

# 博士論文要旨

## 低濃度メチル水銀曝露による神経分化への影響と 分子メカニズムに関する研究

郷 すすな

現在の日本で水俣病のような、成人に影響を与える高濃度のメチル水銀 (MeHg) 汚染はない。しかしながら自然界では依然として MeHg は存在しており、ごく微量ではあるが食物連鎖により魚類へ蓄積される。ヒトへの曝露は、このような MeHg が生物濃縮された大型魚類の摂取による、日常生活での低濃度曝露が大部分であると考えられる。これまでに胎生期 MeHg 曝露が認知機能に影響を及ぼすことが示唆されており、胎児における低濃度の MeHg 曝露影響が懸念されている。しかしながら、MeHg の胎生期曝露影響に関する実験的報告はほとんどなく、その毒性メカニズムは不明である。近年、胎生期における化学物質曝露影響にエピジェネティクスが関与していることが示唆されている。エピジェネティクスとは DNA 配列に変化を起こさず、細胞分裂を経て伝達される遺伝子の変化やその仕組みのことである。胎生期は大規模なエピジェネティクス変化が起こる時期であり、感受性が高い。そこで、妊娠マウスを用いた *in vivo* 実験系とヒト胎児中脳由来不死化細胞 (LUHMES 細胞) を用いた *in vitro* 実験系を用いて神経分化期低濃度 MeHg 曝露が神経機能に与える影響、およびその分子メカニズムをエピジェネティクスに焦点をあてて検討し、以下の成果を得た。

### 1. 神経分化期低濃度 MeHg 曝露による神経突起伸長への影響およびエピゲノム解析

胎生期の低濃度 MeHg 曝露がヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の発現増加を介したヒストン H3 のアセチル化の減少および DNA メチル基転移酵素 (DNMT) の発現増加を介した DNA メチル化の増加により、神経突起伸長の抑制を引き起こすことを明らかにした。またこれらのエピゲノム変化により発現変動を受ける可能性のある遺伝子として *TH* および *NR4A1* を明らかにした。

## 2. 神経分化期低濃度 MeHg 曝露による *TH* のエピゲノム解析

LUHMES 細胞において神経分化期 MeHg 曝露によって細胞生存率に影響の出ない濃度での *TH* の発現減少にプロモーター領域における転写抑制関連修飾であるヒストン H3K27 のトリメチル化の増加が関連することが示唆された。

## 3. 神経分化期低濃度 MeHg 曝露による *NR4A1* のエピゲノム解析

LUHMES 細胞における神経分化期低濃度 MeHg 曝露によって、*NR4A1* のプロモーター領域において、DNA メチル化の増加および転写活性関連のヒストン修飾であるヒストン H3K14 のアセチル化の減少が生じ、*NR4A1* の発現が低下した。さらに、*NR4A1* プロモーター領域における CREB および CBP の動員が阻害された。以上の結果より、MeHg が *NR4A1* のプロモーター領域への CREB-CBP 複合体の動員を阻害し、ヒストン H3K14 のアセチル化の減少を介して *NR4A1* 発現抑制に関連する神経機能を障害することが示唆された。

以上より、本研究によって神経分化期における低濃度 MeHg 曝露が複数のエピゲノム変化を介して神経機能に影響を与えるというエピジェネティックメカニズムの一端が解明された。

### 【略語】

CBP: CREB binding protein

CREB: cAMP response element binding protein

DNMT: DNA Methyltransferase

HDAC: Histone Deacetylase

NR4A1: Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 1

TH: Tyrosine Hydroxylase

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	郷 すすな ( 三重県 )
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第 3 9 号
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	低濃度メチル水銀曝露による神経分化への影響と分子メカニズムに関する研究
論文審査委員	(主査) 五十里 彰
	(副査) 檜井 栄一
	(副査) 松丸 大輔

近年、胎児への低濃度メチル水銀（MeHg）曝露の影響が懸念されているが、その毒性メカニズムは不明である。胎生期における化学物質曝露の影響にエピジェネティクスが関与することが示唆されている。そこで本研究では、*in vivo* 実験系および *in vitro* 実験系を用いて、神経分化期における低濃度 MeHg 曝露が神経機能に与える影響とその分子メカニズムをエピジェネティクスに焦点をあてて検討した。その結果、胎生期の低濃度 MeHg 曝露がヒストン脱アセチル化酵素の発現増加を介したアセチル化ヒストン H3 の減少および DNA メチル化酵素の発現増加を介したメチル化 DNA の増加や神経突起伸長の抑制を引き起こすことを明らかにした。また、ヒストン H3K27 のトリメチル化の増加を伴って、チロシンヒドロキシラーゼの発現が減少することが示唆された。さらに MeHg 曝露によって神経スパイク活性が減少し、この機能障害に *NR4A1* プロモーター領域への CREB-CBP 複合体の結合阻害を介した *NR4A1* の転写抑制が関連することが示唆された。

以上より、本研究は神経分化期における低濃度 MeHg 曝露が複数のエピゲノム変化を介して神経機能に影響を与えるという新たな機序を見出したもので、博士（薬科学）の論文として価値あるものと認める。