

# 着床前期の胚における放射線に対する防御機構の解明

(受託者) 公立大学法人大阪市立大学

(研究代表者) 吉田佳世 大学院医学研究科

(研究開発期間) 平成22年度～23年度

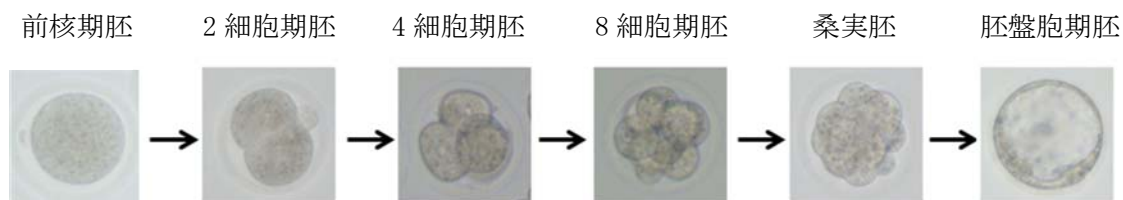
## 1. 研究開発の背景とねらい

本事業では、原子力の安全対策にとって、人体に対する放射線の影響を解析することは重要であり、特に妊婦に対しては、母体のみならず胎児への継世代的な影響の評価が必要であるという考えに基づき、初期胚の中でも特に着床前期の胚における X 線に対する防御機構の解明を目的として実施する。哺乳動物の初期胚では、一部の細胞が放射線などによる損傷を受け修復できない場合、アポトーシスを起こして排除され、他の細胞が排除された細胞の役割を補完するが、アポトーシスで排除されない場合、修復できていない細胞が増殖し奇形胚となると考えられている。このように、損傷を受けた初期胚は、複雑なメカニズムの中で、修復、アポトーシスによる排除、異常発生による奇形という3つの運命を選択することとなる。本事業では、放射線照射したマウスの胚性幹細胞 (ES 細胞) を正常な8細胞期胚に注入し、ES 細胞と胚がどのように変化するかを解析する。またアポトーシスに関連する遺伝子やDNA 修復遺伝子を欠損したマウス ES 細胞を用いて、X 線に対する感受性を比較検討し、初期胚におけるこれらの遺伝子の役割を解析する。

## 2. 研究開発成果

### (1) 初期胚及びES 細胞の放射線感受性の解析

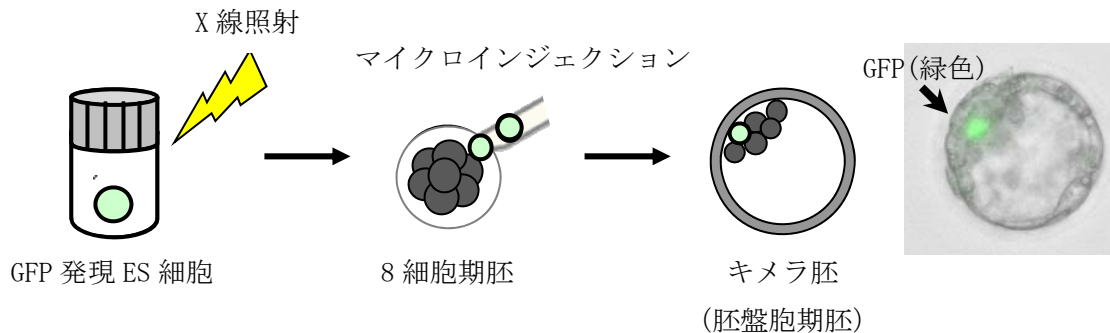
マウス初期胚 (8 細胞期胚、前核期胚) (図-1) に X 線を照射後、胚盤胞期胚までの発生を経時的にタイムラプス顕微鏡で形態の変化を観察した結果、X 線の線量の増加に伴い、正常発生率は低下し、異常発生率、死亡率が増加した。8 細胞期胚よりも早期で1つの細胞で構成されている前核期胚では、8 細胞期胚に比べ低線量でも死亡率が増加したことから、受精直後の胚への放射線の影響が大きいと考えられる。複数の細胞の集合体である8細胞期胚では、X 線の線量により異常の程度が異なることから、細胞同士の連携や細胞の代替により生き延びることができると示唆される。



(図-1) 着床前期胚の発生

また、マウスの受精卵より ES 細胞を樹立し、初期胚由来の細胞と区別するために GFP 発現ベクターを導入した。GFP を発現している ES 細胞に X 線を照射し、マウス初期胚 (8 細胞期胚) にマ

マイクロインジェクションしたキメラ胚 (図-2) について、ES 細胞への X 線照射の影響が胚発生にどのように影響するかタイムラプス顕微鏡を用いて経時的に観察した結果、正常発生率がわずかに低下した。初期胚に直接 X 線を照射した場合に比べ、X 線に対する感受性が低下したことから、ES 細胞への X 線の影響は、導入先の胚細胞全てに影響するわけではなく、胚の細胞が発生を補い、相互に影響していることが示唆される。



(図-2) X 線照射した ES 細胞の初期胚への導入

#### (2) 放射線照射した ES 細胞の初期胚への影響の解析

GFP を発現している ES 細胞に X 線を照射し、マウス初期胚 (8 細胞期胚) にマイクロインジェクションしたキメラ胚のうち、異常な胚がアポトーシスを起こしているのかをキットを用いて解析した結果、異常な胚や死亡した胚についてアポトーシスが確認できた。また、アポトーシス関連遺伝子の影響を解析するために、アポトーシス関連遺伝子欠損マウスから、ES 細胞を樹立し GFP 発現ベクターを導入した。この ES 細胞に X 線を照射後、マウス初期胚 (8 細胞期胚) へマイクロインジェクションしたキメラ胚について、タイムラプス顕微鏡を用いて経時的に観察した結果、正常発生率の低下はごくわずかであった。

#### (3) 胚発生における修復遺伝子の機能解析

初期胚において、X 線照射による損傷に対する DNA 修復は、防御機構として重要であるため、修復関連遺伝子を欠損したマウスを作製した。さらに、この欠損マウスの受精卵より ES 細胞を樹立した。

### 3. 今後の展望

DNA 修復に関連する遺伝子を欠損した ES 細胞を用いることにより、胚発生における修復遺伝子の機能解析を行う。これらの解析結果から、細胞間コミュニケーションを明らかにすることにより、初期胚における放射線に対する防御機構を解明できると考えられる。また、マウスの iPS 細胞を用いることにより、ヒトでの影響を検討できると考えられる。