

DOI: 10.13376/j.cbls/2017002

文章编号: 1004-0374(2017)01-0008-07



段恩奎, 博士, 中国科学院特聘研究员, 中科院动物所干细胞与生殖生物学国家重点实验室研究员、博士生导师。长期从事皮肤干细胞生物学、胚胎植入调控机理研究, 发表论文 100 余篇。近年来, 发现并命名了一种在成熟精子和血清中高度富集的新型 tsRNAs, 通过高脂日粮小鼠模型, 该团队及其合作者证明, tsRNAs 作为表观遗传信息载体能够将父代获得性代谢紊乱性状经由精子传递给子代。该工作已在 *Science*、*Cell Res*、*JMCB* 发表了系列论文。最近还应邀在 *Nature Reviews Genetics* 撰写了 tsRNAs 相关的综述。

配子介导的哺乳动物获得性性状的跨代遗传

侍骏超^{1,2}, 陈琦¹, 段恩奎^{1,2*}

(1 中国科学院动物研究所干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 越来越多的证据表明, 某些亲代的环境暴露, 如化学物质接触、饮食习惯改变、精神刺激等均可通过 DNA 序列之外的表观遗传途径“记忆”在配子中, 并将亲代获得性性状传递给后代。近年来, 有关配子介导的获得性性状跨代遗传的研究正在逐渐升温, 使得过去曾被视为异端的“拉马克遗传”学说重新走上了科学舞台, 并被认为是今后表观遗传学领域最具挑战、最有意义的研究方向之一。配子中的 DNA 甲基化、染色质改型及组蛋白修饰, 以及非编码 RNA 均是潜在的表观遗传信息的携带者, 深入研究这些表观遗传信息携带与传递规律, 将为阐明配子介导的跨代遗传分子机制提供重要的理论依据。

关键词: 获得性性状; 跨代传递; 表观遗传修饰; 配子

中图分类号: Q75; Q132 **文献标志码:** A

Mammalian transgenerational inheritance of acquired traits via germline transmission

SHI Jun-Chao^{1,2}, CHEN Qi¹, DUAN En-Kui^{1,2*}

(1 State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Increasing evidence indicates that certain parental environmental exposures, such as chemical contact, diet change and mental stress can be “memorized” and passed to future generations, suggesting epigenetic inheritance via germline. Such phenomenon raised significant interests and led to a resurrected interests to the once heretical concept of “Lamarckism”. The potential “epigenetic carriers” in the germline include DNA methylation, chromatin structure/histone modifications and noncoding RNAs, further elucidating the molecular mechanism of transgenerational inheritance via mammalian germline would have a profound impact on our understanding of many modern disease etiology.

Key words: acquired trait; transgenerational inheritance; epigenetic modification; gamete

收稿日期: 2016-01-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471287, 81490742); 科技部国际合作项目(2015DFG32640)

*通信作者: E-mail: duane@ioz.ac.cn; Tel: 010-64807310

为了使生物个体适应复杂多样的环境, 当机体受到外界刺激时, 灵活的基因表达调控就显得尤为重要。通过基因组表观的修饰可以长期有效地影响基因的表达, 而无需改变 DNA 本身的序列。生物体一生在其生存环境中都可通过表观遗传的方式获得新的性状, 并且, 其中一些在环境中积攒下的表观遗传信息有可能聚集在配子细胞中并逃逸受精后的表观遗传重编程, 从而传递到子代中。19 世纪初, 著名博物学家拉马克提出, 生物体在生命周期中后天获得的表型可以遗传给下一代, 但由于当时分子生物学、基因组学等知识的匮乏, 使该观点曾饱受质疑。在过去的二十年中, 伴随着表观遗传学的迅速发展, 获得性性状的跨代遗传现象在不同物种中陆续被发现, 从而使“拉马克遗传”学说重新获得了主流学术界的高度关注, 并被认为是今后表观遗传学领域最具挑战、最有意义的研究方向之一。

哺乳动物中, 母体的营养状态可以通过多个层面影响后代(例如卵子、妊娠期子宫血液循环、胎盘状况以及产后哺乳等), 导致研究人员很难对母体环境暴露后跨代遗传表型的产生机理进行清晰地阐述^[1]。而父代对于下一代胚胎发育的影响仅仅是通过短暂的受精过程来实现的, 影响因素相对简单。因此, 对于父源跨代遗传信息的研究而言, 研究对象相对清晰, 实验更具有可操作性^[2]。目前, 也有越来越多的证据揭示了父代所受到的外界环境影响与后代表型之间的关系。当父代受到环境应激产生某些获得性表型后, 这些表型究竟是以何种方式得以保留并传递给后代的呢? 尽管有部分学者认为父亲的精液, 以及对母亲的行为影响也可能参与获得性信息的跨代传递^[3], 但是, 目前大多数科学家仍然认为这些性状最有可能的还是通过精子携带的表观遗传信息来实现的^[4]。近年来, 一些通过体外受精进行的实验也提示在没有精液存在的情况下, 精子中含有的信息已经足以将父辈的获得性表型跨代遗传^[5-6], 进一步支持了精子传递获得性性状的观点。对于精子而言, 其可能携带的表观遗传信息包括 DNA 甲基化、转录因子、染色质改型、组蛋白修饰、RNA 分子、朊蛋白等, 而这些信息在父代积累的改变都有可能通过精子传递给子代, 并对后代表型产生影响。本文将重点针对近年来哺乳动物获得性性状跨代遗传的现象以及目前已知的机制进行简要的综述, 并试图提出本领域未来发展亟待解决的关键科学问题。

1 环境介导的跨代遗传

环境介导的获得性表型的传递可以通过多种方式进行, 包括文化习惯、微生物菌群以及生殖细胞等^[7]。文化的传承包括家庭习俗以及烟酒文化等^[8]。例如, 库鲁病(Kuru)的传递就与习俗有关。库鲁病是朊蛋白介导的一种神经性致死的遗传疾病, 分布于巴布亚-新几内亚人群中。这种疾病通过当地人食用已故亲属脏器的习惯进行传递^[9]。微生物菌群可以通过怀孕期间母胎接触在家族中遗传, 肠道菌群的改变对代谢也具有长效影响^[10-11]。然而, 在跨代遗传中最为关键的还是通过生殖细胞进行的信息传递, 亲代受到的化学试剂、营养物质, 以及精神压力等环境因素影响也主要通过这种方式遗传给后代^[1,7]。

1.1 化学物质暴露引起的跨代遗传

内分泌干扰物是一大类能够影响疾病敏感性并通过表观遗传信息进行跨代传递的化学毒素^[12]。第一个支持环境干扰物引起表观遗传改变并通过精子传递的证据来自于 Michael Skinner 实验室。他们研究发现, 怀孕期间暴露在乙烯菌核利(vinclozolin)中的雌性大鼠生下的雄性后代精子活力、数量会显著下降。这种变化可以在雄性大鼠的后代中遗传 4 代^[13]。后续一系列证据证明了不同的内分泌干扰物会影响后代的代谢功能以及生殖机能, 包括杀菌剂(乙烯菌核利)^[14]、杀虫剂[苄氯菊酯(permethrin)、避蚊胺(N,N-Diethyltoluamide, DEET)]^[15]、工业污染物[二恶英(tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD)]^[16]、塑化剂[邻苯二甲酸二辛酯(diethylhexylphthalate, DEHP)、双酚 A(bisphenol A, BPA)、邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)]^[17]等。一项全国性的队列研究发现, 妇女怀孕后期如果接触了药物己烯雌酚(diethylstilbesterol, DES), 其子代与孙代的子宫及子宫颈发育均会发生异常^[18]。

1.2 饮食导致的跨代遗传

人类饮食引起的代谢疾病包括肥胖、2 型糖尿病、胰岛素抵抗、动脉粥样硬化、高脂血症以及脂肪肝等。这类疾病往往是由于长期营养不足或过剩导致的饮食转换能量过程异常所致, 对于个体而言, 多种代谢疾病并发情况并不鲜见^[19]。过去的几十年中, 代谢性疾病发病率正在逐年增加, 其中肥胖已经成为了全球第六大危害健康, 引发死亡的风险因素。每年超过 300 万的人群由于肥胖而过早地失去生命^[20-21]。有研究指出, 父母的营养变化可对子代

乃至孙代成年后的健康状况产生深远的影响^[22-25]。

胎儿在子宫内呈现一种快速发育状态。在这个时期,其体内的细胞大量复制与分化,其组织器官也在迅速成熟。这期间胎儿对于营养物质的变化非常敏感,异常的子宫代谢内环境可能会对后代的未来产生长期的影响^[26]。目前关于怀孕期间营养摄入对后代的长效影响的一个典型案例是荷兰大饥荒(Dutch Hunger Winter)。这一事件发生在1944—1945年间的荷兰西部地区。由于与此相关的详细信息(饥荒持续的时间、官方的粮食配给以及生育相关医疗信息等)均被记录在案,因而受到广泛的研究。针对此事件的多项研究清晰地指出,后代的肥胖、糖尿病及心血管疾病与胎儿时期的营养不良密切相关,且成年后比正常人具有更高的葡萄糖不耐受风险^[25,27],这种影响甚至可以持续到F2代^[28]。

对成年雄性小鼠进行高脂喂食后,其雌性F1代中胰岛 β 细胞发生损伤,同时胰岛调控以及葡萄糖代谢的基因发生了显著变化^[29],而其雄性F1代则表现出糖代谢受损以及胰岛素抵抗^[30]。有实验室报道,雄性小鼠高脂饮食的同时用低剂量的链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)处理后,其F2代雄性小鼠发生了与祖父类似的葡萄糖耐受障碍及胰岛素抵抗^[31]。2016年的一项研究对不同饮食(高脂、正常、低脂)条件下的亲代小鼠对子代造成的影响进行了较为系统的分析,结果发现,相同遗传背景条件下,父母的饮食均会对子代的体重及健康造成影响,且这种影响是可以叠加的^[32]。

另外,怀孕及泌乳期大鼠的低蛋白饮食会导致F1到F3代大鼠体内葡萄糖稳态被打破^[33]。低蛋白饮食的雌性小鼠后代葡萄糖稳态也发生改变,血液中的胰岛素水平降低,但葡萄糖水平未发生改变。这种胰岛素水平的降低来源于胰腺数量及胰岛体积的减少^[34]。雄性小鼠的低蛋白饮食也会导致后代小鼠中脂肪代谢与胆固醇合成相关基因的高表达以及胆固醇酯水平降低^[35-36]。

以上这些证据均表明,亲代饮食习惯的改变可以导致子代的代谢水平发生紊乱。

1.3 后天行为的跨代遗传

亲代后天受到的精神影响也能够通过表观信息传递给下一代并影响表型。而对神经表观遗传机制的研究能够帮助人们理解大脑对于环境压力的应答方式,从而了解环境对于精神疾病发生过程的影响^[37]。

大鼠幼年时期母亲抚养的质量会影响其未来对

待自己子女的态度。如果大鼠婴幼儿时期受到母亲的虐待,那么其成年后生育的后代即使是由另一个母亲抚养(交叉抚养, cross-fostering)长大,其对后代的行为影响也不能被修正。在大鼠怀孕期间,通过限制孕鼠活动以及强迫游泳对其进行刺激后,这种妊娠时期的精神压力会增加后代怀孕时的早产风险并影响胎儿的大脑发育^[38]。另外,胎儿时期受到刺激的小鼠及其后代成年后会表现出抑郁样症状,社交行为及大脑功能也会发生异常^[39-40]。

雄性经历的多种应激反应也能够影响后代表型。有研究报道,如果一只雄鼠交配前被另一个雄鼠打败过,那么它的后代会表现出抑郁和焦虑样症状,同时基础皮质酮的含量也上升(但并非所有生理指标均发生变化)^[6]。如果雄鼠受到电刺激的同时吸入特定的气味(乙酰苯或丙醇),那么它的后代在吸入该气味后即使没有被电击也会表现惊恐,对特定气味的敏感性也显著增强^[5]。长期限制雄鼠活动后,其后代的糖代谢水平会发生紊乱^[41]。

2 跨代遗传可能的分子机制

尽管有大量的证据证明,亲代接触的外部环境可以影响后代的表型,然而这种获得性性状的跨代遗传是通过什么物质传递的尚不明确。通过对大规模人群进行全基因组关联性分析(genome-wide association study, GWAS)发现,基因组序列本身的多态性只能用于解释少量的遗传代谢疾病^[42-43]。因此,生殖细胞中携带的表观遗传信息及其在后代中发挥的功能成了近些年跨代遗传研究的焦点。

2.1 DNA甲基化

哺乳动物受精及胚胎发育过程中,父源及母源基因组的表观遗传标记会经历重编程的过程^[44-46]。受精时,基因组会发生全局的去甲基化。在随后的早期胚胎发育中,这种DNA甲基化状态又会重新建立起来。而发育过程中不同细胞的表观遗传标记状态决定了细胞的命运和功能。另外,在原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)发育成配子的过程中,基因组再一次发生表观遗传标记重编程。尽管在这两次过程中大部分基因的甲基化状态发生了重建,然而有部分基因逃脱了去甲基化过程,维持了亲源的甲基化状态,这部分基因被称之为印迹基因。当亲代受到外界影响时,这些印迹基因甲基化状态的改变就可以遗传给下一代,从而改变后代表型。Azim Surani实验室于2015年报道,在人PGC中一些与代谢及神经性疾病等基因相关的位点能够抵抗

DNA 去甲基化过程^[47]。

用于研究 DNA 甲基化对于跨代遗传作用最为深入的模型是 *agouti* 基因突变小鼠品系 A^{vy}。该品系中, *agouti* 基因上游 100 kb 插入了逆转录转座子 IAP (intracisternal A particle) 序列^[48]。A^{vy} 小鼠的毛色与 IAP 插入位置的 DNA 甲基化状态有关。相对于棕毛的 A^{vy} 小鼠而言, 黄毛的 A^{vy} 小鼠中 IAP 位置的甲基化程度更低^[49]。而 *agouti* 基因 IAP 位置的甲基化状态可以在雌性生殖细胞维持并传给后代^[49]。这是首次在哺乳动物中验证了 DNA 甲基化对于跨代遗传具有非常重要的作用。

随后对 A^{vy} 小鼠进行表观遗传修饰化合物处理的研究, 揭示了甲基化对于跨代遗传的影响机制。在 A^{vy} 雌鼠食物中添加甲基补充剂可以阻止表型的遗传^[50-51]。另外一些化学物质, 如乙醇、染料木黄酮 (genistein)、双酚 A 等也会影响 A^{vy} 雌鼠后代的毛色^[52-54]。但是高甲基饮食导致的高甲基化本身却不能进行跨代遗传, 这提示了其中包含了尚不明确的表现遗传机制^[55]。

Wolf Reik 实验室指出, IAP 插入序列相对于其他 DNA 序列而言, 对于早期胚胎发育中的 DNA 去甲基化更为抵抗, 这也许可以用于解释为何 A^{vy} 小鼠会表现出如此清晰的跨代遗传^[56]。然而, A^{vy} 小鼠表型是否完全归结于甲基化而非其他表现遗传标记引起, 目前仍有疑问^[57-58]。

目前环境介导的跨代遗传研究中或多或少能够发现一些基因的高/低甲基化与表型的遗传有关联^[59-60], 然而尚未有直接证据指出这种甲基化是否真的是跨代遗传的原因。有研究发现, 孕鼠口服乙炔菌核利、双酚 A、邻苯二甲酸二辛酯后, 其 F1 代生殖细胞中产生的转录水平和全基因组 DNA 甲基化水平的变化并不能稳定遗传至 F2 代。研究者认为, 哺乳动物生殖细胞发育过程中的 DNA 甲基化重建可以修复这种变化^[61]。这提示了甲基化之外仍然有其他遗传因素在其中发挥作用。另有多项研究指出, 由亲代饮食导致的跨代遗传中, DNA 甲基化并非主要的遗传因素^[36,62]。

2.2 染色质改型和组蛋白修饰

在配子发生过程中, 不管是精细胞还是卵细胞都会经历染色质的重构。重构过程能否顺利进行对于配子减数分裂非常重要。配子能否正常形成可以直接影响胚胎的发育。

卵子发生过程中, 卵细胞核仁会发生凝聚的过程。这种凝聚状态的破坏通过影响卵细胞胞质使得

早期胚胎不能正常发育^[63-64]。雄性生殖细胞在减数分裂时也会经历极为剧烈的染色质重塑。在生成单倍体精细胞的过程中, 全基因组上的组蛋白逐渐替换为鱼精蛋白^[65-66]。

事实上, 在人和小鼠精子中, 分别有大约 10% 和 1% 的组蛋白未转化为鱼精蛋白而留存在精细胞中^[67]。这些保留下来的组蛋白并非随机分布, 而是富集于基因的调控元件^[68-69]。这些保留下来的组蛋白及其修饰在受精后就可能对胚胎发育造成影响。

目前, 组蛋白修饰及染色质重构过程对于跨代遗传作用的研究主要集中在低等动物中。在低等动物中, 来自线虫与果蝇的证据已证实父代由于高糖饮食、热激、渗透压改变或 RNA 干扰等诱导的异染色质结构变异可通过精子实现跨代遗传^[70-74]。近期有实验室首次报道在哺乳动物中也存在类似现象。当通过插入基因改变了亲代小鼠组蛋白修饰后, 其未插入基因的子代小鼠也出现了类似亲代的表型, 如先天缺陷及骨骼发育异常, 精子中 RNA 含量及表达谱也发生变化^[75]。这一结果提示了组蛋白修饰也在跨代遗传中扮演了重要角色。

2.3 非编码 RNA

当环境变化时, 精子中的 DNA 甲基化、组蛋白修饰或者非编码 RNA 的表达都有可能发生改变, 进而影响后代表型。然而, 要验证具体是何种改变对后代造成了影响则是极具挑战性的。相对于改变 DNA 或组蛋白特定位置的修饰而言, 研究特定 RNA 的变化对于跨代遗传的作用更具有实验操作性。

有证据指出, 线虫在饥饿状态下会产生能够作用于营养相关基因的小 RNA, 产生的这种小 RNA 在 F3 代中仍能检测到^[76]。关于哺乳动物精子 RNA 可作为一种表现遗传信号介导后代表型的研究源于 Minoo Rassoulzadegan 实验室。2006 年, 该实验室发现, *kit*^{+/-} 敲除鼠的睾丸和精子中积累了大量来自 *kit* 基因位置异常的 RNA 碎片。*kit*^{+/-} 的雄性后代中, 一部分基因型为 *kit*^{+/+} 的小鼠也表现出 *kit*^{+/-} 的表型。他们认为, 这种表型的出现是由于 *kit*^{+/+} 精子中也含有这些异常的 RNA 碎片; 通过在正常受精卵中注射这些 RNA 碎片能够诱导类似的表型出现, 从而证实了精子中携带的 RNA 具有调节后代表型的作用^[77]。随后不同的实验室也发现, 将精子中的总 RNA 或一些特异的非编码 RNA 注射进入受精卵均能介导早期胚胎发育及后代表型的变化^[78-82]。

例如有研究发现, 受到长期紧张或者肥胖饮

食刺激的雄鼠交配后除了表型的跨代遗传外, 父代精子中的 microRNA 相对于正常小鼠也发生了变化^[81,83-84]。如果将精子中变化的 microRNA 注射到正常受精卵中可以模拟受应激的亲代精子所传递的表型^[81,85]。值得注意的是, Gapp 等^[82]报道称胎儿时期受到应激的小鼠其 F2 代精子中尽管 microRNA 的变化消失了, 但其行为及代谢紊乱的表型仍然存在, 提示可能有其他传递表观遗传信息的物质存在。

尽管许多实验室将研究集中在精子中 microRNA 的差异及其作用机制上, 我们研究组先前的研究发现, microRNA 在精子所含有的非编码小 RNA 中只占到很小的一部分, 而一种 tRNA 来源的小 RNA (tRNA-derived small RNAs, tsRNAs) 占了精子中非编码小 RNA 的绝大部分^[86]。2016 年, 我们进一步研究发现, 将长期高脂饮食的父代小鼠精子中富含 tsRNAs 的 RNA 片段注射到正常受精卵中, 获得的后代小鼠继承了父代肥胖小鼠葡萄糖不耐受的表型(但未表现出胰岛素抵抗)。同时, 注射富含 tsRNAs 的 RNA 片段后的早期胚胎及胰岛中均发现代谢通路相关基因发生变化, 提示 tsRNAs 可能能够通过影响基因表达水平从而改变子代小鼠表型^[30]。该项研究揭示了 tsRNAs 可能是一种全新的跨代表观遗传信息元件。

3 总结与展望

相对于传统的遗传研究, 目前的获得性表型的跨代表观遗传研究仍然未能完全解释配子携带的表观遗传信息与子代表型之间的因果联系, 这也衍生出了几个亟待解决的科学问题: 亲代的环境暴露, 例如饮食改变、精神刺激等究竟如何直接/间接地导致配子的表观遗传改变? 这些配子中的表观遗传信息是以何种形式实现准确储存(DNA 甲基化、染色质结构、RNA)? 这些潜在的“分子载体”之间有何因果/协同关系? 最为关键的是, 配子继承的表观遗传信息是如何在下一代中通过基因表达调控重现上一代的获得性性状的? 这些重要科学问题将成为未来研究的主攻方向。

[参 考 文 献]

- [1] Daxinger L, Whitelaw E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 153-62
- [2] Rando OJ. Daddy issues: paternal effects on phenotype. *Cell*, 2012, 151: 702-8
- [3] Bromfield JJ, Schjenken JE, Chin PY, et al. Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 2200-5
- [4] Rando OJ, Simmons RA. I'm eating for two: parental dietary effects on offspring metabolism. *Cell*, 2015, 161: 93-105
- [5] Dias BG, Ressler KJ. Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat Neurosci*, 2014, 17: 89-96
- [6] Dietz DM, Laplant Q, Watts EL, et al. Paternal transmission of stress-induced pathologies. *Biol Psychiatry*, 2011, 70: 408-14
- [7] Heard E, Martienssen RA. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell*, 2014, 157: 95-109
- [8] Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. Non-genomic transgenerational inheritance of disease risk. *Bioessays*, 2007, 29: 145-54
- [9] Lindenbaum S. Kuru, prions, and human affairs: thinking about epidemics. *Annu Rev Anthropol*, 2001, 30: 363-85
- [10] Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 260-70
- [11] Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell*, 2014, 158: 705-21
- [12] McCarrey JR. The epigenome as a target for heritable environmental disruptions of cellular function. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 354: 9-15
- [13] Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, et al. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*, 2005, 308: 1466-9
- [14] Anway MD, Leathers C, Skinner MK. Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease. *Endocrinology*, 2006, 147: 5515-23
- [15] Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, et al. Pesticide and insect repellent mixture (permethrin and DEET) induces epigenetic transgenerational inheritance of disease and sperm epimutations. *Reprod Toxicol*, 2012, 34: 708-19
- [16] Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, et al. Dioxin (TCDD) induces epigenetic transgenerational inheritance of adult onset disease and sperm epimutations. *PLoS One*, 2012, 7: e46249
- [17] Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, et al. Plastics derived endocrine disruptors (BPA, DEHP and DBP) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *PLoS One*, 2013, 8: e55387
- [18] Kalfa N, Paris F, Soyer-Gobillard MO, et al. Prevalence of hypospadias in grandsons of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy: a multigenerational national cohort study. *Fertil Steril*, 2011, 95: 2574-7
- [19] Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*, 2005, 365: 1415-28
- [20] Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980:

- systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet*, 2011, 377: 557-67
- [21] Ng M, Fleming T, Robinson M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 2014, 384: 766-81
- [22] Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Int J Epidemiol*, 2013, 42: 1215-22
- [23] Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med*, 1976, 295: 349-53
- [24] Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*, 1998, 351: 173-7
- [25] Lumey LH, Stein AD, Kahn HS, et al. Lipid profiles in middle-aged men and women after famine exposure during gestation: the Dutch Hunger Winter Families Study. *Am J Clin Nutr*, 2009, 89: 1737-43
- [26] Lumey LH, Stein AD, Susser E. Prenatal famine and adult health. *Annu Rev Public Health*, 2011, 32: 237-62
- [27] Lumey LH, Stein AD, Kahn HS, et al. Cohort profile: the Dutch Hunger Winter families study. *Int J Epidemiol*, 2007, 36: 1196-204
- [28] Painter RC, Osmond C, Gluckman P, et al. Transgenerational effects of prenatal exposure to the Dutch famine on neonatal adiposity and health in later life. *BJOG*, 2008, 115: 1243-9
- [29] Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, et al. Chronic high-fat diet in fathers programs β -cell dysfunction in female rat offspring. *Nature*, 2010, 467: 963-6
- [30] Chen Q, Yan M, Cao Z, et al. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 2016, 351: 397-400
- [31] Wei Y, Yang CR, Wei YP, et al. Paternally induced transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes in mammals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 1873-8
- [32] Huypens P, Sass S, Wu M, et al. Epigenetic germline inheritance of diet-induced obesity and insulin resistance. *Nat Genet*, 2016, 48: 497-9
- [33] Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia*, 2006, 49: 1117-9
- [34] Frantz ED, Aguila MB, Pinheiro-Mulder Ada R, et al. Transgenerational endocrine pancreatic adaptation in mice from maternal protein restriction in utero. *Mech Ageing Dev*, 2011, 132: 110-6
- [35] Carone BR, Fauquier L, Habib N, et al. Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. *Cell*, 2010, 143: 1084-96
- [36] Shea JM, Serra RW, Carone BR, et al. Genetic and epigenetic variation, but not diet, shape the sperm methylome. *Dev Cell*, 2015, 35: 750-8
- [37] LeDoux JE. Coming to terms with fear. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 2871-8
- [38] Yao Y, Robinson AM, Zucchi FC, et al. Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. *BMC Med*, 2014, 12: 121
- [39] Franklin TB, Russig H, Weiss IC, et al. Epigenetic transmission of the impact of early stress across generations. *Biol Psychiatry*, 2010, 68: 408-15
- [40] Franklin TB, Linder N, Russig H, et al. Influence of early stress on social abilities and serotonergic functions across generations in mice. *PLoS One*, 2011, 6: e21842
- [41] Wu L, Lu Y, Jiao Y, et al. Paternal psychological stress reprograms hepatic gluconeogenesis in offspring. *Cell Metab*, 2016, 23: 735-43
- [42] Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 2012, 44: 981-90
- [43] Scott RA, Lagou V, Welch RP, et al. Large-scale association analyses identify new loci influencing glycemic traits and provide insight into the underlying biological pathways. *Nat Genet*, 2012, 44: 991-1005
- [44] Guo H, Zhu P, Yan L, et al. The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature*, 2014, 511: 606-10
- [45] Smith ZD, Chan MM, Humm KC, et al. DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo. *Nature*, 2014, 511: 611-5
- [46] Wang L, Zhang J, Duan J, et al. Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals. *Cell*, 2014, 157: 979-91
- [47] Tang WW, Dietmann S, Irie N, et al. A unique gene regulatory network resets the human germline epigenome for development. *Cell*, 2015, 161: 1453-67
- [48] Duhl DM, Vrieling H, Miller KA, et al. Neomorphic agouti mutations in obese yellow mice. *Nat Genet*, 1994, 8: 59-65
- [49] Morgan HD, Sutherland HG, Martin DI, et al. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat Genet*, 1999, 23: 314-8
- [50] Waterland RA, Travisano M, Tahiliani KG, et al. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *Int J Obes: Lond*, 2008, 32: 1373-9
- [51] Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, et al. Maternal epigenetics and methyl supplements affect *agouti* gene expression in A^{vy}/a mice. *FASEB J*, 1998, 12: 949-57
- [52] Anderson OS, Nahar MS, Faulk C, et al. Epigenetic responses following maternal dietary exposure to physiologically relevant levels of bisphenol A. *Environ Mol Mutagen*, 2012, 53: 334-42
- [53] Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, et al. Maternal genistein alters coat color and protects A^{vy} mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ Health Perspect*, 2006, 114: 567-72
- [54] Kaminen-Ahola N, Ahola A, Maga M, et al. Maternal ethanol consumption alters the epigenotype and the phenotype of offspring in a mouse model. *PLoS Genet*,

- 2010, 6: e1000811
- [55] Waterland RA, Travisano M, Tahiliani KG. Diet-induced hypermethylation at *agouti viable yellow* is not inherited transgenerationally through the female. *FASEB J*, 2007, 21: 3380-5
- [56] Lane N, Dean W, Erhardt S, et al. Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse. *Genesis*, 2003, 35: 88-93
- [57] Blewitt ME, Vickaryous NK, Paldi A, et al. Dynamic reprogramming of DNA methylation at an epigenetically sensitive allele in mice. *PLoS Genet*, 2006, 2: e49
- [58] Dolinoy DC, Weinhouse C, Jones TR, et al. Variable histone modifications at the *A^y* metastable epiallele. *Epigenetics*, 2010, 5: 637-44
- [59] Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 17046-9
- [60] Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, et al. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 4046-53
- [61] Iqbal K, Tran DA, Li AX, et al. Deleterious effects of endocrine disruptors are corrected in the mammalian germline by epigenome reprogramming. *Genome Biol*, 2015, 16: 59
- [62] Chen Q, Yan M, Cao Z, et al. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 2016, 351: 397-400
- [63] Zuccotti M, Giorgi Rossi P, Martinez A, et al. Meiotic and developmental competence of mouse antral oocytes. *Biol Reprod*, 1998, 58: 700-4
- [64] Inoue A, Nakajima R, Nagata M, et al. Contribution of the oocyte nucleus and cytoplasm to the determination of meiotic and developmental competence in mice. *Hum Reprod*, 2008, 23: 1377-84
- [65] Balhorn R, Gledhill BL, Wyrobek AJ. Mouse sperm chromatin proteins: quantitative isolation and partial characterization. *Biochemistry*, 1977, 16: 4074-80
- [66] Gatewood JM, Cook GR, Balhorn R, et al. Sequence-specific packaging of DNA in human sperm chromatin. *Science*, 1987, 236: 962-4
- [67] Brykczynska U, Hisano M, Erkek S, et al. Repressive and active histone methylation mark distinct promoters in human and mouse spermatozoa. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 679-87
- [68] Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, et al. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature*, 2009, 460: 473-8
- [69] Arpanahi A, Brinkworth M, Iles D, et al. Endonuclease-sensitive regions of human spermatozoal chromatin are highly enriched in promoter and CTCF binding sequences. *Genome Res*, 2009, 19: 1338-49
- [70] Seong KH, Li D, Shimizu H, et al. Inheritance of stress-induced, ATF-2-dependent epigenetic change. *Cell*, 2011, 145: 1049-61
- [71] Ost A, Lempradl A, Casas E, et al. Paternal diet defines offspring chromatin state and intergenerational obesity. *Cell*, 2014, 159: 1352-64
- [72] Ashe A, Sapetschnig A, Weick EM, et al. piRNAs can trigger a multigenerational epigenetic memory in the germline of *C. elegans*. *Cell*, 2012, 150: 88-99
- [73] Shirayama M, Seth M, Lee HC, et al. piRNAs initiate an epigenetic memory of nonself RNA in the *C. elegans* germline. *Cell*, 2012, 150: 65-77
- [74] Buckley BA, Burkhart KB, Gu SG, et al. A nuclear Argonaute promotes multigenerational epigenetic inheritance and germline immortality. *Nature*, 2012, 489: 447-51
- [75] Siklenka K, Erkek S, Godmann M, et al. Disruption of histone methylation in developing sperm impairs offspring health transgenerationally. *Science*, 2015, 350: aab2006
- [76] Rechavi O, Hourii-Ze'evi L, Anava S, et al. Starvation-induced transgenerational inheritance of small RNAs in *C. elegans*. *Cell*, 2014, 158: 277-87
- [77] Rassoulzadegan M, Grandjean V, Gounon P, et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature*, 2006, 441: 469-74
- [78] Liu WM, Pang RT, Chiu PC, et al. Sperm-borne microRNA-34c is required for the first cleavage division in mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 490-4
- [79] Grandjean V, Gounon P, Wagner N, et al. The *miR-124-Sox9* paramutation: RNA-mediated epigenetic control of embryonic and adult growth. *Development*, 2009, 136: 3647-55
- [80] Wagner KD, Wagner N, Ghanbarian H, et al. RNA induction and inheritance of epigenetic cardiac hypertrophy in the mouse. *Dev Cell*, 2008, 14: 962-9
- [81] Rodgers AB, Morgan CP, Leu NA, et al. Transgenerational epigenetic programming via sperm microRNA recapitulates effects of paternal stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 13699-704
- [82] Gapp K, Jawaid A, Sarkies P, et al. Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice. *Nat Neurosci*, 2014, 17: 667-9
- [83] Rodgers AB, Morgan CP, Bronson SL, et al. Paternal stress exposure alters sperm microRNA content and reprograms offspring HPA stress axis regulation. *J Neurosci*, 2013, 33: 9003-12
- [84] Fullston T, Ohlsson Teague EM, Palmer NO, et al. Paternal obesity initiates metabolic disturbances in two generations of mice with incomplete penetrance to the F2 generation and alters the transcriptional profile of testis and sperm microRNA content. *FASEB J*, 2013, 27: 4226-43
- [85] Grandjean V, Fourre S, De Abreu DA, et al. RNA-mediated paternal heredity of diet-induced obesity and metabolic disorders. *Sci Rep*, 2015, 5: 18193
- [86] Peng H, Shi J, Zhang Y, et al. A novel class of tRNA-derived small RNAs extremely enriched in mature mouse sperm. *Cell Res*, 2012, 22: 1609-12