

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K16036

研究課題名（和文）栄養環境刺激がメダカの精子および次世代初期胚へもたらすエピゲノム変化の解析

研究課題名（英文）Analysis of epigenetic changes induced by nutritional stimuli in sperm and early embryos of medaka fish

研究代表者

井上 雄介（Yusuke, Inoue）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・特任助教

研究者番号：50814448

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではメダカを用い、父親に対する高脂肪食(High-fat diet: HFD)投与が次世代個体に与えるエピジェネティックな変化を調べた。しかし、父親の食餌条件による次世代胚の遺伝子発現・クロマチン構造の変化はほとんど検出されず、また明瞭な表現型の変化も観察されなかったため、メダカでは父親のHFD摂取が次世代個体にほとんど影響を与えないことが示唆された。そこで、母親に対するHFD投与が次世代個体に与える影響に研究対象を切り替えた。その結果、母親HFD群では受精率および次世代胚の正常発生率が低下し、また卵内の成分(卵黄タンパク質・代謝物・母性RNA)に変化が生じていることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、哺乳類を中心に父親の食餌が仔の代謝に影響することを示す報告が数多くなされているが、メダカに対するHFD投与系を用いた本研究では次世代への影響が観測されなかった。したがって本研究は、父親の食餌が次世代に与える影響の度合いが生物種や食餌内容によって異なる可能性を示唆していると考えられる。一方、母親に対するHFD投与系から、メダカでも哺乳類と同様次世代胚の発生異常を引き起こすこと、およびこれが卵黄成分の変化という卵生動物に特有の機構に起因する可能性を提示した。本研究は親の食餌が次世代に与える変化の機構への理解を深めると共に、魚類の育種など水産業の分野にも知見を与えると期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the epigenetic changes induced in the offspring by paternal exposure to a high-fat diet (HFD), using medaka fish as a vertebrate model. However, we found little evidence of changes in gene expression, chromatin structures and phenotypes in the offspring embryos born from HFD-exposed males. This suggested that paternal HFD intake has minimal effects on the offspring in medaka. Therefore, we shifted our focus to examining the effects of maternal HFD on the offspring. We found that both the fertilization rate and the rate of normal embryonic development were decreased in the offspring of HFD-exposed dams. In addition, changes in egg contents (e.g., yolk proteins, metabolites, and maternal RNA) were evident.

研究分野：ゲノム科学

キーワード：epigenome nutrition high-fat diet medaka sperm oocyte

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

環境要因による外部刺激によって後天的に獲得された個体の表現型は、時に世代を超えて伝達される。近年の研究から、獲得形質の遺伝は生殖細胞におけるエピゲノム変化が次世代へ伝達されることによりもたらされると考えられているが、受精後のエピジェネティックリプログラミングをどのように乗り越えるかについては理解が進んでいない。この要因の一つとして、哺乳類ではリプログラミングが発生の非常に初期(〜2細胞期)に起こるため、細胞数の確保が難しくエピゲノム解析が十分になされていない点が挙げられる。一方、メダカはリプログラミングが比較的後期(約 1000 細胞期)に起こる。したがって、哺乳類と異なり大量の細胞数を容易に確保できるため、リプログラミング過程のエピゲノム修飾の追跡が容易に行えるという点で優位性がある。

2. 研究の目的

そこで本研究では、ゲノム科学の優れたモデルであるメダカを用いて、高脂肪食投与による栄養刺激が生殖細胞(精子)にもたらすエピゲノム変化を記載し、受精後のリプログラミング過程における消長を追跡することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、メダカに対する高脂肪食(High-fat diet: HFD)投与が精子および次世代の初期胚のエピゲノムにもたらす影響を解析した。具体的には、父親に対する HFD 投与の影響が仔に遺伝することを検証したうえで、精子および次世代個体の初期発生過程におけるエピゲノム修飾状態をゲノムワイドに取得し、各ステージ間・クロマチン修飾間の対応関係を調べることで、エピゲノム伝達機構の推定を行うことを試みた(図 1)。

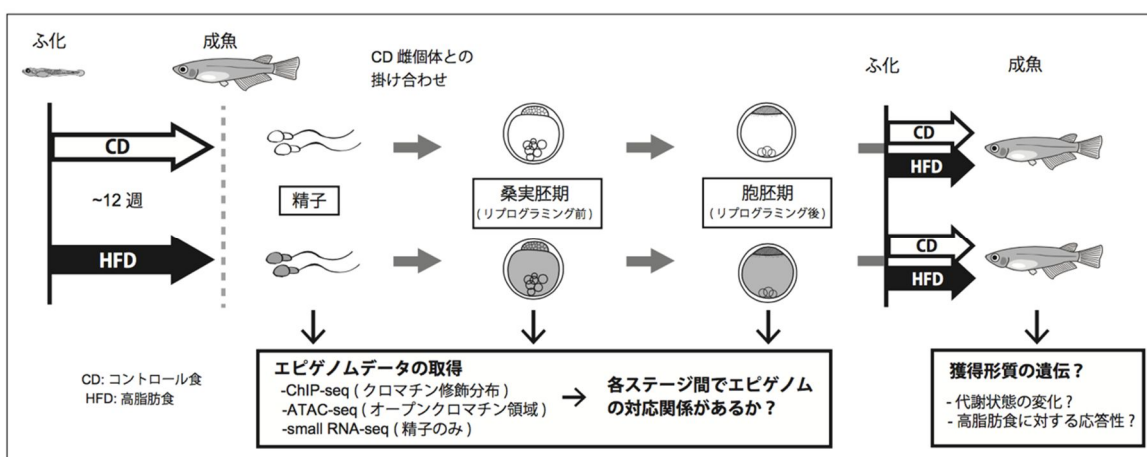


図 1. 本研究の概要

4. 研究成果

図 2 A のように、孵化期から HFD を投与し続けたオス成魚を、コントロール食(Control diet: CD)を投与したメス成魚と掛け合わせ、得られた次世代個体の正常発生率を計測した。しかし、

孵化期における次世代胚の正常発生率は CD 群と有意差が見られず(図 2 B)、また成体の表現型にも顕著な変化は見出されなかった。さらに、胞胚期胚(blastula)の RNA-seq および ATAC-seq を行ったが、父親個体の食餌条件による遺伝子発現・クロマチンアクセシビリティの差はほとんど検出されなかった(図 2C, D)。したがって、メダカにおいて、父親に対する HFD 投与は次世代個体にほとんど影響を与えない可能性が示唆されたため、精子に生じたエピゲノム変化の消長を追跡するという当初の研究計画を断念することとした。

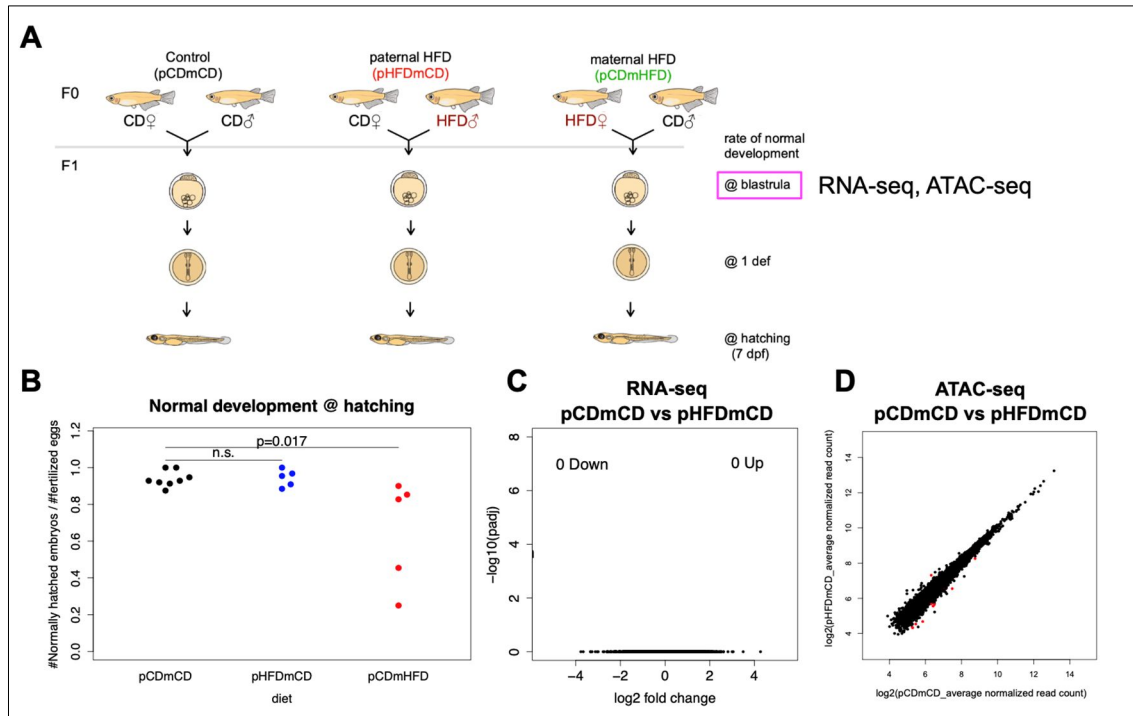


図 2 : 父親に対する HFD 投与が次世代個体に与える影響
A. 実験スキーム B. 孵化期における次世代胚の正常発生率 C. 胞胚期胚における RNA-seq の結果 D. 胞胚期胚における ATAC-seq の結果 (赤: padj < 0.3)

一方、HFD を投与した雌成魚から生まれた次世代胚では正常発生率が低下するという予備的な結果が得られたため(図 2 A, B)、母親 HFD が次世代に与える影響に研究対象を切り替え、研究を進めた(図 3A)。その結果、HFD 群では CD 群と比較して受精率および次世代胚の正常発生率が有意に低下していることを示した(図 3B-D)。次に、HFD により変化する卵成分を同定するために、成熟卵の RNA-seq およびメタボローム解析を行った。RNA-seq の結果、母親 HFD 群の卵では代謝や小胞体ストレスに関連する遺伝子群の発現が上昇している一方、カテプシンなど卵成熟に関わる一部の遺伝子の発現が低下していることが示唆された。一方、メタボローム解析等の生化学的解析の結果、尿素サイクルに関連する代謝物およびグルコース 1 リン酸が減少している一方、中性脂肪量は上昇していることが示された。さらに母体を対象とした解析から、HFD 群の卵巣では卵胞閉鎖の頻度が上昇しており、また肝臓では卵黄タンパク質遺伝子の発現が低下していることがわかった。

以上より、HFD 群の卵では、母体から供給される卵黄タンパク質の量およびそのプロセッシングが低下することにより胚発生に必要なエネルギー源が減少する一方、卵内の脂質が増加することにより脂肪毒性が生じていることが示唆され、これらの機構が次世代胚の正常発生率の低下を引き起こしている可能性を提示した(図 3E)。本研究の成果を論文としてまとめ、Endocrinology 誌に受理された(Inoue et al., Endocrinology (2024))。

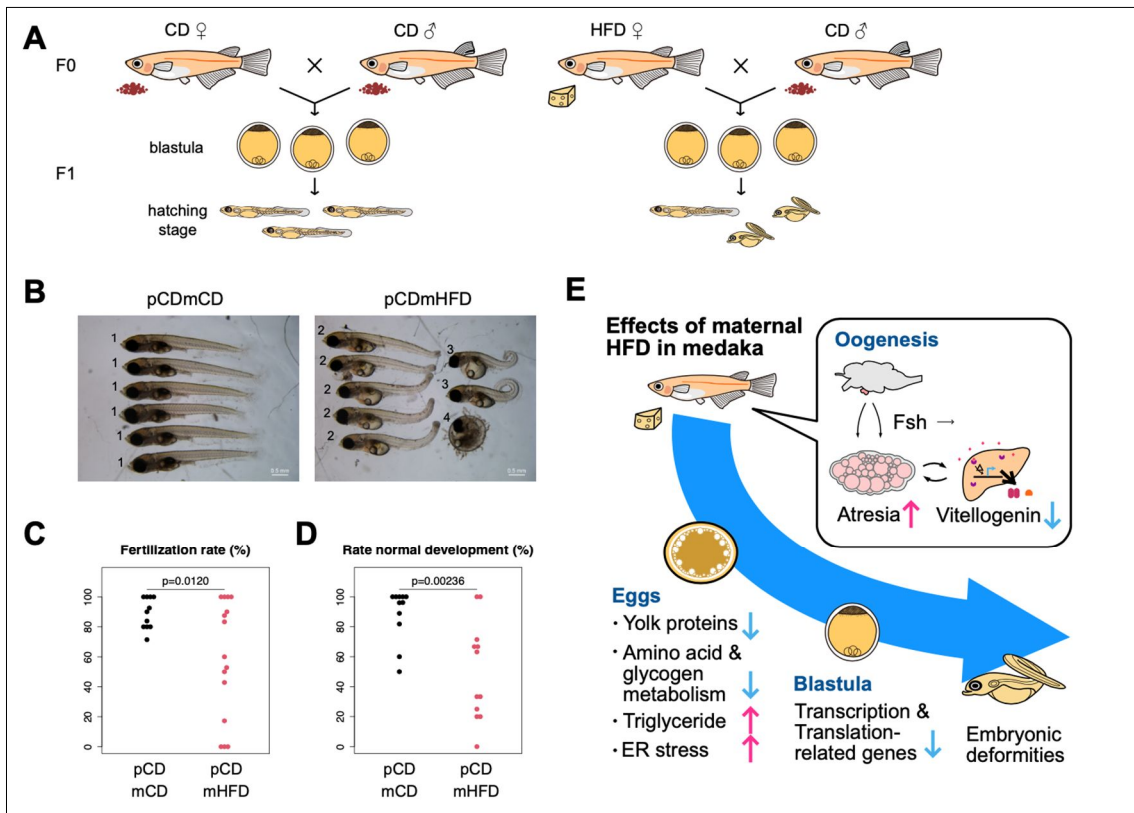


図3：母親に対する HFD 投与が次世代個体に与える影響

A. 実験スキーム B. 孵化期における次世代胚の表現型。1: 正常 2: 尾部の軽度屈曲 3: 尾部の重度屈曲 4: 孵化しない胚 C. 受精率 D. 孵化期における次世代胚の正常発生率 E. HFD 投与が母体およびメダカ次世代個体に与える変化の概要

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yusuke Inoue, Manatsu Fukushima, Go Hirasawa, Fumiya Furukawa, Hiroyuki Takeda, Chie Umatani.	4. 巻 165
2. 論文標題 Maternal High-Fat Diet Affects the Contents of Eggs and Causes Abnormal Development in the Medaka Fish	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/endoctr/bqae006	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 Yusuke Inoue, Yuta Suzuki, Yoshimi Kunishima, Terumi Washio, Shinichi Morishita, Hiroyuki Takeda	4. 巻 24
2. 論文標題 High-fat diet in early life triggers both reversible and persistent epigenetic changes in the medaka fish (<i>Oryzias latipes</i>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 1-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-023-09557-1	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上雄介、福島真夏、平澤郷、古川史也、武田洋幸、馬谷千恵
2. 発表標題 メダカ母体への高脂肪食投与が卵成熟および次世代個体の発生に与える影響の解析
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yusuke Inoue, Yoshimi Kunishima, Yuta Suzuki, Terumi Wahio, Shinichi Morishita, Hiroyuki Takeda
2. 発表標題 Effects of early life nutritional stimulus on hepatic epigenome in medaka
3. 学会等名 新学術領域・学術変革領域A合同「若手の会 2022」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yusuke Inoue, Manatsu Fukushima, Chie Umatani, Hiroyuki Takeda
2. 発表標題 The effects of maternal high-fat diet on oogenesis and offspring development in medaka
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022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
---------	---------