

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11663

研究課題名（和文）妊娠期ビタミンD摂取量と児の将来の生活習慣病の発症リスクとの関連性の検討

研究課題名（英文）Investigation of the relationship between maternal vitamin D during pregnancy and the future risk of adult-onset noncommunicable diseases

研究代表者

舟橋 伸昭（Funahashi, Nobuaki）

東京工業大学・生命理工学院・助教

研究者番号：30727491

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）：近年、我が国では低出生体重児の頻度が増加傾向にある。出生体重の低下は多くの生活習慣病の発症リスクと関連する。しかし、母体栄養と出生体重を含む児にもたらす影響との関連の分子的機序は不明な点が多い。これまでに、母体の血中ビタミンDと胎盤のリン酸化AMPK量、リン酸化AMPK量と児の出生体重や胎盤重量にそれぞれ正の相関関係があることを見出した。今回、胎盤のモデル細胞BeWoを用いてAMPK活性が出生体重/胎盤重量と関連する遺伝子の発現量に影響を及ぼすのかを検討した。また、ヒト胎盤を用いて、One carbon metabolism関連遺伝子の発現量を検討し、出生体重/胎盤重量との関連性を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題により、我々は胎盤モデル細胞BeWoを用いて、これまでに明らかにした出生体重/胎盤重量と関連する遺伝子の発現が、AMPKによって制御されている可能性を示した。さらに、これまでに母体の血中ビタミンDと胎盤のリン酸化AMPK量、リン酸化AMPK量と児の出生体重や胎盤重量にそれぞれ正の相関関係があることを見出していることから、ビタミンDが胎盤のAMPKの活性に寄与している可能性がある。このように、本研究課題の成果はヒトへの還元、すなわちDOHaD説に基づく生活習慣病の予防による「先制医療」の実現に寄与するものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Recently, the frequency of low birth weight infant tend to be increasing in Japan. Decreased birth weight is associated with the future risk of adult-onset noncommunicable diseases. However, the underlying molecular mechanisms remain unclear the relationship between maternal nutrition and its effects on the offspring, including birth weight. Until now, we found a positive correlation between maternal blood vitamin D and phosphorylated AMPK levels in placenta, and between phosphorylated AMPK levels and birth weight and placental weight, respectively. In this study, we investigated whether AMPK activation affects the expression of birth weight/placental weight-related genes using placenta model cell BeWo. Furthermore, we measured the expression levels of one carbon metabolism-related genes using placenta. In addition, we examined the relationship between the expression levels of these genes and birth weight/placental weight.

研究分野：代謝学、分子生物学

キーワード：生活習慣病 DOHaD 胎盤 ビタミンD

## 1. 研究開始当初の背景

近年、我が国では、出生体重 2,500g 未満の低出生体重児の頻度が約 10%と増加傾向にある。その主な原因の一つとして、若い女性の「やせ」が顕著であるために、妊娠時の母体低栄養状態が考えられている。これまでの疫学研究から、低出生体重あるいは母体低栄養は、2 型糖尿病をはじめ、心血管疾患、高血圧、脂質代謝異常、脳梗塞、神経発達異常など、将来の様々な生活習慣病の発症と関連がある。この事実から、Barker らにより、生活習慣病の素因は「胎生期ならびに乳幼児期の環境と遺伝子の相互作用により形成され、出生後の生活習慣の負荷が加わって発症する」という説が提唱され、現在「Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 説」に発展し、世界的に注目されている。従って、低出生体重児の増加している我が国では、今後、生活習慣病の増加など、次世代の健康に影響が生じる可能性が大きいと危惧されており、その対策は国民健康上喫緊の課題となっている。

DOHaD 説によれば、臓器形成期に低栄養状態に曝露されると、低栄養に適応した臓器形成が行なわれ、成長後過栄養の状況に晒されると臓器のサイズや機能との間にミスマッチが生じ、十分対応できないため生活習慣病が生じると考えられる。その分子機序としては、臓器形成不全やエピジェネティクスの関与が想定されているが、ヒトではほとんど解析の報告がなく、詳細は未だに不明である。特に、母体栄養の何が重要なのか、特定の栄養素がどのような分子機序で変化をもたらすのか、などは未解決の課題であり、栄養指導や介入における大きな障壁となっている。

これらの背景のもと、申請者らは妊娠母体の栄養状態を客観的に把握し、同時に母児の臓器への分子的影響を検討する前向きコホート「パースコホート(検体数 136)」を構築した。これまでに、母体の栄養素、出生体重、胎盤重量、母体血・胎盤組織・臍帯・臍帯血の DNA メチル化、胎盤の遺伝子発現、などとの関係を詳しく解析する中で、児の出生体重、胎盤重量と胎盤のリン酸化 AMP kinase (AMPK) 量には、正の相関関係があること、母体血中の各種栄養素のうち、ビタミン D (VD) と胎盤リン酸化 AMPK 量とに有意な正の相関関係があることを見出した。AMPK は重要な栄養センサーシグナルであるが、その胎盤での意義は明らかでなく、また VD が胎児の発達に重要であることは知られていたが、その分子機序は不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究課題は、妊娠中の母体 VD と胎盤のリン酸化 AMPK 量、さらにエピゲノム変化との関係に注目し、母体栄養素で重要な VD が母児にどのような影響を及ぼしているのか、また児の将来の生活習慣病の発症と関連があるのかを解析し、将来の「先制医療」への道を拓くものである。

## 3. 研究の方法

申請者らは、母体栄養素のうち血中 VD、胎盤の栄養状態指標としてリン酸化 AMPK 量に注目し、胎盤のモデル細胞のヒト絨毛がん細胞株 BeWo に AMPK 活性化剤の AICAR で刺激を行い、各遺伝子 (DNMT family、One carbon metabolism (OCM) 関連遺伝子) の発現量を TaqMan 法で測定した。また、パースコホートで作製した 136 検体の胎盤を用いて total RNA を抽出し、各遺伝子 (DNMT family、OCM 関連遺伝子) の発現量を TaqMan 法で測定した。

## 4. 研究成果

(1) 出生体重/胎盤重量と関連した遺伝子発現と AMPK との関連の検討

これまで申請者らはパースコホートを用いて、児の出生体重、胎盤重量と胎盤のリン酸化 AMPK 量には、正の相関関係があること、母体血中の各種栄養素のうち、VD と胎盤リン酸化 AMPK 量とに有意な正の相関関係があることを見出している。また、児の出生体重、胎盤重量が高い3検体(H群)、低い3検体(L群)の胎盤を用いた網羅的遺伝子発現解析を行っており、特徴的な遺伝子発現パターンを見出している。しかしながら、出生体重/胎盤重量と関連した特徴的な遺伝子発現パターンは、どのように制御されているか明らかでない。

そこで、AMPKの活性化により制御されている可能性を考え、胎盤のモデル細胞のヒト絨毛がん細胞株 BeWo に AMPK 活性化剤の AICAR で刺激を行い、各種遺伝子発現量を測定した。その結果、H群で高発現の Spexin (SPX) 遺伝子などは、AICAR 刺激により発現量が増加した。一方、L群で高発現の HIF3A 遺伝子などは、AICAR 刺激により発現量が減少した(図1)。

次に、AICAR 刺激を行った BeWo を用いて、網羅的遺伝子発現解析を行い、DAVID による Gene ontology 解析を行った。その結果、AICAR 刺激により発現が低下した遺伝子群において、OCMの経路が変動していることが示された。

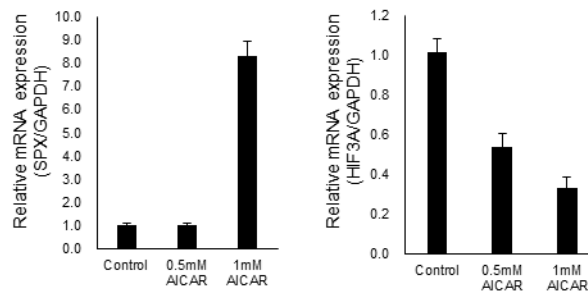


図1. AMPK活性化による出生体重/胎盤重量と関連した遺伝子発現の変動

そこで、AICAR 刺激を行った BeWo を用いて、OCM 関連遺伝子および DNMT family の発現量を検討した。その結果、複数の OCM 関連遺伝子や DNMT family は、AICAR 濃度依存的に発現が減少していることが明らかとなった。さらに、パースコホートの胎盤の検体を用いて、出生体重、胎盤重量と OCM 関連遺伝子などの発現量を測定した。その結果、出生体重、胎盤重量と複数の OCM 関連遺伝子や DNMT family の発現量に有意な相関関係があることが示された。

## 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 2件）

1. 著者名 舟橋伸昭、中西美紗緒、安田和基	4. 巻 48
2. 論文標題 母体血中コリン濃度と児の出生体重との関連性	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 204-206
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 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 Izawa Kohei, Shirakura Keisuke, Kakiuchi Koji, Funahashi Nobuaki, Maekawa Naoki, Hino Nobumasa, Tanaka Toru, Doi Takefumi, Okada Yoshiaki	4. 巻 43
2. 論文標題 PRC2 Components Maintain DNA Hypermethylation of the Upstream Promoter and Regulate Robo4 Expression in Endothelial Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 742 ~ 746
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b19-01014	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 Nakanishi Misao, Funahashi Nobuaki, Fukuoka Hideoki, Nanno Takao, Sato Yuichi, Yoshihara Hajime, Oishi Hajime, Tanaka Mamoru, Yano Tetsu, Minoura Shigeki, Kato Norihiro, Yasuda Kazuki	4. 巻 47
2. 論文標題 Effects of maternal and fetal choline concentrations on the fetal growth and placental DNA methylation of 12 target genes related to fetal growth, adipogenesis, and energy metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 734 ~ 744
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.14599	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 Kuramoto Junko, Arai Eri, Fujimoto Mao, Tian Ying, Yamada Yuriko, Yotani Takuya, Makiuchi Satomi, Tsuda Noboru, Ojima Hidenori, Fukai Moto, Seki Yosuke, Kasama Kazunori, Funahashi Nobuaki, Udagawa Haruhide, Nanno Takao, Yasuda Kazuki, Taketomi Akinobu, Kanto Tatsuya, Kanai Yae	4. 巻 14
2. 論文標題 Quantification of DNA methylation for carcinogenic risk estimation in patients with non-alcoholic steatohepatitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Epigenetics	6. 最初と最後の頁 168-183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13148-022-01379-4	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 Ikeda Kazuki, Kaneko Ryo, Tsukamoto Eiki, Funahashi Nobuaki, Koshikawa Naohiko	4. 巻 114
2. 論文標題 Proteolytic cleavage of membrane proteins by membrane type 1 MMP regulates cancer malignant progression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 348 ~ 356
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15638	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 1件)

1. 発表者名 舟橋伸昭、岡田光、山下太郎、金子周一、清木元治、越川直彦
2. 発表標題 肝臓がんにおけるLn- 2mの機能解析
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 舟橋伸昭、越川直彦
2. 発表標題 ラミニン 2単鎖が肝臓がんおよび新たな機能解析
3. 学会等名 第30回日本がん転移学会学術集会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宇田川陽秀、舟橋伸昭、中野堅太、柳田圭介、岡村匡史、添田光太郎、南茂隆生、平本正樹、西村渉、進藤英雄、今泉美香、植木浩二郎、安田和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織の脂肪細胞と中皮細胞における転写因子Gata5の機能解析
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宇田川陽秀、舟橋伸昭、南茂隆生、平本正樹、西村渉、今泉美香、植木浩二郎、安田和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織有意に発現する転写因子Gata5による酸化ストレス防御機構
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Funahashi N, Okada H, Seiki M, Kaneko S, Yamashita T, Koshikawa N.
2. 発表標題 A novel molecular mechanism for liver carcinogenesis induced by laminin- 2 monomer
3. 学会等名 AACR-JCA Joint Conference Breakthroughs in Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宇田川陽秀、柳田佳介、舟橋伸昭、添田光太郎、南茂隆生、平本正樹、西村渉、進藤英雄、今泉美佳、植木浩二郎、安田和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織由来培養細胞の中皮細胞関連マーカー発現におけるGata5の機能
3. 学会等名 第43回日本肥満学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 舟橋伸昭、岡田光、山下太郎、清木元治、金子周一、越川直彦
2. 発表標題 A novel molecular mechanism for the development of hepatocellular carcinoma induced by laminin 2 monomer
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 舟橋伸昭、宮城洋平、山下太郎、越川直彦
2. 発表標題 肝臓がんと悪性化進展に関する細胞外マトリックスに関する研究
3. 学会等名 2022年度 若手支援技術講習会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 舟橋伸昭、越川直彦
2. 発表標題 肝臓がんにおける胆管上皮細胞由来ラミニン 2単鎖が肝細胞の機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第31回日本がん転移学会学術集会・総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 兼子峻、星野大輔、舟橋伸昭、宮城洋平、越川直彦
2. 発表標題 卵巣がん細胞で発現する新規細胞外マトリックス融合遺伝子の同定と特性の検討
3. 学会等名 コホート・生体試料支援プラットフォーム 若手支援研究成果発表会
4. 発表年 2023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
---------	---------