

## 審査の結果の要旨

氏名 栗田 尚佳

本研究は、重金属毒性軽減、亜鉛の恒常性維持などに重要な役割を担っているメタロチオネイン (MT) 遺伝子に焦点を当て、胎生期低亜鉛環境が及ぼす仔へのエピゲノム変化の解析を目的として行い、下記の結果を得ている。

1. 妊娠マウス (C57BL/6J 系統) に妊娠 8 日目から分娩時まで低亜鉛食 (Zn 5 ppm) を与え、仔マウスを出生後から 5 週齢まで通常飼育食で育てた。これら雄仔マウスにおいて、カドミウム曝露時の MT2 mRNA 誘導能の増強が確認された。この増強は肝臓中の亜鉛およびカドミウム蓄積量の差によるものではないことが示唆された。
2. 上記 1. の胎生期低亜鉛環境を経験した 5 週齢マウスでの MT2 誘導能の増強には、MT2 プロモーターの MRE 配列を含む領域におけるヒストン修飾の変化が寄与することが示唆された。すなわち胎生期低亜鉛食群におけるこの領域のヒストン修飾変化のパターンから判断すると、ヌクレオソーム構造が遺伝子転写活性化を促進するオープンクロマチン構造になっていることが分かった。さらに、同領域における胎生期低亜鉛食群でのカドミウム曝露後の転写因子 MTF1 の結合時間の延長も、MT2 mRNA 誘導能増強に寄与すると考えられた。
3. 上記 1. の胎生期低亜鉛食群のマウスにおいて、MT2 プロモーターの上流 821 bp の CpG の高メチル化が認められた。しかし、MT2 プロモーター領域を対象にしたレポータージーンアッセイの結果から、この CpG を含む領域は遺伝子の誘導に重要ではないことが示唆された。
4. 上記 1. の胎生期低亜鉛環境で育てたマウスにおいて、出生直後のエピゲノム変化を検討したところ、MT2 プロモーター領域のヒストン H3 のアセチル化のレベルが上昇していた。このことから、胎生期低亜鉛環境を経験したマウスは出生直後から、ヒストン修飾が変化しており、それが成熟後もエピジェネティクスメモリーとして残る可能性が示唆された。

5. 10週齢の雄 C57BL/6J マウスに上記 1., 4.の胎生期低亜鉛食実験と同じ期間である 12 日間低亜鉛食を与え、MT2 プロモーター領域におけるエピゲノム解析を行った。低亜鉛食群においてヒストン H3、H4 のアセチル化レベルの上昇傾向が認められたものの、-821 bp CpG の DNA メチル化およびその他のヒストン修飾に顕著な変化は認められなかった。以上のことから、低亜鉛環境が引き起こす MT2 のエピゲノム変化は胎生期の方がより感受性が高いことが示された。

本研究の結果、胎生期低亜鉛環境で育ち、出産直後に通常食で育った仔が成熟後にカドミウムに曝露すると MT2 の誘導が増強することが明らかとなり、このメカニズムとして、MT2 プロモーターのエピゲノム変化、特にヒストンのアセチル化が亢進し、それがエピジェネティクスメモリーとして成熟後まで残ることが明らかとなった。本研究で得られた知見は、DOHaD 説を胎生期微量元素の作用という観点から支持するものであり、学位の授与に値するものと考えられる。