

プロジェクト名：先制医療を見据えた生殖・周産期からのアプローチー基礎研究から臨床応用への展開のための基盤の確立

目的：本プロジェクトは、超高齢社会を迎えた我が国の最重要課題の一つである難治性慢性疾患を予防するため、成人病胎児起源説 (Developmental Origin of Health and Disease, DOHaD) についてそのメカニズムを解明し、生殖・周産期からのアプローチにより先制医療を実現するための基盤を確立することを目的とする。

構成メンバー：研究代表者 佐藤憲子 分子疫学准教授

プロジェクト構成員 (教授：宮坂尚幸 (医学部・生殖機能協関学)、和泉雄一 (歯学部・歯周病学)、幸田尚 (山梨大学・生命環境学部)、講師：須藤カツ子 (東京医大・動物実験センター)、助教：今井千裕 (分子疫学)、片桐さやか (歯学部・歯周病学))

研究成果：

(1) ヒト臨床に即した周産期リスクマウスモデルの解析

(a) 母獣低タンパク質給餌モデル

妊娠マウスに低タンパク質飼料を与える DOHaD 動物実験モデルでは、生まれてきた仔動物 (低タンパク質群) は、標準的な飼育下でも長期間飼育し歳をとらせると対照群に比べて脂肪肝や糖尿病を発症しやすくなる。しかし、若齢成人期には特段の病的変化を示さないため、胎生期要因による疾患発症プロセスを追跡することが難しい。我々は、仔動物に絶食/再摂食の栄養負荷を与え、肝臓のマルチオミックス解析を行なった結果、低タンパク質群では絶食応答の一部の遺伝子発現誘導が損なわれていることを見出した。肝臓の絶食応答は、個体の恒常性維持に重要な生体応答反応であり、その減弱は疾患発症前の代謝調節障害である可能性がある。超高齢化社会である我が国では脂肪肝や糖尿病などの慢性疾患に対する胎生期環境リスクを適切に評価し、早期予防法を考案することが望まれているが、本研究結果から、疾患発症前の早期の段階では、定常状態ではなく、ストレス等に対する応答状態の変化を捉えることが、胎生期要因の影響を評価するのに有用であることが示唆された。

(b) 歯周病細菌感染モデル

歯周病細菌感染では成体マウスの糖代謝が障害されること、また妊娠マウ

スの感染により出生体重が低下することを示した。

(c) 両親高齢モデル

胚盤胞移植の場合は着床の効率が低下するが、2細胞期移植ではあまり影響を及ぼさないことを示した。また親の週齢が高いほど出生体重が重くなるという予備的結果を得た。

(2) ヒト周産期臨床データの解析

本学附属病院で TMDU 出生前コホート研究 (Birth Cohort-Gene ENvironment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST) を実施・解析した。約 100 名以上の研究協力者の同意が得られ、出産及びその後の追跡データの取得、解析は現在も推進中である。国内で行われている母子コホート研究は、多人数のスタッフでリクルート、検体管理、データ解析を手分けしている場合が多いのに対し、本プロジェクトでは、特に分子疫学と生殖機能協関学のスタッフを中心として少人数ながら、複雑な縦断的なコホート研究を遂行できた。周産期における母児エピゲノムの解析は現在推進中であるが、妊婦のエピゲノム解析について以下を発表した。

(a) 妊娠後半期の母体内生理的変化が脂質関連遺伝子の末梢血 DNA メチル化に及ぼす影響

妊娠が進行するにつれて母親の体内環境は劇的に変化する。妊婦は体重を増加させ後期にはインスリン抵抗性を呈する。また妊娠後期には代謝は同化から異化亢進に変化する。妊娠には肥満と一部共通する点があるものの、エピゲノムに与える影響は妊娠経過に伴い変化していくことが予想された。そこで、Epigenome-wide association study (EWAS) によって肥満形質関連 CpG と同定された *CPT1A* および *SREBF1* 遺伝子のイントロン部位に着目し、妊娠経過に伴いそのメチル化状態がどのように変化するかを明らかにした。その結果、妊娠中期においては肥満形質と DNA メチル化状態との関連は EWAS で示された関係とほぼ一致した。これに対し、妊娠後期においては、肥満形質と DNA メチル化状態との関係は弱められたが、唯一 *CPT1A* のメチル化と BMI の関係が逆に強められた。*CPT1A* のメチル化は白血球の組成によって影響を受けるため、我々は細胞タイプ特異的メチル化マーカーを用いて、白血球組成を推定した。その結果、白血球組成の妊娠経過に伴う変化が妊娠前 BMI と関連することがわかり、さらに *CPT1A* のメチル化と BMI の関係が後期に見かけ上強められたのは、白血球組成の変化を介したものであることがわかった。このように末梢血 DNA の脂質代謝関連遺伝子 (*CPT1A*, *SREBF1*) の DNA メチル化状態の妊娠進行に伴う変化を、代謝変化と免疫細胞変化による影響で説明できることを明らかにした。

発表業績

1. Sato N, Sudo K, Mori M, Imai C, Muramatsu M, Sugimoto M: Early gestational maternal low-protein diet diminishes hepatic response to fasting in young adult male mice. *Sci Rep.* 2017.08; 7 (1): 9812
2. Komazaki R, Katagiri S, Takahashi H, Maekawa S, Shiba T, Takeuchi Y, Kitajima Y, Ohtsu A, Udagawa S, Sasaki N, Watanabe K, Sato N, Miyasaka N, Eguchi Y, Anzai K, Izumi Y. Periodontal pathogenic bacteria, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* affect non-alcoholic fatty liver disease by altering gut microbiota and glucose metabolism. *Sci Rep.* 2017;7(1):13950.
3. Udagawa S, Katagiri S, Maekawa S, Takeuchi Y, Komazaki R, Ohtsu A, Sasaki N, Shiba T, Watanabe K, Ishihara K, Sato N, Miyasaka N, Izumi Y. Effect of *Porphyromonas gingivalis* infection in the placenta and umbilical cord in pregnant mice with low birth weight. *Acta Odontol Scand.* 2018;76(6):433-441.
4. Pavethynath S, Imai C, JIN X, Hichiwa N, Takimoto H, Okamitsu M, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Fudono A, Muramatsu M, Miyasaka N and Sato N. Metabolic and immunological shifts during mid-to-late gestation influence maternal blood methylation of *CPT1A* and *SREBF1*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20,1066.
5. 佐藤 憲子. 3章. DOHaD の基礎 : DOHaD の分子機構、産婦人科の実際. 2017. 08; 66(08); 959-966
6. 佐藤憲子. 疾患発症前段階の肝臓トランスクリプトーム・メタボローム解析 —妊娠前期低タンパク質飼料 DOHaD 動物実験- メディカル・サイエンス・ダイジェスト MSD . 2017.12; 43(12); 45-46
7. 佐藤憲子. Developmental Origin of Health and Disease(DOHaD)を理解する新時代の到来—ゲノム・エピゲノムと加齢性慢性疾患の関連性に関する新たな視点. *化学と生物.* 2018. Vol.56, No.9, page 613-620.

その他

1. Sato N. “Perinatal Immunomethylomics towards DOHaD”. 17th Surugadai

International Symposium & Joint Usage/Research Program of Medical

Research Institute International Symposium. 2018.11.19. Tokyo, Japan.

2. プレスリリース「胎生期栄養環境が肝臓の絶食応答に影響を及ぼすことを発見」—生活習慣病発症予防法の開発につながる可能性—

http://www.tmd.ac.jp/archive-tmdu/kouhou/20170831_1.pdf