

妊娠期ヒ素曝露によるF2マウス肝腫瘍増加に関わる 新たなDNAメチル化変化領域の抽出

著者	岡村 和幸, 中林 一彦, 堀部 悠, 河合 智子, 鈴木 武博, 秦 健一郎, 野原 恵子
雑誌名	DOHaD研究
巻	5
号	1
ページ	41-42
発行年	2016
URL	http://hdl.handle.net/10271/3101

妊娠期ヒ素曝露によるF2マウス肝腫瘍増加に関わる新たな DNAメチル化変化領域の抽出

¹国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター、²国立成育医療研究センター
研究所 周産期病態研究部、³東京女子医科大学 産婦人科

岡村 和幸¹、中林 一彦²、堀部 悠³、河合 智子²、鈴木 武博¹、秦 健一郎²、野
原 恵子¹

これまでに、雄で肝腫瘍を自然発症する系統であるC3Hマウスにおいて、妊娠期の無機ヒ素曝露によって、孫世代の肝腫瘍が増加することを明らかにした。我々はその機序としてエピジェネティック変化の中でも特にDNAメチル化に着目し、無機ヒ素曝露によって孫世代で増加する肝腫瘍において、網羅的な解析である **Reduced representation bisulfite sequence** を行い検討している。本研究では対照群とヒ素曝露群の肝臓の正常組織、腫瘍が観察された肝臓の非腫瘍組織、腫瘍組織を用いて、ライブラリを同時調製し解析を行った。

次世代シーケンスの結果をR上のパッケージである **methylKit** および **edmr** を用いて解析し、対照群とヒ素曝露群を比較してメチル化程度が異なる領域を抽出した。さらに、抽出された領域の転写開始点からの距離を **bedtools** によって算出し、転写開始点 ± 2000 bpに含まれる領域を抽出した。抽出された領域と遺伝子発現のマイクロアレイの結果を照らし合わせ、メチル化変化と遺伝子発現量の対応を検討した。

正常組織および非腫瘍組織において、対照群とヒ素曝露群を比較すると、DNAメチル化が変化する領域が検出されたが、いずれも遺伝子発現量は変化していなかった。

一方、腫瘍組織において、137個の遺伝子領域が対照群とヒ素曝露群でDNAメチル化の程度が異なっていた。このうち、メチル化の低下が観察され、かつヒ素曝露群において対照群と比較して2倍以上発現が増加した遺伝子は6個検出された。6遺伝子のうち、**Tmem54**、**Cd74**に関して **Real-time PCR** を行ったところ、**Tmem54** は正常組織と比較して腫瘍組織で発現が増加し、さらにヒ素曝露群において対照群と比較して有意に発現が増加していた。また、**Cd74** はヒ素曝露群の腫瘍組織において対照群と比較して有意に発現が増加していた。

Tmem54、**Cd74** がDNAメチル化によって遺伝子発現が制御されているかを検討するために、**Hepa1c1c7** 細胞にDNAメチル化阻害剤である

5-aza-2'-deoxycytidine (5-azadC)を曝露した。その結果、5-azadCの濃度依存的に Tmem54, Cd74共に遺伝子発現量が増加した。

以上の結果から、妊娠期ヒ素曝露によって増加する肝腫瘍で特異的に変化するDNAメチル化変化とそれに伴う遺伝子発現変化を検討し、孫世代で肝腫瘍が増加する機序に関わる遺伝子候補を抽出した。