

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H04134

研究課題名（和文）組織幹細胞に着目したフルクトース過剰摂取の次世代への影響：DOHaD説の検証

研究課題名（英文）Effects of Excessive Fructose Consumption on the Next Generation: Investigating Tissue Stem Cells and the DOHaD Hypothesis

研究代表者

山田 宏哉 (Yamada, Hiroya)

藤田医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80610352

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：健康や疾患の素因は胎児期における栄養状態によって形成される」という新しい概念であるDOHaD (Developmental Origin of Health & Disease) 説が提唱され、胎生環境が世代を超え、その子どもの将来にも大きく影響することが注目されている。我々は、誰しもが日常的に摂取する天然甘味料であるフルクトースに着目してDOHaD研究を進めてきた。本研究は幹細胞に焦点を当てた全く新しいアプローチにより、フルクトースの次世代への悪影響を解き明かした。これまで見過ごされてきた組織幹細胞の性質および分化異常という本研究知見を考慮することで、DOHaD説の理解は大きく進むと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のフルクトースの爆発的な消費量増加や疫学的な研究を鑑みると、次世代へ負の影響が強く示唆されている。しかしながら、メカニズムに関しては全く不明であるため、社会に警鐘を鳴らすには至っていない。本研究はこれまで制限の無かった妊婦のフルクトース摂取に関して一石を投じることが期待される。本研究で得られた知見により、疾患形成のメカニズムを理解することができる。疾患リスクの形成を阻止する予防医学につながるばかりでなく、肥満や生活習慣病に耐性を持つ体質獲得につながるため新たな方法の開発につながる。

研究成果の概要（英文）：The DOHaD (Developmental Origin of Health & Disease) hypothesis, a novel concept, proposes that the predisposition to health or disease is shaped by the nutritional status during the fetal period. This hypothesis has garnered significant attention, emphasizing that the fetal environment can have profound effects across generations, influencing the future health of the offspring.

Our research has focused on fructose, a natural sweetener commonly consumed in everyday life, within the context of DOHaD studies. This study employs an entirely new approach by concentrating on stem cells to elucidate the adverse effects of fructose on the next generation. By considering our findings on the previously overlooked properties and differentiation abnormalities of tissue stem cells, we anticipate substantial advancements in the understanding of the DOHaD hypothesis.

研究分野：予防医学

キーワード：DOHaD 幹細胞 エピゲノム 前駆細胞 Stem cell DNAメチル化 フルクトース

1. 研究開始当初の背景

「胎児期の栄養環境は、児の発生発達過程に影響を及ぼし、生後数年から数十年経過した後の健康を左右する要因となる」ことが疫学研究によって示され、Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD)という概念が生まれた。DOHaD 説が示すように、胎児期の栄養環境が生活習慣病をはじめとする様々な疾患のリスク要因となることがこれまでに示唆されている。しかし、その分子メカニズムは未だ不明な点が多く、解明が望まれている。

我々は、誰もが日常的に摂取する天然甘味料であるフルクトース(果糖やコーンシロップ)に着目して研究を進めている。フルクトースの消費量はここ数十年で10倍以上に増加しており、様々な疾患の原因になることが知られている。フルクトースの大量消費社会に伴い、妊婦の消費量も増えている。しかし、母体を介したフルクトース摂取が子どもの発達に与える影響は不明であり、科学的な実証が求められている。申請者らは独自の DOHaD 動物モデルを用いて、母体を介したフルクトース暴露の影響を示してきた。母体を介した過剰なフルクトースは仔の中枢神経系(特に、海馬)と肝組織に影響をあたえることを明らかにした。さらに、フルクトース過剰摂取の母ラットから生まれた仔は成長するに従って、インスリン抵抗性などの代謝異常や認知機能低下などの悪影響を及ぼすことを明らかにしている。しかしながらメカニズムは不明である。現在、申請者は『DOHaD 説は幹細胞のエピゲノム異常により生じる』という仮説を提案している。

2. 研究の目的

申請者らは、DOHaD 説に基づき、フルクトース過剰摂取が次世代の認知機能低下や代謝異常の発症を惹起することを明らかにしている。しかしながら、従来の理論では説明ができないため、発症メカニズムの解明には至っていない。本研究は、我々が提案している『DOHaD 説は幹細胞の異常により生じる』という仮説をもとに、組織幹細胞に着目したアプローチにより『フルクトース過剰摂取の次世代への影響』を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

フルクトース過剰摂取の DOHaD モデル動物を作成し、組織幹細胞の解析を行う。フルクトースを摂取した母獣から産まれた仔は、生後120日までに異常が認められる。そのため胎児期から発症時までの仔を継時的に解析対象とする。母獣フルクトース摂取により異常幹細胞が発生することを明らかにする。また幹細胞を分化誘導し、生じた分化細胞に機能異常があることを示す。そして、疾患発症前から異常幹細胞が既に組織中に存在することも証明する。この実験を通じ仔の疾患発症の原因が異常組織幹細胞であることを証明する。

具体的には分化・増殖能をはじめとした幹細胞性の基本的性質を評価する。また遺伝子発現やエピゲノム異常を調べる。これらの評価により組織中の異常な幹細胞の存在を証明する。

4. 研究成果

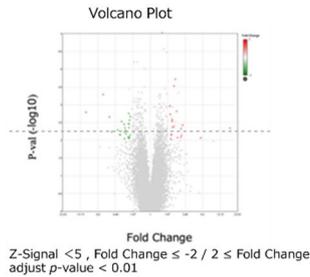
母獣は妊娠授乳期に蒸留水または 20% HFCS 水を摂取させ、離乳後の雄仔をそれぞれ Control 群、HFCS 群とした。離乳仔はすべて蒸留水を摂取させ、21 日及び 60 日齢でコラゲナーゼ灌流法にて肝前駆細胞を単離培養した。培養した肝前駆細胞はマイクロ

アレイ等により遺伝子発現解析、パイロシーケンス法にて DNA メチル化率を測定した。マイクロアレイ解析より、21 日齢の HFCS 群で Control 群と比べて 26 遺伝子の発現変動を認めた。それらの遺伝子の一部をリアルタイム PCR で解析したところ、肝臓における異物代謝や肝再生に関与する遺伝子の発現が変動していた。これら遺伝子の DNA メチル化率を測定したところ、HFCS 群で変化を認めた ($p < 0.05$)。

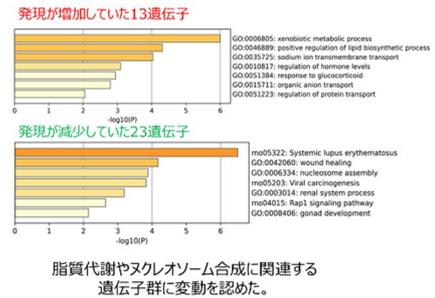
60 日齢の肝前駆細胞についても解析したところ、21 日齢と同様の变化を認める遺伝子が存在していた。

21日齢 肝前駆細胞の遺伝子解析

(1) マイクロアレイ解析

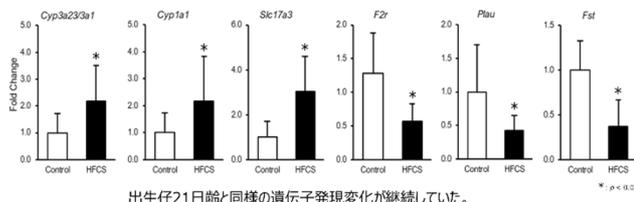


(2) GO解析

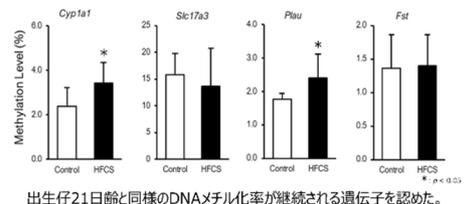


60日齢 肝前駆細胞の遺伝子解析

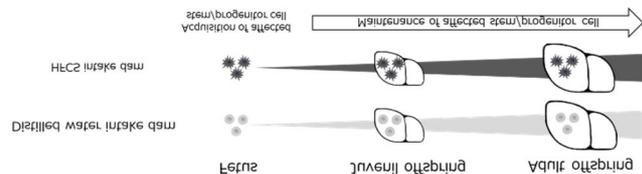
(1) リアルタイムPCR



(2) DNAメチル化率



胎生期に HFCS の曝露を受けた肝前駆細胞の遺伝子発現の変化が確認できた。エピゲノムなどの性質が変化した肝前駆細胞から形成された肝組織においても性質が異なる機能や代謝を示す可能性が示唆される。また、肝前駆細胞において発現及び DNA メチル化の変化が出生後 21 日齢と 60 日齢で同様である遺伝子が存在していた。胎生期に受けた影響が出生後も継続して肝前駆細胞にプログラミングされていることが示唆される。妊娠授乳期の HFCS 過剰摂取は仔の肝前駆細胞の遺伝子発現及び DNA メチル化に影響を及ぼし、成熟後までこの影響が継続することが示唆された。DOHaD 現象は『組織幹細胞』に着目することで理解できる。これまで見過ごされてきた組織幹細胞の性質および分化異常というパラメータを考慮することで、DOHaD 説の理解は大きく進むと期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mizuno G, Yamada H, Munetsuna E, Ando Y, Teshigawara A, Ito M, Kageyama I, Nouchi Y, Wakasugi T, Sakakibara T, Yamazaki M, Ishikawa H, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 110
2. 論文標題 High-fructose corn syrup intake increases hepatic mitochondrial DNA copy number and methylation in adolescent rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutr Res.	6. 最初と最後の頁 57-65
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nutres.2022.12.010.	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 Nouchi Y, Munetsuna E, Yamada H, Yamazaki M, Ando Y, Mizuno G, Fujii R, Kageyama I, Wakasugi T, Sakakibara T, Teshigawara A, Ishikawa H, Shimono Y, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 130
2. 論文標題 Effects of High-Fructose Corn Syrup Intake on Glucocorticoid Metabolism in Rats During Childhood, Adolescence and Adulthood	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Clin Endocrinol Diabetes.	6. 最初と最後の頁 814-820
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1055/a-1936-3310.	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 Kageyama I, Yamada H, Munetsuna E, Yamazaki M, Ando Y, Mizuno G, Fujii R, Nouchi Y, Wakasugi T, Sakakibara T, Teshigawara A, Ishikawa H, Shimono Y, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 17
2. 論文標題 Differential effects of excess high-fructose corn syrup on the DNA methylation of hippocampal neurotrophic factor in childhood and adolescence	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0270144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0270144.	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 Mizuno G, Yamada H, Munetsuna E, Ando Y, Teshigawara A, Ito M, Kageyama I, Nouchi Y, Wakasugi T, Sakakibara T, Yamazaki M, Fujii R, Ishikawa H, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 301
2. 論文標題 High-fructose corn syrup intake has stronger effects on the transcription level of hepatic lipid metabolism-related genes, via DNA methylation modification, in childhood and adolescence than in other generations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life Sci.	6. 最初と最後の頁 120638
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2022.120638.	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 Y, Yamada H, Munetsuna E, Yamazaki M, Kageyama I, Teshigawara A, Nouchi Y, Fujii R, Mizuno G, Sadamoto N, Ishikawa H, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 103
2. 論文標題 Maternal high-fructose corn syrup consumption causes insulin resistance and hyperlipidemia in offspring via DNA methylation of the Ppar promoter region.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Nutr Biochem.	6. 最初と最後の頁 108951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2022.108951.	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 Munetsuna E, Yamada H, Yamazaki M, Ando Y, Mizuno G, Hattori Y, Kageyama I, Teshigawara A, Nouchi Y, Ishikawa H, Fujii R, Ohta Y, Suzuki K, Shimono Y, Ohashi K, Hashimoto S.	4. 巻 35
2. 論文標題 Maternal fructose intake predisposes rat offspring to metabolic disorders via abnormal hepatic programming	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 e22030.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202101276R.	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 Mizuno G, Munetsuna E, Yamada H, Yamazaki M, Ando Y, Hattori Y, Kageyama I, Teshigawara A, Nouchi Y, Fujii R, Ishikawa H, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K, Shimono Y.	4. 巻 92
2. 論文標題 Maternal fructose consumption downregulates hippocampal catalase expression via DNA methylation in rat offspring	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutr Res.	6. 最初と最後の頁 40-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nutres.2021.06.002.	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 Ando Y, Yamada H, Munetsuna E, Yamazaki M, Kageyama I, Teshigawara A, Nouchi Y, Fujii R, Mizuno G, Sadamoto N, Ishikawa H, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K.	4. 巻 103
2. 論文標題 Maternal high-fructose corn syrup consumption causes insulin resistance and hyperlipidemia in offspring via DNA methylation of the Ppar promoter region	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Nutr Biochem.	6. 最初と最後の頁 108951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2022.108951.	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 Yamazaki M, Munetsuna E, Yamada H, Ando Y, Mizuno G, Fujii R, Nouchi Y, Kageyama I, Teshigawara A, Ishikawa H, Suzuki K, Shimono Y, Hashimoto S, Ohashi K	4. 巻 82
2. 論文標題 Maternal fructose consumption down-regulates Lxra expression via miR-206-mediated regulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Nutr Biochem .	6. 最初と最後の頁 108386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2020.108386	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 Ando Y, Munetsuna E, Yamada H, Ikeya M, Teshigawara A, Kageyama I, Nouchi Y, Wakasugi T, Yamazaki M, Mizuno G, Tsuboi Y, Ishikawa H, Ohgami N, Suzuki K, Ohashi K.	4. 巻 336
2. 論文標題 Impact of maternal fructose intake on liver stem/progenitor cells in offspring: Insights into developmental origins of health and disease	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Life Sci.	6. 最初と最後の頁 122315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2023.122315.	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 市川 勇斗、山田 宏哉、宗網 栄二、安藤 嘉崇、景山 斎、野内 佑起、池谷 美幸、波田 薫平、山崎 未来、水野 元貴、石川 浩章、鈴木 康司、大橋 鉦二
2. 発表標題 フルクトース過剰摂取モデルラットの肝オルガノイド作成と評価
3. 学会等名 第93回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤愛佳、山田 宏哉、宗網 栄二、安藤 嘉崇、若杉 拓哉、景山 斎、大城 雅貴、波田 薫平、山崎 未来、水野 元貴、石川 浩章、鈴木 康司、大橋 鉦二
2. 発表標題 妊娠前のメチル水銀が次世代の中枢神経系に与える影響
3. 学会等名 第93回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 景山 齋、山田 宏哉、宗網 栄二、大城 雅貴、若杉 拓哉、伊藤 愛佳、野内 佑起、安藤 嘉崇、山崎 未来、水野 元貴、石川 浩章、鈴木 康司、大橋 鉦二
2. 発表標題 妊娠期のフルクトース過剰摂取が胎仔の海馬神経幹細胞に及ぼす影響
3. 学会等名 第9回日本D0HaD学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池谷 美幸、山田 宏哉、宗網 栄二、勅使川原 篤志、安藤 嘉崇、景山 齋、野内 佑起、市川 勇斗、山崎 未来、水野 元貴、石川 浩章、鈴木 康司、大橋 鉦二
2. 発表標題 妊娠授乳期のHigh Fructose Corn Syrup過剰摂取が次世代の肝前駆細胞に及ぼす影響
3. 学会等名 第9回日本D0HaD学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 景山 齋、宗網栄二、山田宏哉、山崎未来、安藤嘉崇、水野元貴、野内佑起、勅使川原篤志、若杉拓哉、榊原知秀、石川浩章、鈴木康司、大橋鉦二。
2. 発表標題 成長期および成人期のフルクトース過剰摂取が海馬神経栄養因子の発現に及ぼす影響。
3. 学会等名 第94回日本生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 若杉拓哉、宗網栄二、山田宏哉、山崎未来、安藤嘉崇、水野元貴、景山 齋、野内佑起、勅使川原篤志、榊原知秀、石川浩章、大橋鉦二。
2. 発表標題 濃度メチル水銀がラット胎仔神経幹細胞の分化能に及ぼす影響。
3. 学会等名 第94回日本生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野内佑起, 宗網栄二, 山田宏哉, 安藤嘉崇, 山崎未来, 水野元貴, 景山 斎, 勅使川原篤志, 榊原知秀, 若杉拓哉, 石川浩章, 鈴木康司, 大橋鉦二.
2. 発表標題 妊娠・授乳期のHFCS過剰摂取が次世代のコルチコステロンの分解経路に及ぼす影響の解析.
3. 学会等名 第10回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水野元貴, 山田宏哉, 宗網栄二, 山崎未来, 安藤嘉崇, 藤井 亮輔, 坪井良樹, 石川浩章, 大橋鉦二, 鈴木康司.
2. 発表標題 末梢血におけるHypoxia inducible factor 3A 遺伝子の DNA メチル化率と 脂質異常症 との関連.
3. 学会等名 第68回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2021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
研究 分担 者	宗網 栄二 (Munetsuna Eiji) (30600431)	麻布大学・獣医学部・准教授 (33916)	

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