

令和元年6月13日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K13237

研究課題名(和文)胎盤における栄養状態によるエピゲノム制御の分子メカニズムの解析

研究課題名(英文)The molecular mechanism of epigenomic regulation by maternal nutritional status in placenta.

研究代表者

舟橋 伸昭 (Funahashi, Nobuaki)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・上級研究員

研究者番号：30727491

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：低出生体重は成長後の様々な生活習慣病のハイリスクであるとするDOHaD説が確立しつつあるが、分子機序は不明である。今回、我々は胎盤重量と出生体重の両方が高い検体と低い検体を用いて、マイクロアレイで網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、出生体重、胎盤重量の高い群は低い群と比較して、発現増加した遺伝子が38遺伝子、発現減少した遺伝子が69遺伝子であることが示された。従って、出生体重、胎盤重量と遺伝子発現量が関連する遺伝子をいくつか同定した。現在、同定した遺伝子がどのような発現制御様式なのかを栄養やエピゲノム制御を含めて検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題により、我々は胎盤重量と出生体重の両方が高い検体と低い検体を用いて、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、胎盤重量、出生体重と遺伝子発現量が関連する遺伝子をいくつか同定した。今回、同定した遺伝子は、出生体重や胎盤重量との関連性について報告のない遺伝子がいくつか含まれていた。現在、これら同定した遺伝子発現と栄養成分との関連性について検討しているが、この検討により、どのような栄養成分が妊婦に重要であるのかを示すことができる。さらに将来的に、その栄養成分を用いて妊婦への介入指導を行うことができれば、DOHaD説に基づく生活習慣病の予防につながり、「先制医療」の実現に期待される。

研究成果の概要(英文)：The DOHaD hypothesis is being established that low birth weight is high risk of metabolic syndromes after growth. The underlying molecular mechanism is unknown. Here, we performed a comprehensive gene expression analysis on microarray using the placentas with high and low value of both birthweight and placental weight. The placentas of high value of both birthweight and placental weight was increased expression of 38 genes and was decreased expression of 69 genes as compared with the placentas of low value of both birthweight and placental weight. Thus, we identified several genes that gene expression levels related to birthweight and placental weight. In this future, we will investigate relationship among transcriptional regulation mechanism of identified genes, nutrient, and epigenetic regulation including to DNA methylation.

研究分野：代謝学、分子生物学

キーワード：生活習慣病 DOHaD エピジェネティクス 栄養成分 胎盤

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

### 1. 研究開始当初の背景

近年、日本では、出生体重 2500g 未満の低出生体重児の頻度が増加傾向である。平成 27 年の人口動態調査によると低出生体重児の割合は 9.5% (男 8.4%、女 10.6%) であり、依然として高い割合を推移している。これは OECD 加盟国の中でも最も頻度が高い状態である。また、出生体重の低下によるリスクとして、生活習慣病の罹患率との関係がある。これまでの疫学研究による報告として、低出生体重との関連が明確な疾患は 2 型糖尿病をはじめ、心血管疾患、高血圧、脂質代謝異常、脳梗塞、神経発達異常などが挙げられる。出生体重が低下する原因は早産や多胎などを含めていくつかあるが、日本では若い女性の「やせ」が顕著であり、低出生体重の重要な原因として、妊娠時の母体低栄養状態が考えられる。

一方で近年、欧米を中心とした疫学研究から、Barker らにより生活習慣病の素因は「胎生期ならびに乳幼児期の環境と遺伝子の相互作用により形成され、出生後の生活習慣の負荷が加わって発症する」という説が提唱された。この概念は現在「Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 説」と呼ばれ、注目されている。DOHaD 説によると、低出生体重児の増加している我が国では、今後、生活習慣病の増加など、次世代の健康に影響が生じる可能性が大きいと危惧されており、国民健康上喫緊の課題となっている。

DOHaD 説の解釈としては、臓器形成期に低栄養状態に曝露されると、低栄養に適応した臓器形成(「adaptive response」)が行なわれるため、臓器の異常が起き、さらに成長してから過栄養の状況に対応できないため生活習慣病が生じる、という考え方が有力である。詳細な分子メカニズムは DNA メチル化やヒストン修飾、マイクロ RNA などのエピゲノム調節の変化が寄与していると想定されている。しかし、動物モデル系でエピゲノム変化を示した報告は限られており、ヒトではほとんど報告がなく、未だに明らかになっていない。

このような背景のもと、これまでに申請者らは、妊娠母体の栄養状態を客観的に把握し、同時に母児の臓器への分子的影響を検討する前向きコホート「パースコホート(検体数 136)」を構築した。これまでに、このパネルの臍帯血、胎盤を用いて、出生体重、胎盤重量と相関関係を持つ各遺伝子の DNA メチル化率や遺伝子発現量を見出している。しかしながら、出生体重や胎盤重量と関連があった遺伝子の DNA メチル化状態や遺伝子の発現量がどのような栄養状態で影響を与えられるのかが不明である。

### 2. 研究の目的

本研究課題は、ヒト組織を用いた実験系と *in vitro* の実験系を用いて、どのような栄養成分が DNA メチル化を含めたエピゲノムや遺伝子発現に影響を及ぼしているのか、また、胎盤重量、出生体重に影響を及ぼしているのかを明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

126 検体の胎盤から、ゲノム DNA と total RNA をそれぞれ抽出した。網羅的遺伝子発現解析には、マイクロアレイを用いた。また、それぞれの遺伝子発現は TaqMan 法で測定した。DNA メチル化解析は、PyroMarkQ12 を用いて、パイロシークエンス法で定量した。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒト胎盤を用いた網羅的遺伝子発現解析

胎盤は母体と胎児の間で栄養成分や酸素の受け渡しに関与しており、以前より、出生体重と胎盤重量は相関関係があることが知られている。従って、母体の栄養状態によって、胎盤中の遺伝子発現やエピゲノムの変化が起こり、胎盤重量や出生体重に寄与している可能性が考えられる。

そこで、胎盤重量と出生体重の両方が低い 3 例と高い 3 例の合計 6 例を用いて、それぞれの胎盤中の遺伝子発現量をマイクロアレイで網羅的解析を行った(図 1)。その結果、出生体重、胎盤重量の高い 3 例は低い 3 例より、発現増加した遺伝子が 38 遺伝子、発現減少した遺伝子が 69 遺伝子あることが示された。

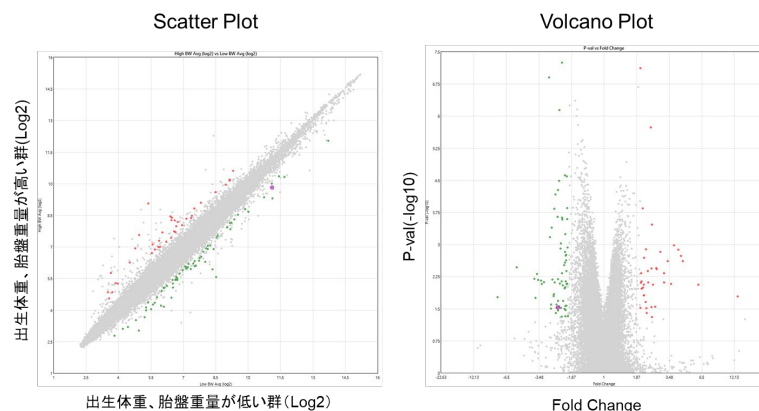


図 1 ヒト胎盤を用いた網羅的遺伝子発現解析

## (2) 出生体重、胎盤重量と Spexin (SPX) との関連性の検討

我々は、胎盤の網羅的遺伝子発現解析より、出生体重、胎盤重量が低い群と比較して高い群で最も発現量が高値である SPX に着目した。まず、胎盤の SPX の発現量が出生体重、胎盤重量と相関関係を持つのかを検討するために、TaqMan 法による遺伝子発現解析を行った。その結果、胎盤重量と SPX の発現量は有意に正の相関関係を持つことが明らかとなった(図2)。一方、出生体重との相関関係は見られなかった。そこで、児の出生体重を 2500g 未満と 2500g 以上の 2 群に分けて、各母体の胎盤の SPX 発現量を検討すると、SPX 発現量は 2500g 未満と比較して、2500g 以上で有意に高いことが示された(図3)。

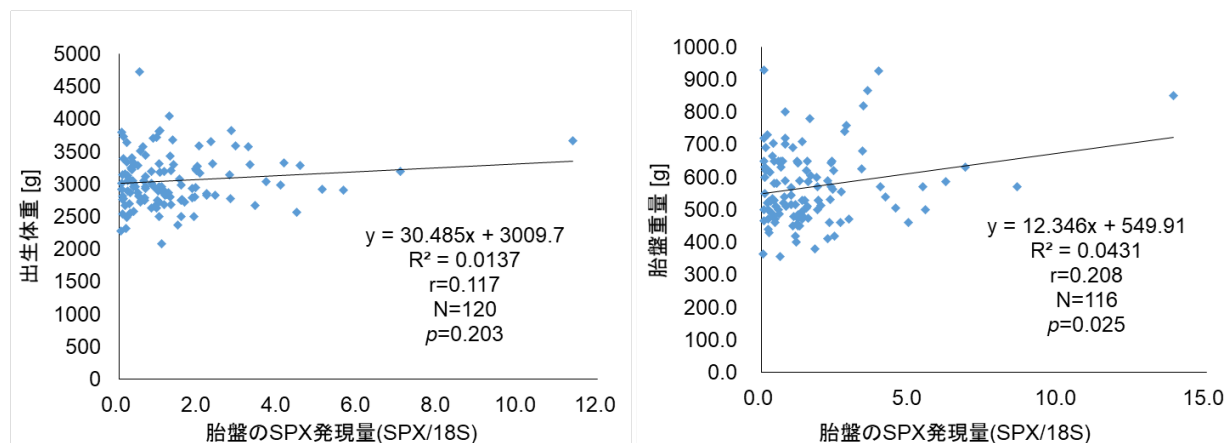


図2 出生体重、胎盤重量と胎盤の SPX 発現量との関連性

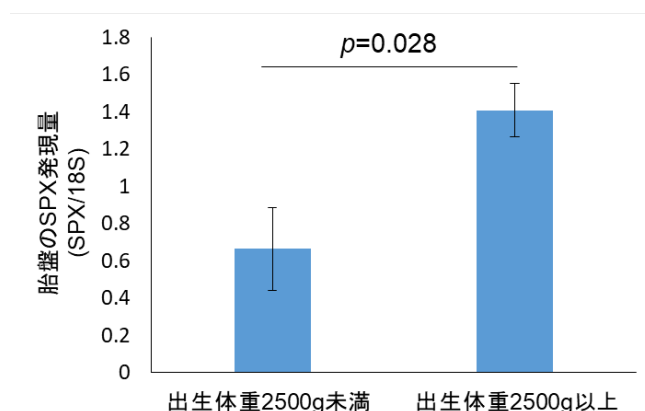


図3 正常出生体重と低出生体重の胎盤 SPX 発現量の比較

また、SPX の発現が DNA メチル化によって発現制御されているのかを検討するために、胎盤ゲノム DNA を用いて、パイロシークエンス法による DNA メチル化解析を行った。その結果、胎盤重量と胎盤 SPX の DNA メチル化率との間に有意な負の相関関係が見られた。一方、出生体重との関連は見られなかった。

このように、我々は出生体重と胎盤重量の違いにより、胎盤で発現する遺伝子の違いを同定した。さらに、同定した遺伝子の中で、出生体重、胎盤重量が高い群で最も高値であった遺伝子 SPX は、胎盤において DNA メチル化により制御されていることが示唆された。今後は、同定した遺伝子の発現がどのような栄養成分によって影響を受けているのかを検討する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

(1) 舟橋伸昭、安田和基、「エビデミックス」、2018年、小児科診療 81(10): 1267-1272 (査読有)

(2) Nammo T, Udagawa H, Funahashi N, Kawaguchi M, Uebanso T, Hiramoto M, Nishimura W, Yasuda K.  
Genome-wide profiling of histone H3K27 acetylation featured fatty acid signalling in

pancreatic beta cells in diet-induced obesity in mice. *Diabetologia*. 2018 Dec;61(12):2608-2620. DOI: 10.1007/s00125-018-4735-7 ( 査読有 )

( 3 ) Hiramoto M, Udagawa H, Ishibashi N, Takahashi E, Kaburagi Y, Miyazawa K, Funahashi N, Nammo T, Yasuda K.

A type 2 diabetes-associated SNP in KCNQ1 (rs163184) modulates the binding activity of the locus for Sp3 and Lsd1/Kdm1a, potentially affecting CDKN1C expression. *Int J Mol Med*. 2018 Feb;41(2):717-728. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3273. ( 査読有 )

[学会発表](計 10 件)

( 1 ) 舟橋伸昭、宇田川陽秀、南茂隆生、安田和基、「ヒト NASH 肝で高発現する AKR1B15 の発現制御機序および機能解析」、第 5 回肝臓と糖尿病・代謝研究会、鳥取、2018 年 7 月

( 2 ) 宇田川陽秀、舟橋伸昭、西村渉、平本正樹、南茂隆生、安田和基、「インスリン分泌抑制因子 Necab1 の GR を介した発現調節機構」、第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2018 年 5 月

( 3 ) 南茂隆生、宇田川陽秀、舟橋伸昭、川口美穂、上番増喬、平本正樹、西村渉、安田和基、「高脂肪食にて活性増加する膵島 cis 調節領域の網羅的検討から見出された結合因子 Nuclear respiratory factor 1 (Nrf1) の機能的検討」、第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2018 年 5 月

( 4 ) 舟橋伸昭、宇田川陽秀、南茂隆生、安田和基、「肝細胞における AKR1B10 の発現制御メカニズムの解析」、第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2018 年 5 月

( 5 ) 舟橋伸昭、「ヒト NASH 肝で高発現する AKR1B15 の発現制御メカニズムおよび機能解析」、第 17 回 Diabetes Research Forum in Tokyo、東京、2018 年 4 月

( 6 ) 宇田川陽秀、南茂隆生、舟橋伸昭、平本正樹、西村渉、松本健治、関洋介、笠間和典、安田和基、「内臓脂肪組織優位に発現する転写因子 Gata5 の機能解析」、第 38 回 日本肥満学会、大阪、2017 年 10 月

( 7 ) 舟橋伸昭、宇田川陽秀、南茂隆生、中西美紗緒、矢野哲、箕浦茂樹、福岡秀興、安田和基、「児の出生体重、胎盤重量と DNA メチル化状態および遺伝子発現量との関連性の検討」、第 6 回日本 DOHaD 学会学術集会、東京、2017 年 8 月

( 8 ) 舟橋伸昭、宇田川陽秀、南茂隆生、中西美紗緒、矢野哲、箕浦茂樹、福岡秀興、安田和基、「児の出生体重、胎盤重量と DNA メチル化状態との関連性の検討」、第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、愛知、2017 年 5 月

( 9 ) 宇田川陽秀、舟橋伸昭、南茂隆生、平本正樹、西村渉、松本健治、関洋介、笠間和典、安田和基、「高度肥満患者の内臓脂肪組織優位に発現する転写因子 Gata5」、第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、愛知、2017 年 5 月

( 10 ) 南茂隆生、宇田川陽秀、舟橋伸昭、川口美穂、上番増喬、平本正樹、西村渉、安田和基、「遺伝子 cis 調節領域の網羅的エピゲノム解析と膵島代償機序に関する転写因子モチーフの検討」、第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、愛知、2017 年 5 月

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。