

マウス妊娠期無機ヒ素曝露による仔の精子DNAメチル化変化の解析

著者	野原 恵子, 中林 一彦, 岡村 和幸, 鈴木 武博, 秦 健一郎
雑誌名	DOHaD研究
巻	8
号	3
ページ	29-29
発行年	2019
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003619

マウス妊娠期無機ヒ素曝露による仔の精子 DNA メチル化変化の解析

野原恵子¹、中林一彦²、岡村和幸¹、鈴木武博¹、秦健一郎²

1. 国立環境研・リスク・健康研究センター、2. 成育医療研究センター・周産期病態

【背景・目的】

ヒ素は地球を構成する微量元素であるが、世界各地の高濃度分布地域では地下水由来等の無機ヒ素慢性曝露が発がんを含む大きな健康被害をひきおこしている。私たちは、C3H マウス(F0)の妊娠8~18 日に無機ヒ素を含む水を投与すると、F1の雄の仔であるF2において成長後に肝腫瘍が増加することを見いだした。この結果から、妊娠期のヒ素曝露がF1 胎内の始原生殖細胞のエピゲノム変化を誘導し、そこから作られるF1 精子を介してF2 で肝腫瘍を増加させるという仮説を設定した。そこで本研究では、次世代に影響を継承するエピゲノムの一つと考えられているDNAメチル化に着目し、妊娠期無機ヒ素曝露によるF1 精子のDNAメチル化変化についてゲノムワイドな解析を行った。

【方法】

C3Hマウス (F0) に通常の餌 (CA-1, クレア) と、妊娠8日から18日目まで対照群には通常の水、ヒ素群には亜ヒ酸ナトリウムを含む水を自由摂取させ、仔(F1)を得た。対照群およびヒ素群F1雄の精巣上体尾部から採取した精子を、体細胞リシスを行って精製し、DNAを調製した。Reduced representation bisulfite sequencing (RRBS)ライブラリーを作製し、次世代シーケンスによって CpG サイトを測定し、結果をMethylkitで解析した。各CpGのdetailed annotation の付与はHomerで行った。

【結果】

ヒ素群 F1 精子では、RRBS 解析で得られた全 CpG サイトのメチル化度の平均値が対照群に対して有意に低下していた。対照群に対してヒ素群でメチル化が 10%以上上昇または低下した hyper-/hypo-differentially methylated cytosine (hyperDMC、hypoDMC)はそれぞれ 905 個と 2958 個検出され、すべての染色体で hypoDMC の比率が高いことがわかった。

さらに全 CpG と DMC を detailed annotation で分類すると、特に promoter-TSS と 5'UTR では DMC の出現率が低く、一方特に LINE と LTR で高率の hypoDMC を含む DMC の出現率が高いことがわかった。

【結論】

妊娠期の無機ヒ素曝露が仔の精子のゲノムワイドな DNA メチル化低下を誘導すること、メチル化低下は特にレトロトランスポゾンで高率に起こっていることが明らかとなった。今後、F1 精子におけるこれらの DNA メチル化変化と、F2 世代の肝腫瘍増加との関連について検討を進めたい。