

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27年 4月21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 センター長  
研究代表者 野原恵子

下記のとおり平成26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 26 年 4 月 1 日 ~ 平成 27 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	室長	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1億人以上と言われている。ヒ素を摂取してから20-30年後に癌が増加することや、妊娠期曝露によって子の成長後に癌が増加することなどが疫学研究で報告されている。申請者らは、オスが成長後に肝腫瘍を自然発症しやすい系統である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、F2世代のオスにおいても、成長後に肝腫瘍が増加することをみいだした。その機序としてエピジェネティクスの関与が疑われる。本研究では、畑田教授のグループとの共同研究によって、F2影響へのmiRNAの関与について検討可能な実験系の確立を行う。

畑田教授らは、miRNAを介した遺伝情報の次世代への伝搬への関与が示唆されているDnmt2をC3Hマウスでノックアウトしたマウスを樹立した。さらにホモのDnmt2ノックアウト(KO)マウスを作製し、妊娠マウスへの無機ヒ素曝露を行い、生まれた子の肝臓について、表現型の変化を観察する。Dnmt2 KOマウスにおいても、野生型妊娠マウスへの無機ヒ素投与と同様の表現型があらわれるかどうかを検討する。

## 7. 共同研究の成果

Dnmt2のノックアウトによってヒ素曝露によるF2への影響が変わるかどうかを調べるためには、C3HバックグラウンドのDnmt2ホモKOマウスの雌雄を交配して妊娠した母親にヒ素を投与する必要がある。そこで畑田らがC3Hマウスを用いてCRISPR/Cas法でDnmt2 KOマウスを作製し、さらに得られたDnmt2ヘテロKOマウスを交配し、ホモKOマウスを得るという実験を実施した。その結果、Dnmt2ヘテロKOマウス雌雄の交配では妊娠率が極めて低いことがわかった。このため、ホモKOマウスを一定数得てヒ素曝露実験を行うという計画は変更する必要があることがわかった。また今後miRNAの発現変化を検討するために、C3Hマウスの正常肝および腫瘍部よりmiRNAを調製し、Taqman法による定量法の検討と遺伝子発現との対応の検討を行った。

## 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部提出してください。)

K Nohara, K. Okamura, T. Suzuki, I. Hatada, K. Hata: THE EFFECTS OF GESTATIONAL ARSENITE EXPOSURE ON THE F2 GENERATION: ROLE OF EPIGENETICS. Society of Toxicology 54th Annual Meeting, San Diego, 2015年3月26日, Online abstract (Symposium)