

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440192

研究課題名(和文) 拘束ストレス用いたストレス依存的エピジェネティック遺伝の解析

研究課題名(英文) Epigenetic inheritance caused by paternal restraint stress in Drosophila

研究代表者

成 耆鉉 (Seong, Ki-Hyeon)

国立研究開発法人理化学研究所・石井分子遺伝学研究室・協力研究員

研究者番号：40425632

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)：親が受けたストレスが次世代に影響するという現象は、これまで、多くの疫学的報告で語られていたが、最近ようやく、幾つかのモデル生物を用いた実験による報告が蓄積されつつある。しかしながら、そのメカニズムについては未だよく分かっていない。本研究では、拘束ストレスをショウジョウバエに与える実験系を確立し、父親への拘束ストレスにより、次世代のエピゲノム状態に影響し、更にエネルギー代謝の恒常性に影響を与えることを見出した。また、本機構にp38-dATF-2シグナル経路が中心的役割を担っていることを示唆する結果を得ており、本機構の分子機構の解明へ、大きく前進することが出来た。

研究成果の概要(英文)：At present, the experimental evidences of epigenetic inheritance caused by stresses are beginning to accumulate in some animal models. However, molecular mechanism and biological meaning underlying these phenomena has not been clearly understood yet. We have established a new experimental system for analyzing epigenetic effects of drosophila exposed to restraint stress (RS). We observed that Drosophila F1 progenies, derived from RS exposed fathers, showed significant disruption of heterochromatin state and reduced energy metabolic rate. We also found that p38-dATF-2 pathway might play a central role for the epigenetic inheritance induced by RS.

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：拘束ストレス ショウジョウバエ エピジェネティクス エピジェネティック遺伝 dATF-2

1. 研究開始当初の背景

ストレスにより誘導されたエピゲノム変化による、個体の環境適応と、その遺伝機構の解明は、生命の恒常性維持機構、及び、疾患発症機構、さらには生物進化を理解する上で重要である。英国の Barker 教授が最初に提唱した「低体重で生まれた子供は成長後に糖尿病などの生活習慣病を発症し易い」という説 (Barker 説) は、疫学調査の結果とも合致し、現在では「胎児・乳幼児期の栄養状態が成長後の疾患発症頻度に影響する」という胎児プログラミング仮説 (Developmental Origin of Health and Disease: DOHaD) として広く知られ、急速に関心が高まってきていた。また、このような環境ストレスの影響は、世代を超えて、次世代へと引き継がれていくという報告もなされている。しかしこれまでは、この説を検証する緻密な実験が困難であることや、分子メカニズムが全く不明であることから、この説を信じない研究者も多かった。精神的なストレスは、神経活動への影響に留まらず、睡眠、摂食等の行動異常を引き起こし、様々な生理的变化も引き起こす。マウスでは、社会的隔離によるストレスにより、脳内のエピゲノム状態に変化をきたすことが報告されている (前川ら、EMBO J., 2010)。また、母親ラットを子供から分離すると、成長した子供が行動異常を呈することが報告されていて (Weaverら、Nat Neurosci, 2004) グルココルチコイド受容体遺伝子の発現制御領域のエピゲノム変化に起因することが示されている。しかしながら、これまで、このような行動異常がその次世代に遺伝し得るかどうかに関する報告はない。

ATF-2 は、私が所属する研究室で最初に

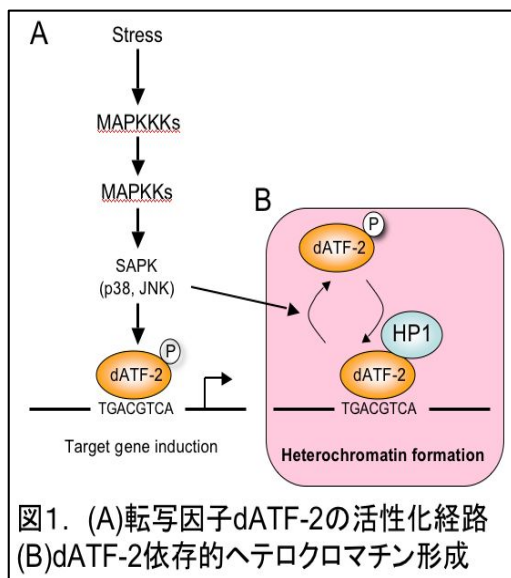


図1. (A)転写因子dATF-2の活性化経路 (B)dATF-2依存的ヘテロクロマチン形成

同定された転写因子で、ATF/CREB ファミリーのメンバーの一つである。ATF-2 は種々のストレスにより、ストレス応答性キナーゼ p38/JNK を介して、リン酸化され、活性化される (図 1 A)。私は、ショウジョウバエ転写因子 dATF-2 がヘテロクロマチン形成に必要で、熱ストレス依存的なヘテロクロマチン形成の変化が dATF-2 経路を介して行われていることを見いだした (図 1 B、図 2)。また、dATF-2 依存的なヘテロクロマチンの変化が次世代に受け継がれることを発見した (成ら、Cell, 2011)。

さらに、dATF-2 変異染色体をもつ親世代と、その親由来の dATF-2 変異染色体を持たない子世代の遺伝子発現アレイ解析を行ったところ、親子両世代で 遺伝子発現の増加を示した遺伝子を同定することが出来た。見いだされた遺伝子のうちの多く (全体の 3 分の 1) が神経系で発現している遺伝子であった。この結果は、いくつかの神経系の遺伝子は dATF-2 依存的なエピジェネティック制御を受け、その変化が次世代へも反映されることを示唆している。

そこで、私は、親の受けた精神ストレスの次世代へのエピジェネティックな遺伝とその分子メカニズムを、ショウジョウバエのモデル系を用いて解明していきたいと考えに至った。

2. 研究の目的

拘束ストレスは、ラットやマウスなどに強い精神的ストレスを与えるためによく使われている。そこで、拘束ストレスを、ショウジョウバエのオス親に与え、その次世代におけるヘテロクロマチン状態に影響が現れるか、変化が会った場合、その影響が dATF2 依存的であるかどうかを、調べられる実験系の確立を目指した。また、私の以前の研究から、ショウジョウバエ dATF-2 はヘテロクロマチン上のみならず、ユークロマチン領域の特異的部位でも、HP1 (メチル化ヒストンに結合するタンパク質) と共局在しており (成ら、Cell, 2001) ユークロマチン領域に局在する、幾つかの dATF-2 標的遺伝子は、エピジェネティックな制御を受けていることが示唆されていることから、拘束ストレスが次世代の特定遺伝子領域のエピゲノム状態に変化を引き起こすことを実証し、その分子メカニズムの全容を解明したいと考えた。

3. 研究の方法

オス親への拘束ストレスによる、次世代のエピゲノム状態の変化を効果的に解析するため、ストレス暴露時間、回数など、実験系の最適化を行った。拘束ストレスをショウジョウバエに対し行った研究はほとんどなかったため、まず、その実験系の確立から始める。そして、確立した実験系を用いて、次世代のヘテロクロマチン状態を測定した。また、dATF-2 経路依存性を見るため、dATF-2 ノックアウトショウジョウバエや、p38-dATF-2 経路の上流に存在するMEKK1のnull突然変異体を用いて実験を行った。

また、拘束ストレスによる影響が、どのようにして、生殖細胞に伝わるのかを解明するため、拘束ストレスを与えた個体において、誘導される液性因子の探索を行い、同定された因子が、実際、次世代のエピゲノム変化に直接関与しているかどうかを解析した。

さらに、親の拘束ストレスによって引き起こされた次世代のエピゲノム変化により、次世代において、どのようなアウトプットとして合わられてくるのかを調べるため、野生型とdATF-2 ノックアウト系統を用いたRNA-seqとメタボローム解析を行った。また、dATF-2 依存的な標的遺伝子領域を推定する。また、ChIP-seq、ChIP解析等を用いて、標的遺伝子領域のエピゲノム変化等を詳細に解析し、分子メカニズムに迫るよう、抗体作成や、諸条件の検討をかさねてきた。

4. 研究成果

本研究において、私は、ショウジョウバエに拘束ストレスを与え、次世代のヘテロクロマチン状態に影響を与えるかどうかを測定する新規の実験系を確立した。そして、本実験系を用いて、オス親の拘束ストレスが、次世代の子のヘテロクロマチン状態に影響していることを見出した。更に、拘束ストレスによって、雄の精巣では、dATF-2の発現が非常に高く、拘束ストレスを与えると、精巣におけるP38のリン酸化の亢進が引き起こされることから、拘束ストレスが、精巣において、dATF-2-p38シグナル経路を介し、ストレス依存的なエピゲノム変化が引き起こされているものと考えられた。更には、拘束ストレスを与えると、液性因子であるUpd3の発現が上昇することがわかった。そこで、Upd3を、雄において、精巣以外の神経特異的に強制発現させ、次世代のヘテロクロマチン状態を観察したところ、拘束ストレスと同じく、ヘテロクロマチンに顕著な変化が起こっていることがわかった。この結果は、拘束ストレスによって、Upd3の発現が誘導され、体液を通して精巣に到達すると、精巣においてp38-dATF-2シグナル経路が活性化され、生殖細胞内のエピゲノム状態に影響することが示唆された。

また、私は、拘束ストレスによる次世代への影響を更に解析するため、RNA-seqとメタボローム解析を行った。その結果、特に、エネルギー代謝が大きな影響を受けており、拘束ストレスを与えた親由来の子において、エネルギー代謝が顕著に低下していることが見出された。

(引用文献)

Maekawa, T., Kim, S., Nakai, D., Makino, C., Takagi, T., Ogura, H., Yamada, K., Chatton, B., and Ishii, S. (2010). Social isolation stress induces ATF-7 phosphorylation and impairs silencing of the 5-HT 5B receptor gene. *EMBO J* 29, 196-208.

Seong, K.H., Li, D., Shimizu, H., Nakamura, R., and Ishii, S. (2011). Inheritance of stress-induced, ATF-2-dependent epigenetic change. *Cell* 145, 1049-1061.

Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M., and Meaney, M.J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 7, 847-854.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1件)

成耆鉉、石井俊輔 環境要因による
エピゲノム変化と記憶 細胞工学 査
読無 34, 2015, pp. 879- 883

〔学会発表〕(計 4件)

成耆鉉、石井俊輔

ショウジョウバエ父親への拘束ストレス
依存的エピジェネティック遺伝現象の解
析

日本遺伝学会第88回大会, 2016年9月8
日、日本大学国際関係学部(静岡県三島
市)

Seong KH, Ishii S.

Paternal transmission of
restraint-stress-induced epigenome change in
Drosophila.

International symposium for RIKEN
epigenetic program 2016, 2016年2月16日,
Wako Saitama, Japan

Seong KH, Ishii S.

Epigenetic inheritance caused by paternal
restraint stress in Drosophila.

24th European Drosophila Research
Conference, Heidelberg Convention Center
, 2015年9月10日, Heidelberg Germany

Seong, KH, Ishii, S

Epigenetic change and its inheritance caused
by paternal restraint stress in Drosophila.

Waddington Symposium Epigenetics in
dialogue with THE GENOME, Our Dynamic
Earth, 2015年6月1日, Edinburgh, UK.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

成 耆鉉 (Seong, Ki-Hyeon)

国立研究開発法人理化学研究所・石井分子
遺伝学研究室・協力研究員

研究者番号：40425632

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()