

令和元年6月11日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H05647

研究課題名(和文)代謝シグナルの流れにより変化するエピゲノムと生活習慣病の関連性の解明

研究課題名(英文)Effect of interaction between metabolic flux and epigenetic modification on metabolic disease

研究代表者

上番増 喬 (UEBANSO, Takashi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任助教

研究者番号：10581829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 17,900,000円

研究成果の概要(和文)：代謝シグナルの流れにより変化するエピゲノムと生活習慣病の関連に着目し、腸管内から供給される代謝産物が次世代のエピゲノム修飾に及ぼす影響を解析した結果、腸内細菌叢の破綻は、メチル基の供与反応に重要な代謝産物であるS-Adenosylmethionine やメチオニン等の代謝において腸管内と宿主内の代謝かい離を引き起こすことを見出した。また、膵細胞のグルコース応答性インスリン分泌や腸管上皮細胞の機能調節においてケトン体代謝が重要な役割を有しており、その代謝の流れの変化が細胞や組織の機能異常へ繋がる事が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国の低出生体重児(出生体重2500g未満)の出生割合はこの35年で約2倍に増加し、2016年には全体の10.6%とOECD加盟国で最多となっている。この背景には、女性(20歳から39歳)の20%がBMI18.5以下のやせであるという現状が存在し、成人女性の栄養不良が指摘されている。エネルギー摂取不足はグルコースの代替エネルギー源であるケトン体の産生増加を促す。また、エピジェネティックな変化は世代を超えて受け継がれる。そのため、ケトン体の代謝制御機構と細胞機能・生体代謝の関連およびエピジェネティックな変化を明らかにすることは、現行世代に加え、次世代の健康管理にとって重要である。

研究成果の概要(英文)： In the present study, we focused on the "Effect of interaction between metabolic flux and epigenetic modification on metabolic disease". In the line of results suggests that metabolic flow from gut microbiota may affect host one-carbon metabolism which is one of the main sources of methyl donor for the epigenetic regulation. In another line of evidence showed that ketone body metabolism (flux) regulates glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic beta-cell line and functional regulation of intestinal epithelial cells.

研究分野：栄養学

キーワード：栄養学 ケトン体 エピゲノム

1. 研究開始当初の背景

胎生期の栄養状態とエピゲノム変化の関連性における重要な発見は、成人病胎児期発症説に代表される、胎生期の栄養環境が、成人期以降の疾病発症に影響を及ぼすことの発見である。すなわち、胎生期に低栄養状態に曝されることにより何らかのエピゲノム変化を生じ、加えて出生後にマイナスの環境要因が負荷されることで、後天的に糖尿病などの生活習慣病の発症リスクを増大させる。しかしながら、その分子基盤は不明である。

エピゲノム修飾の変化による遺伝子発現制御機構は、細胞の機能制御だけでなく、分化・増殖や癌化などに必須の過程である。エピゲノム修飾の調節には、ATP やアセチル CoA など様々な低分子代謝産物が密接に関連している。細胞の栄養状態は低分子代謝産物の変動を介してエピゲノム修飾を変化させる。エピゲノム修飾の変化は転写される遺伝子の特異的に制御し、合成されるタンパク質量とその機能を調節することで結果的に細胞の機能を統御する。

本研究では、まず細胞内における代謝の流れとして、低エネルギー状態で合成量が増加するケトン体に着目した。ケトン体が代謝される方向を変化させるため、ケトン体代謝酵素を RNA 干渉によりロックダウンし、ヒストン3のメチル化修飾を測定した結果、ケトン体代謝の方向性によって、ヒストンのメチル化が制御されることがわかった。この変化は、時間により振動し増減することから、ケトン体の代謝される経路と、代謝する細胞側の日内変動のような時間依存的に変化する状態の相互作用により、ヒストン修飾の変化やそれに伴う遺伝子の発現変動、細胞の状態の変化に關与することが考えられた。

次に、生体で生じる代謝の流れの変化として腸内細菌叢に着目した。腸内細菌叢は、摂取した栄養成分に応じて代謝を変動させ、その結果産生された代謝産物が宿主へ供給される。

しかしながら、細胞内のミクロな代謝、および生体を通したマクロな代謝の流れがエピゲノム修飾の変化を含む細胞機能および生活習慣病へ及ぼす影響は不明である。

2. 研究の目的

生活習慣病の成立・進展には、遺伝因子と環境因子が複雑に影響し合っている。近年では、特に栄養状態を含めた環境の総体として、遺伝因子の様に「後に受け継がれる形」で表現系を決定する**エピゲノム修飾**が注目されている。エピゲノム修飾は、糖尿病をはじめとする生活習慣病の発症リスクを規定すると考えられる。しかしながら、どのような環境要因や栄養状態がどのような形でエピゲノム修飾を変化させ得るかは明らかでない。

ケトン体は、飢餓や長期間の絶食により、細胞内グルコースが枯渇した場合に、肝臓で合成され、脳や神経細胞等で代替エネルギーとして利用される代謝産物である。さらに近年の解析により、ケトン体はヒストン修飾や細胞分化調節作用を有すること、G タンパク共役受容体を介して細胞内シグナルを調節することなど多様な機能が明らかとなってきた。ケトン体は、飢餓時や低栄養状態で産生が増加することから、エネルギー枯渇シグナルとして、全身代謝を制御する因子である可能性がある。

近年、腸内細菌叢が様々な代謝産物の産生を介して宿主に影響を及ぼすことが想定されてきている。しかしながら、腸内細菌叢と宿主代謝調節機構およびエピゲノム修飾に及ぼす影響は不明である。

本研究では、細胞内のミクロな代謝、および生体を通したマクロな代謝の流れがエピゲノム修飾の変化を含む細胞機能および生活習慣病へ及ぼす影響を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、ケトン体代謝により制御されるエピゲノム修飾と代謝疾患との関わりを明らかにするために、まず *in vivo* モデルとして、*agouti viable yellow* マウスおよびケトン体代謝酵素遺伝子欠損マウスを用いて、生体内で *ketone body flux* が正常に働かない動物におけるエピゲノム修飾の変化と、糖尿病に關与する表現型との関連を検討した。また、腸内細菌叢からの代謝産物供給を変化させるために、抗菌薬を投与し、腸管内および血中の代謝産物濃度を網

羅的に解析した。抗菌薬には、メトロニダゾール、アンピシリン、ネオマイシン、バンコマイシンを用いた。代謝産物の網羅的解析には、キャピラリー電気泳動質量分析を用いた。抗菌薬投与モデルを用いて、腸管からの代謝産物の流れの変化が、宿主の遺伝子のメチル化に伴う毛色の変化に及ぼす影響を検討した。次に、*in vitro*のモデル解析系として、腸管上皮細胞株および脾臓細胞株を用いて、局所細胞におけるケトン体代謝の流れを制御する機構を検討した。ケトン体代謝の流れを制御する因子として異なる細胞小器官で働く beta-hydroxybutyrate dehydrogenase 1と2、ケトン体の細胞内・外での輸送に関する monocarboxylate transporters の発現を変動させ、代謝の流れとエピゲノム修飾、および細胞機能への影響を検討した。

4. 研究成果

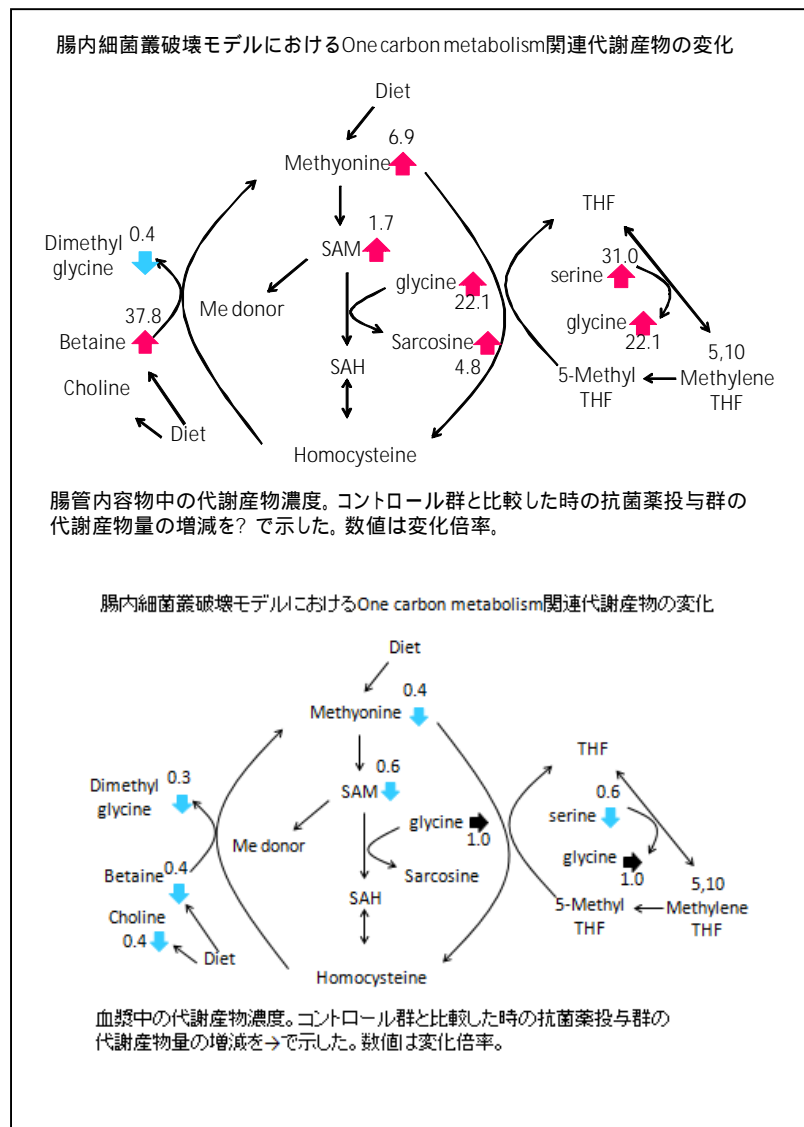
Agouti viable yellow マウスに抗菌薬を投与し、腸内細菌叢を破綻させたマウスを用いて、腸管内の代謝産物を測定した結果、メチル基の供与反応に重要な代謝産物である S-Adenosylmethionine やメチオニンの増加が見られた(図)。

一方で、血中の S-adenosylmethionine やメチオニンの濃度は反対に抗菌薬群で有意に低下しており、腸管内と血漿中の代謝産物の流れをかい離させた。これらのことは腸内環境の破綻は、腸管内と宿主内の代謝産物の流れをかい離させることで、代謝恒常性を破綻させている可能性を示唆している。今後、抗菌薬投与マウスから産まれた Agouti viable yellow マウスの毛色や、特異的な遺伝子のメチル化の程度を詳細に検討し、腸内細菌叢の代謝が、宿主へのメチル基の供給およびエピゲノム変化に及ぼす影響を明らかにしていく予定である。

Agouti viable yellow マウスをケトン体遺伝子欠損マウスと交配し、ケトン体代謝の異常がエピジェネティックな変化に及ぼす影響を検討するために交配

による系統の樹立を行ったが、解析に十分な個体が得られていないため、今後継続して検討する予定である。

脾臓細胞株を用いて、ケトン体代謝の流れに影響を及ぼす因子を検討した結果、核に局在するケトン体輸送担体を見出した。この輸送担体の遺伝子をノックダウンすると、ケトン体により誘発されるインスリン分泌が抑制されるだけでなく、グルコースによるインスリン分泌も抑制されることから、本輸送担体が糖代謝に重要な因子であることが伺える。さらに、この輸送担体をノックダウンした細胞ではヒストン3のメチル化度合いが対照群と比較して変化してお



り、膵細胞のエピゲノム修飾と細胞機能を制御する因子としてケトン体の輸送担体が重要であることが示唆された。

腸管上皮細胞は、外来生物から宿主を守るバリア機構として働く。この機構の破綻は、外来生物の生体内への侵入を許し、様々な組織における炎症を惹起する。組織炎症はインスリン抵抗性を招くため、糖尿病発症をきたすリスク因子として重要視されている。腸管上皮細胞におけるケトン体代謝は腸管上皮細胞の分化や増殖を正に制御するため、その機構の異常は腸管バリア機構の破綻に繋がらう。そこで、腸管上皮細胞におけるケトン体代謝調節機構を検討した。その結果、腸管上皮細胞において、ケトン体合成の律速酵素が充分量発現し、ケトン体が合成されていることが明らかとなった。ケトン体合成の律速酵素のノックダウンでケトン体合成が低下すること、ケトン体合成能をもたない HEK293 細胞にケトン体合成の律速酵素を過剰発現させてもケトン体合成はおこらないことから、腸管上皮細胞において、ケトン体合成経路が機能的に存在し、肝臓などと同様にケトン体合成の律速酵素によりケトン体合成量が調節されている事が明らかとなった。ケトン体合成に用いる基質が何なのかについては今後の検討課題である。またその腸管上皮細胞におけるケトン体濃度調節は細胞内外のケトン体輸送の制御により調節されている事が明らかとなった。細胞の分化・増殖にはエピジェネティックな調節が関与するため、この機構を詳細に理解することで、ケトン体代謝とエピゲノム修飾および生体バリア維持機構の関係を明らかにすることができると考えている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Yumoto H, Uebanso T, Shimohata T, Takahashi A.
"Current Understanding of the Gut Microflora in Subjects with Nutrition-Associated Metabolic Disorder Such as Obesity and/or Diabetes: Is There Any Relevance with Oral Microflora?"
Current Oral Health Reports 2019, 6, pp 100–109 査読有り
2. Yoshimoto A, Uebanso T, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A.
Effect of prenatal administration of low dose antibiotics on gut microbiota and body fat composition of newborn mice.
J Clin Biochem Nutr, 2018, 62(2): 155-160, doi: 10.3164/jcbn.17-53 査読有り
3. Uebanso T, Kano S, Yoshimoto A, Naito C, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A.
Effects of Consuming Xylitol on Gut Microbiota and Lipid Metabolism in Mice
Nutrients, 2017, E756, doi: 10.3390/nu9070756. 査読有り
4. Uebanso T, Ohnishi A, Kitayama R, Yoshimoto A, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A.
Effects of Low-Dose Non-Caloric Sweetener Consumption on Gut Microbiota in Mice
Nutrients, 2017, E560, doi: 10.3390/nu9060560. 査読有り

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 上番増喬、吉本亜由美、相澤心太、下畑隆明、馬渡一諭、高橋章
水溶性ビタミンと腸内環境
2017 年 日本栄養改善学会総会
2. 吉本亜由美、上番増喬、下畑隆明、馬渡一諭、高橋章
ビタミンの栄養状態を評価する試み
2017 年 第 254 回 徳島医学会

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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、研究者個人に帰属されます。