

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号：2020C-21

課題名：胎児発育不全と子宮発育不全を発症する疾患モデル解析から成育医療への貢献

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター  
(所属・職名 氏名) 分子内分泌研究部・上級研究員 宮戸 真美

(研究成果の要約) ゲノム編集で作製した *GNAS* 機能亢進型バリエント導入モデル動物の表現型解析を行い、マウスでは p.M255V が胎仔と胎盤の発育を乱し、メス特異的に妊孕性を低下させることを明らかにした。p.M255V 導入マウスは、重度の発育不全を呈し、生後の生存率が減少した。生後の生存ヘテロ個体は少なく、生存ホモ個体はほとんど得られなかった。成獣まで生き残ったオスでは、ヘテロおよびホモ個体ともに妊孕性は正常であった。一方、メスではヘテロ個体の妊孕性は正常であったが、ホモ個体は不妊傾向を示した。この妊孕性の低下は、ホモの精子と卵子の形態および受精能力には依存しない可能性が高い。成育疾患に含まれる成長障害および生殖機能障害の発症機序の解明は、優れた成育医療を提供するうえで重要である。

### 1. 研究目的

本研究の目的は、胎児発育不全と不妊に関する分子機序を解明することである。患者で同定された *GNAS* 機能亢進型バリエントを導入したホモマウスが重度の発育不全と雌性不妊傾向を呈することを見いだした。しかし、その分子機序は未解明である。そこで、生殖細胞由来 *GNAS* 機能亢進型 p.M255V バリエントを導入したモデルマウスをもちいた表現型解析を行い、胎生期の発育発達および雌性生殖機能における *GNAS* を介する分子機序を明らかにする。本研究により得られる知見は、成長障害および生殖機能障害の発症機序の解明に貢献する。

### 2. 研究組織

研究者	所属施設
宮戸 真美	国立成育医療研究センター
宮戸 健二	国立成育医療研究センター

### 3. 研究成果

本年度の研究では、ゲノム編集で作製した *GNAS* 機能亢進型バリエント導入モデル動物の表現型の一部を明らかにした。*Gnas* 遺伝子を含む領域にバリエントを導入した複数の系統のマウスが報告されている。しかし、生殖細胞由来バリエントをホモで有するマウスはすべて胎生致死であり、*Gnas* 遺伝子のホモバリエントがマウスの表現型にどのような影響を与えるかは不明であっ

た。本研究により得られた知見は、成長障害および生殖機能障害の発症機序の解明に貢献する。

#### 1) *GNAS* 機能亢進型バリエント p.M255V をヘテロで有するメスマウスの交配実験

p.M255V 導入ヘテロメスマウスについて、妊娠期間、産仔および胎仔の数と遺伝子型を調べた。ほとんどの p.M255V 導入ヘテロマウスは正期産分娩(妊娠 19.5 日)であり、これは野生型マウスと同等の割合であった。また、分娩前日(妊娠 18.5 日)の胎仔数と遺伝子型はメンデルの法則に従っていた。一方、生後の生存ヘテロ個体は少なく、生存ホモ個体はほとんど得られなかった。

#### 2) *GNAS* 機能亢進型バリエント p.M255V が胎生期の発育に与える影響の解析

p.M255V バリエント導入マウスの胎仔と胎盤の形態学的な解析を行った。分娩前日(妊娠 18.5 日)の胎仔と胎盤をサンプリングし、それぞれの重量を測定した。野生型に比べて、ホモの胎仔と胎盤の重量は顕著に減少した。さらに、バリエントの親由来に関わらず、ヘテロの胎仔と胎盤の重量は減少していた。解剖学的な解析の結果、外性器形態から発生ステージの遅れは否定された。

#### 3) *GNAS* 機能亢進型バリエント p.M255V

が生殖機能に与える影響の解析

成獣まで生き残ったオスでは、ヘテロおよびホモ個体はともに正常な妊孕性を有していた。メスではヘテロ個体は正常な妊孕性を有することが明らかになった。しかし、メスのホモ個体は不妊傾向を示した。妊娠した個体の中には、正常産分娩のホモ個体が存在した。

体外受精系をもちいて、p.M255V バリアント導入ホモマウスにおける卵子形態と受精機能解析を行った。抗インヒビン血清をもちいた過排卵処理により卵子を採取した。1匹あたり30個以上の卵子が得られた。また、ホモ卵子の形態に異常は認められなかった。体外でホモ精子と受精させた後に2細胞期まで進んだ胚の数から算出した受精率は約80%であり、これは野生型マウスの卵子と精子の受精率と同等であった。このことから、ホモ卵子の形態および受精能力には異常がないことが明らかになった。

#### 4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究には、遺伝子組換えDNA実験、動物実験が含まれる。本研究を実施するため

に必要な倫理委員会における承認は既に得ている。資料の管理は倫理指針及び倫理委員会の指示に従って適切に行った。

#### 【遺伝子組換えDNA実験】

「カルタヘナ法（遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律）」を厳守して行った。国立成育医療研究センター遺伝子組換え実験安全委員会の講習を受け、承認を受けている（実験計画番号07-7および13-3A）。

#### 【動物実験】

「国立成育医療研究センターにおける動物実験に関する指針」に準拠した。当センター実験動物委員会の講習を受け、承認を受けている（承認番号2007-001, 2014-001）。実験者は管理者と協力し、適切な環境のもと飼育管理を行った。動物愛護と動物福祉の観点から、使用する実験動物数は目的に合致した最小限に留め、麻酔等をもちいて苦痛を与えないように倫理的配慮を行った。