

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07805

研究課題名(和文) 果糖過剰摂取と次世代のインスリン抵抗性との関連：DOHaD仮説に基づく解析

研究課題名(英文) Association of maternal fructose intake and offspring insulin resistance

研究代表者

大橋 鉦二 (Ohashi, Koji)

藤田医科大学・保健学研究科・教授

研究者番号：60278281

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：フルクトースは「果糖ブドウ糖液糖」として多くの飲料の甘味料として利用されている。申請者らはフルクトース過剰摂取の母獣から生まれた仔は成長するに従いインスリン抵抗性が惹起されることを見つけた。本研究はその発症機序をDOHaDの視点から調べ、親のフルクトース過剰摂取が仔の体質形成に及ぼす分子メカニズムをエピジェネティックな観点から明らかにする。その結果、インスリン抵抗性の惹起に関わるLxra発現のmiRによる調節や、stat3遺伝子プロモーターのDNAメチル化率上昇などが見られた。妊娠期フルクトース摂取による次世代への悪影響の惹起には、エピジェネティックな作用が関わることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「健康や疾患の素因は胎児期における栄養状態によって形成される」という新しい概念であるDOHaD (Developmental Origin of Health & Disease) 説が提唱され、妊娠期の栄養状態が世代を超え、その子どもの将来にも大きく影響を及ぼすことが示唆されている。日本をはじめとする先進国において、妊婦のフルクトース摂取は増加の一途をたどっている。本研究はフルクトースの過剰摂取が、次世代に及ぼす影響を明らかにするものであり、現代社会におけるフルクトース過剰摂取の悪影響をDOHaD説により証明するものである。これは胎生期における疾患リスクの形成を阻止する予防医学につながる。

研究成果の概要(英文)：Fructose is used as a sweetener in many beverages. We have found that pups from fructose-fed dams develop insulin resistances. This study investigates the pathogenic mechanism from the viewpoint of DOHaD (developmental origin of health and illness), and elucidates the molecular mechanism of maternal fructose-induced effects from an epigenetic perspective. As a result, miR regulation of Lxra expression, which is involved in the induction of insulin resistance, and increased DNA methylation rate of stat3 gene promoter were observed. It was suggested that epigenetic effects are involved in the induction of adverse effects on the next generation by fructose intake during pregnancy.

研究分野：臨床生化学

キーワード：フルクトース DOHaD インスリン抵抗性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

フルクトースは「果糖ブドウ糖液糖」として多くの飲料の甘味料として利用され、先進国では生活習慣病の原因として注目されている。フルクトースの消費量の増加に伴い、妊婦の摂取量も増え、次世代への影響が懸念される。申請者らは、これまでに妊娠期のフルクトース過剰摂取により誘発される生活習慣病の作用機序を研究してきた。しかし分子メカニズムにおいては不明な点が多い。

申請者らはエピジェネティックな制御に着目し研究を進めてきた。エピジェネティックな制御を司る機構として、DNA のメチル化、ヒストン修飾、miRNA がある。この中でも申請者は DNA のメチル化に焦点を当て研究して来た。DNA のメチル化とは塩基配列に変化を伴わず遺伝子の発現を調節する。申請者はフルクトースを過剰摂取した成獣ラットにて DNA の高メチル化と遺伝子発現の異常を確認している (Life Sci 2016, BBRC 2015)。これは「過剰なフルクトースによってエピジェネティックな変化が生じる」ことを世界で初めて明らかとした研究である。

2. 研究の目的

胎児に必要な栄養は母体を介して摂取するため、母体の栄養環境に影響される。事実、母体の飢餓や飲酒は胎児の発育・成長に悪影響である。成体における「フルクトース脆弱性」が示されたことから、母体を介したフルクトース摂取によっても仔に悪影響を及ぼすことを考え、申請者らは母獣フルクトースの過剰摂取は次世代に様々な影響を解析している。これまでに、仔の海馬の遺伝子発現は母親のフルクトース摂取に感受性があることを明らかとしている (*Nutr Res* (2015), *Endor Res* (2016))。

本研究の目的はフルクトースの過剰摂取が胎内環境を介して仔の糖代謝・インスリン感受性に与える影響を「エピジェネティック」な観点から解析することである。親のフルクトース過剰摂取が仔の体質形成に及ぼす分子メカニズムをエピジェネティックな観点から明らかにする。

3. 研究の方法

妊娠ラットにフルクトースを過剰摂取されると、仔が成長するに伴いインスリン抵抗性が見られた。さらに、インスリン抵抗性が発症する前にすでに糖代謝やインスリン感受性に関連する遺伝子発現に差があることがわかった。本研究では、過剰フルクトース母獣から生まれた仔を対象にこれら遺伝子の DNA メチル化・ヒストン修飾や miRNA などのエピジェネティックな制御を解析する。以下の2点の解析を行う。

A. 過剰フルクトース母獣から生まれた仔肝臓の DNA メチル化・ヒストン修飾変化の解析

申請者らは以前の研究で成獣にフルクトースを与えると、DNA メチル化変動により遺伝子発現が変化することを明らかにしている (*BBRC* (2015), *Life sciences* (2016))。この知見を基に、世代を越えたフルクトースの影響においても DNA メチル化が関与する可能性を調べる。また DNA メチル化とヒストン修飾は協調的に働く事で効率的に発現抑制を維持していることを考慮し、本研究ではヒストン修飾変化も解析の対象とする。

B. 過剰フルクトース母獣から生まれた仔肝臓の miRNA 発現変化の解析

多くの遺伝子は miRNA による制御を受けている。各遺伝子の miRNA 候補を in silico で解析し、発現量を解析する。変化が見られた場合には培養細胞を用いて miRNA の機能を詳細に解析する。

4 . 研究成果

妊娠期のフルクトース過剰摂取は次世代の代謝機能に悪影響を及ぼす。しかし、その発生機序は不明である。現在、そのメカニズムの候補として、DNA のメチル化と miRNA が考えられている。本研究では、エピジェネティックな修飾の観点から、母性果糖消費の世代を超えた影響を検討した。実験では、妊娠・授乳中に母獣ラットに、蒸留水あるいは 20% フルクトース水を与えた。雄の仔ラットから得た血清および肝臓組織を解析した。その結果、果糖母獣から生まれた仔（160 日齢）について血清高密度リポタンパク質コレステロール（HDL-C）の減少が観察された。コレステロール代謝における Liver x receptor alpha（LXRA）の役割を示す研究を踏まえ、Lxra の発現を調べるところ、果糖を与えられた母獣から生まれた仔の肝臓において、mRNA 発現が減少することが分かった。さらに、Lxra の発現と DNA メチル化および miR-206 発現のレベルとの間の関係を調べた。パイロシーケンシングアッセイでは、Lxra プロモーター領域の DNA メチル化レベルに有意な差は見られなかったが、60 日齢および 160 日齢の肝臓では miR-206 の発現が増加していた。miR-206 を介した Lxra 発現は HDL-C 量に影響を与えている可能性がある。現在、これらの現象と、インスリン抵抗性との関連を解析している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Munetsuna E, Yamada H, Yamazaki M, Ando Y, Mizuno G, Hattori Y, Sadamoto N, Ishikawa H, Ohta Y, Fujii R, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K	4. 巻 67
2. 論文標題 Maternal high-fructose intake increases circulating corticosterone levels via decreased adrenal corticosterone clearance in adult offspring.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of nutritional biochemistry	6. 最初と最後の頁 44-50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.jnutbio.2019.01.016.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Munetsuna E, Yamada H, Yamazaki M, Ando Y, Mizuno G, Ota T, Hattori Y, Sadamoto N, Suzuki K, Ishikawa H, Hashimoto S, Ohashi K	4. 巻 25
2. 論文標題 Maternal fructose intake disturbs ovarian estradiol synthesis in rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 1231-1239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.lfs.2018.04.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Munetsuna E, Yamada H, Yamazaki M, Ando Y, Mizuno G, Ota T, Hattori Y, Sadamoto N, Suzuki K, Ishikawa H, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Maternal fructose intake disturbs ovarian estradiol synthesis in rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.lfs.2018.04.006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宗網栄二, 山田宏哉, 山崎未来, 水野元貴, 太田駿瑠, 石川浩章, 鈴木康司, 大橋鉦二
2. 発表標題 母獣のフルクトース過剰摂取が次世代のエストロゲン合成に及ぼす影響
3. 学会等名 日本内分泌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 貞本奈緒、水野元貴、山田宏哉、宗網栄二、山崎未来、服部裕次、下平大輝、安藤嘉崇、石川浩章、鈴木康司、大橋鉦二
2. 発表標題 母獸のフルクトース過剰摂取が仔海馬 Uncoupling Proteins 発現に与える影響
3. 学会等名 日本DOHaD研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宗網 栄二, 山田 宏哉, 山崎 未来, 水野 元貴, 太田 駿瑠, 石川 浩章, 鈴木 康司, 大橋 鉦二
2. 発表標題 母獸のフルクトース過剰摂取が次世代のエストロゲン合成に及ぼす影響
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎 未来, 山田 宏哉, 宗網 栄二, 水野 元貴, 鈴木 康司, 石川 浩章, 橋本 修二, 大橋 鉦二
2. 発表標題 母獸のフルクトース過剰摂取が仔海馬の脳由来神経栄養因子の発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	宗網 栄二 (Munetsuna Eiji) (30600431)	藤田医科大学・医学部・助教 (33916)	