

令和 6 年 4 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17891

研究課題名（和文）環境化学物質の曝露による母体血ミトコンドリアDNA量の変化と次世代への影響

研究課題名（英文）Changes in maternal blood mitochondrial DNA copy number due to exposure to environmental chemicals and their effects on children

研究代表者

福永 久典（FUKUNAGA, Hisanori）

北海道大学・保健科学研究院・准教授

研究者番号：50781267

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：ミトコンドリアは独自の環状マルチコピーゲノム（mtDNA）を持っているが、このmtDNAコピー数（mtDNAcn）の全生涯、特に周産期における生理的・病理的意義は十分に明らかにされていない。本研究では、化学物質曝露などを含めた妊娠中環境による母体血mtDNA量的変化が、児の生後発達にどのような影響を及ぼすのかを解析するため、祖父母、両親、新生児の三世代149家族、合計1,041名の末梢血・臍帯血中のmtDNAcnを測定、解析した。しかし、妊婦の喫煙歴、受動喫煙歴などの環境要因と、母児mtDNA copy number、出生アウトカムとの相関はみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の知る限り、本研究は、mtDNAコピー数の遺伝的相関の解明のために、三世代家族1000人以上の臍帯血・末梢血mtDNAコピー数を測定した初めての分子疫学研究である。妊娠中の化学物質曝露影響は明らかにできなかったものの、周産期における母児のmtDNAコピー数が新生児アウトカムと相関しており、妊娠時の母親の生活習慣への介入、とくに葉酸摂取によってmtDNAコピー数と新生児アウトカムを修正できる可能性を明らかにすることができた。これらは周産期医療における精密医療への新しいアプローチを示唆する成果といえる。

研究成果の概要（英文）：Mitochondria have their own cyclic multi-copy genome (mtDNA), but the physiological and pathological significance of this mtDNA copy number (mtDNAcn) throughout life, especially during the perinatal period, remains to be determined. In this study, we measured and analyzed mtDNAcn in peripheral or cord blood samples from a total of 1,041 individuals from 149 three-generation families (grandparents, parents, and newborns) to analyze how changes in maternal peripheral blood mtDNAcn due to environmental factors during pregnancy, including chemical exposure, affect postnatal development. No correlation was found among environmental factors, such as maternal smoking and second-hand smoking exposure, maternal and newborn mtDNAcn, and birth outcomes.

研究分野：分子疫学

キーワード：ミトコンドリア ミトコンドリアDNA DNAコピー数 DOHaD 出生コホート

### 1. 研究開始当初の背景

細胞の主要エネルギーである ATP を産生する細胞内小器官ミトコンドリアは、独自のゲノム (mtDNA) を有しており、ヒトの場合、16,569 塩基対の環状多コピーゲノムとして 1 細胞当たり数十から数千のコピーが存在し、母系遺伝する。最近、この mtDNA に生じる量的変異 (コピー数低下) が、ミトコンドリア病だけでなく、循環器疾患、神経変性疾患、糖尿病、がんなどの老化を基盤とする様々な病態に関与することが明らかになっている。

胎児期病態発症起源説 (DOHaD) は、近年、学術的概念が一般化した研究対象であり、これまでに多くの疫学、動物実験で検討されてきた。とくに、胎児期・新生児期における環境化学物質の曝露と、先天異常、体格、神経発達、免疫機能などとの相関は、DOHaD 研究における重要テーマの一つである。ミトコンドリアがエネルギー産生の中心的役割を果たし、子どもの発達過程にも重要であること、mtDNA が母系遺伝であることなどを鑑みると、「妊娠中における母体の環境化学物質の曝露、mtDNA の量的変異、そして出生児の発達における相関の検討は、DOHaD における疾病素因形成メカニズムの解明に有望である」と期待される。しかしながら、これまで十分な知見の蓄積が乏しいという課題があった。

| Environmental factor   | Exposure  | Cord blood mtDNA copy number | Ref.   |
|------------------------|---|------------------------------|--|
| Air pollution          | Smoking   | ↓                            | Bouhours-Nouet et al. 2005                               |
|                        | PM <sub>2.5</sub> and PM <sub>10</sub>  | ↓                            | Janssen et al. 2012; Janssen et al. 2015; Hu et al. 2020 |
|                        | PM <sub>10</sub> (early pregnancy)  | ↑                            | Iodice et al. 2018                                       |
|                        | NO <sub>2</sub>   | ↓                            | Clemente et al. 2016; Clemente et al. 2017               |
| Metal                  | Thallium  | ↓                            | Wu et al. 2019   |
|                        | Arsenic   | ↓                            | Song et al. 2020   |
|                        | Aluminum  | ↑                            | Liu et al. 2019  |
| Environmental chemical | PAHs  | ↓                            | Cao et al. 2020  |
|                        | Benzotriazoles and Benzothiazoles   | ↓                            | Chen et al. 2020   |
|                        | BPS   | ↓                            | Wang et al. 2021   |
| Psychosocial stress    | Maternal lifetime stress, Negative life events, depression and post-traumatic stress disorder | ↓                            | Brunst et al. 2017                                       |

表 1 母児の血中ミトコンドリア DNA コピー数と相関する母親の特性と新生児の出生アウトカム (Fukunaga. Int J Mol Sci 2021 より)

申請者は、DOHaD 説の観点から、臍帯血の mtDNA コピー数が妊娠中の母親の環境曝露によってどのように変化するのか、従来の疫学研究成果、関連文献を精査し、様々な胎児期環境刺激によって臍帯血 mtDNA コピー数が増減することを報告した (表 1)。そして、この結果から、「mtDNA コピー数は DOHaD メディエーターの一つ」という仮説を立てた。実際、低出生体重児は、適正体重の出生児に比べて一細胞当たりの mtDNA コピー数が少ないこと、そして成人後心血管疾患のリスクが高いことが従来研究から明らかになっており (Gemma et al. Obesity 2006) mtDNA コピー数はバイオマーカー候補として有望であると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、末梢血、臍帯血由来の mtDNA コピー数が、化学物質の曝露などの妊娠中環境変化に応じてどのように増減するのか、そして、児の出生アウトカムにどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

本研究では、東北大学東北メディカル・メガバンク機構 (以下、ToMMo) の分譲制度を活用し、ToMMo 三世代コホート調査参加者である三世代家族 (父方祖父母、母方祖父母、父母、子) 149 組、合計 1,041 名から得られた、分譲可能な情報とされている調査票 (母の妊娠前 BMI、喫煙などの生活習慣、在胎週数等) 血液学的検査結果 (血球計算、白血球分画等) 新生児体格 (出

生時体重等)そして分譲可能な試料とされている参加者の DNA 検体を用いた。

これらの DNA 検体(末梢血由来あるいは臍帯血由来)を用いて、定量リアルタイム PCR を行い、核 DNA (nDNA)を基準として相対的に mtDNA のコピー数を測定した(mtDNA と nDNA の Ct 値の差から mtDNA のコピー数を相対定量にて算出した)。本研究ではプライマーセット (Human Mitochondrial DNA (mtDNA) Monitoring Primer Set, Takara Bio)及びリアルタイム PCR 試薬 (MightyAmp™ for Real Time (TB Green® Plus), Takara Bio)を使用した。

#### 4. 研究成果

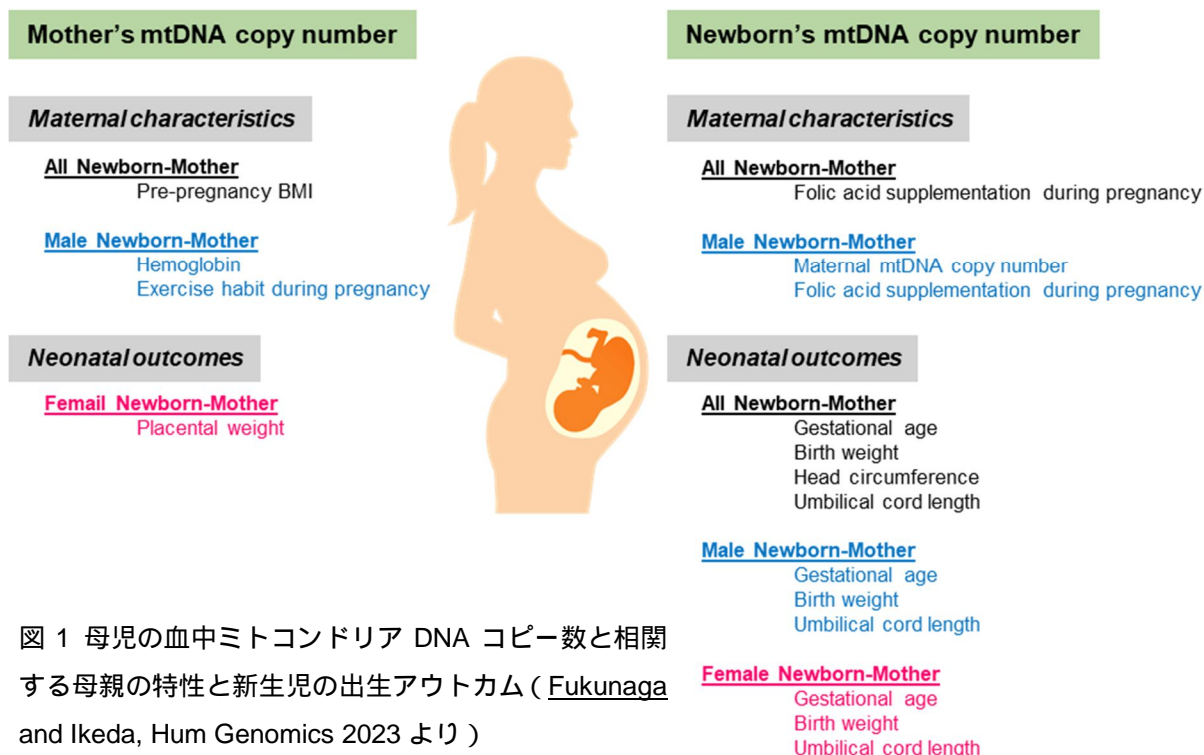


図 1 母児の血中ミトコンドリア DNA コピー数と関連する母親の特性と新生児の出生アウトカム (Fukunaga and Ikeda, Hum Genomics 2023 より)

我々の知る限り、本研究は、mtDNA コピー数の周産期における生理学的意義の解明のため、三世代家族 149 組 1041 名分の臍帯血あるいは末梢血 mtDNA コピー数を測定した初めての分子疫学研究である。

これまでに本研究で得られた主な結果としては、1) 新生男児の臍帯血 mtDNA コピー数とその母親の末梢血 mtDNA コピー数との間の負の相関、2) 臍帯血と末梢血の mtDNA コピー数にみられる性差、3) 出生アウトカムと新生児および母親の mtDNA コピー数との間の相関(図 1)が挙げられる。これらの成果は、mtDNA コピー数の個人差、遺伝的相関、周産期における生理的意義に対して新しいエビデンスを与えるものであり、mtDNA コピー数の DOHaD バイオマーカーとしての可能性を示唆している。一方、本研究では、妊婦の喫煙歴、受動喫煙歴などの環境要因と、母児 mtDNA copy number、出生アウトカムとの相関は明らかではなかった。

本研究には、幾つかの技術的制限があった。まず、本研究の対象集団はリクルート地域が宮城県と岩手県の一部に留まるため、人種・遺伝的背景の多様性に乏しい。次に、解析できた DNA 試料数に制限があったため、サンプルサイズも小さかった。したがって、今後、さらに詳細な検討のためには、より多くの測定・解析が必要になるだろう。

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 2件）

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukunaga Hisanori  | 4. 巻<br>22                |
| 2. 論文標題<br>Mitochondrial DNA Copy Number and Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Molecular Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>6634 ~ 6634 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3390/ijms22126634  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukunaga Hisanori, Ikeda Atsuko  | 4. 巻<br>17              |
| 2. 論文標題<br>Mitochondrial DNA copy number variation across three generations: a possible biomarker for assessing perinatal outcomes | 5. 発行年<br>2023年         |
| 3. 雑誌名<br>Human Genomics   | 6. 最初と最後の頁<br>113 ~ 113 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1186/s40246-023-00567-4  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

〔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<br>福永久典, 山田勇磨  |
| 2. 発表標題<br>ミトコンドリアDNAコピー数の生理的意義の解明と新規治療アプローチの開拓：分子疫学的解析とDDS技術開発の融合 |
| 3. 学会等名<br>第8回北海道大学部局横断シンポジウム                                      |
| 4. 発表年<br>2022年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|
|---------|---------|