

4 ビタミンC欠乏による精子エピゲノム異常とその遺伝性 一柳 健司

【目的】 ビタミン C (アスコルビン酸) は霊長類では生合成することができない必須の栄養素で、ビタミン C が欠乏すると、疲労や筋肉低下に始まり、さらに長期間欠乏状態が続くと壊血病を引き起こし死亡する。このように、ビタミン C は本人の健康維持に必須であるが、ビタミン C 欠乏が次世代に影響を与える可能性はあまり意識されていない。本研究の目的は、父親のビタミン C 摂取が不足することにより、その後生まれてくる子供に影響があるかどうか、あるとすれば、どのような作用機構によるのかを理解することである。細胞における遺伝子発現はエピジェネティックな機構によって制御されており、その機構には DNA メチル化やヒストン・タンパク質のメチル化に関わることが知られている。これらの修飾は動的であり、メチル化酵素と脱メチル化酵素のバランスによって絶妙にコントロールされているが、脱メチル化酵素は活性にビタミン C を必要とする。培養細胞レベルではビタミン C の過剰投与によって脱メチル化反応が亢進し、欠乏させると脱メチル化反応が減弱する(結果的に DNA やヒストンのメチル化が増える)ことが知られている。オスの生殖細胞の発生過程でも多くの DNA 脱メチル化反応とヒストン脱メチル化反応が行われており、ビタミン C がないと正常なエピジェネティック修飾(総体としてエピゲノムという)を持つ精子が形成されないと考えられる。そのような異常なエピゲノムを持つ精子から生まれた子供の発生が異常になる、あるいは、健康を維持できない可能性を明らかにすることは、エピゲノムの遺伝性という生命科学の観点からも、親世代の健康管理による子供世代の健康増進という公衆医療の観点からも重要である。

【方法】 ヒトと異なり、マウスはビタミン C を合成する能力を持つので、ビタミン C 合成経路の酵素の一つをコードする SMP30 遺伝子をノックアウトしたマウス (SMP30-KO) を用いて、ビタミン C を含まない餌を与え、1.5 g/L のビタミン C を含む水あるいは含まない水を与えることでビタミン C 供与群と欠乏群のマウスを作成した。3 ヶ月間ビタミン C を欠乏させたのち、精巣から各ステージの生殖細胞を回収し、mRNA-seq、免疫染色、BS-seq を行った。

【結果】 ビタミン C が欠乏しても顕微鏡像やフローサイトメトリーで見える限りは生殖細胞の発生に大きな影響を与えているようには見えなかった。しかし、トランスクリプトームにおいては、どの発生ステージでも数百の遺伝子の発現が変化しており、発現変動遺伝子のリストから、発生がやや遅れていることが示唆された。また、免疫染色の解析から、パキテン期精母細胞においてヒストン脱メチル化酵素によって H3K9me2 の修飾は、ビタミン C 欠乏群でも健常と同じく激減するが、円形精子細胞において H3K9me2 の低い状態が維持されていないことが明らかとなった。さらに精子 DNA を BS-seq で解析したところ、約 3,000 のゲノム領域で高メチル化がみられ、特に CpG アイランドで顕著であった。このことは、精子形成過程において Tet タンパク質群による DNA 脱メチル化反応が起きており、ビタミン C 欠乏によって、脱メチル化反応が不全になっていることが示唆される。今後、このような生殖細胞のエピゲノム異常が子供に伝わるかどうか、また表現型に影響を与えるかどうかについて、引き続き研究を進めていきたい。

研究の概略図：父親のビタミン C 欠乏による生殖細胞や次世代への影響を明らかにする

