研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-630		17-265	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Heavy chronic intermittent ethanol exposure alters small noncoding RNAs in mouse sperm and epididymosomes.
マウスで過剰な間欠的エタノール曝露は精子とエピディディモソームの低分子非コード RNA を変化させる

執筆者

Rompala GR, Mounier A, Wolfe CM, Lin Q, Lefterov I, Homanics GE.

掲載誌

Front Genet. 2018; 9:32. doi: 10.3389/fgene.2018.00032. eCollection 2018.

キーワード	PMID:
アルコール、アポクリン分泌、エピディディムソーム（epididymosome）、精巣上体、精子、精子成熟、低分子非コード RNA	29472946

要　旨

目的：妊娠中の母親のアルコール乱用が及ぼす危険性は良く知られているが、一方、妊娠前のいづれかの親のアルコール摂取でも、出生児の健康や発達に重大な影響を及ぼす可能性が指摘されている。同質遺伝子の雄性マウスを使用して、妊娠や出生仔の飼育に関係しない状況でも、父親のアルコール曝露が世代を超えた効果をもたらすことから、生殖細胞でのエピジェネティックな機序が関係していると考えられている。また、近年の研究では、父親へのストレスや栄養不良などの環境的曝露の効果は、精子の低分子非コード RNA（sncRNA）に対する変化を介して次世代へ伝播されることが示唆されている。しかし、アルコールが精子の sncRNA に与える直接効果は全く分かっていない。本研究は、この点について、ハイスループットスクリーニングを用いて検討した。

方法：C57BL/6J マウスを使用し、エタノールは慢性間欠的曝露（CIE、エタノール蒸気、5 週間）で投与した。エタノール投与後、精巣上体尾部と精巣上体頭部から精子とエピディディムソームを調製した。RNA を調製後、シークエンス解析は DAVID Bioinformatics Resources を使用して行った。sncRNA のヌクレオチドの変化は超高速液体クロマトフラフ-タンデム型質量分析計（UHPLC-MS/MS）で測定した。エピディディムソーム組織は、透過型電子顕微鏡で解析した。

結果：CIE は、精子の主要な低分子 RNA クラスの 3 種類（転移 RNA 由来低分子 RNA（tDR）、ミトコンドリア低分子 RNA、マイクロ RNA）で sncRNA を変化させた。エタノール応答 sncRNA のうち 5 種は RT-qPCR の評価でエタノールによる変化が確認された。また、CIE は精子 sncRNA に対する翻訳後修飾に影響し、以前にミトコンドリア転移 RNA で同定されていた 2 種のヌクレオチドの増加が認められた。さらに、CIE は、tDR 生合成を直接制御している Nsun2（転移 RNA メチル転移酵素）の精巣上体での発現を低下させた。エタノールに応答した精子 tDR の変化は、精巣上体の細胞外小胞エピディディムソームでも見られ、精子 tDR の変化は精巣上体から生じ、精子の sncRNA の主要な起源はエピディディムソームであることを示している［成熟した精子での tDR の変化は、精巣上体での移動や貯蔵の時期に生じる］。

結論：本研究の結果は、慢性エタノール曝露は精子の sncRNA 数とヌクレオチド修飾に影響を与えることを初めて示した。また、精子 RNA に対する変化は、環境による変化が精巣上体腔の細胞外小胞エピディディムソームに伝播され、sncRNA の変化が生じ、精子 RNA に影響することで生じることを示唆している。