

マウス着床前胚の *in vitro* TCDD 曝露による遺伝子発現の変化

呉 慶^{1,2}、大迫誠一郎^{1,3}、馬場忠^{2,3}、遠山千春^{1,3}

¹ 国立環境研究所環境健康研究領域；² 筑波大学応用生物化学系；³ CREST, JST.

【目的】：ダイオキシン類を着床前初期胚に曝露することによる初期胚の遺伝子発現の変化については、まだ詳細な研究がなされていない。今回われわれは受精卵から胚盤胞に至るまでの各段階にそれぞれ2,3,7,8-四塩素化ダイオキシン(TCDD)を *in vitro* で曝露し、ダイオキシン類の初期胚に対する直接影響を遺伝子レベルで調べた。

【方法】：交尾後 0.5 日、1.5 日と 2.5 日に雌マウスの卵管から 1、2 および 8 細胞期胚をそれぞれ採取し、TCDD (10nM)を含む M16 培養液中で 12 時間及び 24 時間培養した後、2、8 細胞期胚および胚盤胞胚の形成率をそれぞれ計測した。また、AhR、Arnt 及び CYP1A1mRNA 発現量を半定量 RT-PCR 法で比較した。さらに、TCDD 曝露胚を仮親に移植し、着床率と妊娠 14 日の胎児重量を測定した。

【結果と考察】：2 および 8 細胞期胚および胚盤胞胚の形成率は各群 80%以上であり、TCDD 曝露による影響はみられなかった。AhR、Arnt mRNA は 1 細胞期胚で検出できたが、2 細胞期では検出できず、8 細胞期に再び発現し、胚盤胞胚期にそのレベルは上昇した。AhR、Arnt mRNA レベルには TCDD 曝露群と対照群の間に差はみられなかった。CYP1A1mRNA は対照群胚の各ステージに発現していなかった。TCDD 曝露群によっても、1 および 2 細胞期胚では発現誘導はみられなかったが、胚盤胞胚期では顕著な上昇が認められた。これらの TCDD 曝露胚と対照胚を同一の仮親の左右子宮にそれぞれ移植して妊娠 14 日目に解剖したところ、着床率と胎児重量に TCDD 曝露による影響は見られなかった。以上の結果は、初期胚においては発生の各ステージで TCDD に対する感受性が異なることを示唆している。

Alterations of gene expression in the mouse preimplantation embryos by TCDD exposure *in vitro*.

Wu, Q.^{1,2}, Ohsako, S.^{1,3}, Baba, T.^{2,3}, Tohyama, C.^{1,3}

¹ Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies;

² Department of Applied Biochemistry, University of Tsukuba; ³ CREST-JST

To investigate stage-specific effects of TCDD on preimplantation embryos, we exposed TCDD to different stages of embryos (1-cell, 2-cell, and 8-cell), and then collected the developed embryos (1- or 2-cell, 8-cell, and blastocyst, respectively). Using semiquantitative RT-PCR method, we found that AhR and Arnt mRNA were detected in the 1-cell stage, not in the 2-cell stage and increased again in the 8-cell and blastocyst stages. TCDD did not affect these mRNA levels at any stages of embryos. CYP1A1 mRNA was not detected at any stages, but induced in the TCDD-treated blastocyst. No significant differences of developmental rates were observed at any stages between TCDD-exposed and control groups. In addition, transplantation of the TCDD-exposed embryos demonstrated no difference in implantation rate and fetal weight from control embryos. These results suggest that responsiveness to TCDD differs among the embryonic stages.