

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22790541

研究課題名(和文) 妊娠中の感染と低栄養が引き起こす胎児のエピジェネティック変化に関する研究

研究課題名(英文) Study on epigenetic changes in fetal life evoked by gestational infection or malnutrition

研究代表者

古澤 華(清水華)(SHIMIZU-FURUSAWA, Hana)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80401032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：胎生期の母体環境あるいは出生後の養育環境が、子の成長後の生存や後世の遺伝子発現に及ぼす影響を探索することを目的に、ヒトを対象としたコホート調査と、マウスを用いた無機ヒ素曝露実験を実施した。インドネシア・スンバの対象ヒト集団において、結縁婚により出生した子供の生存率が非結縁婚に比べて有意に低く、出産数が多いことが示された。無機ヒ素に汚染されているバングラデシュの母子の試料、また、実験的に無機ヒ素を曝露したマウスの試料を用いてヒ素曝露の感受性について検討した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to explore any alterations or deleterious effects on survival rate during growth and late-onset gene expressions in future generations by certain embryonal environments or child-care after birth. Both community-based human study and animal experiments were conducted in parallel. A cohort study in Sumba, Indonesia, revealed that consanguineous marriages might decrease the survival rate of the offspring who lived over 5 years old, but lead to high fertility. Bangladeshi mother-infant pairs exposed to inorganic arsenic (iAs) were investigated to examine susceptibility to iAs, followed by experiments for iAs exposure to mice.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：胎生期 次世代 出産 血族婚

1. 研究開始当初の背景

母体が感染、重金属曝露、栄養不足などの負荷を受けた場合、その胎児に及ぼす健康リスクは、胎生期ではなく、むしろ出生後の特異的発達段階に、あるいは生涯を通じて、高リスクとなる可能性がある。塩基配列の変化を伴わない遺伝子機能調節として、DNA (CpG) メチル化やヒストンアセチル化・メチル化などの遺伝子修飾により特定タンパクの転写抑制や転写促進に働くエピジェネティクス機構はその現象の一つである。たとえば、Dutch Hunger Winter集団において、胎生期に母体が過度の栄養不足を経験した場合、その子供のインシュリン様成長因子 (IGF2) 遺伝子に高頻度でDNAメチル化が起こることが報告されている (Heijmans et al, 2008)。さらに、このとき産まれた女性の子供や孫の世代に至っても、同じ母体から別の時期に産まれたきょうだいと比べて低体重であることが観察されている (Lumey et al, 1994)。このような胎生期の母体環境が子供に及ぼす影響は、喫煙など他の環境因子についても研究されているが、ヒトを対象とした疫学研究は *in vitro* 研究に比べて少ない。これは、(1)環境と遺伝の2つの側面から多角的なデータを収集しなければならないこと、(2)次世代影響は数世代に亘って観察する必要があること、からヒトを対象とした疫学的アプローチの難しさがある。そこで研究代表者は、フィールドワークに基づく遺伝疫学的研究により(1)の点を網羅し、さらに一部の環境条件を動物実験で再現することで(2)の観察を実施し、エピジェネティックな生命現象を多角的に分析する。

また鉛のラット幼児期曝露がDNAメチルトランスフェラーゼ (DNMT1) 活性を低下させ、酸化損傷やアルツハイマーなどの病状に対する生体感受性の亢進をもたらすという報告や、ヒ素 (As) 曝露によりエストロゲン受容体の hypomethylation や、一方で p53 遺伝子の hypermethylation などのエピジェネティック現

象が報告されている。ヒ素 (As) やカドミウム (Cd)、トリブチルチン、ジエチルスチルベストロールなどの曝露により ER, PPAR, Nrf2, NF- κ B などの遺伝子発現変化が既に示されている。環境中の多くの化学物質が各種の転写因子や核内受容体に作用することが明らかになっており、その影響を遺伝子発現変化として検出することが可能になった。

ヒトの研究において、妊娠マラリアがマラリア抵抗性遺伝子に対して胎生期選択により FLT1 遺伝子のアリル頻度を変え、胎生期マラリアの免疫応答を FLT1 遺伝子が変化させる可能性が報告されている (Muehlenbachs et al, 2008)。この報告では母親の経産回数によって子供のアリル頻度に差異が現れた。マラリア感染を初産で経験すると重症な炎症を伴い子供の低体重をもたらすが、マラリア感染を過去に経験している経産時では、母体の抗マラリア抗体が胎児へのマラリア感染に防御的に働き、初産に比べて経産で子供における抗マラリア効果が高いことが示された。FLT1 遺伝子のアリル頻度の親子間比較は胎生期環境の違いを反映し得る。

2. 研究の目的

胎生期の母体を介した感染、重金属曝露あるいは胎生期の低栄養が、胎児の出生後に与えるエピジェネティックな変化は、感染および曝露感受性の遺伝因子を研究する上で、環境変容が及ぼす次世代影響として新たに考慮しなければならない注目の生命現象である。本研究では、妊娠初期の母体環境が後世の種々遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにするため、妊娠マラリアならびに妊娠期の無機ヒ素曝露についてヒトを対象とし、妊娠マウスに無機ヒ素を実験的に曝露することで、それぞれの次世代影響を遺伝子型頻度および発現量とメチル化率によって比較検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒトを対象とした調査

インドネシア・スンバにおいて、現在の妊婦、先行調査で出産を記録された女性、とその子供全員を対象とした疫学調査を行い、親子関係、経産数、マラリア感染歴に関する情報を収集した。母体環境要因として各子どもについて、血縁婚による出生かどうか、父親による養育があったかどうか、母親の出自、出生順を調査した。

無機ヒ素汚染地域のバングラデシュの妊婦と出生した子を対象に尿試料と血液試料を収集し、ヒ素を含む痕跡元素の分析、ヒ素感受性に関わる生体内因子の探索をおこなった。

(2) マウスを用いた実験研究

実験的にC57BL/J妊娠マウスに無機ヒ素(亜ヒ酸ナトリウムとして100ppb)の飲料水を自由飲水で与えて曝露し、曝露時期を妊娠期と授乳期に群分けし、出生した子のヒ素曝露を評価した。

4. 研究成果

インドネシア・スンバのヒト集団を対象とし、経産女性を対象に子の出生と生存、生物学的父親との血縁に関するデータを収集し、解析を実施した。対象集団において、血縁婚の女性の方が血縁婚でない女性より多くの子供を出産し、また出生した子供の生存率が有意に低いことを報告した。胎生期の母体環境が後世の種々遺伝子発現に及ぼす影響について実験動物で検証を加えると共に、遺伝子型とメチル化率の関係が同母体からの出生順に影響を受けているかどうかを人類集団で実証した研究例はまだあまりない。

インドネシア・スンバ人の経産婦(F0)を対象に出産歴を収集し、母体環境要因として親(F0)と子(F1)それぞれの出生順位、経産回数、マラリア有病歴を記録し、次世代の子(F2)の生死と出産に関する三世代コホート調査をおこなった。経産による影響がみられる遺伝子の同定ならびに遺伝子発現レベルを定量的に分析するには至らなかったが、縦断的なデータを蓄積することができた。

後世の遺伝子発現調節に影響する胎生期の時期特異性について検証するため、亜ヒ酸ナトリウム 100 ppm の飲料水を妊娠マウスに与えて有害金属の無機ヒ素に曝露させ、曝露時期を胎生期と授乳期に群分けして、動物実験をおこなった。胎生期の無機ヒ素曝露により血漿中または肝臓中のトリグリセリドが低下し、曝露中止後の成熟期に雌仔のみ無機ヒ素曝露群で低体重となる報告に基づいて、無機ヒ素曝露マウスを作製した。その結果、妊娠期に比して授乳期は飲水量が増大し、仔数が多いほど母獣の飲水量が多いことが実証された。母獣への無機ヒ素曝露量が胎生期より授乳期の方が高いにも関わらず、胎生期に特異的な遺伝子発現変動がみられることは、胎生初期の感受性の高さを示唆すると考えられた。今後はこのマウスモデルにおけるF2世代の影響を検証していく必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Ser, PH., Bilkis, B., Fatema, J., Fatema, K., Nasrin, R., Rabeya, Y., Furusawa, H., Liaquat, A., Akhtar, A., Watanabe, C. Arsenic exposure increases maternal but not cord serum immunoglobulin G level in Bangladesh. *Pediatrics International*, 57(1): in press, 2015. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1111/ped.12396>

Nakamura, M., Hachiya, N., Murata, KY., Nakanishi, I., Kondo, T., Yasutake, A., Miyamoto, KI., Ser, PH., Omi, S., Furusawa, H., Watanabe, C., Usuki, F., and Sakamoto, M. Methylmercury exposure and neurological outcomes in Taiji residents accustomed to consuming whale meat. *Environment International*, 68:25-32, 2014. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2014.03.005>

Parajuli, RP., Fujiwara, T., Umezaki, M., Furusawa, H., and Watanabe, C. Home environment and prenatal exposure to lead, arsenic and zinc on the neurodevelopment of

six-month-old infants living in Chitwan Valley, Nepal. *Neurotoxicology and Teratology*, 41:89-95, 2014. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2013.12.006>

Parajuli, RP., Fujiwara, T., Umezaki, M., Furusawa, H., Ser, PH, and Watanabe, C. Cord blood levels of toxic and essential trace elements and their determinants in the Terai region of Nepal: a birth cohort study. *Biological Trace Element Research*, 147(1-3):75-83, 2012. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1007/s12011-011-9309-1>

Nojo, S., Ihara, Y., Furusawa, H., Akamatsu, S., and Ishida, T. Facial resemblance and attractiveness: an experimental study in rural Indonesia. *Letters on Evolutionary Behavioral Science*, 2(1):9-12, 2011. 査読有

<http://dx.doi.org/10.5178/lebs.2011.11>

[学会発表](計 11 件)

Furusawa, T., Nakamura, S., and Furusawa, H. Time- and space-saving method for sampling, storage, and identification of water-borne pathogenic bacteria by using detection papers: with a case report of Indonesia. *The 10th International Symposium Southeast Asian Water Environment*, 8-10 November 2012, Hanoi, Vietnam.

Sultana, N., Watanabe, C., Furusawa, H., Umezaki, M., and Inaoka, T. Gender disparity in inorganic arsenic-induced oxidative stress among Bangladeshi population exposed to high arsenic through drinking water. *The 6th International Congress of Asian Society of Toxicology*, 19 July 2012, Sendai, Japan.

Furusawa, H., Morknøy, D., Chou, PH., Tammatak, T., Sirikanyaporn, S., Jaikanlaya, C., Tantrakarnapa, K., Watanabe, C., and Yamamoto, K. Variation in quality of drinking water utilized by residents nearby Bang Pa-In Industrial Estate in Thailand. *International Water Association World Congress on Water, Climate and Energy 2012*, P835, 13-18 May 2012, Dublin, Ireland.

Morknøy, D., Furusawa, H., Kreeela, N., Watanabe, C., and Yamamoto, K. Health risk assessment of reuse water consumption in Klongjik municipality. *Workshop on Development of Water Reuse Technology and Management*, 27 March 2012, Rayong, Thailand.

Sultana, N., Watanabe, C., Furusawa, H., Umezaki, M., and Inaoka, T. The role of gender in inorganic arsenic induced oxidative stress among Bangladeshi population exposed to high arsenic through drinking water. *International Society for Environmental Epidemiology*, 13-16 September 2011, Barcelona, Spain.

Tasmin, S., Furusawa, H., Inoue, Y., Faruquee, MH., Chou, PH., and Watanabe, C. Delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism in lead exposed Bangladeshi children and its effect on urinary aminolevulinic acid (ALA). *International Society for Environmental Epidemiology*, 13-16 September 2011, Barcelona, Spain.

Furusawa, H., Ihara, Y., Soemantri, AG., and Ishida, T. Effects of consanguineous marriages on offspring survival among Sumbanese in Indonesia. *96th Ecological Society of America Annual Meeting*, PS34-19, 10 August 2011, Austin, Texas, USA.

チュ・ペイシェン, 古澤華, モークノイ・デージー, ジャイカンラヤ・チャート, タントウラカルナパ・クライチャット, 渡辺知保. タイの工業地帯の居住者における飲料水の利用と糖代謝に関わるバイオマーカーとの関連. 第82回日本衛生学会総会, O-101, 2012年3月24-26日, 京都.

古澤華, チュ・ペイシェン, モークノイ・デージー, ジャイカンラヤ・チャート, タントウラカルナパ・クライチャット, 渡辺知保. タイ工業団地周辺住民が自宅で使い分ける水の品質分析. 第82回日本衛生学会総会, P-087, 2012年3月24-26日, 京都.

井原泰雄, 能城沙織, 清水華, 赤松茂, 石田貴文. 顔の類似性と魅力. 第3回日本人間行動進化学会, P-13, 2010年12月4-5日, 神戸.

能城沙織, 井原泰雄, 清水華, 赤松茂,
石田貴文. スンバ人における顔の類似
性に依存した配偶者選択. 第29回日本
動物行動学会, 2010年11月19-21日,
沖縄.

〔図書〕(計 1 件)

古澤華, 渡辺知保. トキシコキネティ
クスとトキシコダイナミクス. 熊谷嘉
人, 姫野誠一郎, 渡辺知保編, 「毒性の
科学 分子・細胞から人間集団まで」,
東京大学出版会, pp8-12, 2014.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 華 (SHIMIZU-FURUSAWA, Hana)
東京大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 80401032

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: