



〔第11回千葉医学会奨励賞〕

胎児期環境によるエピジェネティック変化と児の代謝性疾患

杉 田 明 穂

(2019年10月7日受付, 2019年10月11日受理, 2019年12月10日公表)

要 旨

胎内環境によるエピジェネティック変化は, 成人期の代謝性疾患の発症に影響することが知られている (Developmental Origins of Health and Disease: DOHaD説)。DOHaD説の概念は, Barkerらによる胎児プログラミング仮説を礎とし, 第二次世界大戦時にオランダ飢饉 (Dutch famine) を経験した母体と児のコホート研究などの結果を加えて発展してきた。本稿では胎内環境に影響を与えうる母体要因と胎児期メモリーについて概説する。また, 近年のコホート研究の動向と, 今後の展望・課題について述べる。

Key words: DOHaD説, 肥満関連遺伝子, 妊娠中体重増加, 臍帯DNAメチル化

I. 緒 言

子宮内の環境が児の成人期の代謝性疾患の発症に影響することが知られており, 「Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD説)」[1]として提唱されている。この機序の一つとしてエピジェネティックの関与が考えられている。先天的な塩基配列とは異なり, DNAのメチル化やヒストンのアセチル化, メチル化を例とする後天的なエピジェネティック修飾は可塑性を示す。

エピゲノムは発生初期から成人期まで変化するが, エピジェネティックな調節機序は発生初期段階ほど重要であり, Developmental plasticity [2]という概念として知られている。胎児期は可塑性が高く, 環境による変化を受けやすい時期であると考えられる。また, 初期に受けたエピジェ

ネティックな変化は数十年に渡り長期に維持されることがある[3]。本稿では, DOHaD説の元となったコホート研究を紹介し, 胎内環境に影響を与えうる母体要因と胎児期メモリーについて概説する。さらに近年の研究動向と, 今後の展望・課題について述べる。

II. DOHaD説の歴史的背景

1986年, BarkerとHanson[4]はイングランドとウェールズにおいて, 1921–1925年にかけて新生児死亡率が高い地域では, 1968–1978年にかけて心疾患による死亡率が高いことを見出した。さらに彼らは疫学的調査の各報告を集積して, 児の低出生体重は, 心疾患, 糖尿病, 高血圧の発症リスクとなりうることを示し, 「胎児プログラミン

千葉大学医学部, 千葉大学予防医学センター臨床予防医学栄養代謝医学

Akiho Sugita. Association between fetal environment-induced epigenetic alterations and adult metabolic diseases.

School of Medicine, Chiba University, Chiba 260-8670.

Department of Sustainable Health Science, Center for Preventive Medical Sciences, Chiba University, Chiba 260-0856.

Phone: 043-290-3896. Fax: 043-287-8011. E-mail: asugitaame17@chibamed.org

Received October 7, 2019, Accepted October 11, 2019, Published December 10, 2019.

グ仮説 (Barker 仮説) [5] を提唱した。

しかし、このBarker仮説では、後天的な要因や世代間の疾病リスク伝播を十分に説明できなかった。そこで、GluckmanとHanson[1]がBarker仮説を発展させて提唱したのがDOHaD説である。DOHaD説は、「受精時、胎児期や生後早期の環境要因により、その後の環境を予測した適応反応 (predictive adaptive response) が起こり、実際の出生後の環境との適合がなされない場合、相互作用で生じた成人期表現型が疾病素因となる」[1] (図1) という学説である。

DOHaD説を支持する例として、第二次世界大戦時にオランダ飢饉 (Dutch famine) を経験した母親から生まれた児の一連のコホート研究がよく知られている。母体が飢餓を経験した群では、経験していない群と比較し、兵役義務が課される19歳時に肥満の率が高かったという報告がある他[6]、58歳時に比較するとインスリン分泌が有意に低下していた[7]。

さらに、同様のコホートを用いた別の研究において、母体が飢餓を経験した群ではそうでない群と比べ、60歳時に成長ホルモンとの関連が示唆されている *insulin-like growth factor 2 (IGF2)* 遺伝子プロモーター領域のメチル化が低くなっていた[3]。その他に、代謝性疾患や心疾患に関連する遺伝子領域のメチル化についても、母体が飢餓を経験した群とそうでない群では差が生じていた[8]。

こうした報告から、DOHaD説の分子記憶機構の一つとしてDNAメチル化修飾の関与が示唆されるようになった。

Ⅲ. 栄養環境とDNAメチル化修飾

胎内栄養環境が児のエピゲノムと表現型に直接影響を及ぼすことを示した例として、viable agouti yellowマウス (アグーチマウス) の研究報告が知られている。アグーチマウスは、agouti遺伝子の転写開始上流点にトランスポゾンが挿入された変異アレル A^y を持ち、トランスポゾンのメチル化の程度に応じて毛色が黄色から黒色に変化する。2003年、WaterlandとJirtle[9]は、アグーチマウス (A^y/a) と交配した野生型妊娠マウス (a/a) に、葉酸、ビタミンB12、コリン、ベタインを与えると、 A^y アレルを持つ仔マウス (A^y/a) では A^y 遺伝子座のCpGサイトのメチル化が増加して変異アレルの発現が抑制され毛色はまだら模様～黒色を呈することを示した。

ヒトにおいても同様に、細胞内の代謝がエピゲノムの調整に影響を及ぼしていると考えられている。葉酸やビタミンB12などの栄養素はone carbon metabolismと称される代謝経路を介して、DNAやヒストンの修飾に際し、メチル基を供給している[10]。この経路は生涯、利用される。

栄養環境の調査にあたっては、ビタミン摂取量に加えて摂取カロリーや炭水化物量・脂質量・蛋

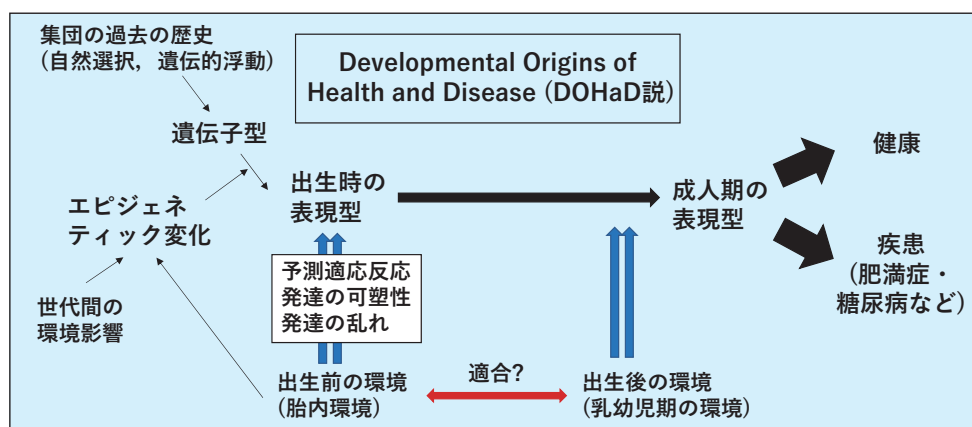


図1 Developmental Origins of Health of Disease (DOHaD) 説を示した模式図 (文献[1]より改変)。受精時、胎児期や生後早期の環境要因により、その後の環境を予測した適応反応 (predictive adaptive response) が起こる。また、実際の出生後の環境との適合がなされない場合は相互作用で生じた成人期表現型が疾病素因となる。

白質量について各々検討することが重要である。また、先進国においては児の二分脊椎の予防目的に葉酸のサプリメント摂取が推奨されており、母体と児のDNAメチル化解析にあたってはこの影響も考慮する必要がある。

IV. 母体要因と胎児期メモリー

近年、DOHaD説に基づき多数のコホート研究が世界各地で行われてきた。胎児期メモリーの形成に関与し、児の成長後の代謝に影響を与える母体要因として報告されているものは以下の通りである。

(1) 母体の妊娠時年齢

千葉県内の「千葉こども調査 (C-MACH)」において、妊娠時年齢が高いと、臍帯DNAの*H19*遺伝子領域のメチル化が低値となることが報告されている[11]。*H19*遺伝子はシルバーラッセル症候群の発症に関与するインプリンティング遺伝子で、子宮内発育遅延や児の出生後の体重との関連が考えられている[11]。

(2) 妊娠前の体格指数 (BMI)

フランスのEDEN studyにおいて、母体のBMIが15-22kg/m²の範囲内の場合においては、母体のBMIが児のBMIのZスコアと正の相関関係にあることが報告されている[12]。

(3) 母体の低栄養

イギリスのPAH studyでは、妊娠中に母親が炭水化物の摂取を制限すると、児の臍帯DNAの*retinoid X receptor alpha (RXRA)* 遺伝子領域 (Chr9: 13635585+) のCpGサイトのメチル化値が増加し、そのDNAメチル化は児の9歳時における肥満と有意に正の相関にあることが報告されている[13]。

(4) 母体の過栄養

妊娠中のラット母獣に高脂肪食を与えた場合、仔の雄ラットの視床下部における*pro-opiomelanocortin (POMC)* 遺伝子プロモーター領域の高メチル化により遺伝子発現が抑制され、肥満を惹起していることが報告されている[14]。

(5) 胎内環境汚染物質

ドイツのPOSEIDON studyでは、母体が妊娠中も喫煙している場合、児の出生体重は200g以上

低下しており、臍帯血DNAにおいては“smoking methylation pattern”と呼ばれる遺伝子座を筆頭に、13の遺伝子座における30箇所のCpGサイトのメチル化が変化していた。うち、一部は母体の喫煙に対する児の出生体重への影響を媒介していることも解析により示された[15]。

また、ドイツのLINA studyでは、尿検体から高値のビスフェノールA (BPA) が検出された母体群について、児の臍帯血DNAの*mesoderm specific transcript (MEST)* 遺伝子領域のプロモーターのメチル化が低値であり、*MEST* 遺伝子の発現が増加していることを報告している[16]。同研究では、BPAへの曝露と*MEST* 遺伝子領域のメチル化は、幼児期のBMIのZスコアと関連があることも示されている[16]。

さらに、C-MACHにおいては、母体の血清中のポリ塩化ビフェニル[17]の濃度は、児の出生体重および頭囲と負の相関関係にあることが報告されている[17]。

なお、(3)、(4)を反映する指標として母体の妊娠中体重増加量が挙げられる。

V. 今後の展望と課題

DOHaD説は、成人期の非感染性疾患 (noncommunicable diseases: NCDs) の発症の起源を胎児期のエピジェネティック変化に求めた点で画期的な学説である。前項で記述したように、DOHaD説を基にしたコホート調査によって、種々の環境要因とエピゲノムとの関連が示されてきた。しかし、胎児期メモリーが児の代謝経路に与える影響など、未だ詳細な機序が明らかになっていないことが多い。また、ヒトのコホートを用いた長期フォローアップは少なく、コホート調査の長期の継続により、DNAメチル化が児の将来に及ぼす影響を明らかにする必要がある。

従来は、代謝性疾患に関連するインプリンティング遺伝子を絞ってメチル化値を解析する手法が主流であった[18]が、近年ではDNAメチル化を網羅的に探索することができるEpigenome-wide association studies[19]が新たなエピゲノム研究手法として注目されている。2015年頃に、最も普及していたInfinium Human Methylation 450K

BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA) では、メチル化を受けるCpGサイト全体の2%しかカバーできていなかった[19]。しかし、改良が進められ、85万ヶ所以上のメチル化サイトを1塩基の解像度で定量することができるEPIC BeadChipや、さらにはゲノム全域のメチル化を対象としたバイサルファイトシーケンシングの使用が徐々に広まっている。今後も機器の進化と定量技術の向上に伴い、エピジェネティクス変化をより簡便かつ包括的に把握することが可能となるかもしれない。

現在、著者らは850KアレイのEPIC BeadChipを用いて、C-MACHの参加者を対象に、胎内環境要因と臍帯中肥満関連遺伝子のDNAメチル化との関連について解析を継続している。

VI. 結 語

胎児期や生後早期の環境要因は、エピジェネティックな変化を介して生涯にわたり児の脂質代謝や代謝性疾患の発症に影響を及ぼす可能性がある。

近年では、動物モデルの実験だけではなく世界各国のヒトコホート調査によって、胎児期メモリーの形成における母体の栄養状態や年齢、体格、ビタミン摂取・環境汚染物質への曝露の有無の重要性が明らかとなっている。

胎児期メモリーのより良い調節によって、児の代謝性疾患の予防となる先制医療の発展が可能となるかもしれない。DOHaD説に関連した一連の研究成果について、今後、妊産婦への啓発活動や実臨床への応用が進むことが期待される。

謝 辞

本稿の執筆にあたりましてご助言・ご指導賜りました森 千里先生、櫻井健一先生をはじめとする千葉大学予防医学センターの皆様には感謝申し上げます。

利益相反

著者は、この論文の内容について財務的および非財務的な利益相反を有しないことを表明する。

Abstract

Epigenetic alterations secondary to fetal environment are known to affect the onset of adult metabolic diseases. The “Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)” concept has evolved largely from epidemiological studies involving humans. This review discusses the current evidence supporting the role of DNA methylation in promoting developmental reprogramming in response to risk factors present during the fetal period.

文 献

- 1) Gluckman PD, Hanson MA. (2004) Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 305, 1733-6.
- 2) Lea AJ, Tung J, Archie EA, Alberts SC. (2017) Developmental plasticity: Bridging research in evolution and human health. *Evol Med Public Health* 2017, 162-75.
- 3) Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, Slagboom PE, et al. (2008) Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 17046-9.
- 4) Barker DJ, Osmond C. (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1, 1077-81.
- 5) Osmond C, Barker DJ. (2000) Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. *Environ Health Perspect* 108, 545-53.
- 6) Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. (1976) Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med* 295, 349-53.
- 7) de Rooij SR, Painter RC, Phillips DI, Osmond C, Michels RP, Godsland IF, Bossuyt PM, et al. (2006) Impaired insulin secretion after prenatal exposure to the Dutch famine. *Diabetes Care* 29, 1897-901.
- 8) Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, Slagboom PE, et al. (2009) DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet* 18, 4046-53.
- 9) Waterland RA, Jirtle RL. (2003) Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol* 23, 5293-300.
- 10) Dominguez-Salas P, Cox SE, Prentice AM, Hennig BJ, Moore SE. (2012) Maternal nutritional status, C(1) metabolism and offspring DNA methylation: a review of current evidence in human subjects. *Proc Nutr Soc*, 71, 154-65.
- 11) Miyaso H, Sakurai K, Takase S, Eguchi A,

- Watanabe M, Fukuoka H, Mori C. (2017) The methylation levels of the *H19* differentially methylated region in human umbilical cords reflect newborn parameters and changes by maternal environmental factors during early pregnancy. *Environ Res* 157, 1-8.
- 12) Jacota M, Forhan A, Saldanha-Gomes C, Charles, MA, Heude B. (2017) Maternal weight prior and during pregnancy and offspring's BMI and adiposity at 5-6 years in the EDEN mother-child cohort. *Pediatr Obes* 12, 320-9.
- 13) Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, Rodford J, et al. (2011) Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. *Diabetes* 60, 1528-34.
- 14) Marco A, Kisliouk T, Weller A, Meiri N. (2013) High fat diet induces hypermethylation of the hypothalamic *Pomc* promoter and obesity in post-weaning rats. *Psychoneuroendocrinology* 38, 2844-53.
- 15) Witt SH, Frank J, Gilles M, Lang M, Treutlein J, Streit F, Wolf IAC, et al. (2018) Impact on birth weight of maternal smoking throughout pregnancy mediated by DNA methylation. *BMC Genomics* 19, 290.
- 16) Junge KM, Leppert B, Jahreis S, Wissenbach DK, Feltens R, Grutzmann K, Thurmann L, et al. (2018) MEST mediates the impact of prenatal bisphenol A exposure on long-term body weight development. *Clin Epigenetics* 10, 58.
- 17) Eguchi A, Yanase K, Yamamoto M, Sakurai K, Watanabe M, Todaka E, Mori C. (2019) The relationship of maternal PCB, toxic, and essential trace element exposure levels with birth weight and head circumference in Chiba, Japan. *Environ Sci Pollut Res Int* 26, 15677-84.
- 18) Heijmans BT, Tobi EW, Lumey LH, Slagboom PE. (2009) The epigenome: archive of the prenatal environment. *Epigenetics* 4, 526-31.
- 19) Flanagan JM. (2015) Epigenome-wide association studies (EWAS): past, present, and future. *Methods Mol Biol* 1238, 51-63.
-