

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：23700914

研究課題名(和文) 栄養環境によるエピジェネティクス制御と生活習慣病抑制機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of the nutritional environment and epigenetics in the prevention of the lifestyle-related disease

研究代表者

福村 智恵(荻布智恵)(Fukumura, Tomoe)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・講師

研究者番号：80336792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、種々の栄養環境と生活習慣病の発症制御機構をエピジェネティクス制御の視点から探求し、生活習慣病発症リスクを最小限に抑制できる栄養学的な方策の分子レベルでの解明を試みることを目的に実施した。肥満抑制効果が報告されている食品因子を飼料に添加し実験を行ったところ、エネルギー代謝関連遺伝子と脱メチル化酵素遺伝子の発現変動が認められ、この変化が生活習慣病発症抑制の一因を担う可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of the present study was to examine the molecular mechanism of the lifestyle-related disease and epigenetics. Experiments were carried out on lifestyle-related disease model rats under various nutritional conditions. As a result, there were significant difference in some energy metabolism related gene and histone demethylase gene expression between control and lifestyle-related disease model rats fed anti obesity food factor.

研究分野：栄養学

キーワード：栄養 生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

日本人の食生活の急速な欧米化に伴い、わが国でも成人期の生活習慣病発症が増加し、大きな社会問題となっている。生活習慣病である肥満、2型糖尿病、脂質異常症、高血圧等を重複して発症するとメタボリックシンドロームを引き起こし、それぞれの疾病の程度がたとえ軽度であっても重篤な動脈硬化が惹起され、心・脳血管疾患の発症を促進させると考えられている。これら生活習慣病の発症には、疫学的データより先天的な塩基配列の変化(遺伝因子)の関与が大きいと示唆されているが、疾患発症の制御には後天的な環境因子が重要であると考えられる。環境因子として重要な生活習慣のうち、食習慣はその改善により生活習慣病の発症を抑制することが可能であり、実際に臨床における治療の際には、第一に食生活の是正が選択され、食事療法として実施されるなど、生活習慣病を予防・治療する上で重要な要因であると考えられる。食事として摂取されたエネルギーや栄養素等は体内で消化・吸収された後、体内で様々な代謝機構で代謝され、シグナル伝達経路においてセンサー等の様々な調節因子として重要な役割を担っている。近年、栄養環境は、代謝を制御するだけでなく、直接ゲノムのエピジェネティックな変化(DNAメチル化、ヒストン修飾等)を引き起こし、生活習慣病発症リスクに違いを生じさせることが明らかになっている。すなわち不適切な栄養環境が、ゲノムのエピジェネティックな変化を引き越して生活習慣病の素因を作り、さらに栄養環境の如何により、生活習慣病易感受性に影響を与えるとされる。実際、遺伝因子が同一であり、環境要因が類似していると考えられる一卵性双生児でさえ、発症率は100%には達しないことから、生涯に渡る栄養環境が重要であると考えられる。エピジェネティクス制御に関わ

る栄養環境として低栄養及び過栄養やメチル基供与体の過不足が報告されているが、その分子基盤は未だ同定されておらず、詳細なメカニズムの不明である。

また、先天的に生活習慣病の遺伝因子を持つ個体は、自らの遺伝因子に加え、母体の栄養環境によりエピジェネティクス制御を負に受ける可能性が高く、よりハイリスクであると言える。従って、ハイリスク個体を用いた解析はそれらの負の相乗作用を最小限に抑える方策を探る手段として有効であると考えられる。我々が研究対象として用いている OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラットは自然発症的に2型糖尿病を発症し、同時に内臓脂肪蓄積肥満、脂質異常症、高血圧を重複するため、日本人の生活習慣病及びメタボリックシンドロームのモデルとして最適な実験動物の一つと考えられる。本実験動物を用いた解析が、遺伝因子とエピジェネティクス制御による負の相乗作用を抑制する方策の解明につながると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、生活習慣病の遺伝因子を先天的に持つ実験動物と持たない実験動物を利用し、栄養環境によるエピジェネティクス制御の分子基盤を探求し、生活習慣病発症リスクを最小限に抑制できる栄養学的な方策の分子レベルでの解明を試みることを目的に実施した。

3. 研究の方法

本研究では生活習慣病モデル動物として OLETF ラットを用い、対照群として LETO (Long-Evans Tokushima Otsuka) ラットを用いた。各々の実験動物を種々の栄養環境(普通食、高脂肪食、70%エネルギー制限食、数種の食品因子添加食)で飼育した。実験最終日に麻酔下で血液、肝臓、副睾丸周囲

脂肪、皮下脂肪、褐色脂肪組織等の臓器を摘出した。

血清中のコレステロール、トリグリセライド、リン脂質濃度は市販のキットを用いて酵素法により測定した。肝臓脂質は Folch らの方法により抽出し、血中脂質と同様に酵素法により測定した。

肝臓、副睾丸周囲脂肪、皮下脂肪、褐色脂肪組織 100mg から総 RNA を Trizol Regent (Invitrogen, San Diego, CA) により抽出し、Super scriptTM Reverse Transcriptase (Invitrogen, San Diego, CA), 10mM dNTP mix, 5 x First stand buffer, 0.1M DTT を用い cDNA を合成した。各種の cDNA と 2.5 μM sense and/or antisense primer, SYBER Green Realtime PCR Master Mix (Applied Biosystem, San Diego, CA), 滅菌蒸留水を用いて、生活習慣病関連遺伝子について Real Time PCR を行った。

4. 研究成果

普通食では LETO ラットに比べ、OLETF ラットで成長に伴う体重増加量が顕著であった。高脂肪食では両群とも普通食より体重が増加し、70%カロリー制限食では体重が減少したが、いずれも OLETF ラットの方が LETO ラットよりも高値を示した。肥満抑制効果が報告されている食品因子を OLETF ラットに与えたところ、両群の体重増加量は普通食よりも有意に低下し、OLETF の肥満が抑制された。血清コレステロール値は LETO ラットに比べ OLETF ラットで成長とともに有意に上昇し、食品因子添加で有意に抑制された。肝臓 TG も同様の傾向が認められた。脂肪組織重量を測定したところ、内臓脂肪は減少し、一方で褐色脂肪組織の増加が認められた。この脂肪組織間の重量変化の違いに着目し、各脂肪組織のエネルギー消費に関与する 3 アドレナリン受容体(3AR)、ミトコンドリア脱共役

蛋白質 1 (UCP1) の遺伝子発現量を検討した。その結果、内臓脂肪に比べ、皮下脂肪で高く、食品因子添加で有意に上昇していた。ヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) のメチル化を解除する脱メチル化酵素である Jhdm2a 遺伝子ノックアウトマウスでは、褐色脂肪での 3AR を介するエネルギー消費が低下し、肥満、糖尿病、高脂血症が発症することが報告されている。そこで Jhdm2a 遺伝子について解析したところ、3AR, UCP1 と同様に高値を示した。H3K9 の脱メチル化を介して褐色脂肪 3AR、UCP1 遺伝子の発現が亢進したことが示唆された。

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)

[学会発表] (計 6 件)

生谷美紗都, 出口美輪子, 林 史和, 福村智恵, 金 東浩, 佐伯 茂: メタボリック症候群モデル動物のエネルギー代謝関連遺伝子発現に対する寒冷曝露の影響, 日本栄養・食糧学会 第 53 回近畿支部大会, 京都府立大学 稲盛記念会館, 京都府京都市, 10 月 25 日 (2014)

鹿田 星, 藤井幸恵, 海老原伸, 細田明美, 福村智恵, 金 東浩, 佐伯 茂: メタボリック症候群モデル動物の脂質代謝関連遺伝子の変異解析, 日本栄養・食糧学会 第 53 回近畿支部大会, 京都府立大学 稲盛記念会館, 京都府京都市, 10 月 25 日 (2014)

田村美帆, 出口美輪子, 富原靖彦, 林 史和, 福村智恵, 金 東浩, 佐伯 茂, メタボリック症候群モデル動物の脂質代謝に対する分岐鎖アミノ酸の影響, 日本栄養・食糧学会第 52 回近畿支部大会, 滋賀県立大学, 滋賀県彦根市, 10 月 26 日 (2013)

出口美輪子, 小林理穂, 細田明美, 福村智恵, 金 東浩, 小田裕昭, 佐伯 茂: メタボリック症候群モデル動物から分離した初代培養肝細胞の糖質代謝に対するホルモンの影響, 第 67 回日本栄養・食糧学会大会, 名古屋大学, 愛知県名古屋市, 5 月 25 日 (2013)

藤野未奈, 久野令子, 面川舞, 中森陽子, 中川雄平, 山岸あづみ, 細田明美, 福村智恵, 金東浩, 佐伯茂: 摂取タンパク質源の相違がメタボリック症候群モデル動物の耐糖能に

及ぼす影響，第 66 回日本栄養・食糧学会大会，東北大学，宮城県仙台市，5月19日(2012)

鹿田星、篠木絵美子、石田明希、山岸あづみ、細田明美、福村智恵、金東浩、佐伯茂：メタボリック症候群モデル動物の脂質代謝関連遺伝子の解析，第 66 回日本栄養・食糧学会大会，東北大学，宮城県仙台市，5月19日(2012)

6．研究組織

(1)研究代表者

福村 智恵 (FUKUMURA TOMOE)
大阪市立大学・大学院生活科学研究科・
講師
研究者番号：80336792