

令和 3 年 5 月 11 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05493

研究課題名(和文) 妊娠期フルクトース摂取が次世代の卵巣機能に及ぼす影響とそのメカニズムの解析

研究課題名(英文) Effect of maternal fructose intake on ovarian function in offspring

研究代表者

宗網 栄二 (Munetsuna, Eiji)

藤田医科大学・医学部・助教

研究者番号：30600431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：フルクトースを与えた母獣から生まれた仔ラット(Fラット)の血中エストラジオールを定量したところ、対照群仔ラット(Cラット)に比べ有意に低いことが分かった。次に卵巣ステロイドホルモン合成酵素mRNA量及びタンパク量を解析した。その結果エストラジオール合成系分子である、StAR及びP450(17 $\alpha$ )のmRNA量はCラットに比べ約60%に減少し、タンパク量の減少も観察された。またmRNA量に変化はなかったがP450aromタンパク量の減少が見られた。またFラット卵巣ではエストロゲン受容体の発現が低下しており、エストラジオールシグナルの低下が考えられた。

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。近年のフルクトースの爆発的な消費量増加や疫学的な研究を鑑みると、次世代へ影響が及ぶことが強く示唆されているものの、メカニズムに関しては全く不明であるため、警鐘を鳴らすには至っていない。本研究はこれまで制限の無かった妊婦のフルクトース摂取に関して一石を投じることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We quantified the blood estradiol in offspring born to fructose-fed mothers (F rats) and found that it was significantly lower than that in control group pups (C rats). Next, the amount of ovarian steroid hormone synthase mRNA and protein were analyzed. As a result, the mRNA levels of StAR and P450(17 $\alpha$ ), molecules involved in estradiol synthesis, were reduced to about 60% of those in C rats, and a decrease in protein levels was also observed. There was no change in mRNA levels, but there was a decrease in P450arom protein levels. In addition, the expression of estrogen receptors was decreased in the ovaries of F rats, suggesting a decrease in estradiol signaling.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：生化学

キーワード：DOHaD フルクトース 妊娠栄養

### 1. 研究開始当初の背景

フルクトースは清涼飲料水等に利用され、誰もが日常的に摂取する天然甘味料である。ヒトにおいてフルクトース過剰摂取は不妊の原因となる卵巣機能障害(多嚢胞性卵巣症候群)を引き起す可能性が指摘され、その摂取と生殖機能低下との関連が示唆されている。

近年のフルクトース消費量の爆発的な増加に伴い、妊婦の摂取量も増加している。フルクトースは胎内循環を介し子どもへ移行することが知られている。しかしながら、次世代の卵巣機能に及ぼす影響は不明である。

近年「健康や疾患の素因は胎児期における環境要因によって形成される」という概念を表す DOHaD (Developmental Origin of Health & Disease) 説が提唱されている。DOHaD 説によると、胎児期の栄養環境は生活習慣病などのリスク要因に成り得る。過剰摂取された母体のフルクトースは胎盤を通じて仔へ配給されるため、胎仔が過剰のフルクトースに暴露された場合、疾患の素因が形成され、出生後の発症リスクが高まると考えた。特に、卵巣は胎児期から出生期にわたり活発に活動・成長することが知られており、その時期の発達は母体栄養に依存している。これらのことより、妊娠期の過剰なフルクトース暴露は、仔の正常な卵巣の発育・成長に影響を及ぼすことが予想される。本研究は DOHaD 説に基づいて、「母体のフルクトース過剰摂取」が環境要因として出生後の卵巣機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、妊娠期のフルクトース摂取が、次世代の卵巣機能に与える影響を調べるとともに、その分子メカニズムの解明である。

これまでの申請者のデータによると、フルクトース過剰摂取ラットから生まれたメス仔(21日齢)の血中エストロゲン(女性ホルモン)量は減少していた(未発表)。そこで以下のことを明らかにする。

#### 次世代の卵巣機能に及ぼす影響の解析

幼齢期のエストロゲン量の低下は卵巣発育不全及びその機能低下を引き起す。このことは妊娠期フルクトース摂取によるエストロゲン量は次世代の生殖機能に対し悪影響を及ぼすことを強く示唆している。しかし、成長の段階でいつ、どのように表現型が現れるかは不明である。本研究では出生後から経時的に卵巣機能を解析し、仔が生涯に渡って被るフルクトースの悪影響に関し追求する。

#### エストロゲン合成能低下の分子機構の解析

妊娠期フルクトースが卵巣エストロゲン合成に及ぼす影響をエピジェネティックな観点(DNAのメチル化)から解析する。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「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」ことを初めて明らかとした研究である。この知見をもとに、母体を介したフルクトース曝露によって胎仔のDNAメチル化に変化が生じ、これが成獣までメタボリックメモリー(体質)として維持されることで長期的にステロイド合成酵素の遺伝子発現に影響を与えると考えた。

### 3. 研究の方法

フルクトース過剰摂取の母獣から生まれたメス仔(21日齢)の血中エストロゲンは減少していた。また卵胞の成長や発達に関わるGDF9 mRNA量も減少していた。卵巣機能維持にエストロゲンは欠かす事ができないことを考慮し、幼若期のエストロゲンの不足の

影響が、成獣へと成長する段階で卵巣機能低下を引き起すかを評価する。

21 日齢メスラット血中のエストロゲン濃度の減少が観察されたことから、性成熟の遅延が観察される可能性がある。これは 30 日齢より膣口で判定する。性周期のモニタリングは 2 ヶ月齢より膣スメアの鏡検で行う。異常が 2 ヶ月齢ラットで影響が見られない場合は、より加齢したラットを対象に(5 - 6 ヶ月齢)解析する。

申請者の以前の研究によると、ステロイドホルモン合成調節は主に転写調節でなされる。そこでエストロゲン合成に関与する数種類の酵素 mRNA をリアルタイム PCR にて定量する。変化が見られた場合にはウェスタンブロットでタンパク量に及ぼす影響も確認する。合成酵素 mRNA 量に変化が見られない場合には、エストロゲン分解に関わる酵素 mRNA も定量する。

#### 4 . 研究成果

フルクトースを与えた母獣から生まれた仔ラット(Fラット)の血中エストラジオールを定量したところ、対照群仔ラット(Cラット)に比べ有意に低いことが分かった。次に卵巣ステロイドホルモン合成酵素 mRNA 量及びタンパク量を解析した。その結果エストラジオール合成系分子である、StAR 及び P450(17 $\alpha$ )の mRNA 量は C ラットに比べ約 60%に減少し、タンパク量の減少も観察された。また mRNA 量に変化はなかったが P450arom タンパク量の減少が見られた。また F ラット卵巣ではエストロゲン受容体の発現が低下しており、エストラジオールシグナルの低下が考えられた。事実、エストロゲン受容体の転写ターゲットであるプロゲステロン受容体 mRNA 量は約 50%に減少していた。妊娠期フルクトース摂取は、次世代のエストロゲン合成・シグナルの低下を引き起こすことが分かった。仔の生殖機能が母親のフルクトース摂取により害される可能性が考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamazaki Mirai, Munetsuna Eiji, Yamada Hiroya, Ando Yoshitaka, Mizuno Genki, Fujii Ryosuke, Nouchi Yuki, Kageyama Itsuki, Teshigawara Atsushi, Ishikawa Hiroaki, Suzuki Koji, Shimono Yohei, Hashimoto Shuji, Ohashi Koji	4. 巻 82
2. 論文標題 Maternal fructose consumption down-regulates Lxra expression via miR-206-mediated regulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Nutritional Biochemistry	6. 最初と最後の頁 108386 ~ 108386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2020.108386	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 -
1. 著者名 Yamada H, Munetsuna E, Yamazaki M, Mizuno G, Sadamoto N, Ando Y, Fujii R, Shiogama K, Ishikawa H, Suzuki K, Shimono Y, Ohashi K, Hashimoto S	4. 巻 33
2. 論文標題 Maternal fructose-induced oxidative stress occurs via Tfam and Ucp5 epigenetic regulation in offspring hippocampi.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB journal	6. 最初と最後の頁 11431-11442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201901072R	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, 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 J Nutr Biochem	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) 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 202
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 117-123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 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, 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) 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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 宗網栄二、山田宏哉、山崎未来、安藤嘉崇、水野元貴、 貞本奈緒、鈴木康司、石川浩章、大橋鉦二
2. 発表標題 母獣フルクトース摂取が仔のエストラジオール合成に及ぼす影響
3. 学会等名 日本DOHaD学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eiji Munetsuna, Hiroya Yamada, Mirai Yamazaki, Yoshitaka Ando, Genki Mizuno, Yuji Hattori, Nao Sadamoto, Koji Suzuki, Hiroaki Ishikawa, Shuji Hashimoto, Koji Ohashi
2. 発表標題 Excess maternal fructose consumption affects estradiol synthesis in rat offspring
3. 学会等名 国際DOHaD学会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------