

2020年4月3日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学大学院医学系研究科

父親の高齢化が精子形成に与える影響を解明 - 加齢精子ヒストン修飾変化と子どもの神経発達障害のリスク -

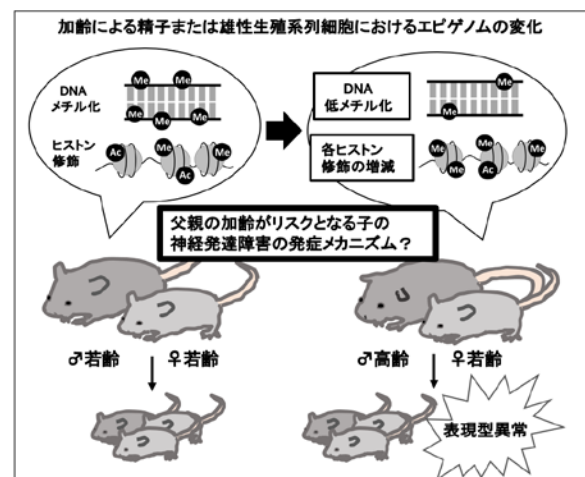
【研究のポイント】

- ・ 父親の高齢化は子供の神経発達障害^{注1}の発症リスク因子であることが報告されている。
- ・ マウスをモデルとして加齢が精子の形成過程に与える影響を解析し、遺伝子の働きを制御するエピゲノムマーカー^{注2}について、父親の高齢化の影響を体系的にカタログ化した。
- ・ 今回の研究成果は、将来的に父親の高齢化がリスクとなる次世代の疾患を予想するための診断法の開発につながると期待される。

【研究概要】

大規模な疫学調査により、父親の高齢化が子供の神経発達障害の発症リスクに関わると報告されています。その発症メカニズムの解明を目指し、東北大学大学院医学系研究科発生発達神経科学分野の研究グループは、マウスの精巣において精子形成過程のエピゲノム変化を体系的に解析し、加齢による変化をカタログ化しました。遺伝子の働きを制御するいくつかのエピゲノムマーカー（ヒストンタンパク質メチル化修飾^{注3}等の量）は精子形成過程において加齢に伴い大きく変化することを見出しました。たとえばエピゲノムマーカーのうち、精子のH3K79me3^{注4}の量は、仔マウスの音声コミュニケーションの異常と高い相関性が見られることから、次世代個体の行動に関する「予測マーカー」としての意義があると考えられています（特許第6653939号）。本研究で得られた知見により、父親の加齢がリスクとなる子の神経発達障害の発症メカニズムに関する理解が進むと考えられ、将来的に父親の加齢がリスクとなる次世代の疾患を予想するための診断法の開発等につながると期待されます。

本研究結果は、「PLOS ONE」に、米国時間2020年4月8日午後2時（Eastern Time）に掲載されます。



【研究内容】

近年、自閉スペクトラム症、注意欠陥多動性障害、学習障害等の神経発達障害が増加し、社会的に大きな影響を与えていますが、その発症メカニズムには未だ不明な点が多く、診断法・治療法の開発は喫緊の課題です。発症の背景には、遺伝的要因だけでなく母体の薬物への暴露や周産期の感染等の環境要因も知られていますが、最近では、世界約 600 万人の疫学調査により、神経発達障害の発症に父親の高齢化が関わるということが明らかとなってきました。

東北大学大学院医学系研究科発生発達神経科学分野では、これまでよりマウスをモデルに神経発達障害の発症メカニズムに関する基礎医学研究を展開し、統合失調症のような行動異常発症の発症について発達の過程の重要な時期（臨界期）を明らかにし、母マウスの脂質栄養バランスの乱れが仔マウスの不安様行動の異常を引き起こすことを報告してきました。最近では、父親の高齢化は子供の神経発達障害の発症リスク因子であることから、マウスを用いて父親の加齢が神経発達障害の遺伝的リスクの交絡因子となっていることについても世界に先駆けて報告しました。しかしながら、父の加齢がどのように精子の形成過程に影響するのかについては、その分子機構の詳細は不明のままです。

今回、東北大学大学院医学系研究科発生発達神経科学分野の博士課程大学院生、館花美沙子（たてはな みさこ）および大隅典子（おおすみ のりこ）教授らの研究グループは、マウス精子形成過程におけるエピゲノムマーカーとして、ヒストンタンパク質の代表的な化学修飾である 7 種のメチル化および 1 種のアセチル化について体系的に解析し、加齢による変化を明らかにしました。本研究では、まず月齢 3 ヶ月の若いオスマウスにおいてマウス精巣の免疫組織化学的解析（図 1）を行い、12 段階の精子形成過程における主要なエピゲノムマーカー 8 種をカタログ化しました。

つぎに、月齢 12 ヶ月以上の加齢したマウスの精巣にについて同様の解析を行い、イメージング定量技術を用いてこれら 8 種のエピゲノムマーカーの量を比較した結果、いくつかのエピゲノムマーカーは精子形成過程において加齢に伴い大きく変化することを見出しました（表 1）。一般に、ヒストンタンパク質は最終的に出来上がった精子にはわずかししか持ち込まれませんが、H3K79me3 など一部の修飾ヒストンは残存することが知られています。研究チームはすでに、精子における H3K79me3 の量と仔マウスの音声コミュニケーション異常との間には相関性があることを見出しており、この発見を仔マウスの神経発達「予測マーカー」として特許化しています（特許第 6653939 号、図 2）。

本研究で得られた、父親の加齢が精子形成過程のエピゲノムに影響を与えるという新たなマウスにおける知見は、ヒトにおいても父親の加齢が次世代の神経発達に影響を与える可能性について警鐘を鳴らすものであると言えます。今後、加齢によるエピゲノム変化を回復させるような薬剤を同定することにより、生殖補助医療と組み合わせて神経発達障害の発症リスクを低下させるような方法の開発に結びつく可能性があります。本研究で得られた知見を発展させることで、神経発達障害のみならず、父親の高齢化により誘発される次世代の疾患を

防ぐための新しい治療法の開発が進むことも期待されます。

本研究は、科学研究費補助金新学術領域研究「個性」創発に至る次世代継承エピゲノム修飾とその脳内表現(代表・大隅典子)」、および挑戦的萌芽研究「仔マウスの行動に対する雄生殖細胞の次世代継承エピゲノム変化に関する研究」(代表・大隅典子)、および委任経理金「自閉症研究」の支援等によって行われました。

【用語説明】

- 注1. 神経発達障害：神経発達症/神経発達障害は、いわゆる「定型発達」の人に比して生まれつきの脳機能の発生発達のアンバランスさや偏りがあり、その人が過ごす環境や周囲の人とのかかわりのミスマッチから、社会生活に困難が発生する脳機能障害と考えられている。タイプにより特徴は異なり、その独特な言動によって社会生活、日常生活に支障が生じることがある。具体的には、学習障害、自閉スペクトラム症（以前の自閉症、アスペルガー障害、特定不能の広汎性発達障害）、ADHD などがある。各障害にあった介入が行われているものの、詳しい発症メカニズムについては不明な点が多い。
- 注2. エピゲノムマーカー： 遺伝子の働き方に影響を与えるエピゲノム修飾（DNA 塩基配列＝ゲノム自体の変化を伴わず、核タンパク質ヒストンに対する各種化学修飾やDNAに対するメチル化修飾等が含まれる）のうち、何らかの生命現象の指標として捉えることができるもの。本研究においては、ある種のヒストン修飾が、次世代の遺伝子発現プログラムに影響を与えうるマーカーとして想定される。このほか、DNA 自体のメチル化もエピゲノムマーカーとなり得る。
- 注3. ヒストンタンパク質メチル化修飾：核に存在するヒストンタンパク質は「糸巻き」のようにDNAを巻取り、その高次構造の制御や遺伝子のスイッチの入り方に影響を与えることが知られている。ヒストンタンパク質は、メチル化、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化等の化学修飾を受け、その様態が遺伝子の働き方に影響を与え得ることから注目を集めている。特に、ヒストンメチル化は機能が最も明らかとなっている修飾である。
- 注4. H3K79me3（ヒストン H3 タンパク質 79 番目リジン残基三価メチル化修飾）：ヒトやマウスを含めた哺乳動物においては、遺伝子のスイッチを ON にすると考えられているヒストン修飾である。今回、自閉スペクトラム症等に関わる遺伝子が多数存在する性染色体に集積することも認められた。なお、本研究に先立って大隅らは、精子の H3K79me3 量と仔マウスの音声コミュニケーション異常との間の相関性を、神経発達エピゲノムマーカーとして見出している（図2、特許第 6653939 号）。

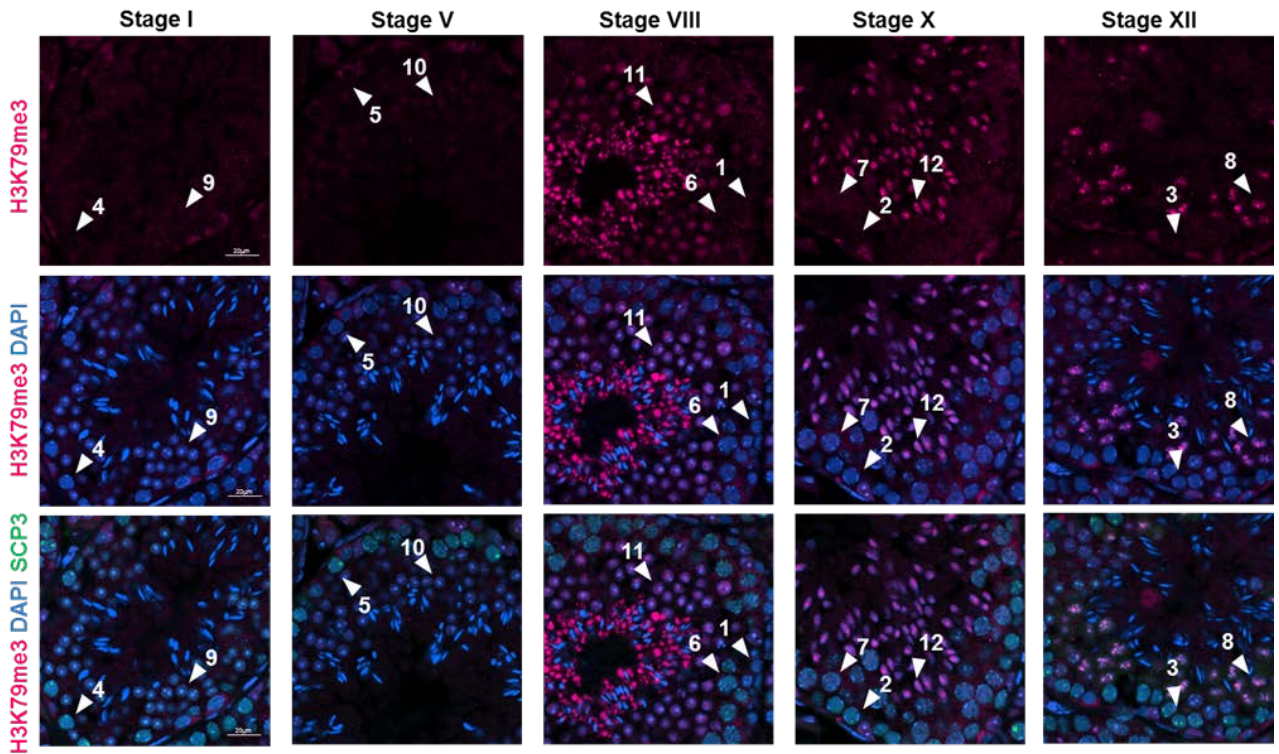


図 1. ヒストン修飾の免疫組織化学画像の一例

マゼンタはエピゲノムマーカーH3K79me3、青色は核、緑色は減数分裂細胞を示し、番号は各精子形成ステージの細胞の種類を示す。1：プレレプトテン期精母細胞（VIII）、2：レプトテン期精母細胞（X）、3：サイゴテン期精母細胞（XII）、4：パキテン期精母細胞（I）、5：パキテン期精母細胞（V）、6：パキテン期精母細胞（VIII）、7：パキテン期精母細胞（X）、8：M期精母細胞（XII）、9：円形精子細胞（I）、10：円形精子細胞（V）、11：円形精子細胞（VIII）、12：伸長精子細胞（X）

		pL(VIII)	L(X)	Z(XII)	P(I)	P(V)	P(VIII)	P(X)	M(XII)	R(I)	R(V)	R(VIII)	E(X)	Specific note
H3K4me2	Young	++++	++++	+++	+++	+++	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	Accumulation on XY body
	Aged	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓**	↓**	↓**	↓**	↓**	↓**	↓**	
H3K4me3	Young	-	-	-	-	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	
	Aged	-	-	-	-	-	-	-	↓↓**	→	→	→	→	
H3K27ac	Young	++++	+	+	+	++	++	+	+	++	++	++	++++	Accumulation on XY body and sex chromosomes
	Aged	→	↓↓**	↓**	↑*	↓**	→	↓**	→	↑**	→	→	↑**	
H3K79me2	Young	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++++	++++	++++	Accumulation on sex chromosomes
	Aged	-	-	-	-	-	→	↑**	→	→	↑*	↑**	↑**	
H3K79me3	Young	-	-	-	-	-	-	-	++++	++	++++	++++	++++	Accumulation on sex chromosomes
	Aged	-	-	-	-	-	-	-	↑**	-	→	↓*	↓**	
H3K9me3	Young	++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	++	++	++	Accumulation on sex chromosomes and heterochromatin
	Aged	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓↓**	↓*	↑*	↓*	→	
H3K27me2	Young	-	+	+	+	++	++++	++	++	++	++++	++++	++++	Accumulation on heterochromatin
	Aged	-	↑↑**	↑↑**	↑↑**	↑↑**	↓*	↑↑**	↑↑**	↑**	↑↑**	→	→	
H3K27me3	Young	-	+++	++	++	++	++++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	Accumulation on heterochromatin
	Aged	-	↓↓**	↑↑**	↑↑**	↑↑**	↑↑**	↓↓**	→	↑↑**	↑↑**	→	→	

表 1. 各ヒストン修飾レベルの加齢による変化。赤字は遺伝子スイッチを ON にするタイプ、青字は OFF にするタイプのヒストン修飾。+は若齢区のヒストン修飾レベルの変化を示す。上矢印は若齢区と比較した加齢区のヒストン修飾レベルの増加、下矢印は減少を示す。矢印が二つの場合は若齢区と比べて 20%以上の増加/減少を示す (** p < 0.01, * p < 0.05)。ヒストン修飾レベルは、精子形成過程を通してダイナミックに変化していることが分かる。さらに、加齢によりヒストン修飾レベルが変化することも明らかになった。

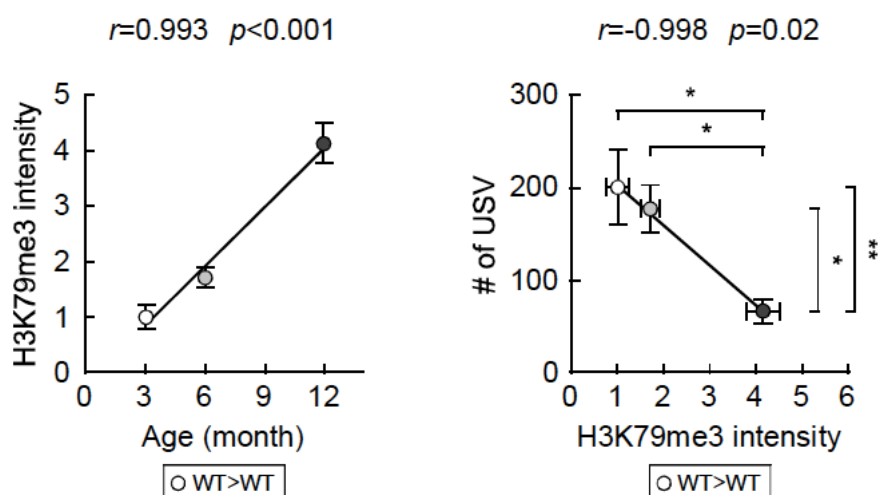


図 2. 野生型雄マウスの月齢と、ウェスタンブロット解析による精子 H3K79me3 の量についての相関性（左図）、および H3K79me3 量とそれぞれの月齢の雄由来仔マウスの音声コミュニケーション量の負の相関性。

【論文情報】

Title: Comprehensive histochemical profiles of histone modification in male germline cells during meiosis and spermiogenesis: Comparison of young and aged testes in mice.

Authors: Misako Tatehana, Ryuichi Kimura, Kentaro Mochizuki, Hitoshi Inada, Noriko Osumi

日本語タイトル:「精子形成過程における雄性生殖系列細胞ヒストン修飾の詳細な組織化学的解析:若齢および加齢マウスにおける比較」

掲載誌名: *PLOS ONE*

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230930>

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院医学系研究科発生発達神経科学分野
教授 大隅典子 (おおすみ のりこ)

電話番号: 022-717-8201 FAX 番号: 022-717-8205

E メール: osumi@med.tohoku.ac.jp

(取材に関すること)

東北大学総務企画部広報室

電話番号: 022-217-4977 FAX 番号: 022-217-4818

E メール: koho@grp.tohoku.ac.jp