

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：82718

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H01623

研究課題名(和文) 発達期での食品ポリフェノール摂取による生体調節制御に関わるエピゲノム解析

研究課題名(英文) Epigenomic analysis of regulatory control by polyphenol intake during developmental period

研究代表者

阿部 啓子 (Abe, Keiko)

地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所・「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト・研究顧問

研究者番号：10151094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：食品にはたんぱく質、糖質、脂質などから構成される栄養素に加え、生体調節機能を有する成分(機能性成分)も含まれている。昨今ではこれら成分の様々な機能が明らかにされ、特定保健用食品や機能性表示等を通じて私たち消費者にこれらの情報を効率よく届けられるようになってきた。本研究を通じ、機能性成分のひとつであるポリフェノールの摂取が、短期間であっても脳のエピゲノム、トランスクリプトームの変化を引き起こすことを明らかにした。特にレスベラトロールの摂取が細胞内情報伝達系の遺伝子発現制御に関与すると推察されるようになり、ポリフェノール摂取が将来的な認知・行動の差異をもたらす要因のひとつであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ポリフェノールがエピゲノム修飾に与える影響についてはほとんど解明されていない。食生活や健康に関するエピゲノム研究が脳機能を含む幅広い分野で展開され始め、食品・健康を取り巻くエピゲノムに関する知見集積が社会的にも強く期待されている。本研究では、主に栄養環境に敏感な若年期における食品由来ポリフェノール摂取の影響を代謝、脳機能、エピゲノムおよびトランスクリプトームから総合的に検討し、レスベラトロールを例に健康増進効果についての新しい遺伝子科学の開拓を目指した。食品非栄養成分によるエピゲノムランドスケープを明らかにすることは、現世代だけでなく、次世代型機能性食品の一類型となることと期待したい。

研究成果の概要(英文)：Efficacious components occur in foods as non-nutritious factors. Recently, various functions of these non-nutritious components have been clarified, and, especially, information is available to consumers regarding food for specified health uses and foods with functional claims. In our study, we clarified the fact that intake of efficacious polyphenols as non-nutrient factors induces changes in the brain epigenome and transcriptome, even for a short period of time. In particular, taking resveratrol famous red wine polyphenol is involved in the regulation of gene expression of signaling pathways, suggesting that food polyphenol intake are factors to cause cognitive and behavioral differences. This case may be included in the next generation functional food science.

研究分野：食品科学

キーワード：polyphenol epigenome transcriptome brain

## 1. 研究開始当初の背景

食品にはたんぱく質、糖質、脂質などから構成される栄養素に加え、積極的にエネルギー代謝回路に組み込まれない食品非栄養成分が含まれている。食品非栄養成分はビタミン類などと異なり、摂取量の不足によって欠乏症に至ることはない。食品非栄養成分の作用の特徴は、薬物(特に人工的な化合物)のように少数の作用点に強く作用するのではなく、複数の作用点に対して穏やかに作用を現出することである(図1)。食品ポリフェノールの多くが有する抗酸化作用は多面的な作用の一例である。また近年では、転写制御因子やエピゲノム修飾因子を介した統合的かつ多面的な作用が明らかになりつつある。食品非栄養成分には、フラボン類、リグナン類、スチルベンなどのポリフェノール類がある。これらの一部については、発育不全モデル動物における食事誘導性の代謝疾患を改善(Dolinsky et al. *Diabetes*. 2011)、胎生期ストレスの緩和、神経形成、及び認知機能の改善(Zheng et al. *J Nutr Biochem*. 2015)などの機能が報告されている。このような機能の発現には遺伝子制御が密接に関わっていることは明らかであるが、その根底にあるゲノムの状態、特にエピゲノムについての知見は十分ではない。また、これまでの研究は特定の代謝疾患やストレスに対する効果に限定されており、正常状態にある若年期での身体調節、とりわけ脳機能への影響についての知見はない。

## 2. 研究の目的

食品ポリフェノール類などは、代謝的なストレスを緩和する方向へと働く際には、抗酸化作用のみならず、遺伝子発現制御も行うことが報告されつつある。一方、正常状態においてもこれらの摂取が代謝的ストレス下と同様に遺伝子発現が活性化されるかについては十分な知見が得られていない。食品非栄養成分は正常状態での適正量摂取によっても、各種のストレス(代謝的、精神的、免疫的)への防護効果などの良い効果が生まれる可能性は十分にあり得る。最近、著者らはポリフェノールの1種であるロスマリン摂取がアルツハイマー病モデルマウスの認知機能を改善することを見出した(Hase et al. *Sci Rep*. 2019)。しかし、ポリフェノールがエピゲノム修飾に与える影響についてまではほとんど解明されていない。食生活や健康に関するエピゲノム研究が脳機能を含む幅広い分野で展開され始め、食品、食生活、健康を取り巻くエピゲノムに関する知見集積が社会的にも強く期待されている。

本研究では、主に栄養環境に敏感な若年期のステージにおける食品ポリフェノール摂取の影響を代謝、脳機能、エピゲノムおよびトランスクリプトームの面から総合的に検討し、時期特異的な非栄養成分による健康増進効果についての新しいエビデンス取得を目指した。食品非栄養成分によるエピゲノムランドスケープを明らかにすることは、現世代だけでなく、次世代に至るまでの影響を明らかにする一助となることが期待される。

## 3. 研究の方法

本研究は、以下の3つのテーマに沿って実施した。

- (1) 若年期の食品ポリフェノール摂取が脳機能表現型に与える影響
- (2) 食品ポリフェノール摂取がトランスクリプトームに与える影響
- (3) 食品ポリフェノール摂取がエピゲノムに与える影響

- (1) 若年期の食品ポリフェノール摂取が各種の表現型に与える影響

食品ポリフェノール摂取有無は投与飼料によって調節することとし、飼料中における食品ポリフェノールの含有を軽減したポリフェノール類軽減飼料(PR食)及び、食品ポリフェノール軽減飼料+レスベラトロール(PRR食)の2種類を用いた。本研究ではポリフェノール源としてレスベラトロールを選択し、PRR食にはPR食に対して一般の穀物飼料に含まれる食品ポリフェノール量相当のレスベラトロールを添加した。レスベラトロールは赤葡萄果皮やイタドリに多く含まれるポリフェノールであり、その機能は多岐にわたる。これらの飼料を若年期の成長に合わせ、授乳期あるいは離乳期の2つの成長ステージから与え始め、生後10週齢まで継続した後、行動学的試験に基づく脳機能解析を実施した。行動学的試験では、オープンフィールド試験(新奇環境における自発的活動性や不安様行動の評価)、新規物体認識試験(中短期記憶または新規物体への好奇心の評価)、Y迷路試験(作業記憶または新規領域探索能力の評価)及び社会性認識試験(他個体への興味行動及び忌避行動を評価)での評価を行った。

- (2) 食品ポリフェノール摂取がトランスクリプトームに与える影響

(1)の研究では、食品ポリフェノールの摂取開始時期の違いによって、マウスが異なる行動表現型パターンを示すことが明らかとなり、脳機能に対して影響を及ぼすと示唆された。本研究では、食品ポリフェノール摂取が行動を司る脳のトランスクリプトームに影響するかを明らかにすべく検討した。なお、食品ポリフェノールは代謝機能に変化をもたらすことは既知であり顕著な変動が期待されることから、代謝臓器である肝臓も解析対象とし、その変化について対比した。

(A):食品ポリフェノール軽減飼料、(B):食品ポリフェノール軽減飼料 + レスベラトロールを離乳後マウスに与え、大脳皮質と肝臓を採取した。それぞれの組織から RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析を行った。

### (3) 食品ポリフェノール摂取がエピゲノムに与える影響

(2)の研究では、短期間の食品ポリフェノール摂取により、大脳皮質および肝臓において複数の non-coding RNA を含む転写産物の発現変動を見出した。本研究ではさらに、この短期間でのエピゲノム変動を明らかにする目的で、(2)にてトランスクリプトーム解析を行った動物より採取した大脳皮質を対象にクロマチンのエピゲノム修飾因子(H3K27me3)に対する ChIP を行い、シーケンス解析を行うことでエピゲノム修飾因子の影響を受ける領域の検出を試みた。

## 4. 研究成果

### (1) 若年期の食品ポリフェノール摂取が各種の表現型に与える影響

本研究より、授乳期及び離乳期からの摂取で異なる行動表現型が得られた。このことから若年期からの食品ポリフェノールを摂取した個体ではポリフェノールの摂取開始時期の違いによってそれぞれ異なる行動表現型パターンを示すことが明らかとなり、脳機能に対して影響を及ぼすと示唆された。

### (2) 食品ポリフェノール摂取がトランスクリプトームに与える影響

(A)と(B)の大脳皮質のトランスクリプトームについて主成分分析を行った(図1)。また、(A)と(B)の2群間比較によってレスベラトロールの摂取で大脳皮質において変動するプローブセットを抽出したところ、300個弱のプローブセットが得られた。そのうちタンパク質をコードする遺伝子は一割程度であり、ほとんどがタンパク質をコードしない Non-coding RNA であった。次に肝臓のトランスクリプトーム解析を行った。肝臓ではレスベラトロール摂取による変動プローブセットは400個超得られた。肝臓では200個弱が coding であり、脂質代謝関係が多数を占めた。そのほかは Non-coding RNA であった。

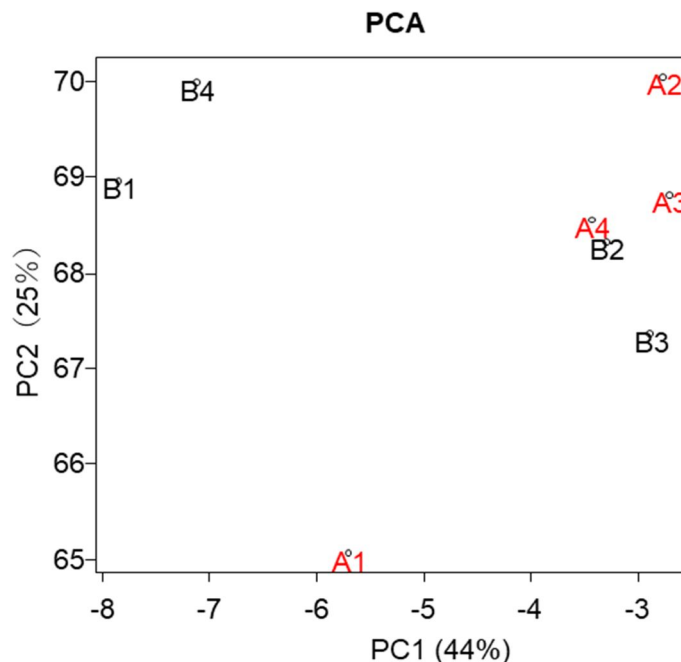


図1 主成分分析の結果

本研究により、レスベラトロール摂取によって大脳皮質および肝臓ともに Non-coding RNA が多数変動することが明らかとなった。Non-coding RNA の中では small RNA が多くを占める他、Long-non coding RNA が大脳皮質では8個、肝臓では100個超あったことから、大脳皮質および肝臓においてクロマチン修飾因子と関連し転写制御されている可能性が示された(図2)。

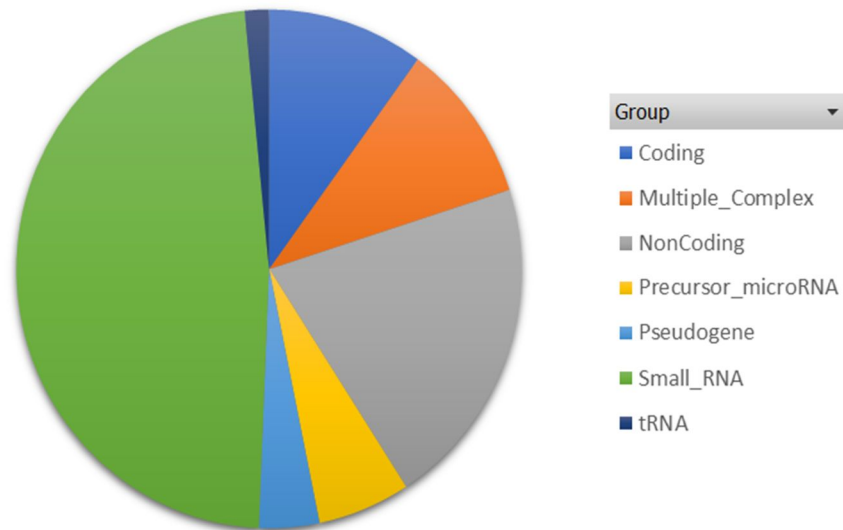


図 2 変動遺伝子の分類

### (3) 食品ポリフェノール摂取がエピゲノムに与える影響

大脳皮質を対象にクロマチンのエピゲノム修飾因子 (H3K27me3) に対する免疫沈降 (ChIP) を行い、シーケンス解析を行うことでエピゲノム修飾因子の影響を受ける領域の検出を試み、レスベラトロールの摂取が H3K27me3 に影響するかを検討した。

H3K27me3 の ChIP で濃縮された遺伝子について主成分分析を行った。その結果、何らかの摂取物の影響を受けていると推察された (図 3)。H3K27me3 の ChIP で濃縮された遺伝子を (A) 群と (B) 群で比較したところ、濃縮された遺伝子の機能は (A) 群ではクロマチン制御に関するものであったのに対し、(B) 群では機能的に濃縮されているものはなかった。このことから、本研究条件における短期間のレスベラトロールの摂取は H3K27me3 が関連するクロマチン制御には大きく影響していないものと推察された。

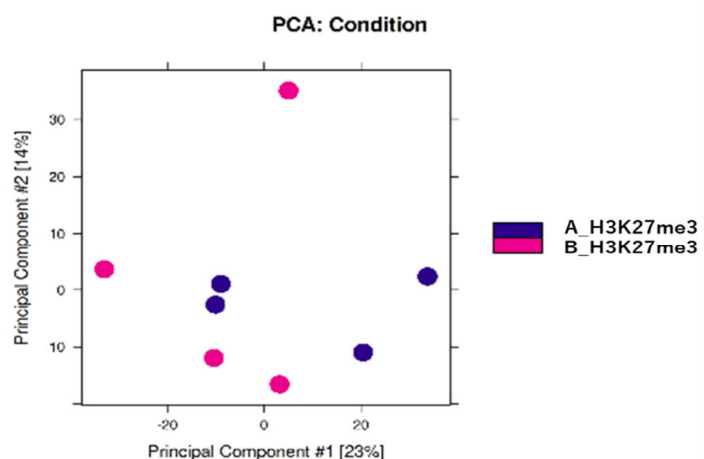


図 3 ChIP-seq の主成分分析

しかしながら、個々の遺伝子を調べると H3K27me3 は (B) 群において消失するもの、(B) 群でのみ検出されるものがあり、短期間のレスベラトロールの摂取でも H3K27 のメチル化のパターンは変化することがわかった (図 4)。 (B) 群で検出された遺伝子は、シグナルトランスダク

シオンに関連するものがあり、レスベラトロールの摂取が細胞内の情報処理系統の遺伝子発現を制御していると考えられた。

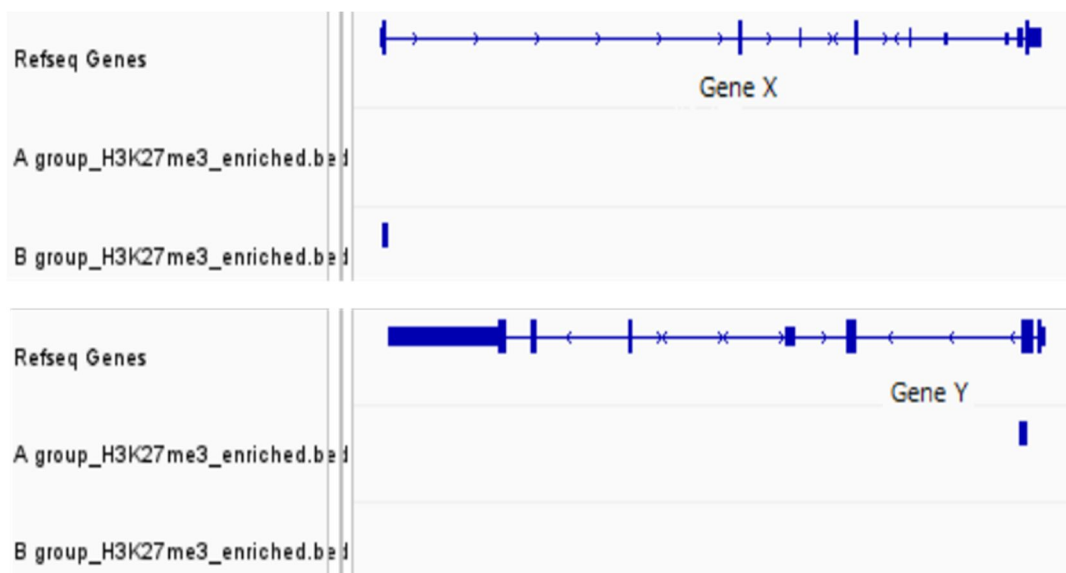


図 4 ChIP-Seq の結果の一例

トランスクリプトーム解析で得られた変動遺伝子を GoTerm で分類し、生物学的機能的に濃縮された機能を調べたところ、翻訳伸長と光刺激に対する応答であった。また、H3K27me3 の ChIP-seq で (A) と (B) で異なって濃縮されていた遺伝子のうち、トランスクリプトーム解析で得られた変動遺伝子は 1 個存在した。この遺伝子は機能的に濃縮された GoTerm である光刺激に対する応答に含まれていた。この GoTerm は光の刺激によって細胞や生物の状態や活動（が変化するプロセスであるが、これに含まれる遺伝子は一般的な刺激に応答するものも含まれている。このことから、この遺伝子が本実験条件における行動変容の鍵因子である可能性がある。

本研究から、非栄養因子である食品ポリフェノールの摂取は、短期間であっても脳のエピゲノム、トランスクリプトームの変化を引き起こすことが明らかとなった。特にレスベラトロールの摂取が細胞内情報伝達系の遺伝子発現制御に関与すると推察されることから、食品ポリフェノール摂取が将来的な認知・行動の差異をもたらす要因のひとつであることが示唆された。

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 Fumika Shinozaki, Asuka Kamei, Kousuke Shimada, Hiroshi Matsuura, Takeo Shibata, Mayumi Ikeuchi, Kayo Yasuda, Takashige Oroguchi, Noriaki Kishimoto, Shinji Takashimizu, Yasuhiro Nishizaki, and Keiko Abe	4. 巻 50
2. 論文標題 Single administration of taxifolin-rich extract to young adults improves their sequential single task performance-A randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover trial-	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Jpn Pharmacol Ther	6. 最初と最後の頁 93-107
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 Shinozaki Fumika, Kamei Asuka, Shimada Kousuke, Matsuura Hiroshi, Shibata Takeo, Ikeuchi Mayumi, Yasuda Kayo, Oroguchi Takashige, Kishimoto Noriaki, Takashimizu Shinji, Nishizaki Yasuhiro, Abe Keiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Ingestion of taxifolin-rich foods affects brain activity, mental fatigue, and the whole blood transcriptome in healthy young adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Food & Function	6. 最初と最後の頁 3600 ~ 3612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2fo03151e	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 篠崎文夏、亀井飛鳥、嶋田耕育、荒井綜一、阿部啓子
2. 発表標題 自然薯ムカゴ摂取の代謝に対する影響
3. 学会等名 日本農芸化学会
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
研究分担者	篠崎 文夏 (Shinozaki Fumika) (00359647)	日本薬科大学・薬学部・准教授  (32425)	
研究分担者	亀井 飛鳥 (Kamei Asuka) (40514112)	地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所・「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト・サブリーダー  (82718)	
研究分担者	嶋田 耕育 (Shimada Kousuke) (50634185)	地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所・食品機能性評価・研究員(任期有)  (82718)	2021年5月をもって退職

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