

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02135

研究課題名（和文）食による体質リライトおよび疾患リスク低減に関する研究基盤の構築

研究課題名（英文）Research on Dietary-based Constitution Improvement and Disease Risk Reduction

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）・特任研究員

研究者番号：60456324

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000 円

研究成果の概要（和文）：これまでに我々が炎症性腸疾患（IBD）モデルの妊娠マウスを用いて、食品成分摂取により子の胎児期や乳児期といった体質が形成される発達初期に疾患予防型の遺伝子発現様式を見出した。本研究では、実験動物により出生直後から疾患発症初期における遺伝子刻印変容の解析、またヒト由来iPS細胞の腸管上皮細胞オルガノイド分化制御評価系により体質リライト（遺伝子刻印を解除する）の詳細時期および有効成分の探索を行った。本研究で構築した解析システムを活用し、IBDを制御できる新規な体質リライト因子の探索を行い、食による体質リライトおよび疾患リスク低減の疾患予防モデルケースを多くの人々に提示したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では潜在的な疾患発症素因を有する人や疾患を発症している人に対して、その負の影響が次世代出生後の栄養環境によって改善されるのではなく、発達初期における適切な栄養により体質リライトの疾患予防戦略であり、多くの栄養分野の研究者および次世代の健康に関心する方に有用な情報を発信できる。近い将来に個々個人の細胞から樹立されたiPS細胞を活用することで、個人に適した予防および疾患治療に有効性の高い食品成分を摂取する事が可能になり、オーダーメイド食品によるプレジジョン栄養の実現にも近づくはずである。

研究成果の概要（英文）：Using a model of inflammatory bowel disease (IBD) in pregnant mice, we have discovered that the intake of certain food components can induce a disease-preventive gene expression pattern during early development, specifically during the fetal and infant stages when the offspring's physical constitution is formed. In this study, we analyzed gene imprinting changes from birth to the early stage of disease onset using experimental animals. Additionally, we explored the timing and effective components of constitution rewriting (releasing genetic imprinting) using an intestinal epithelial cell organoid differentiation system derived from human iPS cells. By utilizing the analysis system developed in this study, we aim to identify novel constitution rewriting factors that can control IBD and present a dietary-based model case for constitution rewriting and disease risk reduction to many people.

研究分野：分子栄養学

キーワード：食品因子 体質リライト ヒトiPS細胞 炎症性腸疾患 メチル化状態 mRNA発現 腸管上皮細胞 短鎖脂肪酸

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

胎児期や乳児期といった体質が形成される発達初期の栄養環境の悪化は、成人後の疾患発症率が関連することを示す証拠が次々と明らかになってきている。これまでに我々が食品成分を摂取した妊娠母 IL10KO マウス（炎症性腸疾患自然発症モデルである IL10 遺伝子欠損マウス）から生まれた雄仔マウスを離乳後 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比が抑制され、IBD 症状を軽減することが確認できた。仔マウスの大腸粘膜における遺伝子の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 Foxo (Forkhead Box O) を含む 4 遺伝子が抽出された。Foxo の DNA メチル化状態と mRNA 発現量をそれぞれパイサルファイトシーケンスとリアルタイム PCR により測定した結果、Foxo プロモーター近傍の CpG island の顕著の低メチル状態と Foxo mRNA は有意に増加していることが明らかとなった。これらの結果から、母マウス妊娠中食品成分の摂取により胎児期にプログラミングされた疾患予防型の遺伝子発現様式が、成長後に実際に IBD を発症し難くするという仮説が得られた。しかし、FoxoDNA メチル化状態と mRNA 発現が負の相関が出生直後、授乳期から離乳期にかけてのライフステージ初期にどのような変動をするのか、また IBD の発症に伴いどのような挙動を示すか、さらに具体的に食品に含まれるどの成分がこの調節に寄与するかという情報がまだ不足している。

一方、動物細胞とヒト細胞では物質代謝の大きな違いがあることから、動物実験だけでは遺伝の刻印を介して体質の可塑性の検定が不可能である。また疫学研究や臨床試験では多様な被験者から集められた試験データのばらつきが大きいと、統計的に有意な結果を得ることが困難な場合も多い。特に、ヒト発生段階の胎児期に介入実験ができないため、我々がこれまで構築したヒト iPS 細胞分化誘導系を利用し、発達段階に食による戦略的に体質リライトの評価が必要である。

## 2. 研究の目的

本研究はヒト組織の発生過程を模倣する iPS 細胞の腸管上皮細胞への分化誘導系を応用し、各分化段階の細胞に対してそれぞれの食品成分が細胞制御に与える影響を評価すること、動物実験で胎児期に体質リライトに起因する変化が成長に伴い変動、また IBD 発症リスクを低減させるかを胎児期から新生児、授乳期、IBD 発症初期にかけて俯瞰し、その作用機構の詳細な探索を行うことを目的とする。このように、実験動物とヒト iPS 細胞分化系の組み合わせを用いて、食品因子による発達段階における栄養環境の変化が体質リライトの制御機構を解明するという疾患予防のモデルケースを多くの健康科学分野の研究者に示すことが最終的な目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) IL10KO マウスを用いて出生直後から疾患発症初期における遺伝子刻印変容の解析

IL10KO マウスにおいて、腸管粘膜のメチル化差違が大きい Foxo の経時変化に着目した。すなわち、このメチル化状態と mRNA 発現の負の相関が出生直後、授乳期から離乳期にかけてのライフステージ初期変動を明らかにするため、IL10KO マウスを交配させ、母親に妊娠期と授乳期間中食品成分を摂取させ、新生仔、出生後 4 週および 16 週目発症初期に大腸粘膜を用いてパイサルファイト処理法により Foxo の DNA メチル化を比較した。

### (2) ヒト iPS 細胞の分化制御評価系を用いて各分化段階に食品成分の影響および有効成分の検討

腸管上皮細胞のオルガノイド *in vitro* 評価系を用いて、食品因子が各分化段階の腸の機能に与える影響を評価した。また、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 の含量および発現量を測定し、食品中の炎症抑制に関与している有効成分を再確認した。

### (3) 本研究で構築した評価系を用いて IBD の制御できる新規因子の探索と検証

IBD を制御できるほかの新規な体質リライト制御因子を探索するため、本研究で新たに構築した評価系を用いて、スクリーニングを行い、IBD 制御できる新規候補物質候補を抽出した。また有望な候補成分を用いて動物実験系より検証した。

#### 4. 研究成果

##### (1) IL10KO マウスを用いて出生直後から疾患発症初期における遺伝子刻印変容の解析

食品成分を摂取した IL10 遺伝子欠損マウスから生まれた仔マウス(雄 42 週齢)の大腸炎症状が軽減されることと、免疫反応の制御に関わる転写因子 Foxo、さらに Foxo の下流にある標的遺伝子の発現上昇が見られ、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あった。新生仔および出生後 4 週に大腸粘膜を用いて Foxo を比較したの結果、0 W と比べ 4 W の遺伝子発現の変動パターンが Foxo の低メチル化状態と Foxo mRNA が高発現という 42 週の発現様式に類似した。このことから、胎児期の体質リライトにより生じたポジティブなメチル化制御が、成長に伴い増強され、疾患発症によって顕在化になったことが示唆された。

##### (2) ヒト iPS 細胞の分化制御評価系を用いて体質リライトの詳細時期および有効成分の検討

腸管上皮細胞のオルガノイド *in vitro* 評価系を用いて、食品因子が腸の機能に与える影響を評価するため、未分化細胞を腸幹細胞まで、腸前駆細胞まで、成熟腸細胞までに、最終的には微絨毛構造を有し、薬物代謝及び輸送活性を持つ iPS 腸管が分化した。また、細胞傷害マーカーの測定や食品添加が細胞分化に与える影響および最終的な腸管上皮細胞の機能に与える影響を調べたところ、腸管上皮細胞の分化度(腸管細胞の CDX2 と VILLIN、腸幹細胞の LGR5、成熟腸管細胞のアルカリホスファターゼ(ALPI))や機能(トランスポーターの ABCB1、ABCG2、SLC15A1、代謝酵素の CYP2C9、CYP2C19、CYP3A4)の確認は、指標となるこれらの遺伝子発現変化を確認した。さらに、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 の含量および発現量を測定し、食品中の炎症抑制に関与している有効成分を特定できた。本研究のように食品栄養研究へヒト iPS 細胞の分化誘導技術の導入というアプローチは、ヒトの発生段階ごとに栄養環境変化の影響を検討することが可能となり、当該研究分野において例がない極めて先進的な研究である。

##### (3) 構築した評価系を用いて IBD の制御できる新規な体質リライト制御因子の探索と検証

本研究で構築したヒト iPS 細胞分化制御評価系により抽出した IBD を制御できる新規候補物質 M を用いて妊娠マウスを用いて成分介入実験により検証した。妊娠中に M 食を摂取した母マウスから生まれた子マウスに、離乳後コントロール食を給餌し、8 週齢以降 DSS を飲水投与し IBD を誘導したところ、雌雄子マウスともに IBD 炎症症状の程度を示す DAI が有意に低下した。さらに母の食餌による影響が強く見られると予想される 0 週齢、4 週齢の子マウスについても解析を行った。4 週齢の子マウスにおいて、雌雄ともに盲腸内容物中の短鎖脂肪酸(SCFA)の濃度が有意に増加し、M 食を摂取した母マウスとその子の 4 週齢マウス間に SCFA 濃度に正の相関が見られた。また、SCFA の受容体である G タンパク質共役型受容体の *Gpr41* と *Gpr43* ともに、雄の膵臓では 0 週齢と比較して 4 週齢において発現量が有意に増加し、雌雄の大腸粘膜では 4 週齢と比較して 9 週齢において発現量が有意に増加した。このことから、成長するにつれて SCFA への感受性が高まり、免疫細胞の誘導や炎症性サイトカインの産生の抑制が起こることで、SCFA による腸の保護効果がより発揮されるようになる可能性が示唆された。現在詳細な機構解明に向けて、炎症性サイトカインの産生抑制や免疫細胞の制御の役割を検討している。

こうして、本研究で構築した実験動物とヒト iPS 細胞分化系の組み合わせを活用し、体質リライトの可能性を示す新規成分により、母親の M 摂取は子の腸内環境や IBD の発症リスクにも影響を及ぼし、特にこの影響は長期間維持される可能性があるという栄養学の新しい知見を提示した。これまでに発達初期に体質リライトさせる機能性食品の介入研究、さらに遺伝の刻印となるエピジェネティクス制御機構の解明の研究例はほとんどなく、メチル基供与体である葉酸(PLoS One, 2013)等の一部の栄養素に限られていた。従って、本研究のように胎児期から新生児期に形成される遺伝の刻印の解明は、極めて今日的かつ将来の発展が期待できる「食による体質リライトおよび疾患リスク低減」という新しい研究分野の創出に貢献できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Jia, H.; Miyoshi, M.; Li, X.; Furukawa, K.; Otani, L.; Shirahige, K.; Miura, F.; Ito, T.; Kato, H.	4. 巻 15
2. 論文標題 The Epigenetic Legacy of Maternal Protein Restriction: Renal Ptger1 DNA Methylation Changes in Hypertensive Rat Offspring	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 15183957
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu15183957	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 Ando, C., Ma, S., Miyoshi, M., Furukawa, K., Li, X., Jia, H. and Kato, H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Postnatal nutrition environment reprograms renal DNA methylation patterns in offspring of maternal protein-restricted stroke-prone spontaneously hypertensive rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 1134955
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnut.2023.1134955	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 Yang, Y., Jia, H., Furukawa, K., Li, X., Hasebe, Y. and Kato, H	4. 巻 9
2. 論文標題 Dietary eggshell membrane powder improves survival rate and ameliorates gut dysbiosis in interleukin-10 knockout mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 895665
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnut.2022.895665	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 Jia, H., Lyu, W., Hirota, K., Kato, H. et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Eggshell membrane modulates gut microbiota to prevent murine pre-cachexia through suppression of T helper cell differentiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Cachexia Sarcopenia Muscle	6. 最初と最後の頁 2088-2102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcsm.13019	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 Miyoshi, M., Saito, K., Jia, H. and Kato, H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Maternal protein restriction and post-weaning high-fat feeding alter plasma amino acid profiles and hepatic gene expression in mice offspring.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods11050753	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 Warman, D.J., Jia, H. and Kato, H.	4. 巻 14
2. 論文標題 The potential roles of probiotics, resistant starch, and resistant proteins in ameliorating inflammation during aging (inflammaging).	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14040747	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7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Huijuan Jia, WARMAN Dwina Juliana, Yukio Hasebe, Hisanori Kato
2. 発表標題 Eggshell membrane modulates the gut microbiota to provide health-promoting benefits
3. 学会等名 NUTRITION 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Huijuan Jia, Weida Lyu, Moe Miyoshi, Hirohiko Hohjoh, Kyohei Furukawa, Kenji Saito, Yukio Hasebe, Hisanori Kato
2. 発表標題 A resistant protein modulates gut microbiota to prevent murine pre-cachexia via suppression of Th cell differentiation
3. 学会等名 10th International Conference on Public Health (ICOPH 2024) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Dwina Juliana Warman, Takami Watanabe, Nobuaki Shiraki, Shoen Kume, Huijuan Jia, Hisanori Kato
2. 発表標題 Effects of two-day prenatal methionine deficiency on pancreatic development in newborn rats
3. 学会等名 22nd IUNS- International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Xuguang Li, Ke Li, Yukio Hasebe, Huijuan Jia, Hisanori Kato
2. 発表標題 Maternal consumption of eggshell membrane during pregnancy and lactation influences offspring colitis symptoms and dysbiosis in mice
3. 学会等名 22nd IUNS- International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 賈 慧娟
2. 発表標題 胎生期における短期間アミノ酸栄養環境の変化が出生後の臓器機能に与える影響
3. 学会等名 日本栄養食糧学会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡邊 貴美、福井 里佳子、Warman Dwina Juliana、白木 伸明、賈 慧娟、加藤 久典
2. 発表標題 妊娠期の短期間のメチオニン欠乏食およびスレオニン欠乏食給餌が子マウスに与える影響
3. 学会等名 日本栄養食糧学会
4. 発表年 2021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 日本栄養食糧学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 卵殻膜含有粉末を有効成分として含む悪液質改善または予防用組成物	発明者 加藤久典、賈慧娟、 長谷部由紀夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、J P J 2 2 8 2 6 A M	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	白木 伸明  (Shiraki Nobuaki)  (70448520)	東京工業大学・生命理工学院・准教授   (12608)	

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