺伝学的な特徴に着目し、発現の変化する特異的遺伝子マーカーを利用し、新たな分類・診断法開発に資する知見を得ることを目的とする。

A. 研究目的

全胞状奇胎は、胎盤の主要な構成要素である絨毛の選択的増殖とのう胞化等の形態的特徴を有する一方、胎児成分の欠除を特徴とする異常妊娠である。10-20%の全胞状奇胎は、絨毛癌を含

む続発症を発生する。本邦ではこれまで、全胞状奇胎娩出後、適切な一次及び二次管理が実施されて来た事が一因となり、絨毛癌の発生は減少し、絨毛性疾患寛解率も著明に改善してきた。

全胞状奇胎は、ゲノム欠損卵に1精子或いは2精子受精し、発生が進行する

雄核発生を起源とする。このため、父親由来ゲノムのみの選択的継承が遺伝的な特徴である。部分胞状奇胎は、一部の絨毛がのう胞化を呈し、2精子受精の3倍体を発生母地とする。また、短径が2mm以内ののう胞化を示す顕微鏡的奇胎は、流産絨毛であるため正常2倍体を起源とするとされる。いずれも絨毛ののう胞化という形態的類似性を示すが、これらの異常妊娠の鑑別は、続発症の早期発見のための一次管理といった、過不足の無い適切な管理を実施する上で、極めて重要である。解像力の高い超音波断層装置が普及し、のう胞化絨毛を妊娠初期に見つける事が可能となった事により、全ての絨毛がのう胞化を示すに至るまで病像が進行する機会が失われ、その結果として典型的な全胞状奇胎が見掛け上減少すると共に、部分胞状奇胎あるいは顕微鏡的奇胎と鑑別困難な症例が相対的に比率を増している事が予想される。このような異常発生絨毛には、分子遺伝学的な診断法が有効である。反復胞状奇胎妊娠は、組織形態学的に通常の全胞状奇胎と同一であるが、正常2倍体であると同時に、DNAメチル化の異常を伴う事から、ゲノムインプリンティングは通常の全胞状奇胎と同様に失われていると予測され、同じく分子遺伝学的な診断法が有用であると考えられる。

本研究では、反復胞状奇胎疑い症例およびのう胞化絨毛を収集し、多型マーカーを用いたゲノム診断による発生起源の同定、ゲノムインプリンティングの破綻に伴い発現の変化する特異的遺伝子産物に対する抗体を用いた免疫組織診断を行い、反復胞状奇胎を含むのう胞化絨毛の確定診断法を確立することを目的とする。

B. 研究方法

1) 検体と臨床情報の収集

症例照会により反復胞状奇胎候補症例が見出されたら、患者の末梢血を抗凝固剤入りの採血管で5ml採取し、末梢血リンパ球からゲノムDNAを回収する。奇胎組織は、固定標本が保存されていれば、標本からゲノムDNAを回収する。検体収集と併せて、詳細な臨床情報（特に妊娠分娩歴、家族歴、治療経過）を収集する。すべての情報は、連結可能匿名化を行い、個人情報厳密かつ適正に扱う。

2) 胞状奇胎組織の分子遺伝学的解析

収集された検体は連結可能匿名化を行い、2.1) ゲノム診断 2.2) TSSC3免疫組織染色、2.3) 臨床病理学的診断、を実施する。

2.1) ゲノム診断

絨毛及び患者血液からDNAを抽出する。PCRによるDNA増幅後8つのDNA多型マーカー(CSFIPO, TPOX, TH01, vWA, D16s539, D13S317, Amelogenin)を解析し、その比較から雄核発生、二精子受精三倍体、正常二倍体(父母ゲノム二倍体)、に分類する。

2.2) TSSC3抗体免疫組織染色

ヒトTSSC3抗体を用い、症例絨毛から作製した標本の免疫組織染色を行い、TSSC3染色性の有無(TSSC3タンパク質の有無)を診断する。

2.3) 臨床病理学的診断

症例絨毛からヘマトキシリンエオジ

ン染色病理標本を作成し、トロホプラスト過形成の程度、のう胞化絨毛の有無、間質血管と胎児赤血球の有無、間質内デブリスの有無、scalloping、などの所見を詳細に解析し、代表的病理所見を網羅的に取得する。

以上のゲノム診断結果、TSSC3 組織染色結果、病理診断結果及び現行の日本絨毛性疾患取り扱い規約に基づく所見を比較対照する。これにより、ゲノム診断結果と比較することにより現状の日本絨毛性疾患取り扱い規約に基づいた診断の精度が明らかとなり、また、より簡便かつ廉価な確定診断法として、TSSC3 や p57^{KiP2} 免疫組織染色などの有用性の評価が可能となる。これらの知見に基づき、改めて反復胞状奇胎症例の臨床病理学的特徴を抽出し、確定診断基準の作成に役立てる。

C. 研究結果

本年度は、当初の研究計画通り、分担の和氣が全国75の大学医学部産婦人科講座に、過去の反復胞状奇胎疑い症例の有無を問い合わせた。37施設から回答が得られ、これらの施設の過去10年間の胞状奇胎症例数は合計925症例あり、そのうち、反復して胞状奇胎を発症したのは8例であった。

また、分担研究者らを介し、日本絨毛性疾患研究会の協力を得て、全国の絨毛性疾患の専門家に広く情報提供を呼び掛けている。今後も検体収集協力は継続し、全国から情報と検体を収集する。

症例の照会と並行し、当初の研究

計画通り、対照症例となる胞状奇胎の既往の無い経産婦末梢血を50例以上、人工妊娠中絶例の絨毛を15例、雄核発生の胞状奇胎10例を収集した。また、富山大学から反復胞状奇胎症例を1例、九州大学から反復胞状奇胎症例を1例、正常二倍体の顕微鏡的胞状奇胎症例を7例収集した。また、本分担研究班の照会活動により、研究班外の2医療機関の協力を得て、合計2例の反復胞状奇胎症例検体を収集することができた。

D. 考察

絨毛の形態異常を妊娠初期に診断することが可能となり、早期に妊娠終結に至る症例が増加した。その結果、全胞状奇胎や部分胞状奇胎、さらには顕微鏡的胞状奇胎が、典型的な胞状奇胎の形態的特徴を示すよりも早い時期に娩出されている可能性が推測される。雄核発生の全胞状奇胎は高率に絨毛癌等を続発するが、他ののう胞化絨毛では、絨毛癌等の続発は極めて稀であり、のう胞化絨毛娩出後の管理も異なる。しかし上述のように現状では、雄核発生の全胞状奇胎と同じ発生起源であっても、組織形態学的な所見から全胞状奇胎と診断されずに管理されている症例が多数存在していると推測され、近い将来の絨毛癌増加が懸念される。このように、のう胞化絨毛を、分子遺伝学的発生起源に基づいて鑑別診断する事が重要であるが、DNA多型マーカー等を用いたゲノム診断は、精度は高いがコストも高く、手技が煩雑である。また、研究代表者秦らの行っている、候補症例のエピゲノム異常の同定は、

病態の解明には重要な情報であるが、ゲノム診断と同様にコストが高く、日常臨床でのスクリーニングには必ずしも適さない。

そこで、胞状奇胎を特徴づけるゲノムインプリンティングの破綻を反映する遺伝子（タンパク質）発現の乱れを、免疫組織染色法を用いて検出する手法を確立する。新たなのう胞化絨毛の確定診断法を確立すれば、絨毛性疾患の発生予防になるのみならず、のう胞化絨毛の臨床病理学を確立する礎になる。現状の取り扱い規約は絨毛ののう胞化に焦点をあて、診断の根拠としている。しかし父親由来ゲノム量がトロホブラスト過形成を招来するというゲノムインプリンティングの、初期発生の関与を考えれば、のう胞化絨毛よりトロホブラスト過形成に焦点を当てた臨床病理学的診断法の有効性が示唆される。本研究においてゲノム診断により雄核発生・全奇胎と診断されたのう胞化絨毛の詳細な病理学的所見の解析は、新たな取り扱い規約作製の基盤となり、国民の保健・医療・福祉の向上に大きく貢献する事が期待できる。

E. 結論

我々の施設で経過観察中の症例、あるいは施設症例を遡って検討し、反復胞状奇胎疑い症例、あるいはその関連疾患と推定される症例が捕捉された。また、全国に反復胞状奇胎疑い症例の照会を行い、新たに2例の疑い症例を得た。現在これらの症例の分子遺伝学的な解析を行っており、その結果と併せ、絨毛特異的発現遺伝子産物に対する抗体を用いた組織免疫染色では、明瞭に正常二倍体絨毛と雄核発生絨毛組織を

染め分ける事で、今後、免疫染色法による簡便なスクリーニング法としての応用を検討する。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
秦健一郎	胎児発育とゲノムインプリンティング	HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY	17	43-48	2010

HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY

別刷

(株)メディカルレビュー社

特集
エピジェネティクス/ゲノムインプリンティング

胎児発育とゲノムインプリンティング

秦 健一郎

Summary

遺伝子に親の由来情報が刷り込まれ、片親由来の遺伝子のみが発現するゲノムインプリンティングは、哺乳類の発生に必須の遺伝子発現補正機構である。ゲノムインプリンティングが破綻すると、胎児や胎盤の発生・分化・発育に異常をきたすことが、特殊な先天奇形症候群の病因・病態やモデル動物の解析から明らかにされている。実際にヒトのFGR (IUGR)でも一部の症例がゲノムインプリンティング異常を伴っていることが示されつつあり、今後さらなる解析と、新たな病因・病態の解明が待たれる。

はじめに

ヒトの特殊な先天奇形症候群の病因・病態やモデル動物の解析から、胎児発育にゲノムインプリンティングが密接に関わっていることが明らかになってきた。本稿では、ヒトの胎児発育異常の病因や病態となりうるゲノムインプリンティングの背景、モデル動物や症例の解析結果について概説する。

ゲノムインプリンティングと 個体発生

1. モデル動物によるゲノムインプリンティングの解析

1980年代に、受精後の前核を移植するなどの発生工学的手法を用いた研究により、マウスの雄核発生胚(父由来ゲノムのみをもつ二倍体)や雌性発生胚(母由来ゲノムのみをもつ二倍体)の詳細な解析が行われた。その結果、正常な発生には両親のゲノムが必要であることが明確に示された^{1)~4)}。また、巧妙な遺伝学的手法によりさまざまな染色体(染色体の一部)の片親性ダイソミーが作製され、両親由来のゲノムが必要とされる染色体領域に関する重要な知見が得られた⁵⁾。マウスで父由来ゲノム二倍体胚を作製すると、過剰に発育した胚体外組織と痕跡的な胚体組織が形成される。逆に母由来ゲノム二倍体胚を作製すると、胚体組織と比して胚体外組織の発育が特に不良となり、い

Key words

ゲノムインプリンティング●胎盤

FGR●IUGR

DNA メチル化●母性行動

Kenichiro Hata

独立行政法人国立成育医療研究センター研究所
周産期病態研究部部長

ずれも妊娠初期から中期で致死となる(図1)。これらの異常胚では図1中央のモデル図にあるように、ゲノムインプリンティングの破綻が起こっており、片親性発現する遺伝子群の発現の乱れが正反対のパターンとなっていることを考えると、父由来ゲノム二倍体胚と母由来ゲノム二倍体胚が互いに、正反対の分化傾向を呈することが理解できる(ゲノムインプリンティングの分子機構の詳細は他稿を参照されたい)。

2. ヒトのゲノムインプリンティング異常例

ヒトでも同様に、片親由来の染色体のみをもつ疾患は特徴的な組織分化を示す(図1写真の全胞状奇胎と卵巣奇形腫)。

全胞状奇胎は、父(精子)由来のゲノムのみをも

つヒト雄核発生胚である。胎児成分を含まず、絨毛間質の水腫化・液状化と絨毛細胞の過形成を特徴とする。その逆に卵巣奇形腫は、母由来のゲノムのみをもつ単為発生胚(雌性発生胚)であり、胎児を構成する三胚葉すべての組織に分化するが、絨毛成分は全く含まない。

一方、一部のゲノム領域でのみインプリンティングに異常をきたした場合、先天奇形症候群を発症することが知られている。たとえば、Silver-Russell 症候群の一部は、インプリンティング遺伝子 *H19* 領域の低 DNA メチル化状態を伴い、*FGR* (IUGR) が必発である⁶⁾。その逆に Beckwith-Wiedemann 症候群の一部は、同じ *H19* 領域が高メチル化状態となり、児は過形成・過成長を呈する⁷⁾。これらの2つの症候群は同じインプリン

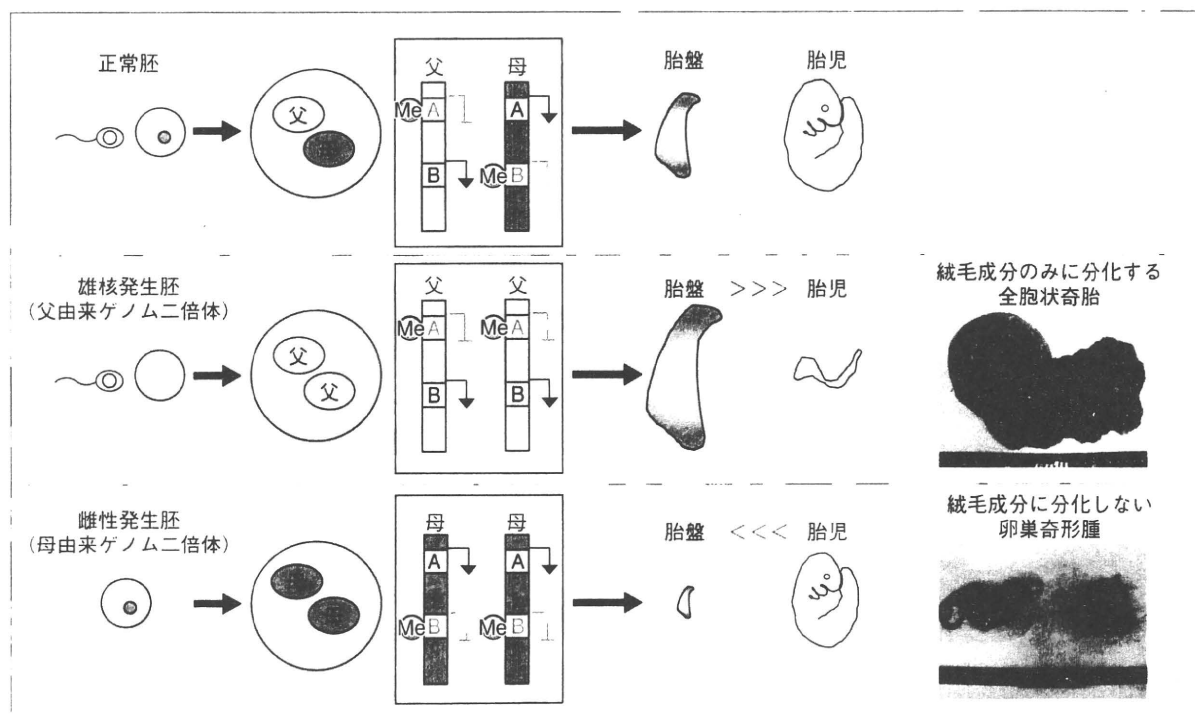


図1 ゲノムインプリンティングの破綻と発生異常

DNA メチル化の位置(Me)が父由来ゲノム二倍体胚と母由来ゲノム二倍体胚で正反対なため、インプリンティング遺伝子の発現状態も親の由来によって正反対になり、厳密な片親性発現が保たれる。

ティング領域の異常であるが、遺伝子発現パターンの乱れが正反対になるため症状も正反対になる、という因果関係がみてとれる。

以上の事実は、ヒトでも正常な発生には父母由来のゲノム双方が必要であり、ゲノムインプリンティングが実際にヒト胎児発育に関与していることを示す。

3. 胎盤の発生とゲノムインプリンティング

胎盤発生におけるエピジェネティクスの詳細は他稿に譲るが、筆者らは、ゲノムインプリンティングが特異的に破綻しているモデルマウスを作製し、これらが胎盤形成の異常を呈することを示した⁸⁾⁹⁾。最近、このモデルマウスと非常に似通ったゲノムインプリンティング異常を伴う、奇妙なヒト絨毛発生異常が同定された。

前述のように、通常の全胎状奇胎は雄核発生であり父親の染色体のみを有する。ところが全胎状奇胎を何度も繰り返す症例の異常絨毛を分子遺伝学的に解析すると、両親由来の染色体を有する一見正常な二倍体であることが判明し、いかなる病因・病態が存在するのか注目を集めた。その後の詳細な解析により、このような反復全胎状奇胎組織は正常な二倍体ではあるものの、インプリンティング遺伝子の発現制御に必要なDNAメチル化を系統的に失っていることが示された¹⁰⁾。また、家系例の連鎖解析により原因遺伝子¹¹⁾が同定された。これらの状況証拠から、原因遺伝子にホモ変異をもつ母親の卵子にゲノムインプリンティング異常の起源があると考えられる。この異常卵子は正常に受精するにもかかわらず、雄核発生胚と同様の異常なインプリンティング遺伝子発現パターンを呈するため全胎状奇胎を発症すると予想されるが、詳細は今後のさらなる解析が待たれる。

ちなみに、被子植物の胚に栄養を与える胚乳と呼ばれる器官(たとえば玄米から胚を除いた白米

が胚乳に相当する)は、哺乳類でいえば胎盤に相当する機能を有するが、胚乳組織にはゲノムインプリンティングが認められる。生物種を超えて胚に栄養を与える器官に類似の遺伝子発現補正機構が存在することは非常に興味深く、ゲノムインプリンティングの起源について重要な示唆を与えてくれる¹²⁾。

FGR (IUGR) 症例の ゲノムインプリンティング異常

これまで例に挙げたように、ゲノムインプリンティングにより発症する先天奇形症候群や、インプリンティング遺伝子の変異マウスモデル(表1)¹³⁾は、胎児発育のみならずさまざまな発生異常を伴っている。それでは産科の日常診療で稀ならず遭遇する、明らかな合併症や先天異常を伴わない胎児発育異常症例には、ゲノムインプリンティング異常が存在するのであろうか。最近このような観点からFGR (IUGR) 症例の解析を行った研究がいくつか報告された。

Guoらは、small for gestational age (SGA) の24症例の胎盤を解析し、1例でインプリンティング遺伝子 *H19* プロモーター領域が低DNAメチル化状態になっており、これに伴って発現状態の乱れ(本来 *H19* 遺伝子は母由来だけが発現するが、父由来 *H19* 遺伝子も発現している状態)が起こっていることを見出した¹⁴⁾。Bourqueらは13例のFGR (IUGR) 症例の胎盤を解析し、*H19* 遺伝子を制御するメチル化可変領域(differentially methylated region; DMR) 1と呼ばれる領域が有意に低DNAメチル化状態になっていることを報告した¹⁵⁾。McMinnらはFGR (IUGR) 38症例の胎盤を用い、特定の遺伝子発現比率の解析あるいは14症例の網羅的遺伝子発現解析を行い、疾患群の胎盤では健常群の胎盤と比較し、インプリンティング遺伝子群の発現に変動があると報告した¹⁶⁾。

筆者らも現在、「胎児や胎盤の発生分化・発育異常を呈する異常妊娠には、未知のゲノムインプリンティング異常、DNAメチル化異常などのエピジェネティクス異常を伴う症例が存在する」と

いう仮説のもとに研究を進めており、ヒトインプリンティング遺伝子の発現制御に関与するゲノム領域のDNAメチル化状態を網羅的かつ効率的に定量評価する解析系を独自に確立した。この独自

表1 主なゲノムインプリンティングが胎児と胎盤の発生分化に与える影響

遺伝子名	発現由来	変異マウスの表現型	参考文献
<i>Asc12</i>	母	growth restriction absence of spongiotrophoblast reduced labyrinth thickened giant cell layer	Guillemot F, et al : Nature 371 : 333-336, 1994
<i>Igf2</i>	父	growth restriction	Liu JP, et al : Cell 75 : 59-72, 1993 Baker J, et al : Cell 75 : 73-82, 1993
<i>Igf2P0</i>	父	growth restriction reduced transfer function	Constancia M, et al : Nature 417 : 945-948, 2002
<i>H19</i>	母	overgrowth	Eggenchwiler J, et al : Genes Dev 11 : 3128-3142, 1997
<i>Igf2r</i>	母	overgrowth	Eggenchwiler J, et al : Genes Dev 11 : 3128-3142, 1997
<i>Mest/Peg1</i>	父	growth restriction Abnormal maternal behavior	Lefebvre L, et al : Nat Genet 20 : 163-169, 1998
<i>Cdkn1c</i>	母	overgrowth labyrinth and spongiotrophoblast expansion	Takahashi K, et al : Mol Hum Reprod 6 : 1019-1025, 2000
<i>Slc22a3</i>	母	reduced transfer function	Zwart R, et al : Mol Cell Biol 21 : 4188-4196, 2001
<i>Phlda2</i>	母	overgrowth spongiotrophoblast expansion	Frank D, et al : Proc Natl Acad Sci U S A 99 : 7490-7495, 2002
<i>Grb10</i>	母	overgrowth	Charalambous M, et al : Proc Natl Acad Sci U S A 100 : 8292-8297, 2003
<i>Peg3</i>	父	growth restriction abnormal maternal behavior	Li L, et al : Science 284 : 330-333, 1999
<i>Peg10</i>	父	growth restriction abnormal placentation	Ono R, et al : Nat Genet 38 : 101-106, 2006
<i>Peg11</i>	父	growth restriction abnormal placentation	Sekita Y, et al : Nat Genet 40 : 243-248, 2008

Asc12: achaete-scute complex homolog 2, *Igf2*: insulin-like growth factor 2, *Mest*: mesoderm specific transcript, *Peg*: paternally expressed gene, *Cdkn1c*: cyclin-dependent kinase inhibitor 1c, *Slc22a3*: solute carrier family 22 member 3, *Phlda2*: pleckstrin homology-like domain family a member 2, *Grb10*: growth factor receptor-bound protein 10

(文献13)より引用・改変)

の解析系を用い、FGR (IUGR) と診断された症例の臍帯血および胎盤組織の DNA メチル化状態を網羅的に解析したところ、100余の症例中2症例の胎盤で、*H19* 遺伝子領域の低 DNA メチル化異常が同定され、実際にゲノムインプリンティングが乱れていることが同定された(中林ら未発表データ)。

いずれの報告も、おおむね互いに矛盾のない解析結果が得られており、一部の FGR (IUGR) 症例には実際にゲノムインプリンティング異常が存在することを強力に示唆していると考えられ、今後のさらなる詳細な解析が期待される。

母性行動と ゲノムインプリンティング

母性行動は胎児発育と直接の関係はないものの、当然児の発育・発達に深く関与する。*Peg3* 遺伝子は、大脳皮質・内側視索前野・視床下部傍室核・扁桃体・分界条床核といった母性行動と深く関与する領域に強く発現しているインプリンティング遺伝子で、父由来の *Peg3* 遺伝子が発現する。父由来の *Peg3* 遺伝子に変異をもつ雌は、遺伝子型はヘテロでも機能はホモ変異と同等になる。父由来 *Peg3* 遺伝子変異雌は妊娠・分娩に異常がなかったものの、正常な養育行動ができなかった。変異マウスの脳を詳しく調べると、視床下部傍室核や視索上核のオキシトシン陽性細胞が減少しており、養育行動異常の一因であることが示唆された¹⁷⁾。ちなみにオキシトシンは、ヒトでも信頼感といった社会行動と関係する感情に影響することが示されている¹⁸⁾。同様に父由来発現するインプリンティング遺伝子 *Peg1/Mest* も、中枢神経(前脳・視床下部・扁桃体・海馬・嗅球)で強く発現しているが、父由来の *Peg1/Mest* 遺伝子に変異をもつ雌のヘテロ変異マウスは、分娩前の巣作りや胎盤を食べるといった正常な母性行動

を行わなくなる¹⁹⁾。

これらの現象の詳細な分子メカニズムは不明であるが、他の生物種、たとえばヒトにも同様の仕組みがあり母性行動に関与するのであろうか。今後の解析が大変興味深い。

おわりに

本稿では、児の発育という観点からゲノムインプリンティングを概説した。ゲノムインプリンティングは胎盤と胎児の発生・分化・発育に関与するのみならず、母性行動にまで影響する。また諸家の報告およびわれわれ独自のデータからも示唆されるように、胎盤のみのゲノムインプリンティング異常でも、ヒトの胎児発育異常が発症しうると考えられる。エピジェネティックな情報の偶発的変異率は不明であるが、おそらく遺伝子配列の変異率よりも低くはないと予想され、胎児や胎盤の発生・発育異常をきたす症例の中に未知のインプリンティング異常症が存在する可能性について、今後さらなる検証が必要である。

文献

- 1) McGrath J, Solter D: Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* **37**: 179-183, 1984
- 2) Surani MA, Barton SC: Development of gynogenetic eggs in the mouse; implications for parthenogenetic embryos. *Science* **222**: 1034-1036, 1983
- 3) Surani MA, Barton SC, Norris ML: Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* **308**: 548-550, 1984
- 4) Surani MA, Barton SC, Norris ML: Nuclear transplantation in the mouse; heritable differences between parental genomes after activation of the embryonic genome. *Cell* **45**: 127-136, 1986

- 5) Cattanach BM, Kirk M : Differential activity of maternally and paternally derived chromosome regions in mice. *Nature* **315** : 496-498, 1985
- 6) Eggermann T, Begemann M, Binder G, et al : Silver-Russell syndrome ; genetic basis and molecular genetic testing. *Orphanet J Rare Dis* **5** : 19, 2010
- 7) Catchpoole D, Lam WW, Valler D, et al : Epigenetic modification and uniparental inheritance of H19 in Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet* **34** : 353-359, 1997
- 8) Arima T, Hata K, Tanaka S, et al : Loss of the maternal imprint in Dnmt3Lmat^{-/-} mice leads to a differentiation defect in the extraembryonic tissue. *Dev Biol* **297** : 361-373, 2006
- 9) Arnaud P, Hata K, Kaneda M, et al : Stochastic imprinting in the progeny of Dnmt3L^{-/-} females. *Hum Mol Genet* **15** : 589-598, 2006
- 10) Judson H, Hayward BE, Sheridan E, et al : A global disorder of imprinting in the human female germ line. *Nature* **416** : 539-542, 2002
- 11) Murdoch S, Djuric U, Mazhar B, et al : Mutations in NALP7 cause recurrent hydatidiform moles and reproductive wastage in humans. *Nat Genet* **38** : 300-302, 2006
- 12) 池田陽子, 木下 哲 : ゲノムインプリンティング. 細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ 24 ; 植物のエピジェネティクス—発生分化, 環境適応, 進化を制御する DNA とクロマチンの修飾—, 島本 功, 飯田 滋, 角谷徹仁, 東京, 学研メディカル秀潤社, 129-135, 2008
- 13) Smith FM, Garfield AS, Ward A : Regulation of growth and metabolism by imprinted genes. *Cytogenet Genome Res* **113** : 279-291, 2006
- 14) Guo L, Choufani S, Ferreira J, et al : Altered gene expression and methylation of the human chromosome 11 imprinted region in small for gestational age(SGA) placentae. *Dev Biol* **320** : 79-91, 2008
- 15) Bourque DK, Avila L, Peñaherrera M, et al : Decreased placental methylation at the H19/IGF2 imprinting control region is associated with normotensive intrauterine growth restriction but not preeclampsia. *Placenta* **31** : 197-202, 2010
- 16) McMinn J, Wei M, Schupf N, et al : Unbalanced placental expression of imprinted genes in human intrauterine growth restriction. *Placenta* **27** : 540-549, 2006
- 17) Li L, Keverne EB, Aparicio SA, et al : Regulation of maternal behavior and offspring growth by paternally expressed Peg3. *Science* **284** : 330-333, 1999
- 18) Kosfeld M, Heinrichs M, Zak PJ, et al : Oxytocin increases trust in humans. *Nature* **435** : 673-676, 2005
- 19) Lefebvre L, Viville S, Barton SC, et al : Abnormal maternal behaviour and growth retardation associated with loss of the imprinted gene Mest. *Nat Genet* **20** : 163-169, 1998

