

平成21年4月15日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18390443

研究課題名（和文）

母体栄養障害による胎児脳の成人疾患へのプログラミングとその解除に関する実験的研究
研究課題名（英文）Experimental study for the programming of fetal brain by food retraction in pregnancy and its resetting.

研究代表者

岡村 州博（OKAMURA KUNIHIRO）

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90124560

研究成果の概要：母体低栄養の胎児への影響は出生後も続き成人疾患の大きな要因になると考えられているが、胎児脳における影響に関しては詳しく調べられていなかった。本研究では、低蛋白食を与えた妊娠マウスの胎仔脳が膣炎などの母体感染を受けやすくなることを見出した。また、この原因が胎児脳の遺伝子調節（エピジェネティクス）の異常に関与すること、総合ビタミン剤の妊娠中の投与で改善する可能性があることを見出した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2007年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2008年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

研究分野：産婦人科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：Fetal origin of adult disease、生活習慣病、オリゴデンドロサイト、低栄養妊娠マウスモデル、うつ病、網羅的研究、Igf2 promoter P1 領域、H3, H4 Histone

1. 研究開始当初の背景

胎児起源性成人疾患 Fetal origin of adult disease の概念には動物実験に於いて、これを示唆する多くの evidence が示されている。特に、母体の栄養障害が胎児の脳に影響し、成人後の精神障害の原因になっているので

はないかとされている。しかし、母体低栄養における胎児脳への影響、およびエピジェネティクス解析は詳しく調べられていなかった。

2. 研究の目的

本研究は動物実験モデルを用いて母体の摂取カロリーの定価、タンパクの低下が児の

将来の精神疾患に結びつくかを検討する事を目的としている。

この目的を解明するために、

- (1) 低栄養環境における胎仔の網羅的な遺伝子解析
- (2) エピジェネティクスの変化、
- (3) 妊娠中の総合ビタミン剤投与によるプログラミングへの影響、
- (4) 母体感染に関する胎仔脳の影響を調べる。

(5) また、エピジェネティクスが、これらの機構の主体であることを確認するために、メチル化の補酵素である葉酸の欠乏がどのような異常を引き起こすかどうかの検討を行った。

3. 研究の方法

妊娠マウス (C57BL/6J) を用い妊娠全期間で、コントロール群に通常餌を、低栄養群に低蛋白餌を与える。

(1) 網羅的研究

妊娠 17 日目の胎仔の脳、心臓、肝臓でマイクロアレイ (東レ 3 DG チップ) を行う。得られた結果を GSEA などで解析する。

(2) エピジェネティクスの研究

上記により得られる優位変動因子に関し、Histon メチル化をバイサルファイト法を用いて検討する。

(3) 総合ビタミン剤によるプログラミングの解除

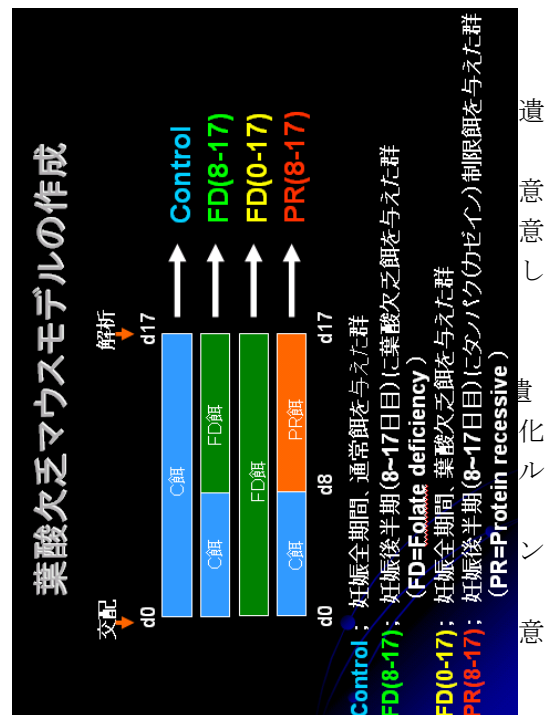
低栄養飼育群へ妊娠全期間総合ビタミン剤 (ミックスオリエンタルイーストにビタミン B6、B12 を添加) を投与し上記、変化と比較する。

(4) 感染の影響

日齢 14 日に母体腔内に LPS を投与し妊娠 17 日目、生後 7 日目に胎仔脳を取り出し、うつ病などの神経疾患に関わりの深い神経膠細胞を中心とした組織検査、免疫染色を行う。

(5) 葉酸欠乏餌による影響

妊娠マウスに対し葉酸を除く葉酸欠乏餌を妊娠期間を通じて及び、日齢 8-17 日の間のみ与えた FD(0-17) 群、PD(8-17) 群を作成し、日齢 17 日目に解析を行った。

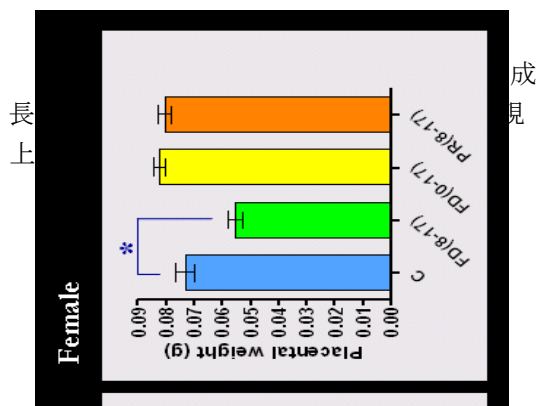


②妊娠 17 日目、生後 7 日目で低栄養群の胎仔の体重減少が見られた。生後妊娠 14 日齢で 0.01mg/ml × 30 μl の LPS を経腔的に投与し妊娠 17 日目に胎仔脳の PDGF-RAlpha, Olig2, ActCapase3 の免疫染色を行った。これらは各群間で変化が見られなかった。生後 7 日目に行った MBP, GFAP, nestin の染色では、MBP が低栄養 LPS 群で有意に低下、GFAP は変化なく、GFAP と nestin の 2 重陽性割合は LPS 投与群で増加していた。日齢 19 日では各群で神経膠細胞前駆細胞の

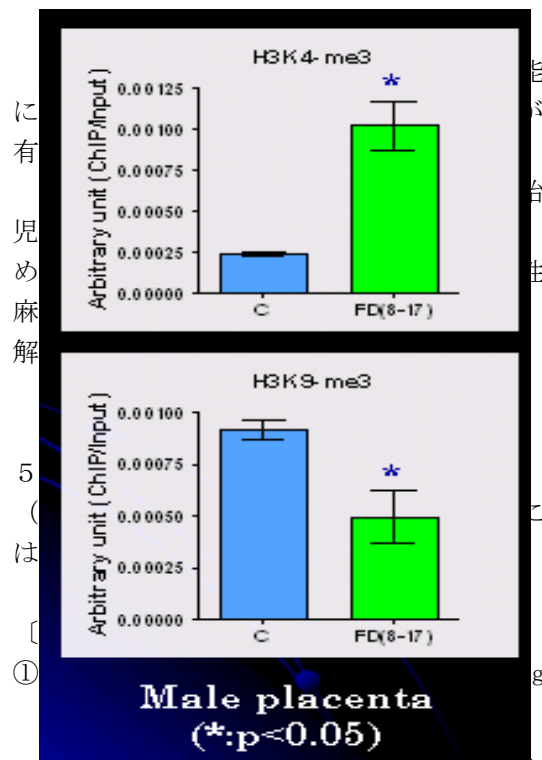
有意な変化は見られず、アポトーシスもこの時になかった事になる。また、生後7日目にLPS群で活性アストロサイトが活性化していること、低栄養LPS群のみで成熟オリゴデンドロサイト(OL)の有意な減少が示された。Igf2はOLの発育を増進し、Igf1はその分化を調節している。OLの減少はIgf2の減少に関与すると考えられた。本研究では低タンパク質の食事がIgf2のepigenetic制御異常を生じ、これに感染が加わると新生児期の脳内でOLの減少がすることが分かった。

(5) 葉酸欠乏餌による影響

FD(0-17)群では、小顎症や小頭症、眼球欠損などが見られた。



H3K4-me:positive領域のヒストン修飾の著明な増加と repressive領域の著名な減少が見られた。



② Jafar S, M Nakamura, T Ito, Y Kimura, K Okamura. "Food Restriction in pregnant mice can induced changes in Histone Modifications and suppress gene expression in fetus" Nucleic Acids Symposium Series Oxford

University Press.No.51, 125-126,
2007, 査読有.

- ③ Jafar S, K Okamura. “The SRA protein Np95 mediates epigenetic inheritance by recruiting Dnmt1 to methylated DNA.” *Nature*, 4507, 908-912, 2007, 査読有.

[学会発表] (計 4 件)

- ① 松田尚美、千坂泰、木村芳孝、八重樫伸生、岡村州博、母体葉酸欠乏が及ぼす胎仔胎盤発育における影響とそのエピジェネティックス制御機構解析、第 61 回日本産科婦人科学会、平成 21 年 4 月 5 日、京都国際会館
- ② 松田尚美、千坂泰、木村芳孝、Jafar Sharif、岡村州博、母体葉酸欠乏が及ぼす胎盤発育およびIgf-axisの発現制御のエピジェネティックス基盤解析、第 16 回日本胎盤学会、平成 20 年 11 月 14 日、浜松市
- ③ Nakamura M, J Sharif, T Ito, H Chisaka, Y Kimura, K Okamura.” Transcriptional suppression of Igf2 mediated by altered histone modifications in a maternal protein restricted IUGR mouse model” 34 Annual Meeting of Fetal and Neonatal Physiological Society, Aug. 29, 2007, Sendai, Japan.
- ④ Ito T, K Uchida, M Nakamura, H Chisaka, Y Kimura, K Okamura.” Maternal Low protein Diet Aggravates Fetal White Matter Damage Caused by Infection.” 4 Annual Meeting of Fetal and Neonatal Physiological Society, Aug. 29, 2007, Sendai, Japan.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡村 州博 (OKAMURA KUNIHIRO)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：90124560

(2) 研究分担者

木村 芳孝 (KIMURA YOSHITAKA)
東北大学・国際高等研究教育機構・教授
研究者番号：40261622

千坂 泰 (CHISAKA HIROSHI)
東北大学・病院・講師
研究者番号：40323026

加藤 英政 (KATO HIDEMASA)
東北大学・先進医工学研究機構・准教授
研究者番号：50292123

菅原 準一 (SUGAWARA JUNICHI)
東北大学・病院・講師
研究者番号：60280880

(3) 連携研究者

なし