研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-135	B-210	21-270	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Transgenerational inheritance of fetal alcohol effects on proopiomelanocortin gene expression and methylation, cortisol response to stress, and anxiety-like behaviors in offspring for three generations in rats: Evidence for male germline transmission.

ラットで三世代の仔どものプロオピオメラノコルチン遺伝子発現、メチル化、ストレスコルチゾール応答、不安様行動に関する胎児性アルコール効果の継世代伝承：雄性生殖細胞系伝達の根拠

執筆者

Gangisetty O, Chaudhary S, Palagani A, Sarkar DK.

掲載誌

PLoS One. 2022; 17(2):e0263340. doi: 10.1371/journal.pone.0263340.

キーワード	PMID:
FASD、プロオピオメラノコルチン、継世代伝承、雄性生殖細胞系	35143549

要　旨

目的：我々は胎児性アルコールスペクトラム障害（FASD）のコホート研究で、ストレス系機能を調節しているプロオピオメラノコルチン（POMC）遺伝子（*Pomc*）DNA メチル化が、FASD の子供を出産した母親やその子供で上昇していることを示した。また、非近交系ラットを使用した研究で、胎仔アルコール曝露（FAE）は、ラットの複数の世代でエピジェネティックな機序を介して、視床下部 *Pomc* 遺伝子発現の減少によってストレス応答を上昇させることが示されている。これらのことは、エピジェネティックな機序がアルコールの継世代効果に関与していることを推測させる。本研究は、同質遺伝子 Fischer 344 ラットで遺伝的および環境的変化を制御して、遺伝的でエピジェネティックな *Pomc* 関連変異体の FAE による誘導について検討を加えた。

方法：Fischer 344 ラットを使用した。妊娠ラットの妊娠（GD）7-21 日目で、エタノール（1.7-6.7%）含有液体飼料の投与（AF）、対照飼料の pair-fed（PF）、対照飼料自由摂取（AD）を行った。その後、AF および PF ラット、あるいは、それらの出生仔と異性 AD ラットを交配して、雄性生殖系（AFM、PFM）と雌性生殖系（AFF、PFF）を作成した。ラットは生後 60-90 日で組織を採取し解析を行った。ラットのコルチコステロン（CS）応答は拘束ストレス（プレキシガラス拘束器で 1 時間拘束）による血液 CS レベルから検討した。ラットの不安様行動は高架十字迷路で評価した。視床下部内側基底部（MBH）*Pomc* 遺伝子レベルは RT-PCR 法で測定し、*Pomc* プロモーター領域の DNA メチル化は bisulfite pyrosequencing 法で分析した。

結果：F1 雄性および雌性 AF（FAE）ラットの MBH *Pomc* 遺伝子発現は減少し、この FAE 効果は、性および生殖系依存性に F2、F3 でも持続していた（AFM の雄性出生仔 F2、F3 では持続していたが、AFF の雄性出生仔での *Pomc* 発現低下は見られなかった）。同様の FAE による変化は *Pomc* プロモーター領域 DNA メチル化でも見られ、雄性出生仔 F1、F2、F3 での増加が生じた。また、AFM の雄性 F1、F2、F3 でストレス応答の上昇と不安様行動の増加が認められ、これらの FAE の効果は、雌性生殖系ではなく、雄性生殖系の F1、F2、F3 子孫で持続して観察された。

結論：本研究の結果は、FAE は POMC 遺伝子発現で遺伝的な変化（*Pomc* mRNA レベルの低下を伴った *Pomc* プロモーター近傍の DNA メチル化レベルの上昇）を生じ、雄性生殖細胞系を介して、複数の世代でエピジェネティックな修飾によってストレス応答（過剰応答性）や不安様行動に影響を与えることを示唆している。