

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17971

研究課題名（和文）胎盤を介した肥満体質の遺伝機構の解明

研究課題名（英文）Understanding the mechanism of intergenerational inheritance of metabolic disorders via placental function

研究代表者

小塚 智沙代（Kozuka, Chisayo）

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号：70722370

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肥満や二型糖尿病の遺伝機序に胎盤機能が関与する可能性を検証した。子ども世代の表現型には大きな個体差が見られたことから、環境因子の影響をできる限り排除しつつ、胎盤機能と個体を紐づけて表現型を追えるシステムを確立した。本研究期間内に立ち上げたこのシステムと胎盤の機能解析手法を活用し、今後は子どもの表現型に相関する胎盤機能を絞り込み、子ども世代の肥満・二型糖尿病を予防する方法の開発に繋げていきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、母体の栄養状態がエピゲノムを介して胎児に及ぼす影響が注目されているが、既存モデルでは母体の栄養状態それ自体による様々な交絡的な影響が排除できず、研究は難航している。本研究により確立されたシステムではそれらの影響を排除しつつ、胎盤機能と個体を紐づけて表現型を追えることから、胎内環境や胎盤の異常が子どもの長期的な表現型に及ぼす影響の解明とその結果をもとにした新しい予防医学の構築に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We explored the impact of placental functions on obesity and diabetes risks in offspring using high fat diet-induced obese mice and a mouse model with placentomegaly. Offspring showed the big individual difference in metabolic phenotype caused by maternal nutritional status and environments. To remove the effects of these confounding factors, we established the placenta-fetus-adult tracking system which makes it possible to analyze the impact of placental function on phenotype in later life without confounding factors. In the future, using this system and analysis methods for placental functions, the relationships between placental functions and obese and diabetic traits in offspring will be analyzed.

研究分野：代謝学

キーワード：糖尿病 肥満 胎盤 次世代

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満や2型糖尿病に罹患した親を持つ子では生活習慣病の発症率が高く、その遺伝性が注目されている。この遺伝の原因を探るために大規模なゲノム解析が行われてきたが、そこから見つかった候補遺伝子の寄与度はいずれも低く (N Engl J Med 2010)、ゲノム以外要因として精子・卵子 (配偶子) を介したゲノム非依存的な遺伝機構があることが近年わかってきた (Science 2016, Nat Genet 2016)。精子を介した代謝疾患の父子間遺伝機構に関しては研究が進んでおり、精子が有する非コードRNAの関与が示唆されているが (Science 2016, Nat Cell Biol 2018)、卵子を介した母子間遺伝機構に関しては全くわかっていない。胎盤は母親から胎児への栄養供給のほか、ガス交換、物質交換、ホルモン分泌、免疫寛容など妊娠を支える重要な役割を担っており、これまでの報告から (Diabetes 2001, BMC Pregnancy and Childbirth 2008, BMJ 1990, Int J Dev Biol 2010) 胎盤機能と産仔の代謝機能には密接な関連があることが示唆されるが、そのメカニズムおよび因果関係は不明である。そこで本研究では「妊娠時の胎盤機能低下が次世代の代謝疾患リスクを上昇させる」と仮説を立て、検証した。

我々は卵子のヒストンメチル化修飾が欠損すると、着床後発生において胎盤が過形成することを見出し、卵子のエピゲノムと胎盤形成にはこれまで見過ごされていた深い関係性があることが示唆される。この胎盤肥大と胎盤機能の低下は肥満女性の妊娠時においても高頻度で認められる (BMC Pregnancy and Childbirth 2008)。そこで本研究では、卵子のエピゲノム異常による胎盤機能の低下が、ゲノム非依存的な生活習慣病の母子間遺伝を担うのではないかと考え、この仮説を胎盤肥大モデルと母体肥満モデルを用いて検証している。

2. 研究の目的

ゲノム変異によらない代謝疾患の母子間遺伝のメカニズムを胎盤機能に着目して解き明かし、ヒトでの生活習慣病予防法へと応用するためのシーズを創出することを目的とした。

上述の知見を踏まえて本研究では、母親の代謝異常が胎盤機能の異常を介して子供の代謝疾患リスクを上昇させるのではないかと、そして母性肥満と胎盤肥大を繋ぐメカニズムとして肥満女性の卵子におけるエピゲノムに異常が起こっているのではないかと仮説を立てた。この仮説を検証するために、胎盤肥大マウスモデルを用いて胎盤肥大が次世代の代謝に与える影響を調べる。さらに、高脂肪食による肥満モデルを用いて、母体の肥満が卵子のエピゲノムと胎盤の機能に及ぼす影響を調べる。将来的には糖尿病の母子間遺伝リスクを評価する分子マーカーの同定とその栄養学的・薬理的介入による予防法の確立を目指す。

3. 研究の方法

本研究は大きく2つのステップに分けて行った。STEP1では胎盤肥大マウスモデルを用いて胎盤の機能低下が次世代の代謝形質に及ぼす影響を検証した。STEP2では高脂肪食による肥満マウスモデルを用いて、母体の肥満が卵子のエピゲノム、胎盤特異的インプリント遺伝子発現および胎盤機能に与える影響を調べた。

STEP 1: 胎盤の肥大がその機能と子供の代謝に及ぼす影響の解明

(1) 胎盤肥大が成長後の産仔の代謝に及ぼす影響の検討

産仔の成長および老化過程における代謝への影響を調べるため、産仔の体重、摂餌量、脂肪組織重量の変化を解析する他、経口糖負荷試験、インスリン負荷試験によりインスリン抵抗性の評価を行う。また、骨格筋や肝臓の中性脂肪含有量、グリコーゲン含有量、組織学的評価、食行動解析 (摂餌量、熱産生、運動量) を実施する。これらで変化が見られない場合、過栄養下での代謝異常の起こりやすさを検証するため、高脂肪食下において同様の検討を行う。

(2) 胎盤肥大が胎盤機能に及ぼす影響の検討

肥大胎盤では胎児由来の細胞で構成される海綿状栄養膜細胞層が過形成されており、これにより迷路層での物質交換機能が低下していることが予想される。そこで胎盤の主要な機能である栄養・ガス輸送やホルモン分泌について評価する。

STEP 2: 母体の肥満・糖尿病が胎盤異常を引き起こすメカニズムの解明

マウスに高脂肪食を与えて肥満と糖尿病を誘発することで、次世代において代謝疾患発症リスクが上昇することが知られているが、そのメカニズムはまったくわかっていない。本研究では、肥満女性の妊娠時に胎盤肥大が認められることに着目し、高脂肪食誘導性の肥満・糖尿病モデルにおいて胎盤に起こる変化を解析した。

(1) 母親の二型糖尿病が胎盤機能に及ぼす影響の検討

既報に従い (Nat Genet, 2016) 雌マウスに高脂肪食 (60% kcal fat) を8週間 (7~15週齢) 給餌することで二型糖尿病を発症させる。その後、健康な雄マウスと交配させ、出産日における胎盤重量と形態学的変化、機能的変化を評価する。

4. 研究成果

高脂肪食モデル、胎盤異常モデルともに、対照群の母体由来の卵子から生まれた子どもに比べて大きな体重の増加を認めた。しかし、いずれのモデルにおいても大きな個体差が見られた。そこで、出生後と同じ母親に哺育させ、同一ケージ内で飼育することで環境因子の影響をできる限

り排除しつつ、胎盤機能と個体を紐づけて表現型を迫るシステムを確立した。

また、胎盤の機能を評価するため、母体血と胎児血との間の物質交換の場である胎盤血管ネットワーク構造の可視化と胎盤を介した母子間での物質輸送能の評価に取り組んだ。胎盤血管ネットワーク構造の可視化には透明化手法を用いた。胎盤は他の組織に比べて自家蛍光が強く、免疫染色による血管構造の描出が困難であったことから、血管内皮特異的に蛍光タンパク質を発現するマウスを導入し、透明化条件の最適化を行った。物質輸送能の評価には、トレーサーを用いて、妊娠マウスに投与したトレーサーを胎児で検出するための条件検討を行っている。本研究期間内に立ち上げた胎盤の機能解析手法と交絡要因をできる限り排除した胎盤機能と子どもの表現型との紐づけシステムを活用し、今後は子どもの表現型に相関する胎盤機能を絞り込み、子ども世代の肥満・二型糖尿病を予防する方法の開発に繋げていきたい。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mei Hailiang, Kozuka Chisayo, Hayashi Ryoya, Kumon Mami, Koseki Haruhiko, Inoue Azusa	4. 巻 53
2. 論文標題 H2AK119ub1 guides maternal inheritance and zygotic deposition of H3K27me3 in mouse embryos	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 539 ~ 550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-021-00820-3	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 Kusuyama J, Alves-Wagner AB, Conlin RH, Makarewicz NS, Albertson BG, Prince NB, Kobayashi S, Kozuka C, Moller M, Bjerre M, Fuglsang J, Miele E, Middelbeek RJW, Xiudong Y, Xia Y, Garneau L, Bhattacharjee J, Aguer C, Patti ME, Hirshman MF, Jessen N, Hatta T, Ovesen PG, Adamo KB, Nozick-Grayck E, Goodyear LJ.	4. 巻 Mar 19
2. 論文標題 Placental superoxide dismutase 3 mediates benefits of maternal exercise on offspring health	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Metabolism	6. 最初と最後の頁 S1550-4131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2021.03.004	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小塚智沙代
2. 発表標題 留学はしたほうがよい? ~ 留学のメリット・デメリット ~
3. 学会等名 第93回 日本内分泌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Chisayo Kozuka
2. 発表標題 Bromodomain-containing proteins regulate glucose metabolism via gut-liver FGF15/19 pathway
3. 学会等名 Keystone eSymposia on Obesity: From Cell to Patient joint with Diabetes: Many Faces of the Disease (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小塚智沙代
2. 発表標題 エビゲノムを標的とした新しい肥満医療を目指して
3. 学会等名 第41回 日本肥満学会（招待講演）
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
---------	---------