

論文内容の要旨

Placenta-specific lncRNA *1600012P17Rik* is expressed in spongiotrophoblast and glycogen trophoblast cells of mouse placenta

胎盤特異的 lncRNA *1600012P17Rik* はマウス胎盤海綿状栄養膜細胞およびグリコーゲン栄養膜細胞に発現している

日本医科大学大学院医学研究科 分子解剖学分野

大学院生 王 珺曉

Histochemistry and Cell Biology (2022年 掲載予定)

【目的】 胎盤は胎児(胎仔)と母体を繋ぐ必須のインターフェイスであり、その機能として胎児(胎仔)発育のための物質(栄養・ガス)交換機能など、多様な機能を有している。

近年、蛋白質をコードしていない RNA (ncRNA)、その中でも 200 塩基以上の長鎖 ncRNA (lncRNA) が遺伝子発現の調節役として注目を集めている。マウス胎盤発達に関して、いくつかの lncRNA (H19 など) による遺伝子発現制御への関与が報告されているが、多くの胎盤由来 lncRNA の発現や役割は未だに明らかにされていない。

本研究では、バイオインフォマティクス手法と実験手法(組織化学的および生化学的解析)を組み合わせを行い、マウス胎盤特異的 lncRNA の同定と、その発現様式と機能の一端を明らかにしたので報告する。

【方法】 日本医科大学動物実験委員会の承認を得て行った。FANTOM5 公開データベースを用いて胎盤に発現している lncRNA の発現プロファイリングを行い、成獣組織と比較して胎盤に有意に発現し、かつ高発現している lncRNA を抽出し、quantitative polymerase chain reaction (qPCR) 法を用いて胎盤および成獣マウス主要臓器における発現レベルを定量的に比較解析した。次に、in situ hybridization (ISH) 法を用いて胎盤における発現ステージと発現細胞を解析した。同定した胎盤特異的 lncRNA の機能を調べるために、マウス MC3T3-E1 細胞株にその lncRNA を過剰発現させ、lncRNA による遺伝子発現への影響を、qPCR 法、Western blot 法により解析を行った。

【結果】 FANTOM5 によるバイオインフォマティクス解析から、妊娠 17 日に高発現し、成獣マウス臓器で発現していない胎盤特異的 lncRNA *RIKEN cDNA 1600012P17 gene* (*1600012P17Rik*; 以降 P17Rik と呼称) を見出した。qPCR 解析により、P17Rik は成獣臓器に発現しておらず、胎盤特異的な発現であることを確認するとともに、E10.5 胎盤ではじめて検出され、妊娠後期の E16.5 胎盤で最も高い発現を示した。ISH 解析より、P17Rik は胎盤接合部の海綿状栄養膜細胞およびグリコーゲン栄養膜細胞に陽性であり、栄養膜巨細胞に陰性であった。P17Rik の細胞内局在は、主に細胞質であった。さらに qPCR 解析により、P17Rik は mRNA 型(3'末端部位にポリアデニル酸鎖が付加)の lncRNA であり、P17Rik 導入 MC3T3-E1 細胞の核・細胞質分画における P17Rik の含有量解析から、P17Rik は細胞質に有意であった。ISH および qPCR 解析の結果から、P17Rik の主な細胞内局在は細胞質であることがわかった。lncRNA は近傍の蛋白質コード遺伝子の発現を調節することが示唆されている。P17Rik の近傍遺伝子として *pappalysin 2* (*Pappa2*) があり、*Pappa2* 発現 MC3T3-E1 細胞への P17Rik 導入により、*Pappa2* の mRNA および蛋白質の発現レベルはともに上昇した。

【考察】 今回、バイオインフォマティクス手法と実験手法から、P17Rik がマウス胎盤特異的 lncRNA であり、胎盤栄養膜細胞の特定のサブタイプ、海綿状栄養膜細胞およびグリコーゲン栄養膜細胞に特異的に発現していることを示した。さらに、P17Rik による近傍遺伝子 *Pappa2* の発現調節を示唆する知見を得た。

Pappa2 も胎盤特異的に発現している RNA (mRNA) であり、マウス胎盤発達における *Pappa2* の発現パターンは P17Rik と一致しており、さらに、妊娠後期の海綿状栄養膜細胞およびグリコーゲン栄養膜細胞に *Pappa2* が特異的に発現していることが報告されている。*Pappa2* はインスリン様成長因子(Igf)結合タンパク質 5 型(Igfbp5)および 3 型(Igfbp3)に対する特異的分解酵素である。lncRNA P17Rik に発現調節を受ける *Pappa2* は、Igf-Igfbp 複合体の Igfbp を分解し、活性型 Igf を

遊離させ、標的細胞上の Igf 受容体と結合させることにより、Igf シグナル経路を活性化させ、胎盤発達および胎仔発育を促進していることが推測された。P17Rik がどの様に *Pappa2* 遺伝子の発現を制御しているのか、その詳細なメカニズムは今後の課題として残された。

【結論】 LncRNA P17Rik は、妊娠後期の胎盤栄養膜細胞のサブタイプ、海綿状栄養膜細胞およびグリコーゲン栄養膜細胞に特異的に発現しているマウス胎盤特異的 lncRNA あり、*Pappa2* を介した Igf シグナル経路活性化のための局所調節 RNA 分子であることが示唆された。