

## 特集 1 発達障害研究最前線—細胞から臨床まで—

1. 父加齢による次世代発達障害リスク：  
精子エピ変異への着目

大隅 典子\*

**抄録：**本稿では、近年増加の一途をたどる自閉スペクトラム症などの神経発達障害の病因の理解のために、「精子の老化」に着目する。精子細胞は、生命の起源としてゲノムの半分を供給するだけでなく、DNAのメチル化、ヒストン修飾、マイクロRNAなどのエピジェネティックな変化（エピ変異）を持ち込むことによって付加的な情報を伝達しうる。実際、筆者らはマウスをモデルとして、父親の加齢に伴い生じる精子DNAの低メチル化が次世代の神経発生に影響する分子機構について明らかにした。精子に生じるエピジェネティックな変化（エピ変異）がどのように次世代の病気や障害を引き起こすのかについての理解は、神経発達障害の新たな治療法や予防法の開発に資するものである。

日本生物学的精神医学会誌 33 (2) : 44-47, 2022

**Key words :** neurodevelopmental disorders, paternal aging, transgenerational epigenetics, DNA methylation of sperm, epi-mutation, corticogenesis, REST/NRSF

## はじめに

少子高齢化が進む日本において、さらに知的障害や自閉スペクトラム症 (ASD) などの発達障害児が増加していることは、将来の働き手のさらなる減少につながる喫緊の課題である。米国の ASD 発症率は 1975 年から 2009 年の間に 1/5,000 から 1/110 に増加し、最近の報告では 1/54 と見積もられている。ASD の急激な増加の理由として、1980 年代に確立した診断基準が、その後、より軽度の ASD を含むように拡大されたことが挙げられることが多い。また、ASD に対する社会的認知度が高まり、専門家の診断を受けることが増加することにより ASD と認定されるケースが増えたことも一因である。ASD の遺伝一致率が高いことから、ASD にかかわる遺伝子やコピー数変異などについての研究は数多くなされており、1,000 を超える数の遺伝子が ASD データベースに登録されている。一方、さまざまな疫学研究から、母親の感染、薬物曝露、低栄養などの関与も指摘される。本稿では、世界的にみてもまだ認知度の少ない両親の年齢、特に父親の年齢というリスク因子に着目し、そのエピジェネティックな分子メカニズムについて論じたい。

## 1. 父加齢の次世代への影響

出産年齢は、社会経済的な問題と関連しており、子どもの教育年数が長くかかりコストが高いことによって、若い世代が子どもをもちにくいことが指摘されている。近年増加している生殖補助医療もまた、出産年齢を引き上げることに繋がっている。一般的に知られるように、加齢とともに生殖能力や生殖細胞の質は低下し、出産年齢の高齢化は、妊娠率の低下、流産のリスクの増加、子どものさまざまな病気や障害のリスクの増加につながることが知られている。直径 100 ミクロンの卵細胞は、ミトコンドリア、mRNA、タンパク質など、受精後に細胞分裂を開始して発生するためのあらゆる要素を備えている。これに対し、頭部が数ミクロンしかない精子は、子宮から卵管を泳いで、父方のハプロイドゲノムを卵に届けることに特化した細胞である。巷では「卵子の老化」が人口に膾炙しているのに比して、「精子の老化」については、これまで生殖能力の低下や流産率の上昇という文脈でのみ注目されてきた。だが実際には、精子の老化もまた次世代の表現型に影響を及ぼす可能性がある。

親の年齢と発達障害や ASD のリスクについては

Risk of developmental disorders in the next generation due to paternal aging focusing on sperm epimutation.

\* 東北大学大学院医学系研究科 (〒 980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1) Noriko Osumi : Tohoku University Graduate School of Medicine. 2-1, Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan

【大隅 典子 E-mail : osumi@med.tohoku.ac.jp】

繰り返し報告されてきた。例えば、世界5カ国、計5,766,794人の研究をまとめたメタ解析<sup>13)</sup>では、20代の母親と父親の間に生まれた子どものASDリスクを1とすると、40代の母親と父親の間に生まれた子どもではそれぞれ1.15, 1.28に上昇し、さらに50代の父親では1.66に上昇する。すなわち、父親の年齢は母親の年齢よりも強く影響する。また、81報のシステマティック・レビューでは、父親の加齢や喫煙が低体重出生や在胎不当過小 (small for gestational age : SGA) に相関する<sup>8)</sup>。さらに父親の加齢は、ASDだけでなく、精神遅滞や統合失調症とも関連があるという報告もある。

## 2. 精子細胞の老化の影響

胎児期に作られて排卵まで卵巣に残る卵母細胞とは異なり、精子は日々、幹細胞から作られており、何年も精巣に残ることはないため、「精子の老化」という言葉に疑問を持つ方もいるだろう。しかし、精子形成の1サイクルは、ヒトでは約74日、マウスでは約35日かかり、複雑な過程により1個の精子幹細胞から数千個の精子細胞が生まれるため、加齢によってさまざまな影響を受ける可能性がある。

精子細胞が膨大な細胞分裂によって産生されるということは、DNA複製時にコピーエラーが発生しやすいことを意味し、それが「*de novo* 変異」として次世代に受け継がれる可能性がある。実際、ASD患者にみられる*de novo* 変異の多くが父親に由来し、精子の*de novo* 変異は年齢の上昇とともに蓄積されていく<sup>6, 12)</sup>。しかしながら、父方の*de novo* 変異が子どもの精神疾患のリスクに寄与する程度は比較的低いことが報告された<sup>1, 15)</sup>。

精子を介して伝達されるのは、ゲノム情報だけではない。DNAメチル化、ヒストン修飾、低分子RNAなどのエピゲノム情報も子孫の表現型に影響を与える可能性が示されている。これらのエピジェネティックな因子のうち、体細胞でもっともよく研究されているのがDNAメチル化であり、世代を超えた影響に中心的な役割を果たしていると考えられている。例えば、不妊症の男性では精子のDNAメチル化パターンが変化しており、喫煙や環境ホルモンなどの要因で変化しやすいことが報告されている<sup>4)</sup>。米国で行われたASDの子どもとその家族を対象とした長期研究では、精子ゲノムのメチル化差領域 (differentially methylated region : DMR) が、生後12カ月時点での乳児用ASD観察尺度の成績と

関連しており、これらのDMRの一部は、ASD患者の脳細胞に実際に認められることが示された<sup>2)</sup>。

マウスでは、精子ゲノム中のCpG配列の約90%が、一部のCpG局在化した低メチル化を除いて、ほぼ均一に低メチル化されている<sup>10)</sup>。筆者のグループは、ヒトの40代後半から50代に相当する加齢マウスの精子DNAのメチル化状態をゲノム全体にわたって解析し、若いマウスの精子DNAに比べて低メチル化領域が多いことを明らかにした<sup>17)</sup>。これらの低メチル化領域の共通点を解析したところ、特定のタンパク質が結合するDNA配列が見つかった。このタンパク質は、RE1-silencing transcription factor (REST)、別名 neuron-restrictive silencer factor (NRSF) とよばれ、神経発生の重要な役割を担っており、RESTの機能障害は、ヒトとマウスの両方で小頭症を引き起こす<sup>16)</sup>。また、加齢父由来マウス胎仔脳では、発生プログラムに異常がみられ、「後期胎児期の遺伝子」の発現が上昇して神経発生が早まっていることが示唆されるとともに、興味深いことに、RESTの標的遺伝子の発現上昇も明らかになった<sup>7)</sup>。したがって、精子形成時の加齢に伴うDNAメチル化低下が、神経発生関連遺伝子群、特にREST/NRSFタンパク質が結合する遺伝子群の機能異常につながり、その結果、加齢父マウス由来の仔マウスでは脳の構造が変化し、発達障害様の表現型が生じるというシナリオが考えられる。

## 3. ヒストン修飾と低分子RNA

DNAのメチル化に加えて、ヒストンタンパク質やノンコーディングRNAの化学修飾も遺伝子発現を制御する。ヒストンタンパク質にメチル基やアセチル基を付加するヒストン修飾は、DNAメチル化と相互作用することが知られる。加齢に伴ってDNAメチル化が変化すると、相互に作用するヒストン修飾にも影響が及ぶと考えられる (詳しくは文献<sup>9)</sup> 参照)。筆者らは、マウスの精巣を免疫組織学的に解析し、雄性生殖系列細胞のヒストン修飾パターンが、精子形成時にダイナミックに変化し、加齢とともに変化することを報告している<sup>14)</sup>。

精子形成時には、精子細胞の核を小さなスペースに詰める必要があり、ほとんどのヒストンがプロタミンで置換されるため、ヒストンの修飾は問題にならないとみなされることが多い。しかし実際には、マウスやヒトの精子細胞では、プロタミンで置換されても少量のヒストンが残っている<sup>3, 5)</sup>。したがって、精子形成時の加齢に伴うヒストン修飾の変化が

精子細胞に継承され、次世代の遺伝子発現の制御に影響を与える可能性がある。実際、筆者らは、マウスの精子での知見と同様に、加齢男性のヒト精子は特定のヒストン修飾レベルが高いという予備的な証拠を得ている（未発表）。

さらに、非翻訳型マイクロ RNA (miRNA) の発現様態は、父親の環境に応じて変化することが知られている。例えば、食事や運動によって、精子中の miRNA の発現レベルが変化し、娘のインスリン感受性に影響を与える<sup>7)</sup>。したがって、加齢による生活習慣や体調の変化が、これらのエピゲノム因子の持続的な変化を引き起こす可能性があるとして改めて考えられる。

以上のことから、加齢は、DNA のメチル化、ヒストンの修飾、その他のエピゲノム因子など、複数の方法で精子形成に影響を与え、その結果、子孫の成長過程で遺伝子発現がわずかに変化することが明らかになった。DNA メチル化低下の場合、影響を受けるゲノム領域は神経系とその機能に関連していると考えられ、父親の加齢が脳の発達における転写プログラムに影響を与える可能性が示唆される。上述のように、父親の精子の DNA メチル化の変化は、ASD の子孫の死後の脳における同様の変化に対応している<sup>2)</sup>。このようなエピジェネティックな変化（エピ変異）は、個々の精子細胞間で非常に多様である可能性があり、ASD の多様な症状を説明できるかもしれない。

## おわりに

ASD などの神経発達障害がたかだか数世代の間で急激に増加した原因は、ヒト集団の遺伝子の変化とは考えにくく、父親の加齢に伴う種々のエピ変異によって引き起こされている可能性のほうがはるかに高い。もしそうであれば、どのように精子のエピ変異が次世代の病気や障害を引き起こすのかについてより深く理解することにより、新たな治療法や予防法の開発につながることが期待される。例えば、葉酸は DNA のメチル化の調節に関与しているため、妊娠中に葉酸を補給することで ASD のリスクが低減するという報告があるが<sup>7, 10)</sup>、父親の葉酸摂取の効果を調べることも重要であろう。また、生殖補助医療を利用する際に精子細胞のエピ変異を改善できれば、次世代の疾患リスクを減らすことができるかもしれない。

現在、多くの国において不妊治療に公的医療制度が適用され、日本政府も少子化対策の一環として、

医療保険の適用を含めた不妊治療支援の拡大を開始し、職場における不妊治療への配慮も進みつつある。このような生殖補助医療の成功と需要の高まりがある一方、生殖補助医療は親の平均年齢を上げ、結果として次世代の疾病リスクを高めていることについて、より知られるべきである。社会におけるニューロダイバーシティへの理解を啓発することは喫緊の重要な課題であるが、並行して、若い世代の家族を支援するための社会的インフラを構築し、人々が若いうちに子どもをもつことを奨励することのほうが、より重要かつ効率的かもしれない。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。

## 謝辞

本稿のもとになった研究は、文部科学省 科学研究補助金 新学術領域研究 (16K21229) およびキヤノン財団研究助成プログラム「善き未来をひらく科学技術」(2020 年度採択) の助成によって遂行され、AMED 疾患メカニズムプロジェクト (JP21wm0425003) につながりました。心より感謝いたします。なお、本稿に関して開示すべき利益相反はありません。

## 文 献

- 1) Gratten J, Wray NR, Peyrot WJ, et al (2016) Risk of psychiatric illness from advanced paternal age is not predominantly from de novo mutations. *Nat Genet*, 48 (7) : 718-724.
- 2) Feinberg JI, Bakulski KM, Jaffe AE, et al (2015) Paternal sperm DNA methylation associated with early signs of autism risk in an autism-enriched cohort. *Int J Epidemiol*, 44 (4) : 1199-1210.
- 3) Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, et al (2009) Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature*, 460 : 473-478.
- 4) Jenkins TG, James ER, Alonso DF, et al (2017) Cigarette smoking significantly alters sperm DNA methylation patterns. *Andrology*, 5 : 1089-1099.
- 5) Jung YH, Sauria MEG, Lyu X, et al (2017) Chromatin states in mouse sperm correlate with embryonic and adult regulatory landscapes. *Cell Rep*, 18 : 1366-1382.
- 6) Kong A, Frigge ML, Masson G, et al (2012) Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*, 488 (7412) : 471-475.
- 7) Levine SZ, Kodesh A, Viktorin A, et al (2018) Association of maternal use of folic acid and multivitamin

- supplements in the periods before and during pregnancy with the risk of autism spectrum disorder in offspring. *JAMA Psychiatry*, 75 (2) : 176-184.
- 8) Oldereid NB, Wennerholm UB, Pinborg A, et al (2018) The effect of paternal factors on perinatal and paediatric outcomes : a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 24 (3) : 320-389.
  - 9) Osumi N and Tatehana M (2021) Transgenerational epigenetic information through the sperm. *EMBO Rep*, 22 (8) : e53539.
  - 10) Popp C, Dean W, Feng S, et al (2010) Genome-wide erasure of DNA methylation in mouse primordial germ cells is affected by AID deficiency. *Nature*, 463 (7284) : 1101-1105.
  - 11) Raghavan R, Riley AW, Volk H, et al (2018) Maternal multivitamin intake, plasma folate and vitamin B<sub>12</sub> levels and autism spectrum disorder risk in offspring. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 32 (1) : 100-111.
  - 12) Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, et al (2012) De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 485 (7397) : 237-241.
  - 13) Sandin S, Shendel D, Magnusson P, et al (2016) Autism risk associated with parental age and with increasing difference in age between the parents. *Mol Psychiatry*, 21 (5) : 693-700.
  - 14) Tatehana M, Kimura R, Mochizuki K, et al (2020) Comprehensive histochemical profiles of histone modification in male germline cells during meiosis and spermiogenesis : Comparison of young and aged testes in mice. *PLOS One*, 15 : e0230930.
  - 15) Taylor JL, Deboset JPG, Morton SU, et al (2019) Paternal-age-related de novo mutations and risk for five disorders. *Nat Commun*, 10 (1) : 3043.
  - 16) Yang YJ, Baltus AE, Mathew RS, et al (2012) Microcephaly gene links trithorax and REST/NRSF to control neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell*, 151 : 1097-1112.
  - 17) Yoshizaki K, Kimura R, Kobayashi H, et al (2021) Paternal age affects offspring via an epigenetic mechanism involving REST/NRSF. *EMBO Rep*, 22 (2) : e51524.

## ■ ABSTRACT

### Risk of developmental disorders in the next generation due to paternal aging focusing on sperm epimutation.

Noriko Osumi

*Tohoku University Graduate School of Medicine*

In this review, we focus on “sperm aging” in order to understand the etiology of neurodevelopmental disorders such as autism spectrum disorder, which have been on the rise in recent years. Sperm cells not only supply half of the genome as the origin of life, but can also transmit additional information by introducing epigenetic changes (“epi-mutations”) such as DNA methylation, histone modification, and microRNAs. In fact, using mice as a model, we have elucidated the molecular mechanisms by which sperm DNA hypomethylation, which occurs as the father ages, affects the brain development of the offspring in the next generation. Understanding how epi-mutations in sperm cause diseases and disorders in the next generation will contribute to the development of new treatments and prevention methods for neurodevelopmental disorders.

(*Japanese Journal of Biological Psychiatry* 33 (2) : 44-47, 2022)