

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 29 年 2 月 16 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 国立成育医療研究センター
研究所
職 名 部長
研究代表者 秦 健一郎

下記のとおり平成 28 年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:16031)

1. 共同研究課題名	子宮内環境と胎児関連組織エピゲノム変化に関する研究			
2. 共同研究目的	妊婦の体重変化(子宮内環境)に着目し、臍帯血ならびにヒト胎盤から分泌される small RNA 量とそのメチル化の変化を明らかにすることを目的とする。			
3. 共同研究期間	平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 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) 秦 健一郎	周産期病態研究部	部長	研究計画立案・実施全般	
(分担研究者) 中林 一彦 河合 智子 田山 千春 富川 順子	周産期病態研究部 周産期病態研究部 周産期病態研究部 周産期病態研究部	室長 室長 研究員 研究員	データ解析 データ解析 データ解析 データ解析	
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分野	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。

(課題番号:16031)

6. 共同研究計画

疫学研究から導き出された”バーカーの仮説“および DOHaD 学説では、胎児期の栄養環境が悪いと、成人期の肥満、耐糖能異常、高血圧、心血管障害など生活習慣病に罹患するリスクが増大するという因果関係が強く示唆されている。その有力な分子病態として、子宮内環境ストレスが、エピジェネティックな情報の変化をもたらし、そのエピジェネティックな変化が長期遺残し、生活習慣病の発症において重要な働きを成していると推測されている。近年、栄養環境によって変化するエピゲノムの実態として、smallRNA 分子とその化学修飾の関与が報告され、実際に動物実験では、生殖細胞に含まれるメチル化シトシン tRNA 断片が糖代謝異常の発症を誘導する可能性が報告されている。栄養環境変化によって DNMT2 を介した tRNA シトシンメチル化が調節されることも報告されている。一方で、発生の過程におけるメチル化シトシン tRNA 断片の機能、ならびに、ヒトでのこの分子の存在は報告されていない。そこで本研究では、妊婦の体重変化(子宮内環境)に着目し、胎盤、臍帯血など胎児を取り囲む環境の small RNA を中心としたエピゲノム変化に及ぼす影響を明らかにする。

成育医療研究センター病院で同意の得られた胎盤・臍帯血検体より、すでに抽出済みの RNA を用い、small RNA 配列解析用の次世代シーケンサー用ライブラリ作製を行う。得られたデータの解析を畑田らの研究室にて行い、small RNA の種類と量的変化を明らかにする。また、RNA の化学修飾の程度を Bisulfite Sequencing 法ならびに MassArray 法にて判別する。母体の細かな臨床像・症状で層別化を行い、子宮内環境の異なる検体を集め、環境によって変化する small RNA、胎児の発育と関連が推測される small RNA を同定する。

7. 共同研究の成果

RNA-Seq library に対して次世代シーケンサーから排出されるデータセットより、メチル化修飾標的部位の同定を行う作業を進めた。メチル化修飾量を数値化するためのアルゴリズムを構築する作業を行い、トランスクリプトームワイドにメチル化修飾変化を捉えられるようになった。

現在、出生時のフェノタイプに関連したメチル化修飾変化の標的的同定を行っている。

さらに、共同研究の一環として、畑田出穂教授らが開発されたエピゲノム編集技術が確実に標的部位のみを変化させていることを証明するため、申請者研究部で稼働させている微量 DNA を材料に次世代シーケンサーを用いて全ゲノムメチル化解析を行う PBAT 法を用いてその精度を確認し、論文報告に至った。

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。)

1. Morita S, Noguchi H, Horii T, **Nakabayashi K**, Kimura M, Okamura K, Sakai A, Nakashima H, **Hata K**, Nakashima K, **Hatada I**. Targeted DNA demethylation in vivo using dCas9-peptide repeat and scFv-TET1 catalytic domain fusions. *Nature Biotechnol.* 34:1060-1065. 2016