

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08060

研究課題名(和文) 加齢精子の非コードRNA制御による精神・発達障害の克服

研究課題名(英文) Overcome of mental/developmental disorder by regulation of non-coding RNA in aged sperm

研究代表者

吉崎 嘉一 (Yoshizaki, Kaichi)

愛知県医療療育総合センター発達障害研究所・障害モデル研究部・主任研究員

研究者番号：50393161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本申請研究では、若齢の父親マウス由来の仔マウスと比較して、高齢の父親マウス由来の仔マウスでは音声コミュニケーションの異常を見出した。その分子病態基盤を解明するために、精子に発現する非コードRNAに注目した研究計画を立案したが、うまく共同研究を実施できなかった。一方で、精子DNAの全ゲノム標的メチローム解析および胎児脳の網羅的遺伝子発現解析より、神経分化抑制因子REST/NRSFを共通した分子として同定することに成功した。これらの結果より、神経分化抑制因子REST/NRSFは高齢の父親から生まれた子供における精神・発達障害の分子神経病理を理解する上で重要な鍵分子となることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちの発見は、父親の高齢化が子どもの精神疾患や発達障害のリスクを増大させるメカニズムとして、精子の加齢が、これまでの無秩序な複製エラーだけではなく、神経分化制御因子REST/NRSFを介した生物学的基盤により制御されていることを示唆するものである。このことはすなわち、将来的にREST/NRSFを分子標的として、加齢精子の予防法および治療法、診断方法の開発につながる可能性が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we found abnormal vocal communication during early postnatal in pup derived from aged father, compared to that derived from young father in C57BL/6J mice. To uncover the underlying molecular mechanisms, we planned research focusing on non-coding RNA in sperm, but could not be successfully implemented collaboration. In contrast, whole-genome target methylome analyses using sperm DNA and comprehensive gene expression analysis using developing forebrain identified enrichment of REST/NRSF (neuron-restrictive silencer factor) target genes. Taken together, REST/NRSF is suggested to be a key molecule in understanding the molecular neuropathology of mental and developmental disorders in children born to aged fathers.

研究分野：神経行動学

キーワード：父加齢 発達障害 精子 DNAメチローム解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの疫学研究より、父親の高齢化はその子供において様々な精神・発達障害のリスクを増大させることが報告されている。申請者らを含めていくつかの研究グループが、高齢の雄マウスの精子において DNA 低メチル化領域の存在を見出しているが、成体後の仔マウス脳の遺伝子発現との関連性が見出せていない。また一般的に、精子の DNA メチル化は受精後に能動的に消去されることから、精子の DNA 低メチル化がそのまま次世代のゲノムに継承されて表現系に影響する訳ではないと考えられており、現在までにその分子病態基盤は明らかにされていない。

2. 研究の目的

そこで本研究課題では、父親の高齢化による精子の DNA メチル化異常 (1 次要因) に起因した非コード RNA の発現変化 (2 次要因) が受精後の表現系に影響する可能性について検証することを目的とする。

また、上記した仔マウスの個別の遺伝子発現解析では成体脳を使用していたが、本研究課題では胎児脳の網羅的遺伝子発現解析を実施することにより、加齢精子の DNA メチローム解析との関連性について検証することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 若齢 (3 ヶ月齢) および高齢 (12 ヶ月齢以上) の C57BL6J 雄マウスの精巣上体尾部より採取した精子より抽出・精製した非コード RNA の網羅的遺伝子発現解析を実施する。また、若齢 (3 ヶ月齢) の C57BL6/J 雄マウスの精子および若齢 (3 ヶ月齢) の C57BL6/J 雌マウスの卵子から体外受精により受精卵を作成する。高齢 (12 ヶ月齢以上) の C57BL6J 雄マウスの精巣上体尾部より採取した精子より、非コード RNA を抽出・精製し、上記した受精卵の細胞質にマイクロインジェクションする。偽妊娠した ICR 雌マウスへ卵管移植して、妊娠・出産させる。生後 6 日目に体重測定して、母子分離に伴う超音波発声を測定する。その後、大脳皮質形成について組織解析を実施する。
- (2) 若齢 (3 ヶ月齢) および高齢 (12 ヶ月齢以上) の C57BL6J 雄マウスの精巣上体尾部より採取した精子からゲノム DNA を抽出・精製し、DNA メチローム解析を実施する。また、若齢 (3 ヶ月齢) および高齢 (12 ヶ月齢以上) の C57BL6J 雄マウスと若齢 (3 ヶ月齢) の C57BL6/J 雌マウスを交配し、胎齢 11.5 日齢および 14.5 日齢の雄マウス脳を用いて網羅的遺伝子発現解析を実施する。RNA-seq 解析を実施し、生命情報科学解析手法を用いてそれらの共通項を探索する。

4. 研究成果

- (1) 若齢 (3 ヶ月齢) および高齢 (12 ヶ月齢以上) の C57BL6J 雄マウスの精巣上体尾部より採取した精子より、非コード RNA を抽出・精製した。受精卵へのマイクロインジェクションについては共同研究先で実施する予定であったが、新型コロナウイルスの蔓延による県外行動制限等のために日程調整がうまくいかずに、結局、実施することが出来なかった。

(2) 若齢（3ヶ月齢）および高齢（12ヶ月齢以上）の C57BL6J 雄マウスの精子の DNA メチローム解析を実施し、16ヶ所の DNA 高メチル化領域および 96ヶ所の DNA 低メチル化領域を同定した。さらに、これらの領域のモチーフ解析より、DNA 低メチル化領域において神経分化抑制因子 REST/NRSF の結合サイトが高頻度に検出された（19/96）一方で、DNA 高メチル化領域では REST/NRSF の結合サイトは検出されなかった（0/16）。また、若齢（3ヶ月齢）および高齢（12ヶ月齢以上）の C57BL6J 雄マウス由来の胎児マウス脳の RNA-seq 解析では、胎齢 11.5 日齢および胎齢 14.5 日齢において、有意に発現増加/減少する遺伝子は同定できなかった。そのため、Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)を実施した。興味深いことに、高齢（12ヶ月齢以上）の C57BL6J 雄マウス由来の胎児マウス脳において発現増加する遺伝子群の中に神経分化抑制因子 REST/NRSF の標的分子が高頻度に検出されることを見出した。関連して、初期神経新生遺伝子群の発現低下と後期神経新生遺伝子群の発現増加が確認された。このような変化は胎齢 11.5 日齢では観察されなかった。以上より、父親の高齢化によるこどもの発達障害には、神経分化抑制因子 REST/NRSF が精子および胎児脳の共通した分子病態基盤である可能性があることを提唱した[1]。

<引用論文>

- [1] Yoshizaki K, Kimura R, Kobayashi H, Oki S, Kikkawa T, Mai L, Koike K, Mochizuki K, Inada H, Matsui Y, Kono T, Osumi N. Paternal age affects offspring via an epigenetic mechanism involving REST/NRSF. EMBO Rep. 2021 Feb 3;22(2):e51524.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshizaki Kaichi, Asai Masato, Nakayama Atsuo	4. 巻 163
2. 論文標題 A. Impaired social facilitation on voluntary exercise of BALB/cCrSlc mice, a proposed as an autism spectrum disorder model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 63-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.03006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshizaki Kaichi, Kimura Ryuichi, Kobayashi Hisato, Oki Shinya, Kikkawa Takako, Mai Lingling, Koike Kohei, Mochizumi Kentaro, Inada Hitoshi, Matsui Yasuhisa, Kono Tomohiro, Osumi Noriko	4. 巻 22(2)
2. 論文標題 Paternal age affects offspring via an epigenetic mechanism involving REST/NRSF.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 EMBO Reports	6. 最初と最後の頁 e51524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.202051524.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshizaki Kaichi, Asai Masato, Hara Taichi	4. 巻 12(7)
2. 論文標題 High fat diet enhances working memory in the Y-maze test in male 57BL/6J mice with less anxiety in the elevated plus maze test.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E2036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12072036.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 吉崎嘉一, 矢野敏史, 諸富勝成, 久保田拓海, 原太一	4. 巻 48(7)
2. 論文標題 酵母発酵にんにくのマウスの受精と初期胚発生に及ぼす影響の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 薬理と治療	6. 最初と最後の頁 1145-1150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 木村龍一、吉崎嘉一、大隅典子	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 エビゲノムの経世代影響	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 遺伝子医学	6. 最初と最後の頁 68-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Yoshizaki K, Tanaka M, Iida M.
2. 発表標題 Self-mirror image temporally enhanced voluntary exercise in C57BL/6J female mice
3. 学会等名 第44回日本神経科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshizaki K, Asai M, Nakayama A
2. 発表標題 Impaired social facilitation on voluntary exercise of BALB/cCrSlc mice, a proposed as an autism spectrum disorder model
3. 学会等名 第53回日本臨床分子形態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshizaki K, Asai M, Hara A
2. 発表標題 High-fat diet enhances working memory in the Y-maze test in male C57BL/6J with less anxiety in the elevated plus maze test.
3. 学会等名 第79回日本栄養・食糧学会中部支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉崎嘉一
2. 発表標題 Voluntary exercise of C57BL/6J male mice was enhanced in the presence of both conspecific C57BL/6J and heterospecific BALB/cCrSlc male mice.
3. 学会等名 第3回CIBoG名古屋リトリート
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉崎嘉一, 浅井真人, 原太一
2. 発表標題 不安様行動を示さないC57BL/6Jマウスは高脂肪食による記憶学習効果が高まる
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshizaki Kaichi Asai Masato, Nakayama Atsuo
2. 発表標題 Impact of primary sensory information on social facilitation of C57BL/6J mice
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshizaki K, Asai M, Nakayama A
2. 発表標題 Mere presence of observer enhances the wheel-running performance of C57BL6/J mice
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉崎嘉一
2. 発表標題 C57BL/6Jマウスの自発運動は観察マウスの存在により促進する
3. 学会等名 第9回自閉症学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshizaki K, Asai M, Nakayama A
2. 発表標題 Mere presence of observer enhances the wheel-running performance of C57BL6/J mice
3. 学会等名 第42回日本神経科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉崎嘉一
2. 発表標題 精神疾患研究の現状と食薬科学との融合
3. 学会等名 第3回食薬ヘルスイノベーション研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉崎嘉一
2. 発表標題 脳慢性脳低灌流はストレス脆弱性を引き起こす-血管性うつ病仮説の検証
3. 学会等名 第1回藤田医大合同研究
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshizaki K, Okuno A, Toyoda A, Asai M, Nakayama A.
2. 発表標題 Impaired social facilitation on voluntary exercise of BALB/c mice, a model of autism spectrum disorder.
3. 学会等名 第12回三大学交流セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshizaki K, Asai M, Koide T.
2. 発表標題 Impact of external environment on genetic drift: A novel proposal for biological evolution
3. 学会等名 第12回Nagoyaグローバルリトリート/ 第1回CIBoG
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	大歳 維知子 (西島維知子) (Ohtoshi Ichiko) (70600394)	東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・非常勤講師 (11301)	
研究 分担者	金子 武人 (Kaneko Takehito) (30332878)	岩手大学・理工学部・准教授 (11201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------