

令和元年6月3日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07194

研究課題名(和文)肥満は父性遺伝するのか？

研究課題名(英文)Analysis of the paternal transmission of obesity.

研究代表者

森田 純代(Morita, Sumiyo)

群馬大学・生体調節研究所・助教

研究者番号：40589264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：私達は食事誘導性肥満になりやすいC57BL/6J(B6)と食事誘導性肥満になりにくいPWKを交互に交配して(PWK×B6) F1と(B6×PWK) F1の2種類のF1を作成し、B6が父親であるF1では食事誘導性肥満になりやすいが、PWKが父親であるF1では食事誘導性肥満になりにくいことを見出した。さらに白色脂肪組織におけるRNA-seq解析により父性遺伝する食事誘導性肥満の検証を行ったところ、B6の父親アレル依存的に炎症やmetal ion transport、ciliumに関連する遺伝子発現変化が見られた。また、父性発現インプリント遺伝子は抗肥満遺伝子という側面が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

C57BL/6 (B6)マウスは高脂肪食を食べさせることにより肥満になりやすいが、その遺伝的背景についてはわかっていない。今回の研究では食事誘導性肥満になりやすいB6と食事誘導性の肥満になりにくいPWKを交互に交配して2種類のF1をつくり肥満とインプリンティングの関係について調べた。B6が父親のとき、すなわち(PWK×B6) F1は食事誘導性肥満になりやすく耐糖能異常を示すが、PWKが父親のときは、すなわち(B6×PWK) F1では肥満にもなりにくく耐糖能異常も示さなかった。つまり食事誘導性肥満、耐糖能異常は父性遺伝することがわかった。

研究成果の概要(英文)：We found that B6 mice are more prone to develop obesity than PWK mice, and we analyzed reciprocal crosses between these mice and found that (PWK × B6) F1 mice, which have B6 fathers, are more likely to develop dietary obesity than (B6 × PWK) F1 mice, which have B6 mothers. In addition, we performed transcriptome analysis of adipose tissues of these mice using next-generation sequencing. We found that paternal transmission of diet-induced obesity was correlated with genes involved in adipose tissue inflammation, metal ion transport, and cilia. Furthermore, we found that expression of paternally expressed imprinted genes (PEGs) was down-regulated in the obesity-prone B6 mice by a high-fat diet, suggesting that abnormally low expression of PEGs contributes to high-fat diet-induced obesity in B6 mice.

研究分野：分子生物学

キーワード：肥満 父性遺伝 インプリンティング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

C57BL/6 (B6) は高脂肪食を摂取させると顕著に肥満をおこすため、生活習慣病のモデルマウスとして使われていた。食事誘導性肥満の傾向はマウスの strain によって異なることが知られている。AKR/J や DBA マウスは B6 と同様に食事誘導性肥満になりやすいが、それに対して A/J、KsJ、SWR/J は食事誘導性肥満になりにくい。私達は PWK マウスが食事誘導性肥満になりにくいことを見出した。そして食事誘導性肥満になりやすい B6 と食事誘導性肥満になりにくい PWK を交互に交配して (PWK × B6) F1 と (B6 × PWK) F1 の 2 種類の F1 を作成し、B6 が父親である (PWK × B6) F1 では食事誘導性肥満になりやすいが、PWK が父親である (B6 × PWK) F1 では食事誘導性肥満になりにくいということを見出した (Morita S, et al. *Plos One* 2014)。つまり、食事誘導性肥満は父性遺伝することが分かった (図 1)。また食事誘導性肥満により B6 マウスは耐糖能異常を示すが、同じように F1 について調べたところ、B6 が父親のときのみ耐糖能異常を示し、PWK が父親のときは耐糖能異常がみられなかった。すなわち耐糖能異常も父性遺伝することがわかった。さらに、父性遺伝する食事誘導性肥満はインプリント遺伝子の発現と関係していると考え、白色脂肪におけるインプリント遺伝子の発現を解析したところ、父性発現遺伝子の Peg3 と Igf2 が高脂肪食を摂取することにより、発現が減少することを見出した (図 2)。この現象は白色脂肪においてのみ観察された。

図 1 高脂肪食負荷による体重増加は父親由来アレルに依存する

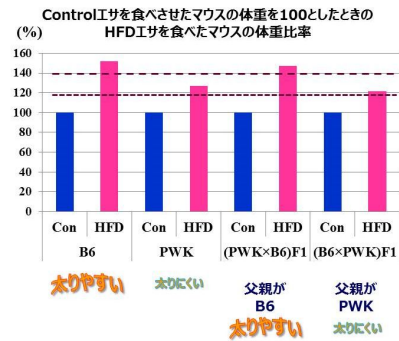
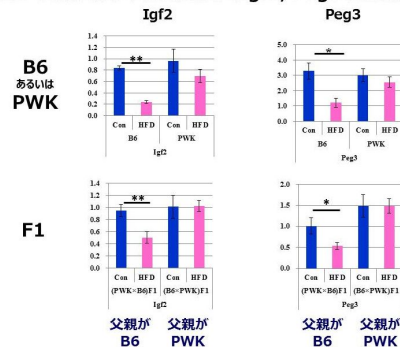


図 2 父親由来アレルに依存して Igf2, Peg3 の発現が減少する



2. 研究の目的

研究課題：肥満は父性遺伝するのか？

C57BL/6J (B6) マウスは高脂肪食により肥満や 2 型糖尿病になりやすく、長年代謝研究に用いられてきた。私達は、食事誘導性肥満になりやすい B6 と食事誘導性肥満になりにくい PWK を交配することで、食事誘導性肥満は父親から遺伝することを見出し、さらにこの現象は父性インプリント遺伝子である Igf2 と Peg3 の発現と関係していることを見出した (Morita S, et al. *Plos One* 2014)。父親由来アレルにおける発現変化が食事誘導性肥満と耐糖能異常を引き起こすという仮説をたて、父性遺伝する食事誘導性肥満のさらなる解析を行うため、マウス白色脂肪組織における次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析を行い、何が次世代に伝わっているのか、その原因となるものは何かを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) マウス白色脂肪組織における次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析

B6、PWK、(PWK × B6) F1、(B6 × PWK) F1 の白色脂肪組織における次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析を行い、父性遺伝する食事誘導性肥満の検証を行う。

インプリント遺伝子の発現解析

インプリンティングとは遺伝子発現が由来する親が父であるか母であるかにより発現が異なる現象をいう。父性インプリント遺伝子は父親由来のアレルのみ発現し、母性インプリント遺伝子は母親由来のアレルのみ発現する。父性インプリント遺伝子は父性遺伝する食事誘導性肥満をひきおこす重要な候補となりうる。私達は上記のように父性発現遺伝子の Peg3 と Igf2 が高脂肪食を摂取することにより、白色脂肪組織においてのみ発現が減少することを見出した (図 2)。既知のインプリント遺伝子は約 100 個あり、Peg3 と Igf2 以外のインプリント遺伝子の発現が食事誘導性肥満でどう変化しているかを調べる。さらに新規インプリント遺伝子の探索を行う。

インプリント遺伝子以外の発現解析

インプリント遺伝子以外の遺伝子の食事誘導性肥満における発現解析を行う。(a) 各々の strain (B6、PWK、(PWK × B6) F1、(B6 × PWK) F1) における、食事誘導性肥満により変化する遺伝子群はどのようなものであるか？どのような差異が見られるか？(b) (a) より得られた遺伝子情報を用いて、食事誘導性肥満に伴う父親アレル依存的に発現変化する遺伝子群の解析を行い、父性遺伝する食事誘導性肥満の遺伝子発現傾向とそれを引き起こすと推測される遺伝子の探索を行う。

(2) 次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析により得られた遺伝子群のうち、肥満や耐糖能に関連すると思われる新規遺伝子の解析

食事誘導性肥満により変化する遺伝子群や父親アレル依存的に発現変化する遺伝子群のうち、

脂肪細胞の分化や脂質代謝、糖代謝に関連すると思われる新規遺伝子が発見された場合、脂肪前駆細胞である 3T3-L1 細胞を用いて細胞レベルで解析する。極めて重要と思われる遺伝子については CRISPR/Cas ゲノム編集系を用いてノックアウトマウスの作成を行い、食事誘導性肥満や耐糖能について調べる。

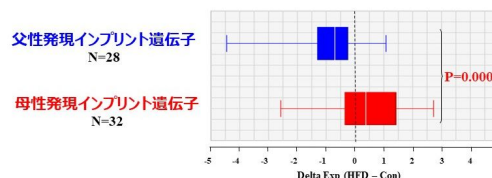
4. 研究成果

(1) マウス白色脂肪組織における次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析

インプリント遺伝子の発現解析

白色脂肪組織で発現している約 60 個のインプリント遺伝子の発現を調べた結果、父性発現インプリント遺伝子の発現は体重と負の相関を示す傾向があり、母性発現インプリント遺伝子の発現は体重と正の相関を示す傾向があることが明らかとなった(図 3)。すなわち、父性発現インプリント遺伝子は抗肥満遺伝子、母性発現インプリント遺伝子は肥満遺伝子という側面が示唆された。このことから脂肪蓄積とインプリンティングは哺乳類の進化において密接に関係していると考えられる。

図3 高脂肪食摂取によるインプリント遺伝子の発現変化



インプリント遺伝子以外の発現解析

B6、PWK、(PWK × B6) F1、(B6 × PWK) F1 の白色脂肪組織における次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析を行い、父性遺伝する食事誘導性肥満の検証を行った結果、食事誘導性肥満になりやすい B6 が父親の時に炎症や metal ion transport、cilium に関連する遺伝子発現の変化が見られたが、食事誘導性肥満になりにくい PWK が父親の場合にはそのような発現変化は見られなかった。

B6 と PWK の F1 において父親由来アレル依存的に肥満になるのは、上記のような発現変化によるものと考えられる。

(2) 次世代シーケンサを用いた RNA-seq 解析により得られた遺伝子群のうち、肥満や耐糖能に関連すると思われる新規遺伝子の解析

RNA-seq 解析により、脂肪細胞の分化や脂質代謝、糖代謝に関連する可能性のある遺伝子のうち、現在までにその役割が報告されていない遺伝子について現在ノックアウトマウスを作製し、表現解析を行っている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

Shibutani M, Horii T, Shoji H, Morita S, Kimura M, Terawaki N, Miyakawa T, Hatada I. Arid1b Haploinsufficiency Causes Abnormal Brain Gene Expression and Autism-Related Behaviors in Mice. Int J Mol Sci. 18(9). pii: E1872.2017 (査読有)

Horii T, Morita S, Kimura M, Terawaki N, Shibutani M, Hatada I. Efficient generation of conditional knockout mice via sequential introduction of lox sites. Sci Rep.7(1):7891.2017 (査読有)

Morita S, Noguchi H, Horii T, Nakabayashi K, Kimura M, Okamura K, Sakai A, Nakashima H, Hata K, Nakashima K, Hatada I. Targeted DNA demethylation in vivo using dCas9-peptide repeat and scFv-TET1 catalytic domain fusions. Nat Biotechnol. 34(10):1060-1065.2016 (査読有)

Morita S, Nakabayashi K, Kawai T, Hayashi K, Horii T, Kimura M, Kamei Y, Ogawa Y, Hata K, Hatada I. Gene expression profiling of white adipose tissue reveals paternal transmission of proneness to obesity. Sci Rep.6:21693.2016 (査読有)

[学会発表](計 1 件)

父性遺伝する食事誘導性肥満におけるインプリント遺伝子の解析と新規インプリント遺伝子の探索について

森田純代、中林一彦、河合智子、林恵子、堀居拓郎、木村美香、亀井康富、小川佳宏、秦健一

郎、畑田出穂
第10回エピジェネティクス研究会、2016、大阪、ポスター発表

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.imcr.gunma-u.ac.jp/?organization=%e3%82%b2%e3%83%8e%e3%83%a0%e7%a7%91%e5%ad%a6%e3%83%aa%e3%82%bd%e3%83%bc%e3%82%b9%e5%88%86%e9%87%8e>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：畑田 出穂

ローマ字氏名：HATADA, Izuhō

所属研究機関名：群馬大学

部局名：生体調節研究所

職名：教授

研究者番号(8桁)：50212147

(2)研究協力者 なし

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。