

## マウス着床前胚の *in vitro* TCDD 曝露による胎仔の発育と DNA メチル化パターンの変化

呉 慶<sup>1,2</sup>、大迫誠一郎<sup>1,2</sup>、石村隆太<sup>1,2</sup>、川上隆茂<sup>1,2</sup>、鈴木純子<sup>1</sup>、遠山千春<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>国立環境研究所環境健康研究領域；<sup>2</sup>CREST,JST.

哺乳類では受精後から胚盤胞までの初期発生期における DNA 脱メチル化や一次インプリントの維持は個体の発育に重要な役割を果たしている。しかし、この時期における一次インプリントの維持は環境変化の影響を受けやすいこと、また、初期発生期の環境変化により受けた影響は個体の発育後まで継続されることが報告されている。一方、哺乳類の初期発生におけるダイオキシンの曝露が胎仔発育及び DNA メチル化やインプリント遺伝子にどのような影響を及ぼすかについては報告されていない。今回我々は交尾後 0.5 日に雌マウスの卵管から 1 細胞期胚を採取し、TCDD (10nM) を含む M16 培養液中で 72 時間培養した後、胚盤胞胚の形成率を測定した。また、TCDD 曝露胚と対照胚を同一の仮親の左右子宮に移植し、着床率と妊娠 14 日目の胎仔重量を測定した。その胎仔におけるインプリント遺伝子である H19、Igf2、および Grb10 の遺伝子発現量を Real-time RT-PCR 法で比較した。さらに、H19 のインプリント制御領域を bisulfite genomic sequence 法で解析した。その結果、胚盤胞胚の形成率および胎仔生存率に TCDD 曝露による影響はみられなかった。一方、TCDD 曝露群の胎仔体重は対照群に比べて有意に低下し、H19、Igf2、および Grb10 の遺伝子発現量も低下していた。また、bisulfite genomic sequence 法で解析から H19 のインプリント制御領域では、TCDD 曝露によりメチル化 DNA 頻度の上昇あるいは領域内の partial メチル化が生じることが示唆された。以上の結果は、マウスの初期発生期における TCDD の曝露は、胎仔の発育とインプリント遺伝子の発現や DNA メチル化パターンに影響を及ぼすことを示唆している。

### Effects of 2,3,7,8 - Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) Exposure to Mouse Preimplantation Embryos on Fetal Development and Change of DNA methylation pattern

Qing Wu<sup>1,2</sup>, Seiichiroh Ohsako<sup>1,2</sup>, Ryuta Ishimura<sup>1,2</sup>, Takashige Kawakami<sup>1,2</sup>, Junko S. Suzuki<sup>1</sup>, Chiharu Tohyama<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies, <sup>2</sup>CREST, JST, Japan.

In the present study, in order to clarify whether exposure of preimplantation embryos to TCDD affects fetal growth, we exposed preimplantation embryos to 10 nM TCDD in M16 medium for 72 hrs from 1-cell to blastocyst stage, and transferred them to unexposed recipient mice. On embryonic day 14, the weight of fetuses that were exposed during their preimplantation stage was lower than that of unexposed control group. Real-time RT-PCR analysis revealed that exposure of preimplantation embryos to TCDD tended to decrease the expressed levels of imprint genes, *H19*, *Igf2* and *Grb10*. We next analyzed whether the reduced expression of imprint gene *H19* is associated with a change in methylation pattern in *Igf2/H19* imprinted-control region (ICR). Using bisulfite genomic sequencing, we found that the ratio of strands containing all CpG dinucleotide residues methylated in the ICR to those containing all CpG dinucleotide residues unmethylated was higher in TCDD-exposed group than that in the control group. The present results suggest TCDD exposure at preimplantation stage affects the fetal development as well as the expression and methylation pattern of the imprint genes.