

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：2020B-21

課題名：正常胎児発育に寄与する胎盤エピトランスクリプトーム制御機構の解明

主任研究者 (所属施設) 成育医療研究センター
(所属・職名 氏名) 周産期病態研究部胎児発育研究室・室長 河合智子

(研究成果の要約) 本研究は、正常な胎盤増殖と胎児発育の向上に関与する遺伝子の同定とその機能調節について解明することを目的とする。遺伝子の機能活性化は、転写、転写後調節、翻訳、翻訳後修飾、などの様々な段階で調節されている。我々はその中でも、転写後調節に位置するエピトランスクリプトームに注目し、胎児発育に及ぼす胎盤の遺伝子機能制御を解明することを目的とした。その結果、これまでのトランスクリプトーム解析では、気づかれていなかった遺伝子が、転写後の化学修飾変化により、遺伝子が機能するための最終的な分子であるタンパク質量を変化させていることを明らかにした。本研究結果により明らかにされた、妊娠高血圧腎症の胎盤でエピトランスクリプトーム制御の標的となっていた遺伝子群の中には未注目であった遺伝子も含まれており、妊娠高血圧腎症のさらなる病態解明において、その機能に注目すべき遺伝子群の候補を選出することに成功した。

1. 研究目的

正常な胎盤増殖と胎児発育の向上に関与する遺伝子の同定とその機能調節について解明することを目的とする。遺伝子の機能活性化は、転写、転写後調節、翻訳、翻訳後修飾、などの様々な段階で調節されている。我々はその中でも、転写後調節に位置するエピトランスクリプトームに注目し、子宮内栄養環境が胎盤の遺伝子の機能活性化に及ぼす機構を明らかにし、胎児発育に及ぼす影響を解明することを目的とした。

2. 研究組織

研究者	所属施設
河合 智子	成育医療研究センター
谷口 公介	成育医療研究センター

3. 研究成果

エピトランスクリプトームとは、トランスクリプトームワイドな RNA の転写後化学修飾をさす。化学修飾により RNA は構造を変え、機能変化をもたらす。RNA の化学修飾の中でも、mRNA のアデノシンのメチル化 (m6A) による mRNA の安定性の変化、翻訳効率の変化が近年明らかにされてきている。哺乳類の約 3 分の 1 の遺伝子で m6A は同定されており、1 遺伝子の mRNA あたり平均して 3 から 5 カ所のアデノシンで m6A が検出

されている。本研究では、妊娠合併症を認めない正常出生体重の児の胎盤と代表的な妊娠合併症である妊娠高血圧腎症が原因で正常より小さく生まれた児の胎盤のエピトランスクリプトームを比較した。妊娠高血圧腎症 (Preeclampsia:PE) は妊娠初期の胎盤形成異常に端を発した妊娠特有の全身性疾患である。

1) ヒト胎盤では、5' UTR 領域の m6A 量に個体差がみられやすいことを明らかにした。正常と PE の胎盤を比較した結果、69 の遺伝子で mRNA 量に有意差はないが 5' UTR の m6A 量が PE で増加していることを認めた。これまで未報告であったヒト PE 胎盤のエピトランスクリプトームを初めて明らかにした。

2) 上記の 69 遺伝子の内、セラミド合成経路に位置する酵素 *sphingomyelin phosphodiesterase 1* : *SMPD1* 遺伝子に注目した。セラミドは細胞シグナルを変化させ、細胞死や線維化に関与していることが示唆されている。*SMPD1* の mRNA 量は、正常と PE の胎盤で有意差は認められなかったが、5' UTR の m6A 量は PE 胎盤で有意に増加していた。さらに、*SMPD1* のタンパク質量は、明らかに PE 胎盤で増加していた。そこで、

SMPD1 の 5' UTR 内の m6A 修飾の標的と考えられるアデノシンをウリジンに変換した 5' UTR mRNA をレポーター遺伝子であるルシフェラーゼ遺伝子上流に付与し、ルシフェラーゼ活性を測定した。その結果、合成 mRNA の発現量は野生型と有意差はなかったが、ルシフェラーゼ活性は有意に 5' UTR のアデノシンを変異させたプラスミドで減少していた。つまり、メチル化の標的であるアデノシンの置換によりタンパク質合成の低下、翻訳の低下が認められた。以上の結果より、5' UTR の m6A 修飾が、遺伝子が最終的に機能する分子であるタンパク質を左右し、病態と関連していることを示した。

3) PE 胎盤において、*SMPD1* の 5' UTR mRNA の m6A 修飾が増加した機構を解明するため、PE で増加が報告されている炎症性サイトカイン TGFβ に着目した。胎盤の絨毛に由来したセルラインである JEG3 を TGFβ1 あるいは TGFβ3 で刺激したところ、*SMPD1* の mRNA 量はどちらも非刺激と変わらないことを認めた。一方、*SMPD1* の 5' UTR の m6A 量は、TGFβ3 で刺激した細胞でのみ有意に増加していた。今後さらに、詳細に TGFβ3 シグナルによる遺伝子機能制御、病態との関連を明らかにする予定である。

以上、エピトランスクリプトームに注目した結果、これまでのトランスクリプトーム解析では見逃されていた、妊娠高血圧腎症の胎盤の新たな遺伝子の病態への関与を示すことに成功した。

4. 研究内容の倫理面への配慮

臨床試料(胎盤)の提供者の人権および利益の保護については国立成育医療研究センター倫理委員会で十分議論され承認を得ている(承認番号 476) (「臨床研究に関する倫理指針」に則する)。さらに、研究が進むにあたり「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の定めるヒトゲノム・遺伝子解析を行う必要がある場合でも、同様に施設内倫理委員会で十分議論され勝因を得ている事業(承認番号 640)内の研究計画を遵守し、研究を行う。また、資料提供許諾の差異は上記の倫理委員会で承認を得た同意書

の提供と、同意説明を、十分に妊婦と可能であれば家族に対し行っている。