

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11095

研究課題名（和文）食品因子による炎症性腸疾患におけるエピジェネティクス制御機構の解明

研究課題名（英文）Maternal dietary factors reduce the risk of inflammatory bowel disease through epigenetic regulation in mice offspring

研究代表者

賈 慧娟（Jia, Huijuan）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・特任准教授

研究者番号：60456324

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）：本研究では自然発症の炎症性腸疾患（IBD）モデルマウスから生まれた子マウスのIBD症状が、胎生期および授乳期に食品成分の摂取により軽減された。大腸粘膜の遺伝子発現とDNAメチル化状態を網羅的に統合解析した結果、IBDに重要な働きを持つ転写因子が抽出され、下流の標的遺伝子および炎症性サイトカインの発現が抑制されたことが明らかとなった。腸内細菌叢の解析では、菌種の多様性、炎症抑制関連菌および有機酸含量の増加が確認され、腸内細菌叢バランス失調の改善効果が示された。以上のことから、母マウス食品成分の摂取によりエピジェネティックな制御機構を介して疾患発症リスクが減少している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、未だ根本的な治療法を有さないIBDに対して解決の糸口を提示するだけでなく、副作用がなく抗炎症作用が期待される食品素材の開発によって患者のQOLを上げ、また医療費の削減にもつなげられると考えている。本研究は特定時期の環境刺激が世代を超えて生体に及ぼす影響を解明しようとする挑戦的な試みである。これを基盤としてさらに多くの食品の機能を徹底解明する次世代研究の足がかりとなりうるものである。本研究の更なる発展により、遺伝的なリスクを持っている人々に、好ましいメチル化状態、腸内細菌叢を維持できる育児用粉乳や妊婦用の栄養補助食品の開発など、新しい機能性食品分野が生まれることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, the assessment of symptoms associated with inflammatory bowel disease (IBD) revealed a significant reduction in the weight/length ratio of the large intestine in male offspring of IBD mice that consumed specific food during the gestation and lactation periods. Integrated methylome and transcriptome analyses using colonic mucosa revealed a low DNA methylation along with the upregulated expression of an important transcription factor associated with IBD, as well as the suppression of downstream target genes and pro-inflammatory cytokines. Furthermore, maternal food consumption improved bacterial richness and increased the abundance of inflammation suppressing bacteria as well as the concentration of organic acids. Collectively, our findings suggest that maternal food consumption might reduce the risk of IBD in offspring, possibly via epigenetic regulation, thereby leading to the suppression of inflammatory processes and amelioration of associated microbial dysbiosis.

研究分野：分子栄養学

キーワード：食品因子 エピジェネティックな制御 炎症性腸疾患 メチル化の変化 腸内細菌叢変化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IBD は腸管において難治性慢性の炎症を引き起こす疾患であり、難病と指定されている。我々はこれまでに薬剤誘発性および自然発症の IBD モデルマウスを用いて、ある種の食品成分摂取が IBD 症状を抑制することを明らかにしてきた(文献)。また、統合オミクス解析プロファイリングから食品成分が亢進した細胞のメチル化反応に必要なメチルドナーを生成する経路を介し、細胞メチル化反応を抑制することがわかった。メチル化反応の抑制が免疫抑制の作用に関連することが知られているため、食品成分がメチル化反応の機能異常を調節し、IBD の粘膜炎症免疫反応への寄与することが示唆された。

一方、エピジェネティックな変化の中心である DNA のメチル化については、多くの単一栄養因子(葉酸などのビタミン、亜鉛やセレンなどのミネラル) が影響を及ぼしていることが既に明らかとなっている。しかし、複数成分が関与する機能性食品成分が引き起こすエピジェネティックな変化は、疾患予防に対する効果が未知であり、新しい作用メカニズムの一つとして研究の重要なターゲットになると考えられる。そこで、胎児期や新生児期などのライフステージ初期における栄養環境や摂取する食物成分により DNA メチル化や腸内細菌叢が変動するエピジェネティックな変化が生じ(文献)、成人期の IBD の罹患性に影響を与えるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では IBD の自然発症モデルを用いて、妊娠期および授乳期に母体摂取由来の食品成分が成長後 IBD 罹患性を改善できるか、また多層的オミクス解析から食品成分の摂取が動物の世代を越えて与える影響を解明したい。さらに、ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞を用い、リポ多糖(LPS)による炎症誘導条件下に炎症性サイトカインの発現を抑制する食品各成分を特定し、食品成分の添加による IBD の進行抑制の有効成分を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物実験

食品成分を含む飼料を妊娠期および授乳期の IBD モデル母マウスに給餌し、離乳後の子マウスを 38 週間コントロール食で飼育した。IBD 進行の指標である体重減少及び軟便スコア推移を評価し、食品成分摂取は子マウスの IBD 症状を軽減するかどうかを検討した。

(2) 網羅的遺伝子発現および DNA メチル化変化の解析

トランスクリプトーム解析を用いて網羅的大腸粘膜の遺伝子発現を解析した。また大腸粘膜の DNA を抽出し、遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化状態の変化を網羅的に解析した。

(3) 腸内細菌叢の解析 妊娠期母マウスと子マウスの盲腸内容物から DNA を精製し、次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢変化の解析を網羅的に行った。また、短鎖脂肪酸を含む有機酸の含量を HPLC より測定した。

(4) Caco-2 細胞を用いた有効成分の検討 ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞を用い、14 日間培養後、食品の各成分を添加し、LPS で誘導した炎症性サイトカインマーカーの IL6 および Tnfa の発現量を測定し、食品中の炎症抑制に関与している有効成分を特定した。

4. 研究成果

(1) マウス胎児期および授乳期に食品成分の早期摂取による IBD リスクの低下

食品成分を摂取した母マウスから生まれた雄子マウスを離乳後 38 週間にコントロール食で飼育したところ、IBD 進行の指標である軟便スコアおよび大腸重量と長さの比が抑制され、IBD 症状が軽減されることが確認できた。

(2) エピジェネティックな変化

大腸粘膜 RNA を用いてトランスクリプトーム解析を行ったところ、食品成分摂取母マウスに

生まれた子マウスにおいて、炎症反応の増幅に関与する LPS/IL-1 Mediated Inhibition of RXR Function 経路の活性低下が見られた。トランスクリプトーム解析およびプロモーター領域の DNA メチル化状態を網羅的に統合解析した結果、両オミクスで共通で変動した遺伝子として IBD に重要な働きを持つ転写因子が抽出された。この転写因子プロモーター近傍の CpG island の顕著な低メチル状態と mRNA 量の有意な増加が明らかとなった。さらに、下流の標的遺伝子および重要な炎症性サイトカイン、ケモカインの発現が抑制されたことが明らかとなった。

(3) 腸内細菌叢の変動

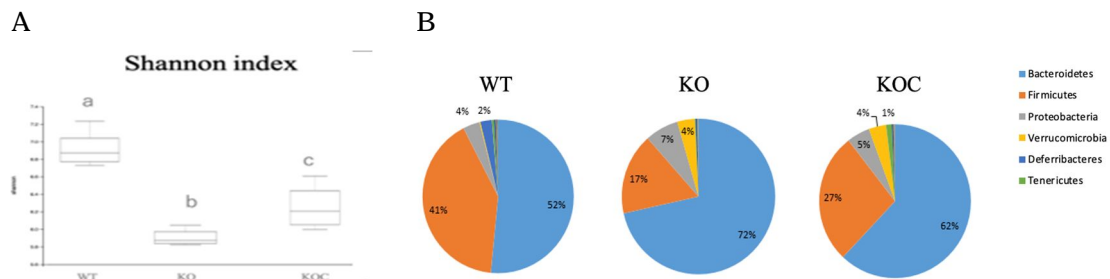


Figure 1. (A) Alpha diversity analysis (B) Taxonomic composition of the cecal microbiota in male offspring. Different letters indicate significant differences among groups at the level of $p < 0.05$ using Kruskal-Wallis. WT (wild type, C57BL/6J mice); KO (IBD model mice with maternal control diet); KOC (IBD model mice with maternal food component).

腸内細菌叢の解析では、食品摂取群の子マウスにおける菌種の多様性および炎症抑制関連菌の増加が確認され、腸内細菌叢バランス失調の改善効果が示された(Figure 1)。また、子マウスの腸内において、T細胞の分化、炎症性と抗炎症性サイトカインの産生に関わる短鎖脂肪酸を含む有機酸濃度が30%以上増加する傾向があった。妊娠期および授乳期に食品成分の摂取により抑制した母マウスの免疫活性化が子マウスの免疫機能を果たようになる過程に母体の腸内細菌が寄与していると示唆された。

(4) 炎症性サイトカインの産生による有効成分の特定

ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞に、食品成分の熱水・エタノール抽出物、さらに食品に含まれる6主成分を添加した *in vitro* の検討で、2つの成分の添加により、LPSで誘導した炎症性サイトカインの IL6 および Tnfa の遺伝子発現が抑制され(Figure 2)、炎症抑制に関与する有効成分であることが示唆された。

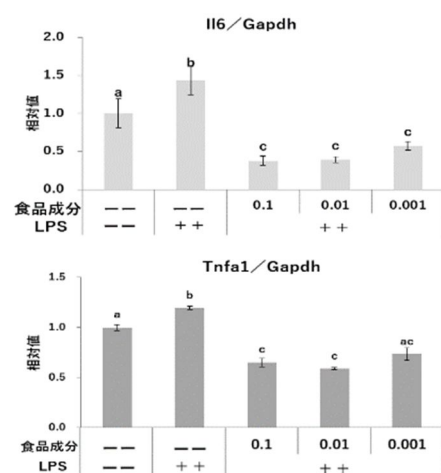


Figure 2. Changes in pro-inflammatory cytokine in Caco-2 cells.

<引用文献>

W. Lyu, et al. Zeolite-containing mixture supplementation ameliorated DSS-induced colitis in mice by suppressing the IBD pathway and improving apoptosis in colon mucosa. *Nutrients* 9, 467 (2017)

H. Jia, et al. Eggshell membrane powder ameliorates intestinal inflammation by facilitating the restitution of epithelial injury and alleviating microbial dysbiosis. *Sci. Rep.* 7, 43993 (2017)

S Kim, Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalities in mouse offspring. *Nature* 549, 528-532 (2017)

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 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Wanping Aw, Huijuan Jia, Weida Lyu, Shinji Fukuda, Masaru Tomita, Lila Otani and Hisanori Kato	4. 巻 4
2. 論文標題 Integrated omics profiling of dextran sodium sulphate-induced colitic mice supplemented with Wolfberry (<i>Lycium barbarum</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 npj Science of Food	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41538-020-0065-5	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 Ramli Nurul Shazini, Jia Huijuan, Sekine Ayumu, Lyu Weida, Furukawa Kyohei, Saito Kenji, Hasebe Yukio, Kato Hisanori	4. 巻 20
2. 論文標題 Egg shell membrane powder lowers plasma triglyceride and liver total cholesterol by modulating gut microbiota and accelerating lipid metabolism in high-fat diet-fed mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food Sci. Nutr.	6. 最初と最後の頁 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/fsn3.1545	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 Weida Lyu, Huijuan Jia, Chuanzong Deng, Seigo Yamada, Hisanori Kato	4. 巻 9
2. 論文標題 Zeolite-containing mixture alleviates microbial dysbiosis in dextran sodium sulfate induced colitis in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Food Sci. Nutr.	6. 最初と最後の頁 772-780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/fsn3.2042	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Masaya Kouno, Kazuki Hirota, Yukio Hasebe, Huijuan Jia, Hisanori Kato
2. 発表標題 Eggshell Membrane Suppresses Spontaneous Colitis in Interleukin-10 Knockout Mice
3. 学会等名 Asia Pacific Nutrigenomics Nutrigenetics Organisation 2018 Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jung Ko, Huijuan Jia, Hisanori Kato
2. 発表標題 Coriander (Coriandrum sativum L.) Supplementation Ameliorates the Microbiota Dysbiosis in a DSS-induced Colitis Animal Model
3. 学会等名 Asia Pacific Nutrigenomics Nutrigenetics Organisation 2018 Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yunlin Liu, Ayumu Sekine, Yukio Hasebe, Huijuan Jia, Hisanori Kato
2. 発表標題 Eggshell Membrane Improved Lipid Metabolism in the Animal Model of High-Fat Diet-Induced Obesity
3. 学会等名 Asia Pacific Nutrigenomics Nutrigenetics Organisation 2018 Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ya Wen, Hisanori Kato, Huijuan Jia
2. 発表標題 Proteomic Study Revealed the Preventive Effects of Coriander (Coriandrum sativum L.) on Gastrocnemius Muscle Disorders during Pre-cachexia in Rheumatoid Arthritis Rat Model
3. 学会等名 Asia Pacific Nutrigenomics Nutrigenetics Organisation 2018 Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jia Huijuan, Wen Ya, Kato Hisanori
2. 発表標題 Proteomics Study on Gastrocnemius Muscle in Coriander Treated Rheumatoid Arthritis Rats
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ranli Nurul Shazini, Liu Yunlin, Sekine Ayumu, Lyu Weida, Jia Huijuan, Kato Hisanori
2. 発表標題 卵殻膜摂取は肥満マウスの腸内細菌叢を調節する
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古川 恭平、賈 慧娟、斉藤 憲司、加藤 久典
2. 発表標題 マルチオミクス解析を用いたコリアンダーの炎症性腸疾患の抑制メカニズムの検討
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Huijuan Jia, Weida Lyu, Kazuki Hirota, Masaya Kouno, Yukio Hasebe, Hisanori Kato
2. 発表標題 Eggshell Membrane Powder Improves Cachexia in IL-10 KO Mice by Inhibiting The Lps/IL-1 Mediated Pathway and Alleviating Microbial Dysbiosis
3. 学会等名 Asian Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楊 永寿、賈 慧娟、長谷部 由紀夫、加藤 久典
2. 発表標題 Effects of dietary Eggshell membrane powder on gut microbiota composition in IL10 knockout female mice
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島 桜子、李 柯、賈 慧娟、加藤 久典
2. 発表標題 妊娠期及びおよび授乳期の機能性食品摂取が子マウスの腸管炎症に及ぼす影響
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021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