

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K02237

研究課題名(和文) 食事因子による単純性脂肪肝のエピジェネティック情報制御に関する基盤的研究

研究課題名(英文) Epigenetic regulation in simple fatty liver induced by dietary factors

研究代表者

島田 昌也 (Shimada, Masaya)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：10576755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：食事因子、特に強力なリボジェニックシュガーであるフルクトースの摂取により誘導される単純性脂肪肝における脂肪酸合成系遺伝子のエピジェネティック情報制御を転写の活性化と密接に関連するヒストンアセチル化に着目し解析を行った。フルクトース摂取により誘導された単純性脂肪肝では脂肪酸合成系遺伝子(Pklr, Acly, Acaca, Fasn, Elovl6, Scd1)の発現が著増した。また、フルクトース摂取により、Elovl6およびScd1遺伝子プロモーター上において、脂肪酸合成系転写因子SREBP-1ではなくChREBPの結合が増大するだけでなく、ヒストンH3およびH4のアセチル化が増大した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日々の食生活で摂取し得るフルクトースは、肝臓において糖から脂肪への変換を調節する転写因子ChREBPおよびヒストンアセチル化の活性化を介して脂肪酸合成系遺伝子の発現を上方調節することが示唆された。今後これらの因子を抑制するような食生活を探索することが脂肪肝を含めた代謝性疾患を予防に重要である。

研究成果の概要(英文)：We investigated epigenetic regulation, especially histone acetylation on lipogenic genes in fatty liver induced by a dietary factor, fructose. Expression of lipogenic genes (Pklr, Acly, Acaca, Fasn, Elovl6, Scd1) was induced in simple fatty liver of rats fed a high-fructose diet. In addition, the high-fructose enhanced acetylation of histones H3 and H4 as well as binding of a lipogenic transcription factor ChREBP, not SREBP-1, at the Elovl6 and Scd1 gene promoters.

研究分野：食品栄養学

キーワード：フルクトース 単純性脂肪肝 脂肪酸合成系遺伝子 プロモーター ChREBP アセチル化ヒストン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

30%以上の中性脂肪滴を伴う肝細胞は一般的に脂肪肝とよばれ、脂肪沈着のみを認める単純性脂肪肝と脂肪沈着に炎症や線維化を伴う脂肪性肝炎に分けられる。脂肪肝の発症・進展は、乱れた食生活[過食(砂糖,異性化糖を含む飲料,脂肪の多い食事,アルコール飲料などの過剰摂取),早食いなど]とも密接に関連している。初期肥満の段階では、単純性脂肪肝は内臓脂肪蓄積よりもインスリン抵抗性の最初の引き金となり得る[1]

近年、乱れた食生活から発症・進展する代謝性疾患(脂肪肝,糖尿病,肥満など)とエピジェネティック情報の蓄積との関係が注目されている。エピジェネティック情報とは、クロマチン(DNAとヒストンタンパク質の複合体)上に後天的に付加される化学的变化で、DNAのメチル化やヒストンの修飾(アセチル化,メチル化,リン酸化など)があり、食事という環境因子によっても影響を受ける。転写のONに関与するヒストンの代表的な修飾には、ヒストンH3の9番目および14番目のリジン(K)残基(H3K9,H3K14)のアセチル化やヒストンH3の4番目および36番目のK残基(H3K4,H3K36)のメチル化がある[2]

砂糖の主成分スクロースは小腸で消化され単糖類(グルコースとフルクトース)として吸収される。特にフルクトースは、肝臓で速やかに中性脂肪の合成に利用されるため、フルクトースの摂取量と脂肪肝の罹患率には正の相関がある[3]。中性脂肪が蓄積するまでには至らないフルクトースの急性刺激は、肝臓の脂肪合成系遺伝子の発現を亢進するだけでなく、これら遺伝子の転写をONに制御するヒストンH3およびH4のアセチル化やヒストンH3K4メチル化を強く誘導する[4]。しかしながら、食事因子によって肝臓に中性脂肪が蓄積した単純性脂肪肝において、どのような脂肪合成系遺伝子上に転写因子も含めどのようなエピジェネティック情報が蓄積しているかは不明である。

2. 研究の目的

食事因子による単純性脂肪肝の発症時における脂肪合成系遺伝子上のエピジェネティック情報制御を *in vivo* で解明することを目的とする。

3. 研究の方法

4週齢のWistar系雄ラットを温度 22 ± 2 ℃, 12時間明暗サイクル(7:00-19:00明期)の飼育室で行った。市販の飼料と水道水を自由に摂取させ数日間予備飼育した。その後、平均体重が等しくなるように対照群と脂肪肝群の2群に分け、対照群には食餌中の糖質の供給源をデンプンとした対照食を、脂肪肝群には食餌中の糖質の供給源をフルクトースとした高フルクトース食をそれぞれ2週間程度摂取させた。その後、肝臓を採取し以降の分析に用いた。

(1) 採取した肝臓からBligh&Dyerの方法に準じて総脂質を抽出し、市販のキットにより中性脂肪量を測定した。

(2) 採取した肝臓から市販のキットにより抽出したRNAを用いてcDNAを合成し、リアルタイム定量PCRにより脂肪合成系遺伝子の発現量を測定した。なお遺伝子発現量は*Tbp*をハウスキーパー遺伝子として用い、Ct法により相対値で算出した。

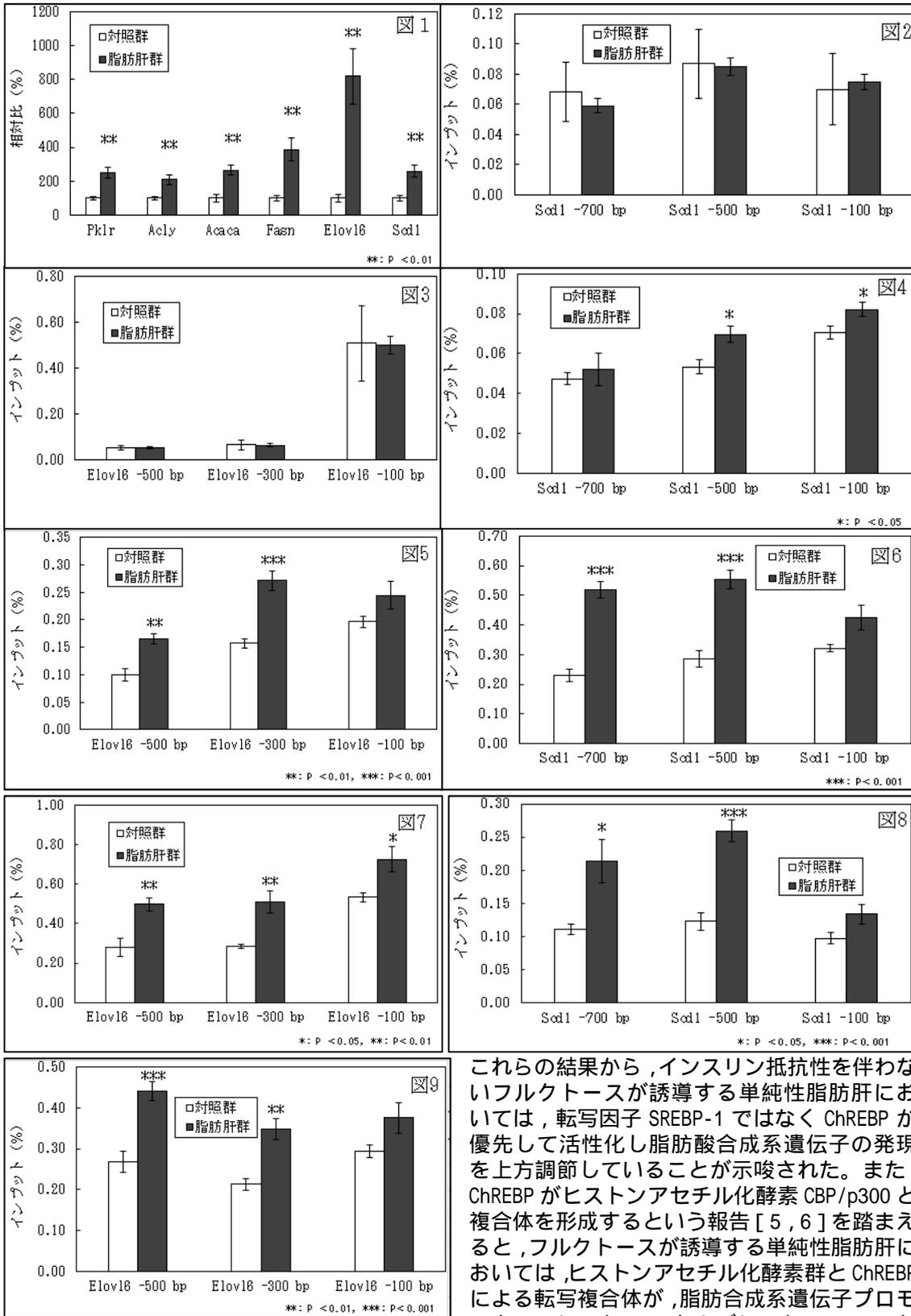
(3) 採取した肝臓からタンパク質-DNA複合体(クロマチン)を調製し、脂肪合成に関連する転写因子SREBP-1およびChREBP,ならびにアセチル化ヒストンH3抗体およびアセチル化ヒストンH4抗体を用いてクロマチン免疫沈降法を行い、脂肪合成系遺伝子プロモーター領域のエピゲノム情報の解析を行った。

4. 研究成果

(1) 対照群と比較し脂肪肝群において、肝臓中性脂肪量は有意に増加した。

(2) 対照群と比較し脂肪肝群において、肝臓脂肪合成系遺伝子(*Pklr*, *Acly*, *Acaca*, *Fasn*, *Elovl6*, *Scd1*)の発現量は有意に増加した(図1)。

(3) 肝臓*Scd1*遺伝子および*Elovl6*遺伝子プロモーター上におけるSREBP-1の結合量は対照群と脂肪肝群の間で有意差はなかった(図2,図3)。一方、対照群と比較し脂肪肝群において、肝臓*Scd1*遺伝子および*Elovl6*遺伝子プロモーター上におけるChREBPの結合量(図4,図5)、ヒストンH3のアセチル化(図6,図7)およびヒストンH4のアセチル化(図8,図9)は有意に増大した。



これらの結果から、インスリン抵抗性を伴わないフルクトースが誘導する単純性脂肪肝においては、転写因子 SREBP-1 ではなく ChREBP が優先して活性化し脂肪酸合成系遺伝子の発現を上方調節していることが示唆された。また、ChREBP がヒストンアセチル化酵素 CBP/p300 と複合体を形成するという報告 [5, 6] を踏まえ、フルクトースが誘導する単純性脂肪肝においては、ヒストンアセチル化酵素群と ChREBP による転写複合体が、脂肪合成系遺伝子プロモーターのヒストン H3 およびヒストン H4 のアセチル化を亢進して、遺伝子発現を上方調節していることが示唆された。

< 引用文献 >

[1] *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3023-3028, 2002
 [2] *Science* 293: 1074-1080, 2001 [3] *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 7: 251-264, 2010
 [4] *Metabolism* 65: 1478-1488, 2016
 [5] *FASEB J* 23: 2855-2865, 2009
 [6] *J Biol Chem* 284:16898-16905, 2009

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hibi M, Nakagawa T, Hayakawa T, Yanase E, Shimada M	4. 巻 88
2. 論文標題 Dietary supplementation with myo-inositol reduces high-fructose diet-induced hepatic ChREBP binding and acetylation of histones H3 and H4 on the Elovl6 gene in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutr Res	6. 最初と最後の頁 28-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nutres.2020.12.022	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 Hibi M, Sugiura S, Nakagawa T, Hayakawa T, Shimada M	4. 巻 70
2. 論文標題 Effects of dietary supplementation with myo-inositol on hepatic expression of glycolytic and fructolytic enzyme genes in rats fed a high-sucrose diet	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Oleo Sci	6. 最初と最後の頁 697-702
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5650/jos.ess20340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shimada M, Hibi M, Nakagawa T, Hayakawa T, Field CJ	4. 巻 42
2. 論文標題 High-fructose diet-induced hepatic expression of the Scd1 gene is associated with increased acetylation of histones H3 and H4 and the binding of ChREBP at the Scd1 promoter in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomed Res	6. 最初と最後の頁 85-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.42.85	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Tanaka T, Mizuno T, Nakagawa T, Hayakawa T, Shimada M	4. 巻 70
2. 論文標題 Effects of H3 and H4 histones acetylation and bindings of CREB binding protein and p300 at the promoter on hepatic expression of -glutamyltransferase gene in a streptozotocin-induced moderate hypoinsulinemic rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiol Res	6. 最初と最後の頁 000-000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichigo Y, Takeshita A, Hibino M, Nakagawa T, Hayakawa T, Patel D, Field CJ, Shimada M	4. 巻 68
2. 論文標題 High-fructose diet-induced hypertriglyceridemia is associated with enhanced hepatic expression of ACAT2 in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiol Res	6. 最初と最後の頁 1021-1026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.33549/physiolres.934226	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shimada M, Ichigo Y, Shirouchi B, Takashima S, Inagaki M, Nakagawa T, Hayakawa T	4. 巻 64
2. 論文標題 Treatment with myo-inositol attenuates binding of the carbohydrate-responsive element-binding protein to the ChREBP- and FASN genes in rat nonalcoholic fatty liver induced by high-fructose diet.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutr Res	6. 最初と最後の頁 49-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nutres.2019.01.002.	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 島田 昌也	4. 巻 224
2. 論文標題 ミオイノシトールの代謝性疾患予防作用-抗脂肪肝作用を中心に-	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FFIジャーナル	6. 最初と最後の頁 72 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 市古 雄太郎, 稲垣 瑞穂, 中川 智行, 早川 享志, 島田 昌也
2. 発表標題 ミオイノシトールによる肝臓中性脂肪蓄積の抑制機構に関する研究
3. 学会等名 日本農芸化学会 中部支部 第183回 例会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------