

# 目で見える遺伝子改変マウスによる生殖機能解析

大黒多希子

金沢大学疾患モデル総合研究センター疾患モデル分野教授

## はじめに

遺伝子改変マウスは遺伝子の発現局在や機能の解析に有用であり、また、遺伝子変異などによって引き起こされる疾患のモデルとしても使用される。われわれは、特に遺伝子を欠損させたノックアウトマウスを用いて子宮における遺伝子の機能の解析を行っている。近年では、概日リズムの乱れと産婦人科疾患発症の関連について研究しており、最近、概日リズムを調節する時計遺伝子群の1つである *Bmal1* の妊娠中の子宮における機能について発表した<sup>1)</sup>。そこで本稿では、これらについて解説したい。

## 概日リズムと疾患

概ね1日のリズムで行われる生物の活動を概日リズムと呼ぶ。概日リズムは各細胞内で時計遺伝子群の転写・翻訳フィードバックループによって発生している(図1)。コア因子である BMAL1 と CLOCK はヘテロ二量体を形成し、ターゲット遺伝子の制御領域に結合し、転写を正に制御する。ターゲット遺伝子には PER と CRY が含まれており、転写・翻訳された PER と CRY 蛋白質もまたヘテロ二量体を形成して核移行し、BMAL1/CLOCK 複合体の機能を負に制御するネガティブフィードバックループで発振機構が制御されている。

概日リズムの中樞は脳の視床下部にあり、中樞時計といわれ、光の刺激でリズムがリセットされる(図1)。それに加えて、各臓器が食事・睡眠などでリセットされる末梢時計をもっている。中樞時計と末梢時計のリズムは通常は同調しており、生体の恒常性維持のために重要な役割を担っている。近年、中樞時計と末梢時計の脱同調などで起こる概日リズムの乱れが、生活習慣病や産婦人科疾患などの一因であることが明らかになってきた(図1)。これまでに、月経困難症が朝食欠食と関

連していること、また過去に月経困難症を経験した妊婦は妊娠高血圧症候群(HDP)の発症率が高いことなどがわかっている<sup>2)3)</sup>。またわれわれは、朝食欠食マウスモデルを使用して、食物摂取が子宮時計の概日リズムを直接調節することを実証した(図2)<sup>4)</sup>。以上のことから、われわれは、朝食欠食が中枢および/または末梢時計系を介して体内時計を乱し、生殖機能を損なうことを提案している<sup>5)</sup>。

## ノックアウトマウスを用いた時計遺伝子 *Bmal1* の機能解析

最近、時計遺伝子の1つである BMAL1 の発現量が不育症患者の子宮内膜で減少すること、BMAL1 の発現を抑制した脱落膜細胞がトロホプラストの浸潤を阻害することが明らかとなり、BMAL1 がヒトの妊娠において重要な役割を果たしていることが示唆された<sup>6)</sup>。そこで、われわれは BMAL1 の妊娠中の子宮における機能を明らかとするために、ノックアウトマウスを用いて解析した<sup>1)</sup>。

ノックアウトマウスには、全身で遺伝子を欠損した KO マウスと、組織や細胞特異的に遺伝子を欠損したコンディショナルノックアウト(cKO)マウスがある(図2)。KO マウスでは表現型がさまざまな臓器に現れることがあるが、この場合は遺伝子欠損と表現型の因果関係が不明確となる。また、胎児の発生に必須の遺伝子が欠損している場合は胎生致死となるため、生後の各臓器の機能解析ができない。そのため Cre 組換え酵素と、この酵素が認識して切断する loxP と呼ばれる DNA 配列を利用した、Cre-loxP システムで作製する cKO マウスが開発された。cKO マウスでは、Cre 組換え酵素を組織あるいは細胞特異的に発現させることによって、特定の組織や細胞で遺伝子欠損を誘導することが可能である。