

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03815

研究課題名（和文）胎児期環境による負のエピジェノム刻印を解除するための栄養戦略の基盤研究

研究課題名（英文）Nutritional Strategies to Reset Negative Epigenomic Marks Caused by Fetal Environment

研究代表者

加藤 久典（Hisanori, Kato）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・特任教授

研究者番号：40211164

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：食塩感受性高血圧ラットモデルにおいて、妊娠中に低タンパク質を摂取させた母親の子供は高血圧が悪化することを見出した。これにはPtger1という血圧にも関わる遺伝子において、DNAに結合するメチル基の量が変化することによることを発見した。その場合に、出生後に低タンパク質食や高タンパク質食のある期間与えることで、こうした悪影響が改善できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠期や乳児期など発達の初期段階における栄養状態などの環境が、成長後の疾患のリスクに大きく影響を及ぼすという概念が広く受け入れられてきた。本研究では、妊娠期のタンパク質栄養が不十分であると高血圧の遺伝素因をもつ子において、血圧の上昇がさらに悪化すること、それには血圧に関連する遺伝子に修飾が起こり、その状態が維持されて遺伝子の働きが変わることを明らかにした。さらに生後の食環境によりそれをある程度改善できることを見出したものである。

研究成果の概要（英文）：In a salt-sensitive hypertension rat model, feeding a low protein diet during pregnancy caused augmentation of hypertension in pups. We found that the mechanism underlying the phenomenon include changes in DNA methylation in the gene of Ptger1, which is known to be involved in blood pressure regulation. Even in such a situation, the adverse effect can be partially reversed by feeding high protein diets or low protein diets.

研究分野：分子栄養学

キーワード：妊娠期 栄養 タンパク質栄養 高血圧 エピジェネティクス DNAメチル化

1. 研究開始当初の背景

近年、胎児期の栄養状態と成人後の疾患発症率が関連することを示す証拠が次々と明らかになってきており、それらの報告では、形質の決定に DNA の一次構造だけでなく、DNA の修飾の変化も重要であることが分かってきた。このように、DNA メチル化やヒストン修飾といったエピジェネティックな変化は遺伝子発現制御に関わっており、胎児期環境に由来した子の疾患リスク増大の分子機構として注目されている。このような概念は Developmental Origins of Adult Health and Disease (DOHaD) と呼ばれ、最近研究が活発になっている。

当研究室では、妊娠中にタンパク質制限を受けた脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) から生まれた仔ラットは成長後に食塩感受性が亢進し、血圧が顕著に上昇することや寿命が短命化することを明らかにしてきた¹⁾。その分子機構として、胎児期に低タンパク質食暴露された成獣期 SHRSP ラットの腎臓ではナトリウム保持に關与する Ptger1 (Prostaglandin E2 Receptor EP1 Subtype) 遺伝子内が高メチル化状態であり、エピジェネティックな制御機構を介して疾患発症リスクが増大している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究ではまず、Ptger1 遺伝子のメチル化状態が同遺伝子の発現とどのような関係があるかを明らかにすることを目的とした。さらにメチル化状態の変化の分子機構や出生後の仔ラットの栄養環境がその機構に及ぼす影響などに関する知見について、明らかにすることを目的とした。生後の同遺伝子のメチル化状態の変化を追跡し、生後の食の違いによりこうしたメチル化が憎悪あるいは緩和するかどうかを解析することとした。これらにより、エピジェネティックマーカーは成長後の栄養的介入により再プログラミングできる可能性があるとの仮説を検討した。

3. 研究の方法

胎児期に低タンパク質食 (9%カゼイン食) に暴露された SHRSP 若年期仔ラット (D28) の腎臓を用い、メチローム解析とトランスクリプトーム解析の両オミクス解析データを統合することで食塩感受性高血圧因子となりうる遺伝子候補の探索を行った。

次に、食塩感受性高血圧を惹起する潜在的な要因として浮上した Ptger1 の変動が出生直後にどのような影響を受けているのか、また授乳期から若年期にかけてのライフステージ初期に経時的にはどのような変動をするのかを検討した。

妊娠期間中に低タンパク質あるいは通常食を摂取した母 SHRSP の子の離乳後に低タンパク質食、高タンパク質食、あるいは通常タンパク質食を 2 週間摂取させた。その後腎臓を採取し、Ptger1 遺伝子の発現や遺伝子内の同遺伝子メチル化を解析した。

4. 研究成果

胎児期の低タンパク質食暴露により両オミクス解析データで重複して変動した遺伝子として 6 遺伝子が見出され、興味深いことにその中には胎児期低タンパク質食暴露された成獣仔ラットで変動していた Ptger1 が高い変動倍率で含まれていたため、血圧調節に重要な Ptger1 に着目して検討を進めることとした。Ptger1 の DNA メチル化状態と遺伝子発現量をそれぞれバイサルファイトシーケンスとリアルタイム PCR により測定したところ、胎児期の低タンパク質食暴露により Ptger1 の DNA メチル化状態は遺伝子内の CpG island の顕著な高メチル化状態とプロモーター領域の低メチル化傾向という特徴があり、Ptger1 mRNA 発現量は有意に増加していることが明らかとなった。この Ptger1 の CpG island の DNA メチル化状態と遺伝子発現が正の相関を示すという変動は、先行研究で見出した Ptger1 の変動と一致しており、胎児期低タンパク質食暴露により形成された食塩感受性高血圧に關与する重要なエピジェネティックマーカーである可能性が再確認された。

胎児期に低タンパク質食暴露された SHRSP 仔ラットは、出生後 5 日目より Ptger1 遺伝子内の CpG island が高メチル化状態であり、出生後 10 日目より Ptger1 mRNA の高発現が顕在化し (図 1) Ptger1 タンパク質発現量は検討を行った出生後 28 日目までの段階では影響を受けていないという経時的な挙動を示していた。このように授乳期から若年期にかけての胎児期低タンパク質食暴露の影響を俯瞰することで、出生直後より Ptger1 は DNA メチル化状態の変動が保存されており、その影響を介して Ptger1 mRNA 発現量が成長に伴い変化するという新たな実験データを見出すことができた。

胎児期に低タンパク質食に暴露され、離乳後に 2 週間通常食を摂取した 6 週齢の仔ラットでは、腎臓中 Ptger1 遺伝子内の CpG island の高メチル化が確認され、Ptger1 mRNA 発現量も増加しており、これまでの研究と同様の Ptger1 の変動が保存されていることを確認した。さらに、この DNA 高メチル化は、離乳後に低タンパク質食または高タンパク質食を 2 週間摂取することで、有意に低下することを新たに見出した。一方で、胎児期の低タンパク質食暴露による Ptger1 mRNA 発現量の増加は、離乳後の低タンパク質食および高タンパク質食でも変化せず、離乳後のタンパク質摂取量に起因する影響は見られなかった。したがって、離乳後の低タンパク質食または高タンパク質食摂取により、胎児期低栄養に起因した Ptger1 の DNA 高メチル化が緩和してい

た。

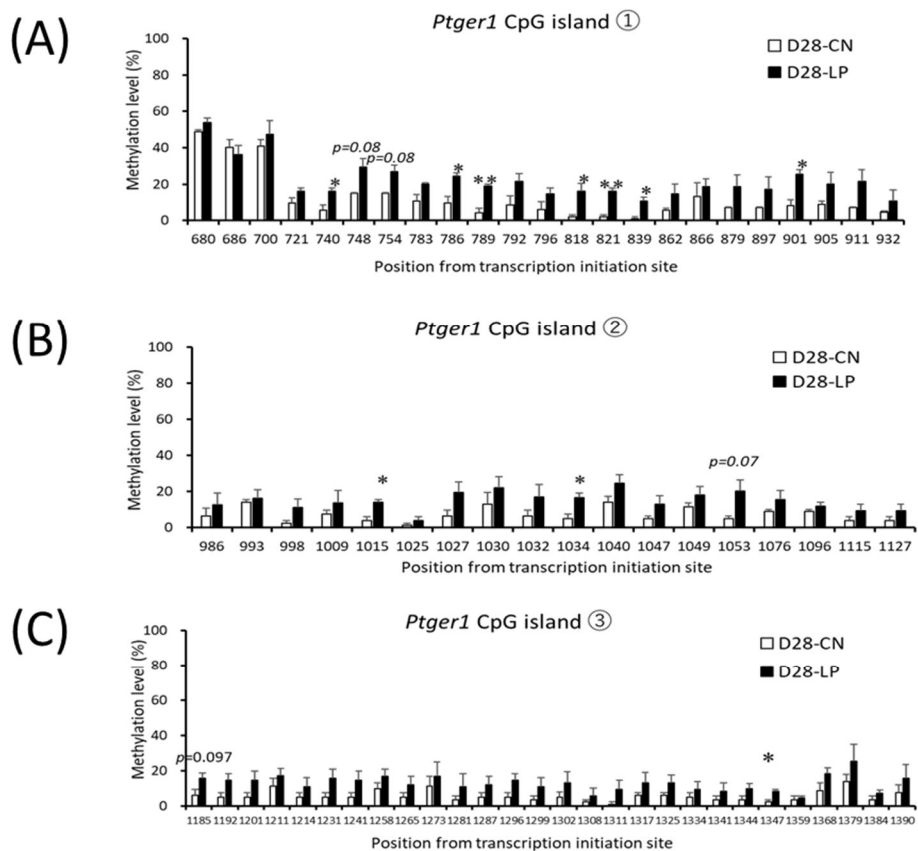


図1 バイサルファイトシーケンス法で検出されたPtger1 CpG islandの各CpG部位におけるDNAメチル化割合

(Means ± S.E., n=3, * * p<0.01, * p<0.05 by Student's t-test)

以上、胎児期低タンパク質食暴露に起因した食塩感受性高血圧の発症機構を解明するために、先行研究では情報が不足していたライフステージ初期の仔ラットに焦点を当てて解析を進めることで、先行研究で見出していた腎臓中 Ptger1 遺伝子内の CpG island の高メチル化状態と Ptger1 mRNA 高発現という正の相関が出生直後から若年期にかけても共通して観察されることを新たに見出し、この Ptger1 の変動が安定的に保存されていることを裏付けた。また、胎児期に刻印された疾患リスクに繋がるこの Ptger1 のエピジェネティックな変動は、出生後の食環境により再プログラミングできる可能性を見出した。

引用文献

1) Otani, L., Sugimoto, N., Kaji, M., Murai, M., Chang, S.-J., Kato, H. and Murakami, T. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in the enhancement of salt sensitivity caused by prenatal protein restriction in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Biochem.* **23**, 892-899 (2012)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Miyoshi, M., Sato, M., Saito, K., Otani, L., Shirahige, K., Miura, F., Ito, T., Jia, H. and Kato, H	4. 巻 10
2. 論文標題 Maternal protein restriction alters the renal ptger1 DNA methylation state in SHRSP offspring	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E1436
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu10101436.	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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 3件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 三好萌、賈慧娟、加藤久典
2. 発表標題 胎児期低タンパク質食暴露SHRSP仔ラットの授乳期・離乳期・成獣期における腎臓中遺伝子発現の解析
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三好萌、福岡聖之、今門泰久、大谷りら、北條浩彦、賈慧娟、加藤久典
2. 発表標題 胎児期低タンパク質食暴露が腎臓内アンジオテンシン2型受容体遺伝子発現へ与える影響のデジタルPCR 解析
3. 学会等名 第12回日本アミノ酸学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤久典
2. 発表標題 発達期のアミノ酸栄養に起因する生活習慣病発症機序
3. 学会等名 第5回母子栄養懇話会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Moe Miyoshi, Masayuki Sato, Kenji Saito, Lila Otani, Huijuan Jia and Hisanori Kato
2. 発表標題 Effects of Maternal Protein Restriction during Pregnancy on Renal Gene Expression in Young SHRSP
3. 学会等名 APNNO 2nd Biennial Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三好萌、大谷りら、斉藤憲司、賈慧娟、加藤久典
2. 発表標題 胎児期低タンパク質食暴露マウスにおいて成長後の長期的な高脂肪食給餌が糖・脂質代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第71回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三好萌、佐藤正幸、斉藤憲司、大谷りら、賈慧娟、加藤久典
2. 発表標題 妊娠期の低タンパク質食摂取は授乳期間中のSHRSP仔ラットの腎臓中遺伝子発現を変化させる
3. 学会等名 日本アミノ酸学会 第11回学術大会 (JSAAS2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三好萌、佐藤正幸、斉藤憲司、大谷りら、加藤久典
2. 発表標題 胎児期に低タンパク質暴露されたSHRSP仔ラットにおける腎臓中のNa ⁺ 保持関連遺伝子の発現状態への影響
3. 学会等名 第6回日本DOHaD学会 学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Moe Miyoshi, Lila Otani, Kenji Saito, Masayuki Sato, Huijuan Jia, Hisanori Kato
2. 発表標題 Maternal protein restriction induces salt sensitivity and alters renal DNA methylation of the ptger1 in SHRSP offspring
3. 学会等名 IUNS 21st International Congress of Nutrition (ICN) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三好萌、古川恭平、賈慧娟、加藤久典
2. 発表標題 ラット離乳後のタンパク質摂取量が胎児期低栄養により生じるDNAメチル化に与える影響
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hisanori Kato
2. 発表標題 Bridging epigenomics and transcriptomics data for the understanding of long term effects of nutrition
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisanori Kato
2. 発表標題 Maternal Protein Restriction during Pregnancy Causes Exacerbated Salt Sensitivity in Pups of Spontaneously Hypertensive Rats by Epigenetic Alterations
3. 学会等名 The International Conference of Food Safety and Health 201 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2018/20181024-1.html>

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
連携研究者	白髭 克彦 (Shirahige Katsuhiko) (90273854)	東京大学・定量生命科学研究所・教授 (12601)	