

令和 4 年 4 月 18 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23114

研究課題名(和文)胎内環境とエピゲノム記憶による肥満と骨粗鬆症の素因形成

研究課題名(英文)Molecular mechanism for predisposition to develop obesity and osteoporosis based on epigenome modification in utero

研究代表者

矢野 恵奈(清川恵奈)(Yano, Ena)

九州大学・歯学研究院・学術研究員

研究者番号：40805678

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文):近年、妊娠母体の栄養状態が、児の将来の生活習慣病発症リスクを規定していることが実証されつつある。申請者は最近、妊娠母体の葉酸欠乏が、胎児の脱ユビキチン化酵素遺伝子や骨基質蛋白質にメチル化異常を引き起こし、成熟後も炎症誘発への感受性が高まること、その結果、産仔の将来の肥満や骨質異常を引き起こすことを明らかにした。本研究では、妊娠母体が摂取する(遺伝子のメチル化に必須の栄養素である)One carbon metabolism 関連栄養素の摂取量に着目した動物実験を行うことで、成熟後の肥満および骨粗鬆症の発症素因が胎内で規定されている可能性をエピジェネティックな観点から新規に提示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

栄養環境はエピゲノムを変化させ長期の細胞記憶に影響を与えていること、また、疾患発症には、そのような遺伝子発現の先天的制御異常が関わっていることが、近年の研究で明らかとなってきた。そこで、本研究では、疾患素因の起源を胎児期に遡ることで、先天的環境要因が、疾患因果の根本的要因になっている可能性を実証し、エネルギー代謝異常の新たな診断・治療の標的としての可能性を提示した。

研究成果の概要(英文): It has been demonstrated that the nutritional status of maternal gestational period defines the future risk of developing lifestyle-related diseases in the offspring. This applicant recently found that maternal folic acid deficiency causes abnormal methylation in genes related to deubiquitinating enzyme and bone regeneration in the offspring, and resulting in increasing susceptibility to inflammation even after maturity in the offspring. In this study, the applicant focused on the effect of maternal one carbon metabolism-related nutrients (essential nutrients for gene methylation) during gestation on the predisposition to develop obesity and osteoporosis after maturation by animal experiments.

研究分野：生化学、薬学

キーワード：DOHaD 肥満

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病胎児期起源説 (DOHaD: Developmental Origins of Health and Disease) という概念が注目され、妊娠母体の栄養状態が、児の将来の生活習慣病発症リスクを規定していることが様々な疫学調査によって実証されつつある。

申請者は最近、妊娠母体の葉酸欠乏が、胎児の脱ユビキチン化酵素遺伝子や骨基質蛋白質にメチル化異常を引き起こし、当該遺伝子の発現異常をきたすことで、成熟後も炎症誘発への感受性が高まること、その結果、産仔の将来の肥満や骨質異常を引き起こすことをマウスを用いた解析で明らかにした。そこで本研究では、妊娠母体が摂取する(遺伝子のメチル化に必須の栄養素である)One carbon metabolism 関連栄養素の摂取量に着目した動物実験を行うことで、成熟後の肥満および骨粗鬆症の発症素因が胎内で規定されている可能性をエビジェネティックな観点から新規に提示し、生活習慣病の先制医療の分子基盤を提供することを目指した。

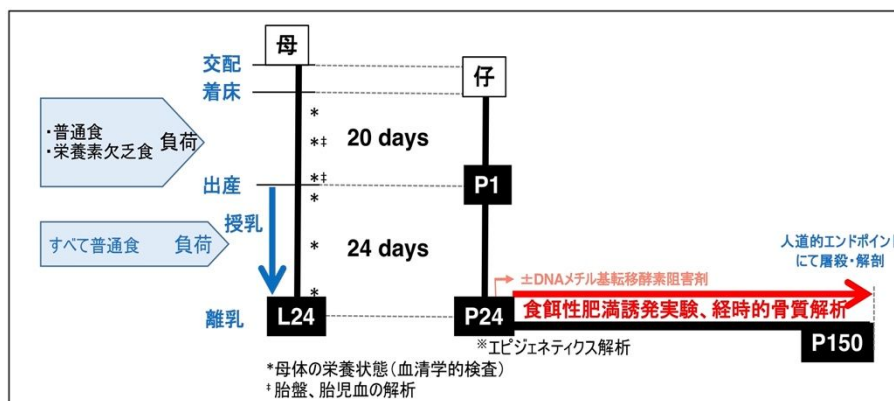
2. 研究の目的

本研究は、妊娠母体の One carbon metabolism 関連栄養素の役割、およびその栄養素によって発現が制御される遺伝子群がどのように関連疾患のエビジェネティクスとその世代間継承に関わるかを明らかにすることを目的として遂行した。これらの解析を通じて、肥満や骨粗鬆症の制圧のための先制医療の重要性や、先制医療の精緻化にむけて胎児期の栄養状態に着目する意義を提示することにつながると考え、実験を開始した。なお、人の妊娠中イベントの世代間継承について、母と子との因果関係について臨床的な結論を得るには様々な倫理的困難性があることから、すべての実験は動物を用いた解析とした。

3. 研究の方法

遺伝子のメチル化におけるメチル基の供与体である S-アデノシルメチオニン (SAM) は One carbon metabolism 経路で産生されるが、その必須栄養素 (葉酸、ビタミン B₁₂、メチオニン等) の妊娠中の欠乏が、仔の脱ユビキチン化酵素や骨基質蛋白質の DNA メチル化異常を起こし、仔の成熟後の肥満と骨粗鬆症の発症素因を形成している可能性を申請者は既に見出していた。そこで、One carbon metabolism 関連栄養素の中でも特に葉酸に着目し、妊娠中に食餌性葉酸を欠乏させた母親マウスを作成し、対照群との比較で、産仔の将来の生活習慣病発症リスクにどのような影響をもたらすか、検討を行った。DNA メチル化修飾は、細胞分裂後も安定してゲノム二重鎖に保存され、世代を超えて受け継がれていく性質をもつため、DOHaD 説を理解する上で重要な仕組みと言える。そのため、DNA メチル化異常が生じる遺伝子について、その発現レベルを検証し、各群の肥満進展および骨質の差異がどのように制御されているのか調べた。

具体的には、栄養素欠乏食の負荷は妊娠期のみ行い、出産以降は継続して普通食で授乳 (24日間) を経た (図)、ELISA による One carbon metabolism 関連栄養素と、その代謝産物・アミノ酸等および血清脂質の測定、脂肪および肝臓における仔の網羅的エピゲノム解析 (バイサルファイトシーケンスおよび遺伝子発現解析) を行った。また、エピゲノム変化、遺伝子発現が認められた分子について、培養細胞を用いた解析を行った。



4．研究成果

母親の食餌性葉酸欠乏によって、成熟後の仔の白色脂肪組織の増加や肝トリグリセリドの上昇が認められることを観察した。特に、雄においてその表現型は顕著であった。そこで、以降の詳細な分子メカニズム解析はすべて雄仔を用いて行った。

雄仔の離乳時（生後 24 日目）における脂肪と肝臓における網羅的遺伝子解析の結果から、糖代謝、脂質代謝、骨形成（骨代謝）に関わる遺伝子群の DNA メチル化異常が認められ、リアルタイム qPCR にて発現量相関のバリデーションを行った。その結果、糖代謝（特に、グリコーゲン分解酵素）に関わる遺伝子群の他、酸化還元酵素であるチトクロム P450、抱合酵素である UDP グルクロン酸転移酵素、硫酸転移酵素などの代謝酵素群の遺伝子変動が多く認められた。また、実際に、食餌性葉酸欠乏の母親から生まれた雄仔では、経口摂取した食物に含まれる脂溶性化合物の代謝遅延（代謝抑制）が生じていることが示唆された。

以上より、DNA のメチル化におけるメチル基の供与体である S-アデノシルメチオニン（SAM）を供給する One carbon metabolism 経路で必須となる葉酸の妊娠中の不足（食餌性葉酸の欠乏）が、仔の成熟後の食餌性肥満発症素因を形成していることが示唆された。なお、食餌性葉酸欠乏の母親から生まれた雄仔において、骨基質タンパク質の発現変化が、直接骨粗鬆症の病態を引き起こす表現型は認められなかったため、今後、雌仔を用いた解析や実験週齢を延長させる、病態モデルを使用する、などの検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kwakubo-Yasukochi T, Yano E, Kimura S, Nishinakagawa T, Mizokami A, Hayashi Y, Hatakeyama Y, Ohe K, Yasukochi A, Nakamura S, Jimi E, Hirata M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Hepatic glycogenolysis is determined by maternal high-calorie diet via methylation of PygI and this is modified by osteocalcin administration in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Metab	6. 最初と最後の頁 101360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.molmet.2021.101360	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 Lee BYT, Sullivan MP, Yano E, Tong KKH, Hanif M, Kwakubo-Yasukochi T, Jamieson SMF, Soehnel T, Goldstone DC, Hartinger CG.	4. 巻 60(19)
2. 論文標題 Anthracenyl functionalization of half-sandwich carbene complexes: In vitro anticancer activity and reactions with biomolecules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Inorg Chem	6. 最初と最後の頁 14636-14644636-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.inorgchem.1c01675	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kwakubo-Yasukochi T, Yano E, Kimura S, Mizokami A, Hayashi Y, Yasukochi A, Nakamura S, Jimi E, Hirata M.
2. 発表標題 Maternal high calorie diet during pregnancy induces abnormal hepatic glycogenolysis in the offspring and it is mitigated by osteocalcin
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kwakubo-Yasukochi T, Yano E, Kimura S, Nakamura S, Jimi E.
2. 発表標題 Association of maternal folic acid shortage during early pregnancy with carcinogenic risk in the offspring
3. 学会等名 The 23rd Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kimura S, Kawakubo-Yasukochi T, Hayashi Y, Yano E, Moriyama M, Nakamura S, Jimi E.
2. 発表標題 Distinctive non-coding RNA profile in the serum of IgG4-related disease patient
3. 学会等名 The 23rd Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kimura S, Kawakubo-Yasukochi T, Hayashi Y, Yano E, Moriyama M, Nakamura S, Jimi E.
2. 発表標題 Physiological and Pathological Roles of Inhibitor of Differentiation 4 in the Salivary Gland
3. 学会等名 KOB & OBT 5th Joint International Symposium 2021 (国際学会)
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
連携研究者	安河内 友世 (Yasukochi Tomoyo) (70507813)	九州大学・大学院歯学研究院・准教授 (17102)	

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		
ニュージーランド	Auckland University		