

令和元年6月20日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00898

研究課題名(和文)胎児期栄養環境がエピゲノム制御に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Research for the effects of fetal nutritional environment on epigenetic regulation

研究代表者

河合 智子 (Tomoko, Kawai)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・周産期病態研究部・室長

研究者番号：40423404

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)：妊娠中の体重増加量は栄養摂取状況の指標となり、体重増加が少ない妊婦では、マクロ、マイクロ栄養素共に不足していることが多い。子宮内栄養環境の一つの指標として妊娠中の体重増加量に注目し、その影響を分子レベルでエピゲノムの点から解明することを目的とした。解析の結果、出生体重は標準であっても、出生時臍帯血細胞のエピゲノムには、体重増加量と関連して変化するDNAメチル化修飾量が認められた。DNAメチル化修飾は細胞が分裂しても維持されることより、妊娠中の体重増加量は、新生児の細胞内のゲノムの特定の領域でDNAメチル化を介して記憶され、出生後の環境変化に対する細胞適応力に影響する可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人女性に多く認められる痩せ思考が妊娠中も体重増加の抑制に寄与している可能性は大きいと考えられる。出生体重が正常であっても、妊娠中の栄養が適正でなかった記憶が児には遺残していると考えられる。そのような仮説から本研究では、細胞の環境記憶システムと考えられているエピゲノムを標的とし、妊娠中の体重増加量が不十分であった妊婦から出生した児のエピゲノムを評価した。その結果、適正に体重増加した妊婦とは異なるパターンが認められた。この結果は、妊娠中の体重増加が不十分であることは体の成長とは別に細胞レベルで記憶されている可能性を示唆し、出生後も妊娠経過を踏まえた適正な栄養環境を心掛ける必要性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Gestational weight gain (GWG) is one of the predictors for maternal nutritional status. The serum levels of macro and micro nutrients are often less in pregnant women whose GWG was insufficient. We aimed to evaluate the effects of maternal nutrition status on infant epigenome. For that, we selected GWG as the marker of maternal nutrition. We measured DNA methylation levels in genome-wide in cord blood cells. DNA methylation is considered as a molecular mechanism of cellular memory, since it resisted in cell division. We revealed that GWG was related to fetal cord blood cells DNA methylation at some sites in genome especially when GWG was insufficient. This change was observed even though birth weight was normal. These results indicate the possibility that GWG affects on cellular epigenome independently of birth weight and the DNA methylation differences associated to GWG is memorized in cellular levels and may affect the cellular response to environmental stimuli in future.

研究分野：栄養学

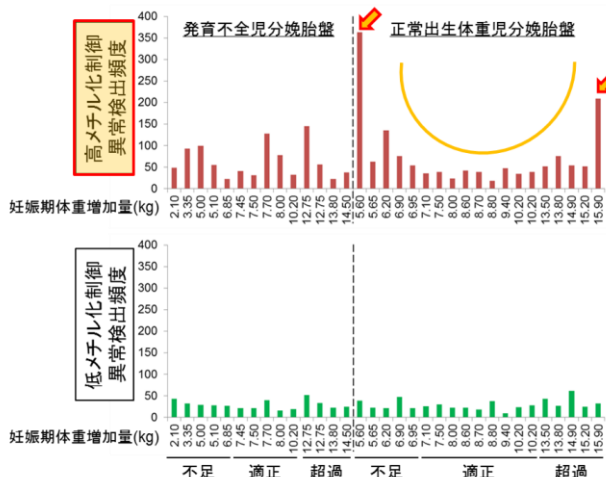
キーワード：子宮内栄養環境 胎児エピゲノム 妊娠期体重増加量

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

我々は、子宮内栄養環境が胎児エピゲノムに及ぼす影響について、これまで研究を進めてきた。胎盤のエピゲノムに注目し、出生体重の差、母親の妊娠中の体重増加量の差が、絨毛膜板の DNA メチル化に有意な差を及ぼすか検討した結果、上記の別によるグループ間で比較しても、共通してゲノム内の特定の領域の DNA メチル化差が生じているという結果には至らなかった。そこで、小さく生まれてくる子供には、環境因子以外の遺伝的要素の影響が示唆されるため、標準出生体重で生まれた子供にのみ注目し、環境要因として母親の妊娠中の体重増加量の影響が、出生時のエピゲノムに及ぼす影響を個々人に注目し検討した。その結果、妊娠中の出生体重が標準範囲であっても、母親の妊娠中の体重増加量が少なれば少なくなるほど、あるいは、多ければ多くなるほど、胎盤の DNA メチル化値が外れ値をとる頻度が高くなることを認めた (Kawai et al. SciRep 2015)

出生体重が正常であっても、妊娠期体重増加量が適正から外れれば外れるほどメチル化異常値が検出される



2. 研究の目的

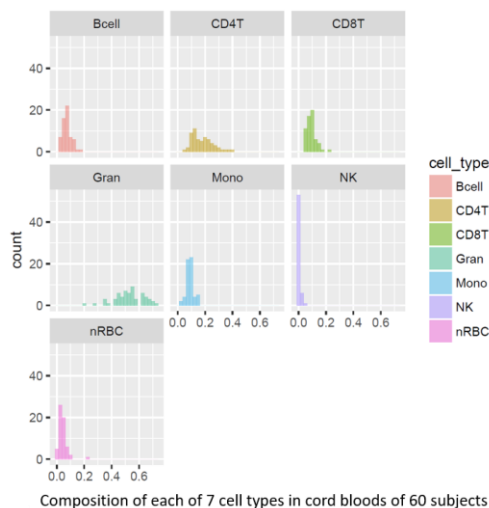
欧米の大規模コホートスタディーでは、妊娠中の体重増加量が臍帯血 DNA メチル化には影響しない、という結果が出ている。しかし、妊娠前の日本人若年女性の痩せ傾向は欧米より高いことより、妊娠中の体重増加量の影響は、欧米人とは異なると考えられる。また、関連解析において、我々の前述の研究結果からも、体重増加不足から過剰まで一方向に連続してエピゲノムに変化を及ぼすとは考えられないことより、不足と過剰の影響を別々に検討することが重要であると考えられる。したがって本研究では、妊娠前の女性の体格が欧米人とは異なる日本人を対象に、妊娠中の体重増加量と関連して変化する DNA メチル化量の有無を、体重増加不足と体重増加過剰に分けて検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 妊娠週数 37 週以降の正期産で、かつ、妊娠中に合併症のなかった母親 60 名から出生した児の臍帯血を取集した。臍帯血血液細胞より DNA を抽出し、Illumina Infinium Methylation EPIC beads array を用いて、ゲノムワイドに約 85 万か所のメチル化標的塩基の DNA メチル化値を測定した。

(2) 各検体の臍帯血中の各血液細胞の分布の違いが DNA メチル化変化値の違いに及ぼす影響を除くため、血球分布の分散度を求め DNA メチル化値に分布の偏りが影響しないように補正する。

(3) 妊娠期体重増加量の影響が直線的でないこともあると仮定し、様々な解析手法を用いて、DNA メチル化への影響を検討する。

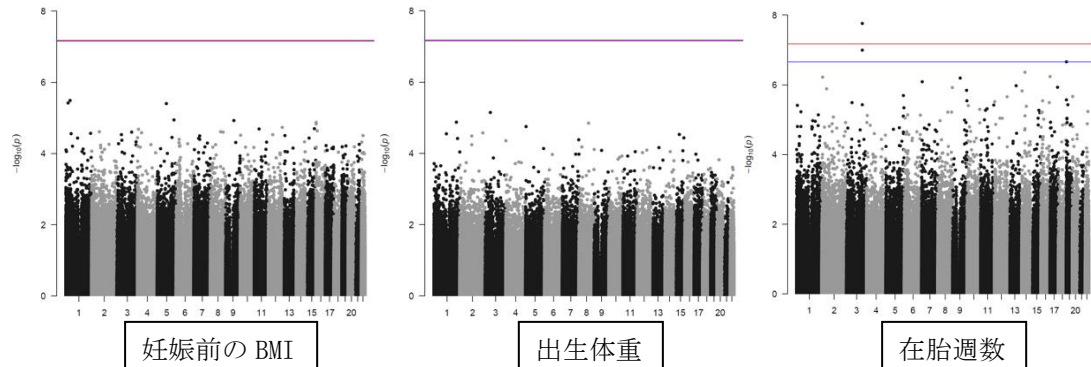


4. 研究成果

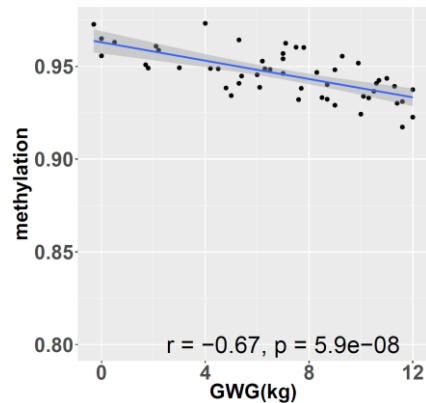
(1) まず、最初に大規模コホートスタディーで報告されている、妊娠前の BMI と関連して変化する臍帯血 DNA メチル化値の有無について検討した。本研究と同手法で DNA メチル化値を測定した 19 コホート 7523 名を対象に行われた Meta-analysis では、環境要因として妊娠前の BMI が DNA メチル化変化に影響している箇所として最終的に 6 か所の候補があげられている (Sharp et al. Hum Mol Genet 2017)。我々の検体では、有意に妊娠前の BMI と出生時臍帯血 DNA メチル化値の関連する場所は見つからなかった。一方で、Meta-analysis の対象者らは、European; 16, Hispanic; 2, Mixed; 1 のコホート検体であり、妊娠前の平均 BMI が 22.8 から 25.8 の集団である。一方、我々の検体の妊娠前の BMI は 19.8 ± 1.9 であり、結果に違いがあることは想定される。したがって、環境の影響を観るにあたり、人種間によって得られる結果が異なるこ

とは十分に考えられる。

(2) 妊娠前の BMI 以外にも、出生体重、妊娠週数と関連して変化する DNA メチル化について検討した。これら、二つの要素についても、すでに 1000 人規模のコホート研究において関連が認められている (Engel et al. Hum Mol Genet 2015, Bohlin et al. Genom Biol 2016)。我々の検体では、出生体重と関連して DNA メチル化値が変化する部位はみつからなかったが、出生週数と関連する部位は 2 ヶ所見つけた。本検体では、37 週以降の正期産のみを対象としているにもかかわらず、在胎週数が発生過程のエピゲノム変化として、細胞内の DNA メチル化の差として得られた。



(3) 次に妊娠中の体重増加量と関連して変化する DNA メチル化値の有無について検討した。まず最初に、適正体重増加量の 7 から 12kg を指標とし、適正未満、適正、適正超過、の 3 群に検体を分類し、群間で異なるメチル化差が存在するか検討した結果、有意に異なるメチル化差は見つからなかった。次に、これまでのコホート研究の手法と同様に、全員を対象に体重増加量と連続して関連して変化する DNA メチル化部位を検討した。この手法では、既報と同様、関連して変化する DNA メチル化は検出されなかった。一方、これまでの研究成果から、仮説として、適正未満と適正超過は連続して同方向に影響を及ぼすとは考えられないため、体重増加量の連続的な影響を適正増加量未満と超過の 2 群に分けて検討した。その結果、適正未満から適正までの群では、連続した体重増加量と関連して変化する DNA メチル化部位が検出されたが、適正と適正超過の群で検討した結果、関連して変化する部位は見つからなかった。



(4) 体重増加量が適正未満であればあるほど DNA メチル化値が変化する部位は、在胎週数と関連して変化する部位として報告があった。したがって、正期産であり出生体重は標準であっても、母体体重増加量不足、すなわち、栄養摂取不足は、細胞レベルで児の発育のスピード、分化度に関与しているかもしれない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Matsushita J, Okamura K, Nakabayashi K, Suzuki T, Horibe Y, Kawai T, Sakurai T, Yamashita S, Higami Y, Ichihara G, Hata K and Nohara K. The DNA methylation profile of liver tumors in C3H mice and identification of differentially methylated regions involved in the regulation of tumorigenic genes. BMC Cancer 18:317. 2018 Mar
2. Isobe T, Seki M, Yoshida K, Sekiguchi M, Shiozawa Y, Shiraiishi Y, Kimura S, Yoshida M, Inoue Y, Yokoyama A, Kakiuchi N, Suzuki H2, Kataoka K, Sato Y, Kawai T, Chiba K, Tanaka H, Shimamura T, Kato M, Iguchi A, Hama A, Taguchi T, Akiyama M, Fujimura J, Inoue A, Ito T, Deguchi T, Kiyotani C, Iehara T, Hosoi H, Oka A, Sanada M, Tanaka Y, Hata K, Miyano S, Ogawa S, Takita J. Integrated Molecular Characterization of the Lethal Pediatric Cancer Pancreatoblastoma. Cancer Res. 78(4):865-876. 2018 Feb
3. Nishida K, Sawada D, Kawai T, Kuwano Y, Fujiwara S, Rokutan K. Para-psychoprotective Lactobacillus gasseri CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality. J Appl Microbiol 123(6):1561-1570. 2017 Dec
4. Sawada D, Kawai T, Nishida K, Kuwano Y, Fujiwara S, Rokutan K. Daily intake of

Lactobacillus gasseri CP2305 improves mental, physical, and sleep quality among Japanese medical students enrolled in a cadaver dissection course. *J Funct Foods* 31:188–197. 2017 April

5. Kawai T, Kuwano Y, Masuda K, Fujita K, Tanaka H, Nishikawa T, Rokutan K, Nishida K. Adverse parenting is associated with blunted salivary cortisol awakening response and altered expression of glucocorticoid receptor β and $\beta 2$ -adrenergic receptor mRNAs in leukocytes in Japanese medical students. *Stress* 12:1-8. 2017 Mar
6. Morita S, Nakabayashi K, Kawai T, Hayashi K, Horii T, Kimura M, Kamei Y, Ogawa Y, Hata K, Hatada I. Gene expression profiling of white adipose tissue reveals paternal transmission of proneness to obesity. *Sci Rep.* 6:21693. 2016 Feb
7. Okamura K, Kawai T, Hata K, and Nakabayashi K. Lists of HumanMethylation450 BeadChip probes with nucleotide-variant information obtained from the Phase 3 data of the 1000 Genomes Project. *Genom. Data* 7:67-69.2016 Mar

[学会発表] (計 14件)

1. 春日義史, 河合智子, 宮越敬, 田中守, 秦健一郎: 母体妊娠糖尿病出生児における 新生児血糖値と エピジェネティック変化の相関. 日本人類遺伝学会第 63 回大会, 横浜, 2018. 10. 11
2. 河合智子, 中林一彦, 鏡雅代, 宮越敬, 春日義史, 田中守, 秦健一郎: エピゲノム脆弱性の検出に基づく分子病態解析の試み. 日本人類遺伝学会第 63 回大会, 横浜, 2018. 10. 11
3. 河合智子, 宮越敬, 春日義史, 田中守, 秦健一郎: 不十分な妊娠期体重増加量は臍帯血 DNA メチル化値変化に及ぼす影響が大きい. 第 7 回日本 DOHaD 学会学術集会, 東京, 2018. 8. 18
4. 岡村和幸, 中林一彦, 堀部悠, 河合智子, 鈴木武博, 秦健一郎, 野原恵子: 妊娠期ヒ素曝露による孫世代肝腫瘍増加に関わる DNA メチル化で制御される遺伝子候補の肝細胞株における機能解析. 第 45 回日本毒性学会学術年会, 大阪, 2018. 7. 18
5. 河合智子, 春日義史, 宮越敬, 田中守, 秦健一郎: 胎児期栄養環境と関連するエピジェネティック制御, 第 72 回日本栄養・食糧学会大会, 岡山, 2018. 5. 13
6. 久須美真紀, 河合智子, 嘉村浩美, 堤治, 秦健一郎: 体外受精が初期胚のエピゲノムに与える影響の解析, DNA methylation changes derived from assisted reproductive technologies on human spontaneous miscarriage. 日本人類遺伝学会第 62 回大会, 神戸, 2017. 11. 18
7. 久須美真紀, 河合智子, 嘉村浩美, 堤治, 秦健一郎: ART がエピゲノムを介して発生に及ぼす影響について. 第 1 回日本不育症研究会学術講演会, 名古屋, 2017. 10. 21
8. 王天英, Adya Saran Sinha, 柳川右千代, 河合智子, 秦健一郎, 福田敦夫: 母体ストレスと GAD67 減少が仔脳発達と行動に与えるエピジェネティックな影響. 第 44 回日本脳科学学会, 弘前, 2017. 10. 15
9. 河合智子, 春日義史, 池ノ上学, 荒田尚子, 宮越敬, 田中守, 秦健一郎: 妊娠糖尿病が臍帯血 DNA メチル化に及ぼす影響. 第 6 回日本 DOHaD 学会学術集会, 東京, 2017. 8. 26
10. 河合智子: 「子宮内環境とエピゲノム状態の変化」 第 17 回赤ちゃん学会学術集会, 久留米, 2017. 7. 9
11. 谷口公介, 河合智子, 岡村浩司, 中林一彦, 秦健一郎: ヒト胎盤エピトランスクリプトーム解析. 第 11 回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京, 2017. 5. 23
12. 鹿嶋晃平, 河合智子, 西村力, 嘉村浩美, 土田晋也, 永松健, 藤井知行, 大森意索, 清水光政, 兵藤博信, 久具宏司, 水口雅, 中林一彦, 秦健一郎, 高橋尚人: 早産児および SGA 児における臍帯血・生後末梢血検体を用いた網羅的メチル化解析. DOHaD 研究会, 東京, 2016. 7. 25
13. 岡村和幸, 中林一彦, 堀部悠, 河合智子, 鈴木武博, 秦健一郎, 野原恵子: Novel DNA methylation changes induced by gestational arsenite exposure in hepatic tumors in F2 mice. 第 5 回 DOHaD 研究会学術集会, 東京, 2016. 7. 25
14. 川嶋章弘, 河合智子, 右田王介, 秦健一郎, 関沢明彦: Maternal smoking leads to placental epigenetic changes at the promoters of transcriptional regulators in early pregnancy. 第 5 回 DOHaD 研究会学術集会, 東京, 2016. 7. 25

[図書] (計 7件)

1. Taniguchi K, Kawai T, Hata K: Placental Development and Nutritional Environment. Editors: Kubota T and Fukuoka H. Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) from Biological Basis to Clinical Significance. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1012, 2018:63-73
2. 河合智子, 秦健一郎: 特集生活習慣病と子ども—DOHaD と健康のカギ I. DOHaD の基礎 エピジェネティクス. *小児科診療* 2018;81:1261-1266
3. 河合智子, 秦健一郎: 環境因子のヒト発生への影響 エピゲノムの「乱れ」の観点から.

Medical Science Digest 2017;43; 592-596

4. 河合智子, 秦健一郎: 特集「次世代への予防医療 DOHaD を活かす」8. 母体体重増加と胎児・胎盤の DNA メチル化の変化. 産科と産婦人科 2017;84:1191-1196
5. 河合智子, 秦健一郎: 女性の将来の健康のために—疾患・病態相互の関連における新しい知見 2. Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). 産科と婦人科 2017;84:906-911
6. 河合智子, 秦健一郎: 【エピジェネティクスとアンチエイジング】 DOHaD とエピジェネティクス. アンチ・エイジング医学 2017;12:758-763
7. 河合智子, 秦健一郎: 特集「妊婦の栄養—今、妊婦は赤ちゃんのために正しい食事をしていのか」総説「胎盤のエピジェネティクス」周産期医学 2016;46:1483-1485

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 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 0 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。