

妊娠期の葉酸摂取状況が次世代の健康に及ぼす影響と DNAメチル化の関与

中 田 理恵子

奈良女子大学研究院生活環境科学系 講師

(現 准教授)

緒 言

葉酸は、ヌクレオチド、アミノ酸、たんぱく質などの生体にとって重要な物質の合成に関与しており、DNA合成や細胞増殖に必須なビタミンである。その欠乏によって貧血を呈することが知られ、葉酸は古くから抗貧血因子として理解されてきた。さらに、葉酸欠乏はメチオニンの脱メチル化反応によって生じるホモシステインの上昇を引き起し¹⁾、動脈硬化症、認知症、骨粗しょう症、うつ病、糖尿病などの発症と関係していることが注目されている。また、妊娠中に葉酸が欠乏すると、新生児の神経管閉鎖障害のリスクが高まることが報告され、葉酸は妊娠中の必須のビタミンと認知されている。

一方で、日本人の食生活は近年多様化しており、若年女性においてもファストフードやインスタント食品、サプリメントの摂取過多、食文化の欧米化による動物性脂肪の摂取過多が問題となっている。さらに、食事習慣についても食事回数が増減、食事時間帯の遅延、ダイエットによるカロリー不足と栄養の偏りが指摘されている。特に、誤った体型に関する認識からの過度のやせ志向が問題視され、母性を担う時期の女性自身および出生児の健康への影響が懸念されている。我々も、女子大学生を対象にした調査から、朝食欠食が生殖機能に及ぼす影響を明らかにしている^{2,3)}。近年、妊娠前にやせ(BMI<18.5)であった女性は、低出生体重児を出産する割合が高く、日本ではその頻度が年々高くなる傾向にあるといわれている。低出生体重児は、成長期の急激な発育によって正常児に追いつくものの、成人期以降に生活習慣病を発症するリスクが高くなるという報告がある。これは、低出生体重児をはじめ低栄養曝露による子宮内発育遅延が生じると、この栄養環境が何らかの形で胎児にプログラミングされ、その後の生活習慣病などの代謝関連疾患の罹患性に影響を与えるという考え方に基

づいている。このプログラミングの仕組みとして、エピジェネティクスの関与が近年注目されている。エピジェネティクスとは、遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子発現制御のことであり、遺伝的要因だけでは説明できない生命現象の多様性や可塑性を説明するキーワードになっている。すなわち、胎児期に曝された栄養環境により代謝関連遺伝子のエピジェネティクス制御が個体ごとに調節され、その後維持されることで遺伝子発現量に個体差が生じ、成人期の肥満や生活習慣病の罹患性に影響を与えると考えられる。

エピジェネティクスによる遺伝子発現制御を担う分子機構の1つに、DNAメチル化がある。これは、ゲノムDNAのシトシン塩基に、S-アデノシルメチオニン(SAM)のメチル基が転移されて修飾を受け、その発現を調節する機構である。SAMは、生体内で主要なメチル基供与体であるが、SAMの合成には、葉酸、ビタミンB₁₂、メチオニン、コリンといった食事由来の栄養素が必須である。私たちは、葉酸の生体内機能に関する研究を長く行っており、これまでに葉酸欠乏食を摂取したラットでは、著しく肝臓SAM量が減少していることを明らかにしている。以上から、妊娠前から葉酸摂取が不足すると母親のSAM量が減少し、それが胎児のDNAメチル化に影響を与え、その後それが維持されることで代謝関連遺伝子発現に何らかの変化が生じ、出生児の代謝の反応性に影響を与える可能性が考えられた。そこで本研究では、母親の妊娠中の栄養摂取状況が次世代の代謝疾患感受性などにどのように影響を及ぼすのかを明らかにするため、葉酸欠乏モデル動物を用い、妊娠前からの葉酸欠乏が出生後の健康に及ぼす影響について、エピジェネティクスの視点から明らかにすることを目的とした。

実験方法

Wistar系雌性ラット（5週齢）を2群に分け、コントロール食（葉酸4 mg / 飼料1 kg）または葉酸欠乏食（葉酸0.08 mg / 飼料1 kg）を、4週間自由摂取させた。4週間後に、雄性ラット（Wistar系9週齢）と交配し、スメア法により妊娠を確認した。各群の母ラットは、妊娠期、授乳期を通して同じ餌を与えた。各群の出生仔は、3週齢で離乳させ、雄性仔のみを選抜してコントロール食群（葉酸4 mg / 飼料1 kg）と高脂肪食群（葉酸4 mg / 飼料1 kg）のさらに2群に分けた（図1）。この4群を8週間飼育し、11週齢にて解剖し、血液、肝臓、脂肪組織などを採取して解析を行った。

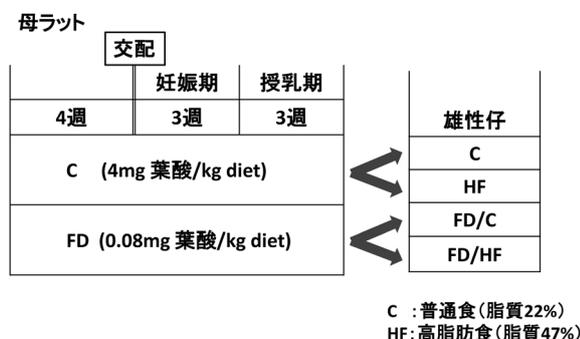


図1 実験スケジュール (n=8~9)

実験結果および考察

1. 母ラットの葉酸欠乏が仔の成長に及ぼす影響

葉酸欠乏食群（FD群）では、妊娠が成立した雌ラットのうち約50%が妊娠を維持することができず、出産に至らなかった。授乳期間の出生仔の体重変化を比較すると、妊娠が維持され出生したFD群の仔は、授乳期2週目以降の体重増加がコントロール食群（C群）よりも少なく、成長遅延が認められた。以上より、妊娠および授乳期の葉酸欠乏は、妊娠の維持や出生仔の成長に影響を与えると考えられた。

FD群およびC群の雄性仔ラットをさらに2群にわけ、C食または高脂肪（HF）食を8週間与え、体重変化を観察した。FD群の仔はC食群とHF食群のどちらにおいても、同じ餌を給餌されたC群の仔に対し、有意に低い状態で推移し、胎児期および授乳期の母ラットの葉酸欠乏の影響が、離乳後の継続している可能性が考えられた。

2. 母ラットの葉酸欠乏が仔の脂質代謝に及ぼす影響

授乳終了後、母ラットを解剖し、肝臓の葉酸量を測

定したところ、確かにFD群で有意に減少していた。さらに、肝臓のS-アデノシルメチオニン（SAM）量は、FD群で有意に減少していた。

離乳後8週間、各実験食を摂取した仔ラットを解剖し、解析を行った。肝臓の葉酸量およびSAM量は、4群間に差はなく、胎児期および授乳期に葉酸欠乏であっても、離乳後に葉酸を十分摂取していれば、仔ラットの葉酸量やSAM合成量には影響がないことと考えられた。

各群の仔ラットの組織重量（体重100 gあたり）を比較したところ、母親が葉酸欠乏であった群（FD群）では、HF食を摂取した場合、C食摂取に比べて、腹腔内白色脂肪組織重量が有意に増加していた（図2）。一方、母親が十分に葉酸を摂取していた群（C群）では、HF食を摂取しても腹腔内脂肪重量の増加は認められなかった。腎周囲白色脂肪においても同様に、FD群の仔ラットにおいてHF食負荷による重量の増加が見られた（図2）。体重100 gあたりの肝臓重量には4群間で差は認められなかったが、肝臓1 gあたりのトリグリセリド（TG）量を比較すると、FD群ではHF食を摂取させることによってTG量が有意に増加し、これはC群の仔ラットに

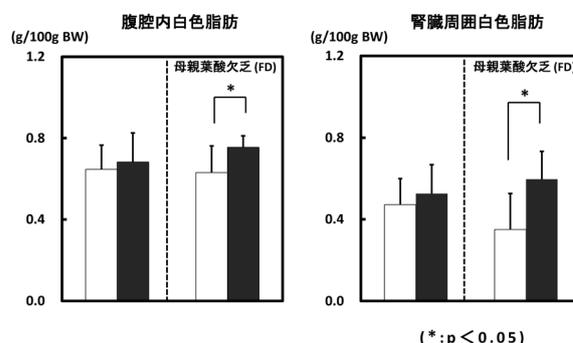


図2 母ラットの葉酸欠乏による仔の脂肪組織重量の増加

□普通食（C） ■高脂肪食（HF）

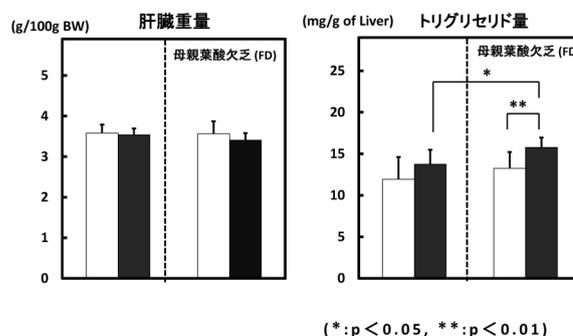


図3 母ラットの葉酸欠乏による仔の肝臓トリグリセリドの蓄積

□普通食（C） ■高脂肪食（HF）

HF食を負荷した場合よりも有意に高かった(図3)。

そこで、肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現を解析したところ、脂肪酸合成に関わる遺伝子の発現が、FD群のHF食負荷によって変動していた(現在までに2つの遺伝子の変動を見出している)。現在、これらの遺伝子の発現変動におけるDNAメチル化の関与と母ラットの肝臓SAM量の減少の関係を明らかにするため、解析を進めている。

要 約

葉酸欠乏モデル動物を用い、妊娠前からの葉酸欠乏が出生仔の成長やその後の代謝反応性に及ぼす影響について検討した。

母ラットの葉酸欠乏は、仔の成長遅延だけでなく、

高脂肪負荷により白色脂肪組織重量の増加と肝臓への脂肪蓄積を引き起すことが明らかとなった。以上の結果から、授乳期までの葉酸欠乏が、仔の将来の脂質代謝に影響を与える可能性が示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人三島海雲記念財団ならびに関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) A. Sugiyama, et al.: *J. Food Sci.* **77**, H268-H272, 2012.
- 2) T. Fujiwara, et al.: *Int. J. Food Sci. Nutr.* **60**, 23-31, 2009.
- 3) T. Fujiwara, R. Nakata: *Appetite* **55**, 714-717, 2010.