

令和元年6月28日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06694

研究課題名(和文) 父親の高齢化に伴う母子間コミュニケーション障害の神経分子基盤の解明

研究課題名(英文) Elucidation of neuromolecular mechanisms of vocal communication deficits due to paternal aging

研究代表者

吉崎 嘉一 (Yoshizaki, Kaichi)

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・病理学部・研究員

研究者番号：50393161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：高齢の父親マウスの精子においてDNA低メチル化領域が高頻度に検出された。興味深いことに、そのDNA低メチル化領域には転写因子REST/NRSFの結合モチーフをもつことを見出した。同様に、高齢の父親マウス由来の胎児脳の網羅的な遺伝子発現解析においてもREST/NRSFの標的遺伝子群の発現変化が検出された。また、DNAメチル化阻害剤を投与した父親マウス由来の仔マウスは高齢の父親マウス由来の仔マウスと類似した行動異常が観察された。以上より、父親マウスの高齢化による精子のDNA低メチル化は仔マウスの行動異常に寄与しており、その分子病態基盤として神経分化制御因子REST/NRSFの関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

父親の高齢化はその子供に対して様々な疾患リスクを増大させることが報告されており、その分子病態としてDNA複製エラーに伴う精子のDNA変異が想定されてきた。本研究では、新たな可能性として加齢に伴う精子のDNAメチル化異常が疾患リスクを引き起こすことを見出した。さらに興味深いことに、高齢の父親マウスの精子および仔マウス脳に共通して転写因子REST/NRSFが中核的な役割を担うことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Comprehensive DNA methylome analyses revealed that DNA hypo-methylation in sperm from aged father. Intriguingly, DNA hypo-methylation frequently contains REST/NRSF binding motif rather than random. Similarly, comprehensive gene expression analyses also found that REST/NRSF target genes expression was significantly altered. Offspring derived from mice injected DNA methyltransferase inhibitor exhibited behavioral abnormalities which was similar to that in offspring derived from aged father. These suggest that DNA hypo-methylation in sperm from aged father impact behavioral abnormalities in subsequent generation, in which REST/NRST is a candidate gene linked between paternal aging and neuronal development in offspring.

研究分野：神経行動学

キーワード：次世代エピゲノム継承 父親の高齢化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの疫学研究より、父親の高齢化により子供における様々な精神疾患や発達障害等の発症リスクを増大させることが知られている[Vestergaard *et al.*, 2005; Frans *et al.*, 2008; Malaspina *et al.*, 2005; Saha *et al.*, 2009; Reichenberg *et al.*, 2006; Durkin *et al.*, 2008]。現在までその病態基盤は明らかではないが、高齢の父親に由来する子供において *de novo* ゲノム変異の出現頻度が高いことや[Kong *et al.*, 2012]、高齢の父親の精子においてグローバルな DNA メチル化異常が報告されていることから[Jenkins *et al.*, 2013]、父親の加齢に伴う生殖細胞系譜のゲノム変異および/またはエピゲノム変異がその病態基盤にあると考えられている。

2. 研究の目的

本研究では、加齢に伴う精子の DNA メチル化異常が次世代の遺伝子発現および行動異常に影響している可能性について検証することを目的とする。

3. 研究の方法

若齢および高齢の父親マウスの精巣上体から精子を採取して網羅的 DNA メチローム解析を実施した。また若齢および高齢の父親マウス由来の胎児脳（胎生 11.5 日齢および 14.5 日齢）から RNA を抽出・精製し、網羅的遺伝子発現解析を実施した。また、精子における DNA メチル化変化が次世代の行動異常を引き起こす可能性について検証するために、DNA メチル化阻害剤を投与した父親マウス由来の仔マウスにおける超音波発声解析を実施した。

4. 研究成果

本研究により、加齢に伴って精子の DNA メチル化が低下することを見出した。興味深いことに、この DNA 低メチル化領域には REST/NRSF 結合モチーフが高頻度に含まれることから、加齢に伴う DNA メチル化変化は何らかの生物学的意義を持って引き起こされることが推察された。また、高齢の父親マウス由来の胎児脳において有意に発現変化する遺伝子は認められなかった。そこで Gene set enrichment analyses (GSEA)を用いて遺伝子群としての動向について検討したところ、高齢の父親マウス由来の胎児脳では神経発生後期に発現する遺伝子群および自閉症スペクトラム障害関連の遺伝子群の発現が亢進していることが明らかとなった。さらに網羅的な遺伝子変化を制御する転写因子として REST/NRSF の関与が示唆された。また、DNA メチル化阻害剤を投与した父親マウス由来の仔マウスにおける超音波発声解析より、超音波発声が減少すること、声紋解析により単純なシラブルの増加および複雑なシラブルの減少が確認された。同様の傾向が高齢マウス由来の仔マウスにおいても観察されることから、父親マウスの高齢化による精子の DNA 低メチル化は仔マウスの超音波発声異常に貢献していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

1. [Yoshizaki K](#), Koike T, Kimura R, Kikkawa T, Oki S, Koike K, Mochizuki K, Inada H, Kobayashi H, Matsui Y, Kono T, Osumi N. Paternal age affects offspring's behavior possibly via an epigenetic mechanisms recruiting a transcriptional factor REST. *bioRxiv*, 2019 Feb 15; doi: 10.1101/550095.
2. [Yoshizaki K](#) *, Koike K*, Kimura R, Osumi N. Early postnatal vocalizations predict sociability and spatial memory in C57BL6/J mice: individual differences in behavioral traits emerge early in development. *PLoS One*, 2017 Nov 1; 12(11): e0186798. doi: 10.1371/journal.pone.0186798.
3. [Yoshizaki K](#) *, Furuse T*, Kimura R, Valter T, Kaneda H, Wakana S, Osumi N. Paternal aging affects behaviors in *Pax6* mutant mice: a gene/environmental interaction in understanding neurodevelopmental disorders. *PLoS One*, 2016 Nov 17; 11(11): e0166665. doi: 10.1371/journal.pone.0166665.
4. Sakayori N, Tokuda H, [Yoshizaki K](#), Kawashima H, Innis SM, Shibata H, Osumi N. Nutritional imbalance between linoleic acid and alpha-linolenic acid during development increases anxious behavior with a sex-dependent manner in mice. *Tohoku J of Exp Med*, 2016; 240(1): 31-37. doi: 10.1620/tjem.240.31.
5. Sakayori N, Kikkawa T, Tokuda H, Kiryu E, [Yoshizaki K](#), Kawashima H, Yamada T, Arai H, Kang JX, Katagiri H, Shibata H, Innis SM, Arita M, Osumi N. Maternal dietary imbalance between omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids impairs corticogenesis and

causes mood impairment. *Stem Cells*, 2016 Feb; 34(2): 470-482. doi: 10.1002/stem.2246.

6. Kimura R, Yoshizaki K, Osumi N. Dynamic expression patterns of Pax6 during spermatogenesis in the mouse. *J Anatomy*, 2015 Jul; 227(1): 1-9. doi: 10.1111/joa.12318.
7. Osumi N, Guo N, Matsumata M, Yoshizaki K. Neurogenesis and sensorimotor gating: bridging a microphenotype and an endophenotype. *Current Molecular Medicine*, 2015; 15(2): 129-137. doi: 10.2174/1566524015666150303002834.

〔学会発表〕(計 24 件)

1. Yoshizaki K, Asai M, Nakayama A.
Mere presence of observer mouse enhances performance of wheel running in C57BL6/J mice.
第11回Nagoyaグローバルリトリート 大府 2019年2月15日
2. 吉崎嘉一
マウスの社会的促進行動の系統間比較
遺伝要因と環境要因の相互作用による行動決定のメカニズム 三島 2018年9月29日
3. Yoshizaki K, Osumi N.
Development of a device for longitudinal follow-up survey in individual mouse
第1回国際シンポジウムToward Understanding “INDIVIDUALITY” 京都 2018年7月22日
4. Yoshizaki K, Osumi N.
Development of a device for longitudinal follow-up survey in individual mouse
第3回新学術班会議【個性創発脳】 京都 2018年7月21日
5. Yoshizaki K, Koike K, Kimura R, Osumi N.
Early postnatal vocalization impacts sociability and spatial memory in C57BL6/J mice:
Does individual diversity emerge at the early postnatal stage?
第65回日本実験動物学会 富山 2018年 5月16日
6. Yoshizaki K, Koike K, Kimura R, Osumi N.
Early postnatal vocalization impacts sociability and spatial memory in C57BL6/J mice:
Does individual diversity emerge at the early postnatal stage?
第10回Nagoyaグローバルリトリート 大府 2018年2月16日
7. Yoshizaki K, Koike K, Kimura R, Osumi N.
Early postnatal vocalization impacts sociability and spatial memory in C57BL6/J mice:
Does individual diversity emerge at the early postnatal stage?
第40回日本神経科学会 幕張 2017年7月21日
8. 吉崎嘉一
Paternal age affect offspring's behavior through transgenerational epigenetic mechanism
第2回次世代生命科学の研究会 福岡 2017年7月13日
9. Yoshizaki K, Koike K, Kimura R, Osumi N.
Early postnatal vocalization impacts sociability and spatial memory in C57BL6/J mice:
Does individual diversity emerge at the early postnatal stage?
第2回新学術班会議【個性創発脳】 御殿場 2017年7月7日
10. 吉崎嘉一
社会脳創発の神経基盤の解明～仔マウスの超音波発声は社会生行動を予見する～
第1回新学術班会議【個性創発脳】 松島 2016年12月17日
11. Oribe S, Kimura R, Yoshizaki K, Inada H, Osumi N.
Pax6 expression in male germ cell line -a possible role for spermatogenesis.
第39回日本分子生物学会 横浜 2016年12月
12. Kimura R, Yoshizaki K, Koike T, Kobayashi H, Koike K, Kikkawa T, Inada H, Imamura T, Nakashima K, Matsui Y, Kono T, Osumi N.
Paternal aging-induced differential DNA methylation in sperm affects gene expression and behavior in offspring: a transgenerational epigenetical model for neurodevelopmental disorders.
第39回日本分子生物学会 横浜 2016年12月
13. Kimura R, Yoshizaki K, Koike T, Koike K, Kikkawa T, Inada H, Matsui Y, Kono T, Osumi N.
Paternal aging-induced differential DNA methylation in sperm: possible transgenerational effects on gene expression and behavior in offspring.
Society for Neuroscience San Diego 2016年11月

14. Yoshizaki K, Koike T, Kimura R, Kobayashi H, Koike K, Kikkawa T, Inada H, Matsui Y, Kono T, Osumi N. Genome Imprinting, Epigenetics, and Physiological Functions イタリ
ア 2016年10月6日
15. Yoshizaki K, Koike T, Kimura R, Yamashita R, Koike K, Kikkawa T, Inada H, Matsui Y, Kono T, Osumi N.
Paternal aging induces differential DNA methylation in sperm: possible transgenerational effects on gene expression and behavior in offspring.
第38回日本生物学的精神医学会 福岡 2016年9月8日
16. Yoshizaki K, Kimura R, Kikkawa T, Koike K, Yaegashi A, Inada H, Nakashima K, Imamura T, Osumi N.
Advanced paternal age affects vocal communication deficits in offspring through transgenerational epigenetic inheritance.
第39回日本神経科学会 横浜 2016年7月
17. Kimura R, Yoshizaki K, Koike K, Inada H, Kikkawa T, Yaegashi A, Matui Y, Osumi N.
Combinatorial effects of paternal aging and Pax6 mutation on behavior of offspring : possible involvement of transgenerational epigenetics
CREST班会議【エピゲノム】 熊本 2016年1月
18. Koike T, Jincho Y, Kobayashi H, Yoshizaki K, Kikkawa T, Matsui Y, Osumi N, Kono T.
Targeted methylome analysis of aged mouse sperm: significance in transgenerational epigenetics
CREST班会議【エピゲノム】 熊本 2016年1月
19. Yoshizaki K, Kimura R, Koike K, Inada H, Osumi N.
Advanced paternal age affect maternal separation-induced vocal communication deficits in the offspring.
NTNU-Tohoku Univ. Brain Science Exchange Meeting, Sendai, 2015 Nov.
20. 木村龍一, 吉崎嘉二, 小池航平, 稲田仁, 大隅典子
雄性生殖細胞系列におけるPax6の発現-Pax6の新規機能-
第38回日本分子生物学会 神戸 2015年12月
21. Yoshizaki K, Kimura R, Koike K, Inada H, Osumi N.
Paternal Pax6 haploinsufficiency precociously accelerated vocal communication deficits by advanced paternal aging.
第37回日本生物学的精神医学会 東京 2015年9月25日
22. Koike K, Yoshizaki K, Kimura R, Inada H, Osumi N.
Autistic symptoms induced due to paternal aging are accompanied other medical condition and challenges such like PPI deficits.
第38回日本神経科学会 神戸 2015年7月
23. Yoshizaki K, Kimura R, Koike K, Inada H, Osumi N.
Crosstalk between Pax6 haploinsufficiency and paternal aging in modulating offspring behavior: a possible biomarker for sperm aging.
第38回日本神経科学会 神戸 2015年7月
24. Kimura R, Yoshizaki K, Osumi N.
Dynamic expression pattern of Pax6 during spermatogenesis in the mouse.
第8回幹細胞シンポジウム 東京 2015年6月

〔図書〕(計 1 件)

1. Kimura R, Yoshizaki K, Osumi N. Risk of neurodevelopmental disease by paternal aging: a possible influence of epigenetic alteration in sperm. Chapter 8 in Advances in Experimental Medicine and Biology. 2018.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。