

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450169

研究課題名(和文)フルクトース過剰摂取が次世代に及ぼす影響

研究課題名(英文)Effect of maternal excess fructose consumption on the offspring

研究代表者

大橋 鉦二(OHASI, Koji)

藤田保健衛生大学・保健学研究科・教授

研究者番号：60278281

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠ラットにフルクトースを与え、その仔を解析することで世代を超えたフルクトースの影響について解析した。母獣フルクトースラットから産まれた仔は、成長後、耐糖能異常を示すことがわかった。体重はフルクトースラットから産まれた仔の方がコントロールラットに比べ軽いことがわかった。脳はフルクトースに対して脆弱性を有するため海馬に対する影響も解析した。その結果、UCP5 mRNA量が減少していることがわかった。UCP5は海馬機能維持に重要な分子である。母獣フルクトース摂取はUCP5発現量変化を通じて、仔の海馬機能に影響を及ぼす可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Fructose is a dietary monosaccharide present naturally in fruits and vegetables. Fructose is often used as white crystalline table sugar in the form of refined sugars. The effect of maternal fructose on offspring was examined. Pregnant rats were fed with 20% fructose solution. Offspring delivered from fructose-fed dams showed impaired glucose tolerance after mature. Their weight was lower than control offspring. There are several evidences that brain function is sensitive to fructose consumption. Decreased Uncoupling protein 5 (UCP5) mRNA was observed in fructose offspring. The adverse effect of maternal fructose is mediated by the alternation of UCP5 mRNA expression. Offspring hippocampal function might be affected by maternal fructose. Now, we try to examine the adverse effect of fructose from the point of view of epigenetics.

研究分野：栄養学

キーワード：フルクトース エピジェネティクス DNAメチル化

1. 研究開始当初の背景

フルクトースは「果糖ブドウ糖溶糖」として多くの飲料の甘味料として利用され、先進国ではメタボリックシンドロームの原因として注目されている。

申請者らはこれまでにフルクトース過剰摂取により誘発するメタボリックシンドロームの発症メカニズムを研究している (Kaitagawa A, Ohta Y, Ohashi K J Pineal Res 2012)。しかしながら、発症の分子メカニズムは不明な点も多い。そこでエピジェネティックな視点からのアプローチを始めた。脂肪酸の異化代謝に関わる PPAR α と CPT1 α 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化率が上昇し、これら遺伝子の発現が低下することによりメタボリックシンドロームを発症することを明らかにした (Mol Endocrinol 投稿中) (13th Asia-Pacific Federation for Clinical Biochemistry Medicine Congress 発表済)。これらの結果はフルクトースの影響をエピジェネティックな観点から解析した初めての研究であり、過剰摂取によるメタボリックシンドローム発症の解明への大きな一歩である。

2. 研究の目的

母体の栄養環境が胎児に影響を及ぼす結果が報告されている。これまで報告されている様に、申請者はフルクトース過剰摂取の母ラットから生まれた仔は成長するに従い、耐糖能異常や脂質異常の発症を誘発することを確認した (未発表)。そこで、これまでの実験で得た「フルクトースの過剰摂取はエピジェネティックな変化を起こす」という知見より、以下の仮説を立てた。

1. 胎児の段階で過剰なフルクトースによりエピジェネティックな情報の変化が起こる。
2. その結果、疾患の素因が形成され、成人になると発症する。本研究はエピジェネティックな観点からフルクトースの過剰摂取が胎内環境を介して仔に与える将来的な影響を解析し、メタボリックシンドロームの分子メカニズムを探る事を目的とする。

3. 研究の方法

過剰フルクトース母獣から生まれた仔の表現型を解析する。

申請者は過剰フルクトースを妊娠ラットに投与し、仔を通常飼料で飼育すると、耐糖能異常や脂質異常の発症が 120 日齢で引き起される事を確認した。しかし、成長のどの段階でこの異常が観察されるかは不明である。ここでは生後から成獣になるまで経時的な変化を明らかにする。さらに、これまで測定した項目 (耐糖能、血中コレステ

ロール、血中遊離脂肪酸)に加え、メタボリックシンドロームシンドロームで変化することが知られている分子 (ディポネクチン、レプチン、TNF- α) の血中濃度を経時的に解析する。

仔の DNA のエピジェネティックな変化を調べる。

成獣ラットにフルクトースを過剰に摂取させ肝臓を解析したところ、脂肪酸の異化代謝に関わる遺伝子のプロモーター領域がメチル化されることが分かった。またその結果、これら遺伝子の発現量が減少することも見だしている (Mol Endocrinol 投稿中)。そこで本研究ではまずフルクトース過剰摂取の母獣から生まれた仔を用い、経時的にメタボリックシンドロームの表現型が観察される 120 日齢までの DNA のメチル化を解析し、mRNA 量に影響が見られるかを解析する。

4. 研究成果

世代を越えたフルクトース摂取を明らかにするために、本研究では妊娠ラットにフルクトースを摂取させ、仔に対する影響につき解析した。フルクトースを摂取させた母獣から産まれた仔は、成長後に、対糖能異常が観察された。仔の体重は通常飼料を摂取した母獣の仔よりも小さかった。これら一連の実験により母獣のフルクトース摂取は仔の表現型に影響を及ぼすことが分かった。

いくつかの論文がフルクトースの全身性の作用を示唆している。その中でも脳はフルクトースに対して脆弱性を有することから、海馬に対する影響も解析した。その結果、妊娠ラットのフルクトース摂取は、仔海馬の遺伝子発現変化をもたらすことがわかった。このことは論文として報告した (Ohashi et al (2015))。また脱共役タンパク質 (UCP5) の mRNA 量が減少していた。UCP5 は海馬機能維持に重要な分子である。母獣フルクトース摂取は UCP5 発現量変化を通じて、仔の海馬機能に影響を及ぼす可能性が考えられる。フルクトースによるエピジェネティックな作用に焦点を当て今後研究して行く予定である。(Ohashi et al (2015))。

次に、フルクトースの悪影響を惹起させる機構について解析した。ここでは副腎のコルチコステロン合成に焦点を当てた。母獣フルクトースラットの仔は(5 ヶ月)は、通常のラットに比べ有意に血中コルチコステロン濃度が高かった。コルチコステロンの合成器官である副腎の遺伝子発現を調べたところ、コルチコステロン分解酵素である

5 α -reductase, 11 β -HSD-2 mRNA 量、タンパク質量の減少がみられた。フルクトースによる悪影響にはコルチコステロン合成量の変化が関わっているかもしれない。

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9件)

1 High Fructose consumption and the epigenetics of DNA methylation Ohashi K(分担執筆)

The Handbook of Nutrition, Diet and Epigenetics 2017 刊行予定

2 Fructose intake during gestation and lactation differentially affects the expression of hippocampal neurosteroidogenic enzymes in rat offspring. Mizuno G, Munetsuna E, , , , Ohashi K (11人中11番目) Endocr Res in press (査読有り)

3 Stability of serum high-density lipoprotein-microRNAs for preanalytical conditions. Ishikawa H, Yamada H, Taromaru N, Kondo K, Nagura A, Yamazaki M, Ando Y, Munetsuna E, Suzuki K, Ohashi K, Teradaira R. Ann Clin Biochem in press (査読有り)

4 Fructose consumption induces hypomethylation of hepatic mitochondrial DNA in rats. Yamazaki M, , , , , Ohashi K (11人中11番目) Life sciences 2016 149:146-52 (査読有り)

5 The NAFLD Index: A Simple and Accurate Screening Tool for the Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Ichino N, Osakabe K, Ohashi K (16人中10番目)

6 High fructose consumption induces DNA methylation at PPAR α and CPT1A promoter regions in the rat liver Ohashi K (11人中1番目) Biochem Biophys Res Commun 2015 468:185-9

7 Longitudinal study of circulating miR-12 in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease Yamada H, Ohashi K (10人中1番目), Clin Chim Acta 2015 446:267-71

8 Effect of Dietary Vitamin E Supplementation on Liver Oxidative Damage in Rats with Water Immersion Restraint stress Ohta Y, Yashiro K, Ohashi K (7人中3番目)

9 Maternal fructose consumption alters messenger RNA expression of hippocampal StAR, PBR, P450(11 β), 11 β -HSD, and 17 β -HSD in rat offspring. Ohashi K (10人中1番目) Nutr Res 2015 35:259-64

[学会発表](計10件)

1 Kanako kondo, Hiroaki Ishikawa, Hiroya Yamada, Mirai Yamazaki, Yuri Murase, Genki Mizuno, Takeru Ota, Eiji Munetsuna, Koji Suzuki, Ryoji Teradaira, Koji Ohashi
The establishment of simpler method for measuring HDL-miRNAs
14th Assi-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Congress (APFCB 2016)

2 Genki Mizuno, Hiroya Yamada, Mirai Yamazaki, Takeru Ota, Yuri Murase, Kanako Kondo, Eiji Munetsuna, Hiroaki Ishikawa, Koji Ohashi, Koji Suzuki
Basic Study on DNA methylation analysis -Targeting Promoter Region of Cytokine Genes in Human Whole Blood
14th Assi-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Congress (APFCB 2016)

3 Yuri Murase, Eiji Munetsuna, Hiroya Yamada, Mirai Yamazaki, Kanako Kondo, Takeru Ota, Hiroaki Ishikawa, Ryoji Teradaira, Koji Suzuki, Koji Ohashi
Maternal Fructose consumption alters gene expression involved in Hepatic Glucocorticoid Metabolism in Rat Offspring. 14th Assi-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Congress (APFCB 2016)

4 水野元貴、村瀬悠理、山崎未来、近藤奏子、太田駿留、山田宏哉、宗網栄二、石川浩章、寺平良治、鈴木康司、大橋鉦二
妊娠授乳期フルクトース過剰摂取モデルにおける仔の海馬酸化ストレス状態の解析
第63回日本臨床検査医学会学術集会

5 近藤奏子、石川浩章、山崎未来、村瀬悠理、水野元貴、太田駿留、山田宏哉、宗綱栄二、鈴木康司、寺平良治、大橋鉦二
血中 HDL-miRNA 測定法の確立
第 6 3 回日本臨床検査医学会学術集会

6 山崎未来、山田宏哉、安藤嘉崇、近藤奏子、水野元貴、村瀬悠理、太田駿留、石川浩章、宗綱栄二、鈴木康司、大橋鉦二
非アルコール脂肪性肝疾患モデル動物における miR-20a, miR-27a の経時的変化
第 56 回日本臨床科学会学術集会

7 村瀬悠理、宗綱栄二、山田宏哉、山崎未来、水野元貴、近藤奏子、太田駿留、石川浩章、寺平良治、鈴木康司、大橋鉦二
母獣フルクトース過剰摂取が仔のコルチコステロン代謝に及ぼす影響
第 56 回日本臨床科学会学術集会

8 Koji Ohashi, Hiroya Yamada, Yoshitaka Ando, Eiji Munetsuna, Mirai Yamazaki, Genki Mizuno, Kanako Kondo, Hiroaki Ishikawa, Koji Suzuki, Ryoji Teradaira
High fructose consumption alters DNA methylation in rat liver 21st IFCC-EFLM EUROLAB PARIS 2015

9 Mirai Yamazaki, Koji Suzuki, Hiroya Yamada, Koji Ohashi, Naohiro Ichino, Hiroaki Ishikawa, Keisuke Osakabe, Keiko Sugimoto, Eiji Munetsuna, Genki Mizuno, Kanako Kondo, Takashi Inoue, Ryoji Teradaira
Serum levels of miR-20a and miR-27a are associated with NAFLD in a general population
21st IFCC-EFLM EUROLAB PARIS 2015

10 Hiroaki Ishikawa, Nao Taromaru, Kanako Kondo, Mirai Yamazaki, Genki Mizuno, Hiroya Yamada, Koji Suzuki, Eiji Munetsuna, Koji Ohashi, Ryoji Teradaira
Stability of HDL-miRNA for pre-analytical conditions
21st IFCC-EFLM EUROLAB PARIS 2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織
(1) 研究代表者
大橋鉦二 (Ohashi Koji)
藤田保健衛生大学・保健学研究科・教授
研究者番号：60278281

(2) 研究分担者
宗綱栄二 (Munetsuna Eiji)
藤田保健衛生大学・医学部・助教
研究者番号：30600431

(3) 連携研究者
山田宏哉 (Yamada Hiroya)
藤田保健衛生大学・医学部・助教
研究者番号：80610352

(4) 研究協力者
()