

精子エピジェネティックマークを介した 子孫へのストレス性行動異常の伝承

研究代表者： 岩田 圭子 (子どものこころの発達研究センター・特命助教)
： 小西 慶幸 (大学院工学研究科・准教授)

概 要	
	先行研究から、母体ストレスが発達障害発症のリスクファクターであることが示唆されており、さらに近年、孫の世代にまでその負の影響が受け継がれる事象が報告されている。しかしそのメカニズムは不明である。そこで我々は、マウスを用い、母体ストレスが仔および孫に与える影響の解明を試みている。現在、母体ストレスによる仔の行動異常（強迫性行動、社会的インタラクションの低下）がオスを介してのみ孫に受け継がれるという非常に興味深い結果を得ている。本研究では、行動異常を脳の遺伝子発現の変化から理解し、さらに精子のエピジェネティクス変化（エピジェネティックマーク）を介して孫に異常が受け継がれる可能性を検証し、精子エピジェネティックマークと行動異常という表現型の関連を明らかにすることを目的とする。
関連キーワード	母体ストレス、マウス、行動異常、遺伝子発現、エピジェネティックマーク

研究の背景および目的

多くの先行研究から、ヒトの妊娠期における母体ストレスが、生まれてきた子どもの自閉症、感情障害、ADHDなどの発達障害のリスクファクターであることが示唆されている (Glover, 2015)。また古くからマウスやラットのような実験動物においても同様の結果が多く報告されている (Weller et al., 1988; Patin et al., 2005; Son et al., 2006)。さらに興味深いことに、近年の研究によって、孫の世代にまでその負の影響が受け継がれる事象が報告され注目を集めている (Bohacek et al., 2014)。そのメカニズムについては不明な点が多いが、エピジェネティクス変化（エピジェネティックマーク（特に DNA メチル化））を介している可能性が示唆されている。

我々は、マウスを用い、母体ストレスが仔 (F1)

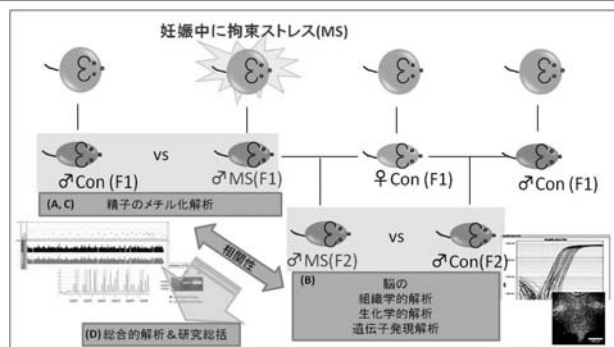
および孫 (F2) に与える影響の解明を遺伝学的、行動学的およびエピゲノムの解析から試みている。これまでの行動学的解析から、母体ストレスによる行動異常は F2 に受け継がれること、さらに、この異常はオスを介してのみ世代を超えて受け継がれるという非常に興味深い実験の結果を得ている (Fig. 1, 2)。この結果から、母体ストレスが F1 の精子のエピジェネティックマークを介して F2 に異常が受け継がれる可能性が考えられる。

そこで、本研究ではまず F1、F2 の行動異常の原因を、脳の遺伝子発現変化から探る。さらに、発現の変化があった遺伝子について、F1 の精子の DNA メチル化状態を解析し、エピジェネティックマークを同定し、F2 への行動異常の伝承のメカニズムを明らかにする。

研究の内容および成果

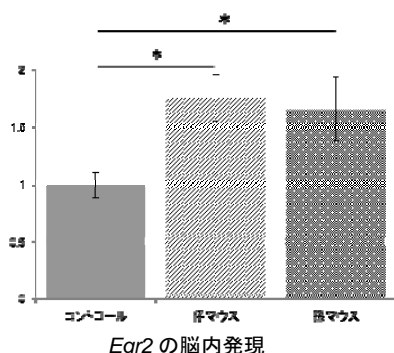
本研究では、右図のようなスキームで母体ストレスマウス (MS) からの F1 (♂) と F1 (♂) を父親に持つ F2 (♂) およびそれらに対するコントロールマウス (♂) を作製し、以下の解析を行った。MS は拘束ストレス (E9.5-出産まで、毎日 15 分間) を与えた。

- 1) 行動学的解析の結果、強迫性の異常と社会的相互作用の低下が認められた。



2) F1, F2 脳の遺伝子発現解析

これら行動異常に関わる縫線核および前頭前野で以下の各因子の発現を、定量的リアルタイム PCR 法にて測定・解析した。具体的には、社会的相互作用に関連するセロトニン関連遺伝子 (*Slc6a4*, *Htr1a*, *Htr1b*, *Htr2a*, *Htr2c*, *Htr3a*, *Tph2*, *Maoa*, *Maob*)、その他社会的相互作用に関連する遺伝子 (*Bdnf*, *Trkb*, *GluA1*, *Gria2*, *Gabra1*, *Gabra2*, *Gabra3*, *Gabrb3*, *Foxp2*, *Fos*, *Egr2*, *Drd2*, *Drd1*) を解析した。その結果、特に *Maoa* (縫線核)、*Htr2a* (前頭前野)、*Foxp2* (縫線核)、*Gabrb3* (前頭前野)、*Egr2* (前頭前野) の発現に有意な差が認められた。また、*Maoa*, *Htr2a*, *Foxp2*, *Gabrb3* は F1 のみ、*Egr2* は F1, 2 どちらにおいても発現の変化が認められ



た (下図)。

3) 精子のメチル化解析

現在、上記発現変化が認められた遺伝子のメチル化を F1 の精子を用いて解析している。

セロトニン神経の細胞体が局在する縫線核でセロトニン分解酵素 *Maoa* 発現の増加、投射先の前頭前野での *Htr2a* 発現の増加から、F1 の脳内ではセロトニンの放出量が減少している可能性がある。さらに *Foxp2* と *Maoa* には相互作用があることが報告されている。また、自閉症の死後脳研究において *Gabrb3* 発現異常が報告されている。F1, 2 共に変化していた *Egr2* は、脳の発達に関与しており、自閉症の死後脳研究において遺伝子発現の異常が報告されている。そのため仔マウスと孫マウスに共通して見られた社会性の異常や強迫行動の原因のひとつではないかと考えられる。今後、現在行っている精子のメチル化解析の結果を合わせ、F2 への行動異常の伝承のメカニズムについて検討する予定である。

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

- Silva JC, **Iwata K**, Steiner J, Guest PC, Turck CW, Nascimento JM, Martins-de-Souza D. (2016) Front Cell Neurosci, *in press*
- Ishibashi Y, Izumo N, **Iwata K**, Morikawa T, Kameyama T, Watanabe Y, Manabe T Matsuzaki H. (2016) Journal of Brain Science *in press*.
- Guest PC[#], **Iwata K**[#], Kato TA[#], Steiner J, Schmitt A, Turck CW, Martins-de-Souza D. (2015) Front Cell Neurosci, May 12;9:180 ([#]The first two authors contributed equally to this work.)
- Okamoto M, Iguchi T, Hattori T, Matsuzaki S, Koyama Y, Taniguchi M, Komada M, Xie MJ, Yagi H, Shimizu S, **Konishi Y**, Omi M, Yoshimi T, Tachibana T, Fujieda S, Katayama T, Ito A, Hirotsune S, Tohyama M, Sato M. DBZ Regulates Cortical Cell Positioning and Neurite Development by Sustaining the Anterograde Transport of Lis1 and DISC1 through Control of Nde1 Dual-Phosphorylation. (2015) J Neurosci. 35:2942-58.

招待講演

- **Konishi Y**, Seno T, Kubota K, Sakae N, Takada H. 「The region specific control of branch stability in axonal arbors mediated by kinesin mediated transport」 9th International Symposium on Nanomedicine (2015)

活動

小西慶幸 数学協働プログラム ワークショップ 「細胞システムの理解と制御にむけた幾何学的方法の検討」主催 (2015)

招待講演

小西慶幸、池野龍輝、瀬野岳史、面谷耕佑、栗下雅行、栄成美、佐藤真、高田宗樹 「微小管と軸索輸送の制御を介した軸索形態の維持システム」第 121 回 日本解剖学会総会・学術集会 (2016)

「特記事項」

なし

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

現在受け入れ中

2015 年度 GSK ジャパン研究助成

申請予定

日本学術振興会・基盤研究 C (一般)
新学術領域研究 (公募研究)