

肝オステオカルシンによる肥満発生阻止機構の解明

九州大学大学院歯学研究院 OBT 研究センター
安河内 友世

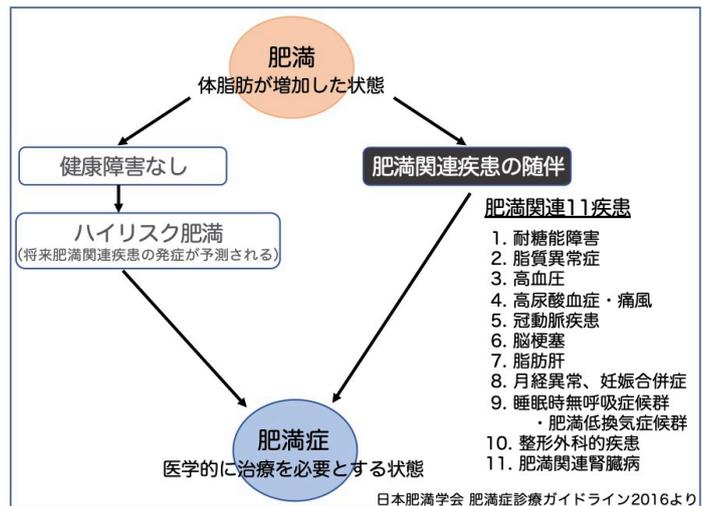
現在、世界の肥満者総数は 19 億人を超え、その数は年々増加し、合併症発症や医療費増大などの問題が生じている^(文献1)。肥満(体脂肪の増加)は数多くの生活習慣病の根源とされ、肥満関連疾患が随伴した状態は「肥満症」とよばれ、治療対象となる(図1)。しかし近年、若年者の肥満が漸増しているにも関わらず、その血中脂質プロファイルは年々改善しているという一見相反する現象が生じており^(文献2)、従来の概念で、肥満・肥満症の病態を捉えることに困難が生じ始めている。つまり、症状が顕在化している個体、およびその集団だけで病態の因果を理解することに限界がきていると言える。

2000 年代に、ゲノム DNA 配列に依らない後天的ゲノム修飾として、エピゲノムが明らかとなり、親世代が獲得した形質がエピゲノムにより子孫に引き継がれていく可能性が証明された^(文献3)。疾患素因研究としては、実際に、近年生活習慣病胎児期起源説(DOHaD: Developmental Origins of Health and Disease, 『妊娠母体の栄養状態が、次世代の生活習慣病罹患リスクを規定する』)という概念が、様々な疫学調査によって実証されつつある^(文献4)。

すなわち、現在増加の一途を辿っている生活習慣病の根本的制圧のために、成熟個体に予防・治療を施すことでは既に手遅れであり、少なくとも親世代の妊娠期(胎内環境)からの介入が必要であることを意味している。

我々は近年、動物実験によって、母親の妊娠期の過栄養が、仔の成熟後の肥満、糖・脂質代謝異常を引き起こすことを証明し^(文献5)、エピゲノム修飾のうち、細胞分裂後も安定してゲノム二重鎖に保存され、世代を越えて受け継がれていく DNA メチル化修飾^(文献6)に着目し、産仔のエネルギー代謝関連臓器における全遺伝子のプロモーター領域 CpG サイトのメチル化状態を網羅的に解析してきた。また、骨基質タンパク質であるオステオカルシン(OC)がもつエネルギー代謝の改善効果を解析する中で^(総説:文献7)、高カロリー食を摂取する妊娠母体から生まれた仔は肥満になり易いが、妊娠母体への OC 投与によって、胎盤を通過した OC がキッカケとなり、産仔の成熟後の肥満や糖・脂質代謝を改善するという DOHaD に関連する結果を得た^(文献8)(図2)。また、骨芽細胞特異的と考えられていた OC が肝臓にも存在し、母体に投与した OC が胎仔の肝 OC の持続的な強い発現レベルを維持することや、肝 OC がグリコーゲン分解酵素の発現を促し、肝グリコーゲン不足を生じさせることで、代謝の方向を脂肪組織のトリグリセリド分解へと誘導していることなどを明らかにしている^(文献9)。これらの実験結果は、妊娠母体の栄養状態が産仔の内在性 OC の発現や効果に影響することを示している。

そこで本研究では、妊娠母体の栄養状態(特に One carbon metabolism 関連アミノ酸やビタミン



【図1】肥満(体脂肪の増加)と肥満症

の過不足)、およびその栄養素によって発現が制御される内在性 OC が、どの様に糖・脂質代謝異常制御とその世代間継承に関わるかをニュートリ・エピゲノミクス (nutrition-epigenomics) の観点から解析した。

具体的には、(1) 妊娠母体の栄養状態に起因する産仔の肝 OC 発現制御およびエネルギー代謝制御異常の解析、(2) 母仔連関解析で得られた内在性 OC のエネルギー代謝制御効果の分子基盤の解析を進めた。

(1) 妊娠母体の栄養状態に起因する産仔の肝 OC 発現制御およびエネルギー代謝制御異常の解析：

まず妊娠母体の解析では、各種食餌の負荷および OC 投与を妊娠期に行い、出産以降は普通食で授乳 (24 日間) を経た (図 3)。その後、血中 OC や各種アミノ酸、ビタミン、脂質、その他代謝産物の測定を行った。産仔の解析 (胎児期) では、各種血中栄養素濃度の測定および胎盤における OC や各種栄養素の輸送体の発現解析を行った。その結果、ある種のビタミンやアミノ酸については、母体側と胎児側での血中濃度の違いが認められた。OC の胎盤通過性や母体の栄養状態に依る胎盤 OC の発現量についても検証した。産仔 (離乳後) の解析では、普通食を対照とし、高脂肪食摂取による食餌性肥満誘発実験を行った (図 3)。解析は、各群の生後 100 日目の体重・各種臓器重量、肝・脂肪組織における代謝関連遺伝子の発現解析・組織学的解析、(5) 血清および組織中の各種栄養素 (脂質、糖、OC など) の濃度、雌雄差、そして生後 24 日目 (離乳時) に行う肝と脂肪組織の DNA メチル化解析 (バイサルファイト法) および網羅的遺伝子解析 (RNAseq) などの解析を行った。それらを母体の解析結果とともに総合的に解析することによって、仔の肥満や糖・脂質代謝異常の素因に肝 OC の発現と母体の妊娠期の栄養状態が反映されている可能性の検証を行った。

その結果、母体の One carbon metabolism 関連栄養素の過不足による仔の DNA メチル化異常に起因する肝 OC 発現減少や白色脂肪重量の変化が観察され、生理的条件下で OC が糖代謝、脂質代謝の両側面からエネルギー代謝を制御していることが示唆された (未発表)。

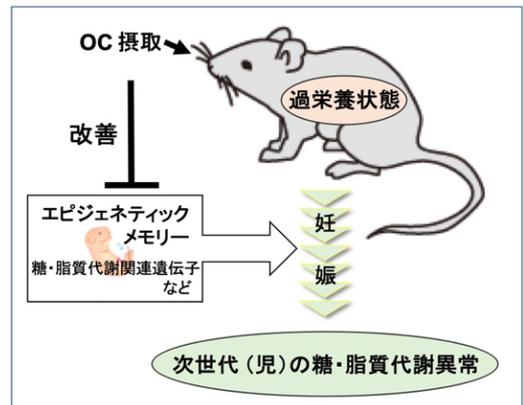
DNA メチル化修飾は、細胞分裂後も安定してゲノム二重鎖に保存され、世代を超えて受け継がれる性質をもつため、DOHaD 説を理解する上で重要な仕組みと言える一方で、環境で変化するエピゲノム修飾は、原理的に可逆性をもつことから、この肥満感受性が仔に対する DNA メチル基転移酵素阻害剤の投与によって抑制できるか検討した。しかし、当該薬物のその他の遺伝子の DNA メチル化への影響も大きく、研究期間終了後に再度の検証、あるいは使用薬品の変更の必要性が生じた。

(2) 母仔連関解析で得られた内在性 OC のエネルギー代謝制御効果の分子基盤の解析：

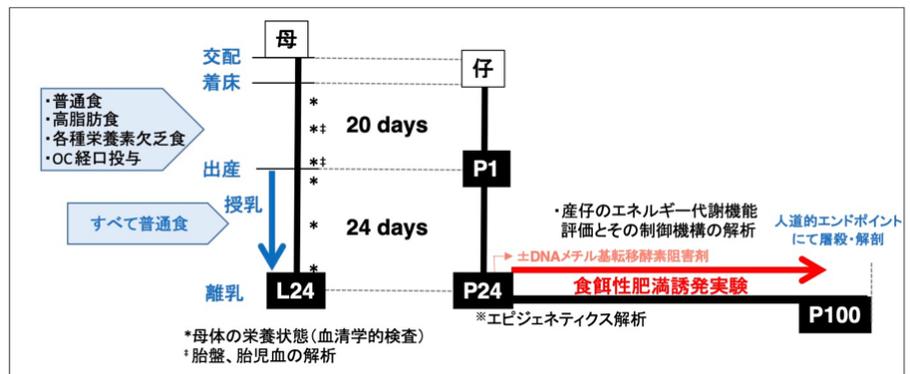
内在性 OC が、どの様に糖・脂質代謝異常制御とその世代間継承に関わるのか解明するため、前述の OC 発現制御による影響が、世代を超えない同一個体内、単一細胞レベルでも生じていることを動物実験および培養細胞を用いた *in vitro* の実験系で解析した。

その結果、肝細胞に局在する内在性 OC が、グリコーゲン分解酵素の発現誘導や脂肪分解促進作用などを直接誘導することを確認した。

以上の結果によって、妊娠母体が摂取する各種栄養素に焦点を当てて追究することで、世代を超えて存続する肥満素因や肥満症の本態を理解し、これまで肥満や糖・脂質代謝異常などの二大発生要因と考えられてきた ① 遺伝素因、② 後天的環境要因に加え、第三の要因として ③ 先天的環境要因 (胎内の栄養状態によるエピゲノム制御) の可能性を実証する挑戦を行ってきた。また、本研



(図2) メタボリックドミノの最上流は胎児期にあり、OCは胎内での負のメタボリック素因を改善する



(図3) 研究計画(母仔連関)

究結果を通じて、肥満 制圧のための先制医療にむけて、周産期の OC の意義を実証した。

DOHaD の概念は、1980 年代から、いわゆる胎児プログラミング仮説として、疫学調査の結果が相次いで報告されているが、エピゲノム異常の伝播による生活習慣病の世代間連鎖の分子メカニズムについては、ヒトで研究することは倫理的観点から不可能なこともあり、ほとんど分かっていない。そこで、我々は現在、これまでの動物や培養細胞を用いた分子基盤解析の結果を国内外の各出生コホート研究と連携することで、ヒトにおけるイベントで検証を行っている。

引用文献)

- (1) World Health Organization: Obesity and overweight (2016)
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. (2) Perak AM. *et al.* (2019) *JAMA* **321**, 1895-1905. (3) Breton CV. *et al.* (2021) *Commun Biol* **4**, 769. (4) Suzuki K. (2018) *J Dev Orig Health Dis* **9**, 266-269. (5) Kawakubo-Yasukochi T. *et al.* (2016) *Obesity* **24**, 895-907. (6) van Otterdijk SD. *et al.* (2016) *FASEB J* **30**, 2457-2465. (7) Mizokami A *et al.* (2017) *Biochem Pharmacol (Review)* **132**, 1-8; (8) Kawakubo-Yasukochi T *et al.* (2016) *Obesity* **24**, 895-907; (9) Kawakubo-Yasukochi T *et al.* (2021) *Mol Metab* 101360.