

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 1日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22650180

研究課題名（和文）

生活習慣病発症を予知する食事とエピゲノム修飾の解明

研究課題名（英文）

Association of food intake and epigenetics in life-style related diseases

研究代表者

武田 英二 (TAKEDA EIJI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：00144973

研究成果の概要（和文）：妊娠期の母親の栄養摂取状態は、子どもの成人期の健康状態に影響を及ぼす。母親のエネルギー摂取が不足すると血糖値およびコレステロール濃度が高値を示した。また、高脂肪食では低メチル化遺伝子が4%多く、肝臓の遺伝子発現は増加し、エネルギー制限では超高メチル化遺伝子が25%増加し、肝臓の遺伝子発現が低下していると考えられた。したがって、胎児の遺伝子発現に母親の栄養摂取が過剰であっても、また欠乏しても影響を与えることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Maternal under-nutrition and over-nutrition during the intrauterine and early neonatal period have been implicated for disease risk in offspring during adulthood. The calorie restriction exhibited poor glycemic control and raised cholesterol levels, key determinants of metabolic risk, more than the high caloric group. Global DNA methylation data indicated that the high fat diet and calorie restriction may have increased and reduced gene activity in the liver methylome, respectively.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,500,000 | 0 | 1,500,000 |
| 2011年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 2,900,000 | 420,000 | 3,320,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：生活習慣病、食事、エピゲノム修飾

1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病のインスリン分泌障害は高血糖、高脂血症、酸化ストレスによると考えられる。酸化ストレスはDNAメチル化やヒストン構造変化により多くの遺伝子発現に影響する。胎生期にはゲノム遺伝子は脱メチル化

と再メチル化を繰り返し、細胞増殖期には適切なDNAメチル化状態を保持することにより胎児は発育している(Hum Mol Genet 14: R47-R58, 2005)。興味深い知見として、胎児期や出生早期の栄養状態は、長期間DNAメチル化に影響し、発達や成人期の糖尿病発症に

影響する (Diabetes 54: 1899-1906, 2005)。

S L食に比してP O食は動物およびヒトで食後血糖値およびインスリン分泌を抑制し、インスリン感受性や脂質代謝を改善した (Metabolism 53: 115-121, 2004, Metabolism 56: 115-121, 2007, Forum of Nutrition, 60:127-139, 2007)。パラチノース摂取により、血糖、インスリン、中性脂肪、総コレステロール濃度増加は抑制され、内臓脂肪量、膵島肥大化および肝臓の糖新生系酵素 (PEPCK, G-6-Pase) と脂質合成系転写因子 (SREBP-1c and -2, LXR) 遺伝子発現も抑制された。反対に、リノール酸摂取ではβ細胞機能を障害し、脂肪組織では炎症反応を認めたが、オレイン酸摂取では膵臓保護作用を示し、脂肪組織では炎症反応はなく、肝臓の脂肪酸合成酵素 (fatty acid synthase, stearyl-CoA desaturase-1)、コレステロール合成酵素 (HMG-CoA reductase) は抑制された (J Nutr 137: 1908-1915, 2007, J Med Invest 55: 183-195, 2008)。

2. 研究の目的

健康は遺伝因子と環境因子とくに食生活により規定されている。さらに、食事は遺伝子をエピゲノム修飾し、発現を変化させる。胎児期や出生早期の低栄養や過剰栄養による遺伝子のエピゲノム修飾が、生活習慣病発症と関連するとされる。本研究では、エピゲノム解析手法を用いて、出生前母体および出生後の栄養摂取が健康指標におよぼす影響について解明する。とくに、インスリン感受性や脂質代謝を改善するパラチノースとオレイン酸の組み合わせ食 (P O食) および炎症や膵β細胞を障害するシュクロースとリノール酸の組み合わせ食 (S L食) のエピゲノム修飾について、

正常および代謝障害モデルラットを用いて解明する。本研究により、疾患を予知するエピゲノムバイオマーカーをはじめ若年期での成人期疾患の予知技術を確立する。

本研究ではP O食とS L食のエピゲノム修飾におよぼす効果と疾病リスクとの関係を明らかにする。そこで、(1) 出生前および授乳期にP O食あるいはS L食を正常および代謝障害モデル妊娠ラットを介して投与し、次世代ラットの生体代謝指標や、肝臓・脂肪病理組織、膵臓の機能、遺伝子発現およびエピゲノム修飾を経時的に解析する。

(2) とくに遺伝子発現に深く関与するヒストン H3 のリジン K4 (H3K4)、ヒストン H3 のリジン K9 (H3K9) やヒストン H4 のリジン K20 (H4K20) のメチル化およびメチル化・脱メチル化に関与するヒストンメチルトランスフェラーゼやリジン特異的脱メチル化酵素遺伝子発現と栄養との関係を明らかにする。

3. 研究の方法

肥満モデルおよび正常の妊娠ラットにパラチノースとオレイン酸の組み合わせ食 (P O食) あるいはシュクロースとリノール酸の組み合わせ食 (S L食) を摂取させる。母親には引き続いて同様の食事を摂取させて母乳栄養させる。離乳後はそれぞれの母親からの子ラットを2群に分けてP O食あるいはS L食を摂取させ、投与開始時から経時的に解剖を行って、病理組織、膜脂肪酸組成変化、炎症反応、糖・脂質代謝機能を解析する。エピゲノム解析は、NFκB-p65 遺伝子、PPARγ coactivator 1α (PPARGC1A) 遺伝子プロモーター上の H3K4 (ヒストン H3 の K4 リジン: H3K4m1, H3K4m2, H3K4m3) メチル化修飾、H3K9 (ヒストン H3 の K9 リジン: H3K9m1, H3K9m2, H3K9m3) メチル化修飾を評価する。さらに、

NFκB-p65 遺伝子や PPARGC1A 遺伝子と同様のパターンを示すメチル化などのエピゲノム修飾を受ける遺伝子を DNA チップ解析により検出する。

4. 研究成果

妊娠期間中の母体が低栄養状態に曝されることで引き起こされる胎仔発育遅延 (IUGR: intrauterine growth retardation) の出生児では、肥満や 2 型糖尿病を発症しやすい。近年の研究より妊娠期 (=胎児期) の栄養状態や摂取する食品成分により、成人期の肥満や生活習慣病の易感受性が決定されることが明らかとなってきた。

1) Pancreatic and duodenal homeobox1 (Pdx1) 遺伝子発現のエピジェネティック制御

膵臓β細胞の発生と機能発現に必須の転写因子 Pdx1 遺伝子が、塩基配列の変化を伴わないエピジェネティック制御により遺伝子発現が低下することが示唆されている。我々はこれまでに、パラチノース・オレイン酸の組み合わせ食 (P0) は、膵臓に対し保護的に作用し、肥満モデル動物のインスリン抵抗性を改善することを報告してきた。

本研究では Sprague - Dawley (SD) ラットを用いて P0 及びその対照であるシュクローズ・リノール酸 (SL) の組み合わせ食を母体が摂取した場合の出生児の肥満、糖尿病発症に与える影響を膵臓 Pdx1 のエピジェネティック制御に着目し検討した。

食餌の種類により P0、SL 及び P0 の 50%カロリー制限 POCR、SL の 50%カロリー制限 SLCR の 4 つの群に分けた。妊娠 1 日目から離乳まで母ラットに食餌介入をして生後 3 週間で半数の出生児を解剖した。それ以降はすべての群の出生児に肥満・2 型糖尿病を誘発する高シヨ糖高脂肪食を食べさせたのち、残りの半分の出生児を解剖して結果を解析した。

3 週齢 (離乳時) の時点では、血漿インスリン値及び膵臓の Pdx1 と Insulin1 の mRNA 発現は SL

群に比べ、P0 群、POCR 群、SLCR 群で低値がみられた。しかし、Pdx1 に対するエピジェネティック変化は認められなかった。

続いて出生児に 12 週間高脂肪食負荷した 15 週齢の時点では、OGTT と膵島形態学的評価により P0 群と POCR 群はインスリン抵抗性をより誘導したことが示唆された。しかしその一方で、膵臓の Pdx1 と insulin1 の mRNA レベル及び Pdx1 のエピジェネティック変化は認められなかった。

以上の結果より、妊娠期の CR 及び P0 食摂取は、出生児の肥満及び代謝異常を促進させることが示唆された。また、その原因として膵臓の Pdx1 及びそのエピジェネティック制御よりも、その他の因子のエピジェネティック制御がより大きく関与している可能性が示された。

2) 母体の栄養過剰摂取と栄養摂取不足の胎児への影響

母親の栄養摂取が不十分で胎児の栄養不良のときに、子宮内発育不全がみられ、成人期に栄養代謝障害および生活習慣病の発症につながるといわれている。しかし、近年は母親が肥満や糖尿病のときにも胎児に影響を及ぼすことが明らかになってきている。そこで、母親の栄養過剰および栄養不良の胎児への影響について検討した。

10 週令のメス SD ラットを高エネルギー食 (4.81 kcal/g) 群 (HC 群)、通常エネルギー食 (3.95 kcal/g) 群 (Cont 群)、エネルギー制限食 (1.98 kcal/g) 群 (CR 群) に分け、21 日目に産した。出生後は通常食を自由に食べさせて授乳させた。離乳前の 3 週で仔ラットを解析した。

体重および内臓脂肪は CR 群で他群より低値を示した。CR 群が、血糖値およびコレステロール濃度は高値を示し、中性脂肪およびレプチンは低値を示した。肝臓のメチル化 DNA の平均値は、HC 群、Cont 群、CR 群で、それ

ぞれ 3.26 ± 0.79 、 3.23 ± 0.78 、 3.31 ± 0.86 で、3 群間で差はなかった。そこで、メチル化レベルをピーク値を基準に低、中、高、超高に分けて検討した。その結果、HC 群は低メチル化遺伝子が 4% 多かった。このことは高脂肪食では肝臓の遺伝子発現は増加していると考えられた。さらに CR 群では超高メチル化遺伝子が 25% 増加していた。このことはエネルギー制限によって肝臓の遺伝子発現が低下していると考えられた。したがって、胎児の遺伝子発現に母親の栄養摂取が過剰であっても、また欠乏しても影響を与えることが明らかになった。

これらの研究成果は子供の一生の健康に母親の栄養摂取が重要であることを示したものである。今後は、包括的 DNA メチル化に影響を与える特異的遺伝子を解明することができれば、母親にとっての適切な栄養摂取の指標を提示することが可能になり、国内外にインパクトを与えることになる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

武田英二、大南博和、Wanjihia Violet、山本浩範：エピジェネティクス、ニューダイエットセラピー 27(4)：11-17, 2012、査読無

[学会発表] (計 3 件)

1) 武田英二、山本浩範、奥村仙示、竹谷豊：エピジェネティクスと糖尿病、第 33 回日本臨床栄養学会総会 第 32 回日本臨床栄養協会総会 第 9 回大連合大会、平成 23 年 10 月 27 日、都市センターホテル、東京

2) 山本浩範、武田英二：エピジェネティクスと癌～炎症と発癌、栄養食品因子について～、第 33 回日本臨床栄養学会総会 第 32 回日本臨床栄養協会総会 第 9 回大連合大会、

2011 年 10 月 27 日、都市センターホテル、東京

3) 大南博和、Violet Wanjihia、竹谷豊、阿望幾久子、奥村仙示、山本浩範、武田英二：出生後の代謝応答を調節する胎児栄養状態の重要性、第 32 回日本肥満学会、2011 年 9 月 23-24 日、淡路夢舞台国際会議場、淡路(兵庫)

[図書] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 英二 (TAKEDA EIJI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：00144973