

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 28 年 4 月 27 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立研究開発法人国立環境研究所  
職 名 フェロー  
研究代表者 野原 恵子

下記のとおり平成27年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:14020)

1. 共同研究課題名	環境化学物質の胎児期曝露による多世代・継世代影響の機序の探索		
2. 共同研究目的	環境化学物質である無機ヒ素の胎児期曝露によって、子(F1)や孫 (F2)で観察される発癌増加の機序について、エピジェネティクスを介した機序を探索する。		
3. 共同研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 野原恵子	環境健康研究センター	センター長	環境化学物質の曝露実験
(分担研究者) 鈴木武博	環境健康研究センター	主任研究員	エピジェネティック解析
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース	氏 名 畑田出穂

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

現在、地殻由来の無機ヒ素を含む井戸水を飲料水とするアジア大陸や南米の各地で慢性ヒ素中毒が発生し、その患者数は1億人にのぼるとも言われている。ヒ素を摂取してから20-30年後の癌の増加や、妊娠期曝露による子の発癌リスクの増加、さらにはヒ素摂取による糖尿病の増加などが疫学研究で報告されている。申請者らは、C3H マウスの妊娠中の母親に一過的に無機ヒ素を飲ませると、その子(F1)世代のオスのみならず、F2 のオスにおいても、成長後に肝癌が増加することをみだし(Nohara et al., J Appl Tox. 36, 105, 2016)、その機序としてエピジェネティクスの関与について検討している。本研究では、畑田教授のグループとの共同研究によって、miRNA の関与について検討可能な実験系の確立を行う。

## 7. 共同研究の成果

今年度は、妊娠期ヒ素曝露による継世代影響への miRNA の関与を検討するために、対照群および妊娠期ヒ素曝露マウスより得られた F1 雄および F2 雄の精巣の miRNA 発現量を検討した。2014 年度の研究で、妊娠期ヒ素曝露マウスの F2 雄の肝臓において、対照群と比較して発現量が変化した miRNA に注目して検討を行った。

F2 雄マウスの精巣からキアゲンの miRNeasy Mini Kit を用いて miRNA を含む RNA 画分を調製し、ク론택クの Mir-X miRNA qRT-PCR SYBR Kit により逆転写後、リアルタイム PCR で内在性コントロール RNA として使用されている U6 small nucleolar RNA (U6)および 18s rRNA (rRNA)、またターゲット miRNA として miRNA-29a の発現を測定した。その結果、どの領域も増幅が確認されたが、一定の RNA 量に対する rRNA の発現はサンプルによりばらつきが大きく、内在性コントロール RNA としては使用できない可能性が考えられた。一方 U6 はサンプルごとに比較的類似の発現量を示した。内在性コントロールの選択は重要であることから、 $\beta$ -actin (Biology of Reproduction. 2014, 91, 1-11)等を含めて、今後、精巣や精子の内在性コントロール RNA として最適なものについて再検討する必要があると考えられた。また、miRNA-29a 以外の miRNA について、精巣や精子で対照群と比較して発現量に変化があるかどうか検討を続けていく。

## 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出して下さい。)

なし