

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00860

研究課題名(和文) 胎生期から成長期の栄養環境が脂質吸収に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effect of maternal nutrition during pregnancy on lipid metabolism including lipid absorption of offspring

研究代表者

上裕 俊法 (KAMISAKO, Toshinori)

近畿大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：20233934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：食餌中の脂質含量や質を変化させると肝臓のみならず小腸においても脂質代謝・吸収に關与する遺伝子産物の発現が変化している。また胎児期に暴露された栄養環境がいくつかの代謝関連遺伝子をエピジェネティクス制御している事が知られている。そこで本研究においては、胎児期から成長期にかけての脂肪組成の違う栄養環境が脂質代謝や胆汁酸代謝に及ぼす影響を引き起こすかを検討した。母親世代の脂質摂取の差は、雌F1世代の肝脂質・胆汁酸代謝に関して遺伝子産物発現量に影響を及ぼし雄ではこの変化は乏しかった。一方、小腸ではこれらの遺伝子産物発現に差は認められず、胎児期の栄養環境の差は脂質吸収に影響を及ぼさなかった。

研究成果の概要(英文)：Dietary fat affect the gene expression related to lipid metabolism both in liver and intestine. Maternal high-fat diet (HFD) consumption during pregnancy and lactation affects lipid metabolism of offspring in later life. The purpose of this study was to elucidate the effect of maternal fat intake on metabolic alteration of intestine as well as liver in male and female adult mice offspring. Female mice were fed either standard chow (C) or HFD (H). Offspring were fed a chow diet until eleven weeks, then challenged with either C or H diet, and divided into eight groups in accordance with mother's and offspring's diets: male(M) CC, MHC, MCH, MHH, female(F) CC, FHC, FCH, and FHH. Hepatic expression of Oatp1a1 and Oatp1b2 was increased in MHH, compared to MCH. Hepatic expression of HMGCoAR, Cyp7a1, Sult2a1, and Oatp1a4 was increased in FHH, compared to FCH. On the other hand, intestinal mRNA expression of adult offspring was not affected by the maternal HFD.

研究分野：代謝学

キーワード：脂質代謝 胆汁酸代謝 エピジェネティック 性差

## 1. 研究開始当初の背景

食事中の脂肪摂取量や脂質組成の違いは脂質代謝に影響を及ぼす事が知られている。これらの違いにより肝臓では脂質代謝の関わる遺伝子発現が変化する事が知られている。また食餌中脂質組成は小腸での脂質吸収の制御にも関与している可能性がある。小腸での脂質吸収機構は Nieman Pick C1 like protein 1 (NPC1L1)、スカベンジャー受容体 B1 (SR-B1)、CD36、ATP-binding cassette (ABC) transporter のファミリーである ABCA1、ABCG5、ABCG8 や Apo A が複合的に働いている事が明らかとなっている。我々の従来の検討において食餌中の脂質含量や質を変化させると脂質代謝の中心臓器である肝臓のみならず小腸においても脂質代謝・吸収に関与する遺伝子産物の発現が変化し、脂質自身が脂質代謝・吸収が分子レベルで調節している事を明らかとなっている。

栄養環境による脂質代謝のエピジェネティクス制御:多くの疫学的研究で胎児期に暴露された栄養環境は成人期に発症する肥満やメタボリック症候群に関与する事が知られている。この現象を説明するメカニズムとして暴露された栄養環境がいくつかの代謝関連遺伝子のエピジェネティクス制御に影響を及ぼすことが報告されてきた。脂質代謝関連遺伝子産物の発現は食品成分である脂肪酸やコレステロール代謝産物をリガンドとする核内レセプターである PPAR や LXR により制御されている。これらの核内レセプターは母親を低蛋白食とする事により胎児肝において各々のプロモーター領域にメチル化をおこし、これらにより制御をうける遺伝子群の発現低下を引き起こす事が知られている。食餌中脂質成分が脂質代謝に対してエピジェネティクス制御に関する報告もある。マウスに母親に高脂肪食を投与すると子供のマウス肝の PPAR のプロモ-

ーター領域のメチル化を起こす事は胎生期に暴露される脂質量の変化が生後仔マウスの脂質代謝のエピジェネティクス制御に関与する事を示唆している。

## 2. 研究の目的

母親の摂取する脂質量や脂肪酸組成がその子供に及ぼす影響に関しては、モデル動物において確認されている。一方、ヒトでの研究では成長後の摂取脂質組成は DNA のメチル化に影響を及ぼすとの報告があり、成長後に暴露されている栄養環境も脂質代謝に対してエピジェネティクス制御している可能性がある。そこで本研究においては、胎児期から成長期にかけての脂肪摂取の違いが脂質代謝(特に脂質吸収)や脂質代謝と密接に関連する胆汁酸代謝に及ぼす後成的影響を引き起こすかを解明する事を目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 母親世代の高脂肪食が仔マウスの脂質・胆汁酸代謝に及ぼす影響

母親世代の脂肪摂取の違いが仔マウスの脂質代謝に及ぼす後成的影響を引き起こすかを解明する事を目的とし以下の実験を行った。

母親マウス(F0世代)としてはC57BL/6マウスを用い、5週齢のF0世代を標準飼料(4%大豆油を含有)群(C群)、高脂肪食(2%大豆油+33%ラード)群(H群)に分け、9週齢まで飼育した後交配し、妊娠が確認されたものを実験群とした。各群の雄性および雌性仔マウス(F1世代)は生後21日で離乳し、13週まで標準飼料(C食)で飼育した。飼育期間中は定期的に食餌摂取量、体重を計測した。血清、肝臓、小腸を採取し、血清中コレステロール、リン脂質、中性脂肪、胆汁酸、各種リポ蛋白質の各濃度の測定し、肝臓に関しては肝臓中の各種脂質を Folch 法にて抽出し測定した。

## (2) 高脂肪食による脂質・胆汁酸代謝変化に対する母親の食餌の影響

(1) で得られた結果を基に、引き続き仔マウスに標準食に加え高脂肪食を投与した場合に如何なる後成的影響を引き起こすかを解明する事を目的に以下の実験を行った。(1)と同様に5週齢のF0世代を標準飼料(4%大豆油を含有)群(C群)、高脂肪食(2%大豆油+33%ラード)群(H群)に分け、9週齢まで飼育した後交配した。各々の群の雄性雌性仔マウス(F1世代)を11週まで標準飼料(C食)で飼育したのち、C食投与もしくは高脂肪食(H食)投与する群に分けた。この段階でF1世代は、雄マウス、雌マウスともに以下の4群(CC群, CH群, HC群, HH群)となり、その条件下で4週間飼育した。

飼育期間中は定期的に食餌摂取量、体重を計測し、生後15週にて実験に供し、同様の計測を行った(短期的影響の検討)。また別グループとして、生後45週まで長期にわたり実験食で飼育した後実験に供し、同様の計測を行った(長期的影響の検討)。

## 4. 研究成果

(1) 母親世代の高脂肪食が仔マウスの脂質・胆汁酸代謝に及ぼす影響：

)F1世代の雌雄マウスの体重の増加率は各群間に有意な差を認めなかった。また各群間に摂食量の差異はなかった。しかし最終体重に関しては雌雄ともC群に比べH群においてはやや高い傾向にあり、肝重量も同様の傾向にあった。

)肝臓中脂質濃度は雄H群の肝TG濃度(15.5 mg/wet g liver)はC群の濃度(11.5 mg/wet g liver)に比して高かった。

)脂質代謝関連遺伝子産物：肝臓の脂肪酸代謝、コレステロール代謝、胆汁酸代謝

関連遺伝子産物発現を網羅的に検討し、雌雄ともC群に比しH群で肝臓の脂肪酸の輸送蛋白CD36発現が有意に高い事を確認した。これらの所見から母親世代の脂肪摂取の違いが仔マウスの肝臓における脂肪酸代謝に影響を及ぼす事が示唆された。一方、小腸での脂質・胆汁酸代謝に關与する遺伝子産物発現には有意な変化は見なかった。

(2) F0世代の高脂肪食がF1世代の高脂肪食による脂質・胆汁酸代謝変化に及ぼす影響  
短期的な影響の検討：

)F1世代の雌雄とも最終体重がCH群はCC群に、HC群はHH群に比して重いが、CC群とHC群間、CH群とHH群間には体重増加率に有意な差を認めなかった。肝重量も同様の傾向にあった。肝臓中脂質濃度は雄ではCH群がCC群に、HC群がHH群に比して肝TG濃度が高かったが、雌では各群間にて肝TG濃度に差を認めなかった。これらのことはF0世代の高脂肪食はF1世代の体重や肝脂肪には影響を及ぼさない事を示していると考えた。

)脂質・胆汁酸代謝関連遺伝子産物の発現：雌性マウスではHH群においてはCH群に比して肝臓の脂肪酸代謝に關与する脂肪酸輸送蛋白CD36、脂肪酸分解に關与するAcox1やコレステロール合成酵素HMG-CoAR、胆汁酸代謝関連の胆汁酸合成酵素のCyp7a1、胆汁酸抱合酵素のSult2a1やBaat、胆汁酸トランスポーターOatp1b2の発現が高かった。一方、雄マウスでは胆汁酸トランスポーターOatp1a1とOatp1b2を除き遺伝子発現は各群に有意差はなかった(図1、図2、図3)。これらの所見から母親世代の脂肪摂取の違いが仔マウスの脂質・胆汁酸代謝に影響を及ぼす上で性差が關与する事が示唆された。

一方、F0世代の食中脂質量の変化はF1世代の小腸におけるこれらの脂質・胆汁酸代謝に關与する遺伝子産物発現に有意な影響を示さなかった。

図 1 . 脂質代謝に関する遺伝子産物発現に及ぼす F0 世代の脂質組成と F1 世代の脂質摂取の関係

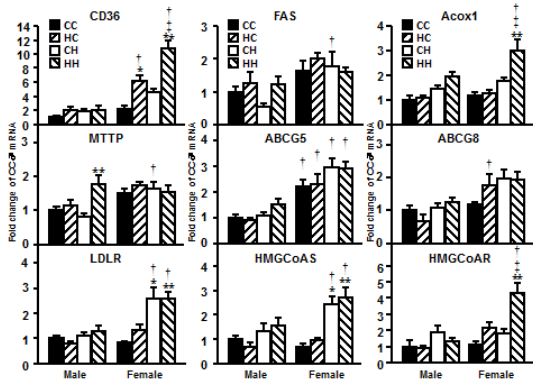


図 2 . 胆汁酸代謝に関する遺伝子産物発現に及ぼす F0 世代の脂質組成と F1 世代の脂質摂取の関係

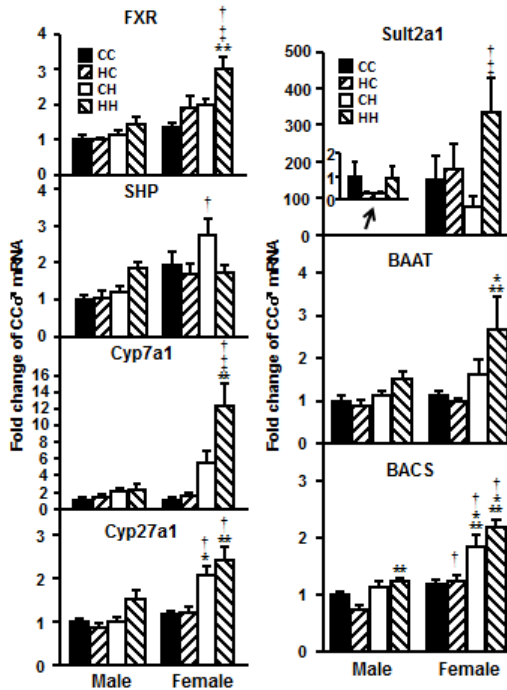
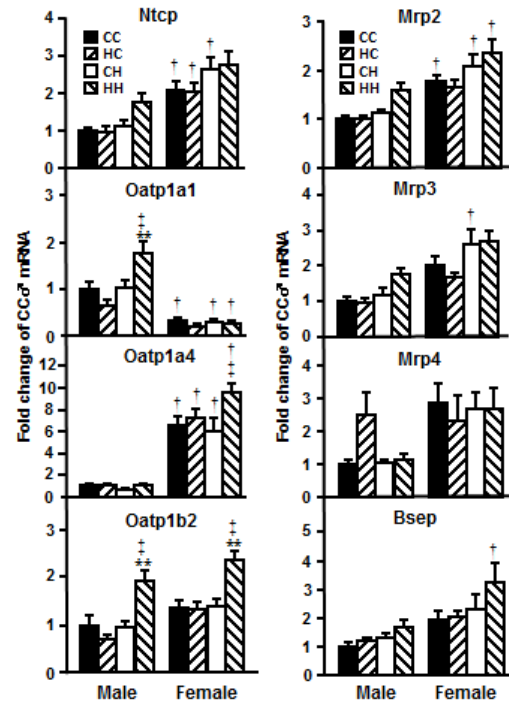


図 3 . 胆汁酸トランスポートに関する遺伝子産物発現に及ぼす F0 世代の脂質組成と F1 世代の脂質摂取の関係



## (2) 長期的な影響の検討

短期間における検討と同様に長期間の飼育においても F1 世代の雌雄とも最終体重が CH 群は CC 群に、HC 群は HH 群に比して重いが、CC 群と HC 群間、CH 群と HH 群間には体重増加率に有意な差を認めなかった。肝重量も同様の傾向にあった。肝臓中脂質濃度は雄では CH 群が CC 群に、HC 群が HH 群に比して肝 TG 濃度が高かったが、雌では各群間にて肝 TG 濃度に差を認めなかった。

脂質・胆汁酸代謝関連遺伝子産物: 雄性、雌性マウスとも短期間における検討にてみられた、HH 群においては HC 群や CH 群に比して肝臓の脂肪酸代謝、コレステロール合成酵素や胆汁酸代謝関連に有意差はなかった。これらの所見から母親世代の脂肪摂取の違いが仔マウスの 48 週の飼育後の脂質・胆汁酸代謝に影響は短期飼育にときの变化に比べて小さく、成長後の栄養暴露の影響が、胎内での栄養暴露上回る事が示唆

された。

(結論)以上の結果から、母親世代(F0)の脂質摂取の差は、子世代(F1)の肝臓における脂質・胆汁酸代謝に関して、雌 F1 世代には大きな遺伝子産物発現に影響を及ぼし、雄 F1 世代には影響を及ぼさないという、性差を認めた。一方、小腸に関しては、これらの遺伝子産物発現に有意差は認められず、母親世代(F0)の脂質摂取の差は子世代の脂質吸収に大きな影響を及ぼさない可能性がある。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

1. Yuji Tanaka, Takanori Ikeda, Kazuo Yamamoto, Shiori Masuda, Hiroshi Ogawa, Toshinori Kamisako. Gender-divergent expression of lipid and bile acid metabolism related genes in adult mice offspring of dams fed a high-fat diet. J Biosciences (in press)
2. Yuji Tanaka, Takanori Ikeda, Kazuo Yamamoto, Shiori Masuda, Hiroshi Ogawa, Toshinori Kamisako. 6-Methylsulfinylhexyl isothiocyanate prevents high-fat diet-induced fatty liver but fails to attenuate hepatic iron accumulation in mice. Clin Exp Pharmacol Physiol.; 43: 1153-1156. 2016

[学会発表](計 6件)

1. 田中裕滋、池田高紀、山本和夫、小川博、上裕俊法 酸化ストレス応答制御因子 Nrf2 は鉄と脂質の代謝を制御する第 54 回日本栄養・食糧学会近畿支部大会(堺)2016.10
2. Yuji Tanaka, Takanori Ikeda, Kazuo Yamamoto, Hiroshi Ogawa, Toshinori Kamisako. Gender-divergent expression of lipid and bile acid metabolism related genes in adult offspring of dams fed a long-term high fat diet before and during pregnancy and lactation. Liver Meeting 2016, The American Association for Study of the Liver Disease (Boston) 2016
3. 池田高紀、田中裕滋、上裕俊法、柄本なつみ、梁川啓人、山崎基嘉、小川博 若ご

ぼう凍結乾燥粉末摂取がラットの腸内環境に及ぼす影響 第 70 回日本栄養・食糧学会大会(西宮)2016.05

4. 梁川啓人、池田高紀、柄本なつみ、田中裕滋、上裕俊法 小川博 油脂源の違いが高フルクトース食飼育ラットの糖・脂質代謝に及ぼす影響 血中の糖・脂質動態について 第 54 回日本栄養・食糧学会近畿支部大会(神戸)2015.10
5. 柄本なつみ 池田高紀 梁川啓人 田中裕滋 上裕俊法 小川博 油脂源の違いが高フルクトース食飼育ラットの糖・脂質代謝に及ぼす影響 肝臓の脂質動態と作用機構について 第 54 回日本栄養・食糧学会近畿支部大会(神戸)2015.10
6. 田中裕滋 上裕俊法 コレステロールとジオスゲニンの同時摂取がマウスのコレステロール及び胆汁酸代謝に及ぼす影響 第 51 回日本肝臓学会総会(熊本)2015.5

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
上裕 俊法(KAMISAKO Toshinori)  
近畿大学医学部附属病院・教授  
研究者番号:20233934  
(2)研究分担者  
田中 裕滋(TANAKA Yuji)  
近畿大学医学部附属病院・講師  
研究者番号:00465650  
(3)連携研究者  
なし  
(4)研究協力者  
なし