

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：14602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350119

研究課題名(和文) 親世代の葉酸摂取状況が次世代の代謝反応性に及ぼす影響とその分子機構

研究課題名(英文) Effect of maternal folate deficiency on lipid metabolism in the offspring and its molecular mechanism

研究代表者

中田 理恵子 (NAKARA, Rieko)

奈良女子大学・生活環境科学系・准教授

研究者番号：90198119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：葉酸欠乏により新生児の神経管閉鎖障害のリスクが高まることが報告され、妊娠前からの葉酸摂取が推奨されている。一方、胎児期に低栄養であった新生児は、成人期以降の生活習慣病の発症リスクが増加するという報告がある。本研究では、母ラットの葉酸欠乏が出生仔の脂質代謝に及ぼす影響について検討した。母親が葉酸欠乏であった群の仔は、離乳後の成長遅延が認められた。さらに、離乳後から高脂肪食を摂取させると、有意な白色脂肪重量の増加と肝臓トリグリセリドの蓄積が見られた。さらに肝臓の脂肪酸合成関連遺伝子の発現調節に障害が認められた。以上の結果から、母親の葉酸欠乏は出生仔の脂質代謝に悪影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Folate deficiency during pregnancy has been proposed to be associated to increase the risk of neonatal tube defect. It is also reported that maternal malnutrition increases the risk of life-style related diseases in adulthood. We revealed previously that folate deficiency changes the expression of lipid metabolism-related genes, and accumulate triglyceride in liver. In this study, we investigated the effect of maternal folate deficiency on lipid metabolism in the offspring. Maternal folate deficiency suppressed the gain of body weight in the offspring. Moreover, this induced increase of white adipose tissue, accumulation of triglyceride in liver, and impairment in down-regulation of genes related to fatty acid synthesis in the offspring which intake high-fat diet after weaning. These results suggest that maternal folate deficiency affect on lipid metabolism in the offspring.

研究分野：栄養学

キーワード：葉酸 妊娠期 脂質代謝

1. 研究開始当初の背景

葉酸は、ヌクレオチド、アミノ酸、たんぱく質などの生体にとって重要な物質の合成に参与しており、DNA 合成や細胞増殖に必須なビタミンである。その欠乏によって貧血を呈することが古くから知られているが、最近では動脈硬化症、認知症、骨粗しょう症、うつ病、糖尿病などの発症と関係していることが注目されている。また、妊娠中に葉酸が欠乏すると、新生児の神経管閉鎖障害のリスクが高まることが報告され、葉酸は妊娠期の必須のビタミンと認知されている。しかしながら、これらは主に疫学調査を根拠としており、十分な実験的検証がなされているとは言い難い。

一方、若年女性において、誤った体型に関する認識からの過度のやせ志向が問題視され、母性を担う時期の女性や出生児の健康への影響が懸念されている。妊娠前にやせ (BMI<18.5) であった女性は、低出生体重児を出産する割合が高く、日本ではその頻度が年々高くなる傾向にあるといわれている。低出生体重児は、成長期の急激な発育によって正常児に追いつくものの、成人期以降に生活習慣病を発症するリスクが高くなるという報告がある。これは、低出生体重児のように母体の低栄養等によって子宮内発育遅延が生じると、この栄養環境が何らかの形で胎児にプログラミングされて、代謝の反応性に变化が生じ、その後の生活習慣病などの代謝関連疾患の罹患性に影響を与えるという考え方に基づいている (Barker 説 (Am. J. Clin. Nutr. 2000))。このプログラミングの仕組みとして、“エピジェネティクス”の関与が近年注目されている。“エピジェネティクス”とは、遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子発現制御のことであり、遺伝的要因だけでは説明できない生命現象の多様性や可塑性を説明するキーワードになっている。すなわち、胎児期に曝された栄養環境により代謝関連遺伝子のエピジェネティクス制御が個体ごとに調節され、それが維持されることで遺伝子発現量に個体差が生じ、成人期の肥満や生活習慣病などの罹患性に影響を与えると考えられる。

エピジェネティクスによる遺伝子発現制御を担う分子機構の 1 つに、DNA メチル化がある。これは、ゲノム DNA のシトシン塩基に、S-アデノシルメチオニン (SAM) のメチル基が転移されて修飾を受け、遺伝子の発現を調節する機構である。SAM は、生体内で唯一のメチル基供与体であるが、SAM の合成には、葉酸、ビタミン B₁₂、メチオニン、コリンといった食事由来の栄養素が必須であ

る。中でも葉酸は、体内の SAM 量を決める最も重要な栄養素である。申請者は、長く葉酸の生体内機能を明らかにする研究を研究しているが、葉酸欠乏食を摂取したラットでは、著しく SAM 量が減少していることを明らかにしている。以上より、妊娠前から葉酸摂取が不足すると SAM 量の減少し、それが胎児の DNA メチル化に影響を与え、その後それが維持されることで代謝関連遺伝子発現に何らかの変化が生じ、出生児の代謝の反応性に影響を与える可能性が考えられる。そこで、妊娠前からの親世代の葉酸摂取量の違いが、新生児期だけでなくその児の生涯にわたる健康状態に及ぼす影響とその分子作用機構を、「葉酸とエピジェネティクス制御」という視点から明らかにする必要があると考えた。

2. 研究の目的

私たちは、葉酸の生体内機能を評価するための研究を長く継続している。その中でこれまでに、DNA 合成が活発に行われる妊娠期・授乳期に、母体が摂取する葉酸が減少することに伴って、出生仔の発育不全を引き起こし、骨髄、肝臓、脾臓での細胞死を誘導することを、実験動物を用いて明らかにしている。しかしこの研究では、実験期間を離乳期までに限定しており、出生仔のその後の追跡は検討していない。

一方で、私たちは葉酸欠乏によって肝臓中のトリグリセリドが増加することや、脂質代謝に関連する遺伝子群が発現変動することを明らかにし、葉酸欠乏が脂質代謝に影響を与える可能性を見出している。

そこで本研究では、母体が摂取する葉酸の減少、すなわち胎児期・新生児期にさらされる葉酸欠乏が、出生後の成長のみならずその後の代謝反応性にどのような影響を与えるのか、そして肥満や生活習慣病などの代謝性疾患の罹患感受性に影響を与えるのか、特に脂質代謝の変化に注目して明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

Wistar 系雌性ラット (5 週齢) を 2 群に分け、コントロール食 (葉酸 4 mg / 飼料 1 kg) または葉酸欠乏食 (葉酸 0.08 mg / 飼料 1 kg) を、4 週間自由摂取させた。4 週間後に、雄性ラット (Wistar 系 9 週齢) と交配し、スメア法により妊娠を確認した。各群の母ラットは、妊娠期、授乳期を通して同じ餌を与えた。各群の出生仔は、3 週齢で離乳させ、雄性仔のみを選抜してコントロール食群 (葉酸 4 mg / 飼料 1 kg) と高脂肪食群 (葉酸 4

mg / 飼料 1 kg) のさらに 2 群に分けた。この 4 群を 8 週間飼育し、11 週齢にて解剖し、血液、肝臓、脂肪組織などを採取して解析を行った。

4. 研究成果

1) 胎児期～授乳期における葉酸欠乏が仔の成長に及ぼす影響

葉酸欠乏食群 (FD 群) では、妊娠が成立した雌ラットのうち約 50% が妊娠を維持することができず、出産に至らなかった。授乳期間中の仔の生存率を比較すると、FD 群では出生後 1 週間までに仔の半数以上が死亡し、葉酸欠乏の影響が大きく見られたが 1 週目以降では生存率に 2 群間の差は認められなかった。授乳期間の出生仔の体重変化を比較すると、妊娠が維持され出生した FD 群の仔は、授乳期 2 週目以降の体重増加がコントロール食群 (C 群) よりも少なく、成長遅延が認められた。以上より、妊娠および授乳期の葉酸欠乏は、妊娠の維持や出生仔の成長に影響を与えると考えられた。

離乳後に、FD 群および C 群の雄性仔ラットをさらに 2 群にわけ、C 食または高脂肪 (HF) 食を 8 週間与え、体重変化を観察した。FD 群の仔は C 食群と HF 食群のどちらにおいても、同じ餌を給餌された C 群の仔に対し、有意に低い状態で推移し、胎児期および授乳期の母ラットの葉酸欠乏の影響が、離乳後も継続している可能性が考えられた。

2) 胎児期～授乳期の葉酸欠乏が仔の脂質代謝に及ぼす影響

授乳終了後、母ラットを解剖し、肝臓の葉酸量を測定したところ、確かに FD 群で有意に減少していた。さらに、肝臓の S-アデノシルメチオニン (SAM) 量は、FD 群で有意に減少していた。

さらに、離乳後 8 週間、各実験食を摂取した仔ラットを解剖し、解析を行った。肝臓の葉酸量および SAM 量は、4 群間に差はなく、胎児期および授乳期に葉酸欠乏であっても、離乳後に葉酸を十分摂取していれば、仔ラットの葉酸量や SAM 合成量には影響がないことと考えられた。

各群の仔ラットの組織重量 (体重 100g あたり) を比較したところ、母親が葉酸欠乏であった群 (FD 群) では、HF 食を摂取した場合、C 食摂取に比べて、腹腔内白色脂肪組織重量が有意に増加していた。一方、母親が十分に葉酸を摂取していた群 (C 群) では、HF 食を摂取しても腹腔内脂肪重量の増加は認められなかった。腎周囲白色脂肪においても同様に、FD 群の仔ラットにおいて HF 食負荷による重量の増加が見られた。体重 100g あ

たりの肝臓重量には 4 群間で差は認められなかったが、肝臓 1g あたりのトリグリセリド (TG) 量を比較すると、FD 群では HF 食を摂取させることによって TG 量が有意に増加し、これは C 群の仔ラットに HF 食を負荷した場合よりも有意に高かった。

そこで、仔の肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現を解析した。脂肪酸の酸化に関わるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 (CPT1) では、高脂肪食を摂取した群で発現が増加傾向を示したが、母親の葉酸欠乏の影響は認められなかった、ミトコンドリアへの脂肪酸の取り込みに関与する脂肪酸輸送タンパク質 (FATP) は、母親が葉酸欠乏であると、離乳後普通食を摂取しているにも関わらず、高脂肪食を摂取している場合と同様に発現が上昇していた。脂肪酸合成の律速酵素であるアセチル CoA カルボキシルラーゼ (ACC) は、母親が十分に葉酸を摂取していた場合、離乳後に高脂肪食を摂取することによって発現が減少した。高脂肪食摂取に対応し、脂肪酸合成を抑制するために発現が低下したと考えられた。一方、母親が葉酸欠乏であった場合は、離乳後に高脂肪食を摂取しても発現は減少しなかった。さらに、脂肪酸合成酵素 (FAS) では、母親が葉酸欠乏であった場合、離乳後に普通食、高脂肪食のいずれを摂取しても、母親が十分に葉酸を摂取していた群に比べて発現が上昇傾向であった。以上の結果から、母親の葉酸欠乏によって肝臓の脂肪酸合成に関わる遺伝子発現が変動し、肝臓に脂肪蓄積が亢進したのではないかと考えられた。これらの遺伝子の発現変動における DNA メチル化の関与と母ラットの肝臓 SAM 量の減少の関係を明らかにするため、解析を進めている。

以上のように、母ラットの葉酸欠乏は、仔の成長遅延だけでなく、高脂肪負荷により白色脂肪組織重量の増加と肝臓への脂肪蓄積を引き起こすことが明らかとなった。これらの結果から、授乳期までの葉酸欠乏が、仔の将来の脂質代謝に影響を与える可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

中田理恵子、川端めぐみ、山岸郁乃、本郷翔子、井上裕康

「母ラットの葉酸欠乏が出生仔に及ぼす影響」日本ビタミン学会第 67 回大会、2015 年 6 月 5 日、奈良春日野国際フォーラム (奈良県)

Rieko Nakata, Megumi Kawabata,
Hiroyasu Inoue

「Effects of lipid metabolism by folate-deficiency in rats」12th Asian Congress of Nutrition, May 17 2015, Pacifico Yokohama (Kanagawa)

中田理恵子、松元茜、川端めぐみ、井上裕康

「葉酸欠乏によって誘導される肝細胞蓄積とコリンの影響」第 87 回日本生化学会、2014 年 10 月 16 日、京都国際会議場（京都府）

中田理恵子、松本茜、川端めぐみ、井上裕康

「葉酸・コリン欠乏による肝脂肪蓄積の誘導」日本ビタミン学会第 66 回大会、2014 年 6 月 13 日、姫路商工会議所（兵庫県）

中田理恵子、川端めぐみ、井上裕康

「葉酸欠乏による脂質代謝変動とコリンの影響」日本家政学会第 66 回大会、2014 年 5 月 24 日、北九州国際会議場（福岡県）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中田 理恵子 (NAKATA Rieko)
奈良女子大学・生活環境科学系・准教授
研究者番号：90198119

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし