

## 研究目的

### [背景]

近年のトキシコゲノミクス研究によって、種々の環境化学物質が遺伝子発現を変化させることにより生体に悪影響を及ぼすことが明らかにされてきた。その遺伝子発現変化のメカニズムとしては、もっぱら転写因子機能や遺伝子の塩基配列の変化が研究されている。このようなこれまでの遺伝子機能研究すなわちジェネティクスに対して、「外」を意味するエピという語を冠したエピジェネティクスの重要性が最近急速に明らかにされつつある。エピジェネティクス作用のメカニズムは、遺伝子(DNA)のメチル化とDNAを支持しているヒストンのメチル化やアセチル化による遺伝子発現調節である。エピジェネティクス変異は通常のジェネティクス変異より頻度高くおこることから、近年のアレルギー増加の例にみられるようなヒトの健康状態の急速な変化に関与すると考えられる。さらにエピジェネティクス作用による後天的な遺伝子修飾は細胞内で蓄積して個体内の後発的な影響として現れることや、また細胞世代を超えて引き継がれ経世代影響の原因となることも明らかにされている。

### [必要性・緊急性・目的]

最近、環境汚染物質の中で無機ヒ素化合物とダイオキシンがエピジェネティクス作用による後発的な悪影響を及ぼしうることが示唆されている。無機ヒ素による地下水汚染は現在アジアをはじめとした世界各国で慢性中毒の原因となっており、早期の影響検出や影響予測が必要である。またダイオキシン類もなお監視が必要な残留性環境汚染物質で、1日耐用摂取量(TDI)の見直し作業が続けられている。特に発がんにおいてはエピジェネティクス作用が重要な比重を占めることが明らかにされつつあり、ヒ素による発がんにもエピジェネティクス作用の関与が示唆されている。またダイオキシン類は後発影響や経世代影響が示唆され、エピジェネティクスの関与が考えられる。これまで見落とされていたエピジェネティクス作用が明らかにされることにより影響検出や影響予測が大きく進歩することが予想されるが、環境化学物質のエピジェネティクス作用の検討はまだ十分に行われていない。

### [目的]

本提案では、無機ヒ素とダイオキシンのエピジェネティクス作用について、実験動物において高感受性期や臓器・細胞特異性、標的遺伝子、および後発・経世代影響を明らかにする。さらに影響検出指標のヒトへの応用のため、影響のメカニズムとその動物種差について検討し、環境化学物質の後発・経世代影響を評価するための科学的基盤を明らかにすることを目的とする。

### [環境研究における位置づけ]

これまで不明であった無機ヒ素やダイオキシン類の後発・経世代影響を含むエピジェネティクス作用を明らかにすることによって、アジア諸国や世界各国で深刻な環境問題となっている無機ヒ素汚染による健康影響の検出や予測・予防、およびダイオキシン類のTDIの設定を通じた悪影響の予防に貢献する。さらに、近年急増し、環境汚染物質の関与も示唆されているアレルギー疾患の増悪などにエピジェネティクスの関与が報告されていることから、近年のヒトの健康の変化に対する環境化学物質の関与を、新たなアプローチによって明らかにする端緒となることが期待される。

研究予算

(単位：千円)

	H19	H20	H21	H22
サブテーマ(1)	17,000	17,000	17,000	17,000
サブテーマ(2)	3,000	3,000	3,000	3,000
合計	20,000	20,000	20,000	20,000

総額 80,000 千円

## 研究内容

申請者らは平成16-18年度特別研究「トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康・生物影響評価法の開発に関する研究」において、ヒ素やダイオキシン類を含む環境化学物質が転写因子への影響を介して免疫系に及ぼす影響の検出法に関して研究を行っている。本研究では、さらにヒ素やダイオキシン類のエピジェネティクス作用に関して、標的となる曝露時期、臓器および標的遺伝子を実験動物で明らかにし、その遺伝子の作用の後発・経世代影響への関与を明らかにする。また、ヒ素やダイオキシン類のエピジェネティクス作用のメカニズムや、感受性の動物種差の検討を行う。

### サブテーマ：

#### (1) 環境化学物質のエピジェネティクス作用に対する高感受性期、臓器特異性および後発・経世代影響

1-1) 無機ヒ素のエピジェネティクス：無機ヒ素は肝臓においてエピジェネティクス作用を介して癌を作ることが示唆されているが、エピジェネティクス作用には顕著な臓器特異性があることが知られている。本研究では無機ヒ素を飲水または胎盤経由等の方法で最大2年までマウスに投与し、肝臓、腎臓、脾臓、肺、子宮、脳について、経時的に、これまでにメチル化修飾を受けることが報告されている遺伝子のDNAメチル化解析、遺伝子発現解析、および影響検出のための病理学的検査を行う。またより短時間でヒ素のエピジェネティクス作用を検出できる動物実験系を検索する。さらに顕著な影響が見られた臓器について、最近開発されたタイリングアレイを用いてDNAメチル化やヒストンアセチル化の網羅的解析を行い、ヒ素曝露でエピジェネティクス作用を受け、エピジェネティクス作用の指標となる遺伝子を明らかにする。以上の検討によって、ヒ素による各臓器への後発影響とエピジェネティクス作用の関与や高感受性時期を明らかにし、またエピジェネティクス毒性の指標となる遺伝子を明らかにする。

さらに経胎盤曝露された雌雄それぞれのマウスから生まれる仔についても、各臓器のDNAメチル化解析を行い、経世代影響を明らかにする。

1-2) ダイオキシンのエピジェネティクス：ダイオキシンのエピジェネティクス作用は細胞培養系で示されているのみで、動物実験での結果は報告されていない。そこで経胎盤や経口投与等でダイオキシンを投与し、実験動物においてもエピジェネティクス作用が見られるかどうかを検討する。エピジェネティクス作用を検出した臓器については、無機ヒ素での検討と同様に臓器への影響とエピジェネティクス作用の関与や高感受性時期を明らかにし、また経世代影響を明らかにする。

#### (2) 環境化学物質のエピジェネティクス作用のメカニズムと感受性の動物種差

ヒ素およびダイオキシンのDNAメチル化酵素やヒストンアセチル化・脱アセチル化酵素への影響、および体内でのヒ素のメチル化がDNAと共通のメチル基供与体、S-アデノシルメチオニン(SAM)を消費することによるDNAメチル化への影響を、マウスや細胞株で解析し、環境化学物質のエピジェネティクス作用のメカニズムを検討する。これらの因子や転写因子・コファクターに関してマウスとヒトの細胞(細胞株およびリンパ球)において感受性の種差に関与する因子を検索する。