

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650232

研究課題名(和文)低重力環境は次世代のゲノムと形態を変化させるか？

研究課題名(英文) Does low-gravity environment change the genome and morphology in the living organisms?

研究代表者

本道 栄一 (Hondo, Eiichi)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：30271745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は擬似的な低重力環境を作出し、地球上で理論上の0.58gを実現することで、脊椎動物に及ぼす低重力の影響を明らかにするものである。ICR雄マウスを低重力環境下で2週間飼育したところ、その体重は、実験群と対照群で異なり、実験群で減少する傾向にあった。実験群と対照群の精巢でクロマチン免疫沈降によるゲノムDNAメチル化の状態を比較したところ(次世代シーケンシング)、18個の遺伝子の近傍もしくは内部に対するcontig配列が検出された。そのうちのいくつかは類推される機能として、アルツハイマー関連遺伝子だった。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify the effect of low-gravity on the vertebrates by mimicking its environment on the earth with realizing 0.58g. After the ICR mice were exposed to the low-gravity environment for 2 weeks, the weights of mice differed between the experimental group (low-gravity) and the control. They tended to decrease in the mice of the experimental group compared to the control. The methylation patterns of testicular genomic DNA in both groups were compared using chromatin immunoprecipitation method (ChIP), followed by the next generation sequencing. The contig-sequences by the sequencing corresponded to those inside or nearby 18 genes. Some of these genes are predicted Alzheimer related.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：実験動物学、実験動物学

キーワード：低重力 マウス エピジェネティクス 次世代効果

## 1. 研究開始当初の背景

### 獲得形質は遺伝するのか？

チャールズ・ダーウィンの弟子ワイスマンによれば「ラットの尾を 20 世代以上も切り続けたが、子孫の尾は短くならなかった。」(Weismann A, Essays upon Heredity Kindred Problems, 1889)。カンメラーは、陸棲サンバガエルを水中で飼育すると、そのうちのいくつかは水生生活に適応し、さらに水棲のカエルに特徴的な前肢の瘤が出現すると主張し、獲得形質は遺伝する証拠だとしたが、後にこの研究は否定された (Koestler A, The case of midwife Toad, 1972)。脊椎動物において獲得形質が遺伝するという証拠探しは古くから熱心に行われてきたが、その証拠はなかった。2005 年、Anway らは、内分泌攪乱物質のひとつ Vinclozolin をマウスに投与して起こした精子形成障害は、その後少なくとも 3 代後まで継続することを明らかにした (Anway MD, Nature, 2005)。さらに、ショウジョウバエを用いた実験で、親の受けたストレスが子に遺伝することが報告され (Seong K, Cell, 2011)、ここに至り、動物でも獲得形質が遺伝することが確実となった。

### どんな獲得形質が遺伝するのか？

ワイスマンやカンメラーの実験によれば獲得形質は遺伝しない。それでは、上で述べた Vinclozolin の実験とショウジョウバエの実験は何が異なるのか？ラットの尾を切っても、陸棲ガエルを水に沈めても、その情報は体細胞のみで受容され、生殖細胞とは共有されない。一方、Vinclozolin とショウジョウバエの実験では、動物の内分泌環境が変調し、その変調は体細胞と生殖細胞で共有される。つまり、「体細胞と生殖細胞で共有される外部刺激のみが、獲得形質として遺伝する原因である」という仮説を立てることが出来る。この仮説に基づけば、摂食した栄養(薬物)、気圧、重力などは、動物の形態変化を促し、かつ体細胞と生殖細胞が同様の変化を受けるので、引き起こされた形態変化は、獲得形質として次世代へ受け継がれる可能性が高い。

## 2. 研究の目的

動物で、獲得形質が遺伝するという事象は受け入れられつつある。しかし、どのような形質が遺伝し、どのような形質が遺伝しないのかについては理論がない。申請者は、「体細胞も生殖細胞も同様に暴露される刺激によって変化した形質のみが遺伝する」という仮説を立てた。例として、栄養、気圧、電磁波、重力が挙げられる。人類はいずれ宇宙空間に生活圏を持つと考えられるから、本研究では、

重力の変化は動物のゲノムに変化を及ぼすのか、ゲノム変化を伴った形態変化は獲得形質として遺伝するのか、どのようなゲノム変化が遺伝するのかについて調査する。現在、超伝導ハイブリッド電磁石により、地球上でも生物が感知する重力を減じることが出来る。今回は、重力加速度 0.58 g に暴露したマウスのゲノム変化を網羅的に検出する。

## 3. 研究の方法

まず、超伝導磁石を用いて 0.58g の低重力環境を作った(図 1)。

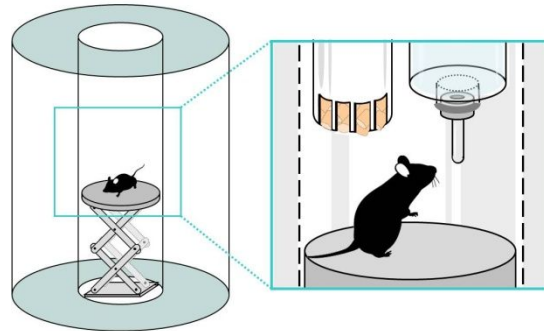


図 1

図 1 の円筒が超伝導磁石である(物質・材料研究機構にて。茨城県つくば市)。磁石の内部の磁力は同一であるが、磁場勾配が異なる。磁場勾配によってマウス体内のすべての水分子が揚力を受けるが、円筒中のマウスの高さによっては全く揚力を受けない位置が存在する。その位置を対照群とし、最も強い揚力(0.42 g)を受ける高さを実験群とした。マウスは餌と水を自由摂取できるようにし、室温で 2 週間飼育した。低重力暴露終了後、マウスは物質・材料研究機構から名古屋大学へ輸送し(新幹線)、到着後直ちに材料を採集した。マウスの飼育設備を円筒内に設置後、1 週間目に清掃等を行い、体重測定を行った。2 週間後に 1 回目の予備実験の後、2 回の本試験を行った。

2 回目の材料について、精巢を取り出し定法に従い、DNA を抽出、断片化後、抗メチル化シトシン抗体を用いたクロマチン免疫抗体法によりメチル化 DNA を回収した。回収した DNA は、次世代シーケンシングにより解析を行った。

## 4. 研究成果

低重力暴露の本試験 2 回の体重測定を行った結果は以下の通りである(表の形式上、次ページへ)。

1 回目	暴露前	1 週間後	2 週間後
低重力群	23.0g	17.0g	16.0g
対照群	22.0g	20.0g	死亡

2 回目	暴露前	1 週間後	2 週間後
低重力群	28.1g	19.8g	15.2g
対照群	28.8g	26.2g	24.4g

以上の結果から、低重力暴露群では体重が減少する傾向にあると思われた。

次世代シーケンシングの結果、得られた配列を average coverage 値で選抜したところ、両者間で存在比が 100 倍以上の contig 配列は 18 個であり、そのうち 6 個は対照群には一切存在しなかった。また、対照群の存在比の方が実験群より高い配列は 1 つだけ検出された。これら contig 配列はすべて遺伝子内もしくは 5' 側もしくは 3' 側の第一もしくは最終エクソンから 1 kb 以内の遺伝子近傍の配列だった。また 18 個のなかにはアルツハイマー関連遺伝子も含まれた。現時点では 18 個の遺伝子のうち、いくつが次世代でも引き継がれて修飾を受けるのかは不明であり、今後の調査が待たれる。

18 個の遺伝子の存在比は以下の通りである。

	低重力	対照
遺伝子 A	128.8115	0
遺伝子 B	95.16244	0.526227
遺伝子 C	71.74177	0
遺伝子 D	90.77694	0
遺伝子 E	110.2017	0
遺伝子 F	70.52932	0
遺伝子 G	69.5514	2.38162
遺伝子 H	92.91865	0
遺伝子 I	142.282	0.844408
遺伝子 J	0.47327	226.8475
遺伝子 K	150.0802	0.882583
遺伝子 L	127.6179	0.213836
遺伝子 M	136.6389	0.978703
遺伝子 N	465.2563	1.335714
遺伝子 O	54.47941	0.441903
遺伝子 P	74.6055	0.188729
遺伝子 Q	151.9172	0.915976
遺伝子 R	233.379	2.016886

## 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 2 件)

The contribution of leukemia inhibitory factor (LIF) for embryo implantation differs among strains of mice. Kobayashi R, Terakawa J, Kato Y, Azimi S, Inoue N, Ohmori Y, Hondo E. Immunobiology 2014(in press) 査読あり

The complete control of murine pregnancy from embryo implantation to parturition. Terakawa J, Watanabe T, Obara R, Sugiyama M, Inoue N, Ohmori Y, Hosaka YZ, Hondo E. Reproduction. 2012 Mar;143(3):411-5. 査読あり

〔学会発表〕(計 6 件)

*In vivo* エレクトロポレーション法を用いたマウス子宮内膜への遺伝子導入、小林・早川・井上・大森・本道、日本畜産学会、2013 年 9 月 9 日、新潟大学

インターロイキン 6(IL-6)ファミリーの相互補完によるマウス胚着床の制御、小林・大森・井上・寺川・本道、日本獣医学会学術集会、2013 年 3 月 29 日、東京大学

Role of LIF/STAT3 signaling pathway for maintenance of the endometrium in non-pregnant mice. Suga/Terakawa/Sugiyama/Ohmori/Inoue/Hondo, The 4<sup>th</sup> Congress of Asian Association of Veterinary Anatomist, 25 October 2012, Phuket, Thailand.

The regulation of embryo spacing by Ihh, BMPs and Wnts in murine uterus. Kobayashi/Terakawa/Ohmori/Inoue/Hondo, The 4<sup>th</sup> Congress of Asian Association of Veterinary Anatomist, 25 October 2012, Phuket, Thailand.

Involvement of Cxcl1 and Olfm1 in murine embryo implantation. Nii/Terakawa/Ohmori/Inoue/Hondo, The 4<sup>th</sup> Congress of Asian Association of Veterinary Anatomist, 25 October 2012, Phuket, Thailand.

The effect of IL-11 and CNTF on embryo implantation. Tajima/Terakawa/Ohmori/Inoue/Hondo, The 4<sup>th</sup> Congress of Asian Association of Veterinary Anatomist, 25 October 2012, Phuket, Thailand.

以上、発表者は名前の前に

〔図書〕(計1件)

本道栄一(山本雅子、谷口和美監訳)、緑書  
房、2014、504(309-342)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

本道栄一(EIICHI HONDO)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科  
教授  
研究者番号: 30271745

### (2) 研究分担者

廣田憲之(NORIYUKI HIROTA)  
物質・材料研究機構・先端的共通技術部  
門 主任研究員  
研究者番号: 10302770

大松 勉(TSUTOMU OMATSU)  
東京農工大学・農学部 講師  
研究者番号: 60455392