

離乳期における食事組成と肥満・糖尿病などの 代謝性疾患発症リスクに関する基礎研究

望月和樹

静岡県立大学食品栄養科学部栄養生命科学科 助教
(現 山梨大学生命環境学部地域食物科学科 准教授)

緒言

げっ歯類の離乳は、生後2週目から始まり、生後4週目には完全離乳する。そのため、哺乳期から離乳期にかけて、脂肪の多い母乳から糖質の多い固形食へ食餌組成が著しく変化する¹⁾。食餌の開始および食餌形態の変化にとともに、血中のグルココルチコイドホルモン、甲状腺ホルモンおよびインスリンなどの身体の形成や機能の発達を促すホルモンの分泌が亢進する^{2,3)}。これらの食餌およびホルモンの変化に同調して、小腸における糖の消化吸収関連遺伝子⁴⁾、肝臓および脂肪組織における脂肪酸合成関連酵素の活性および遺伝子発現^{5,6)}が増大する。これらの遺伝子は、栄養素の取り込みおよび蓄積を調節することによって組織の成熟に関与するため、組織が成熟していない段階での早期の離乳や、低栄養および過栄養などの食生活の乱れがこれら遺伝子の発現を攪乱させ、成長後の肥満・糖尿病などの代謝性疾患の発症を促進する可能性が考えられている。しかしながら、離乳期の食生活の攪乱が成長後の代謝性疾患の発症に関与するかは、ヒトだけではなく、モデル動物においても明確な根拠はない。

そこで、本研究では、ヒトにおける乳児期・幼児期・児童期の栄養の意義を探索する前段階として、げっ歯類における哺乳期・離乳期における栄養素代謝関連遺伝子の発現変動を調べ、その発現の攪乱がその後の代謝性疾患の発症と関連するかを調べることを目的とした。

方法・結果

1. 離乳期における3日間の絶食の影響

Sprague-Dawley (SD) 系ラットを生後18日目から21日目までの3日間絶食させた後に(対照群として摂食群をおく)27日目まで再摂食をさせ、哺乳・離乳移行期の肝臓および腸間膜脂肪組織を採取した。肝臓にお

ける脂肪合成関連遺伝子(FAS、ACC β)、腸間膜脂肪組織におけるFAS遺伝子およびインスリン感受性遺伝子(AdipoQ、ALBPおよびLPL)の発現が、生後13日目から27日目にかけて徐々に増大した。生後18日目からの3日間の絶食によってこれらの遺伝子の発現は顕著に低下したが、再摂食によって通常レベルにまで回復した。さらに、肝臓における糖新生関連遺伝子FBP1の発現が絶食によって増大し、再摂食によって低下した(図1A-B)。小腸では、多くの栄養素の輸送体(Slc13a2、Slc16a3、Slc28a1、Slc41a2、Abcg5、Abcg7)、 β カロテン開裂酵素(BCMO1)の遺伝子の発現が離乳後期で増大した(図1C)。

さらに、肝臓におけるFAS遺伝子および小腸におけるBCMO1遺伝子の離乳後期における発現の増大にもなって、それら遺伝子周辺におけるヒストンのアセチル化(図1D)およびヒストンH3リジン4番目(K4)のメチル化が増大した。

2. 離乳期の絶食のその後の耐糖能への影響

生後18日目から3日間絶食させたラットに標準固形飼料を19週間与え、その後高脂肪高スクロース食(エネルギー比率で脂肪64%、スクロース14%、デンプン7%)あるいは低脂肪高デンプン食(エネルギー比率で脂肪22%、デンプン58%)を投与した。投与後12週目に耐糖能試験を行い、14週目に肝臓および脂肪を採取した。その結果、高脂肪高スクロース食を投与した両群(離乳期摂食群および離乳期絶食群)では、低脂肪食を投与したそれぞれの群と比べ、体重、肝臓重量、腸間膜重量が高いとともに、耐糖能の悪化およびインスリンの分泌の亢進が観察された。また離乳期絶食群では、同じ食餌を投与した離乳期摂食群と比較して糖負荷120分後の血糖値が高く、15-30分後のインスリン値が低い傾向を示した(図2A)。さらに、低脂肪食を投

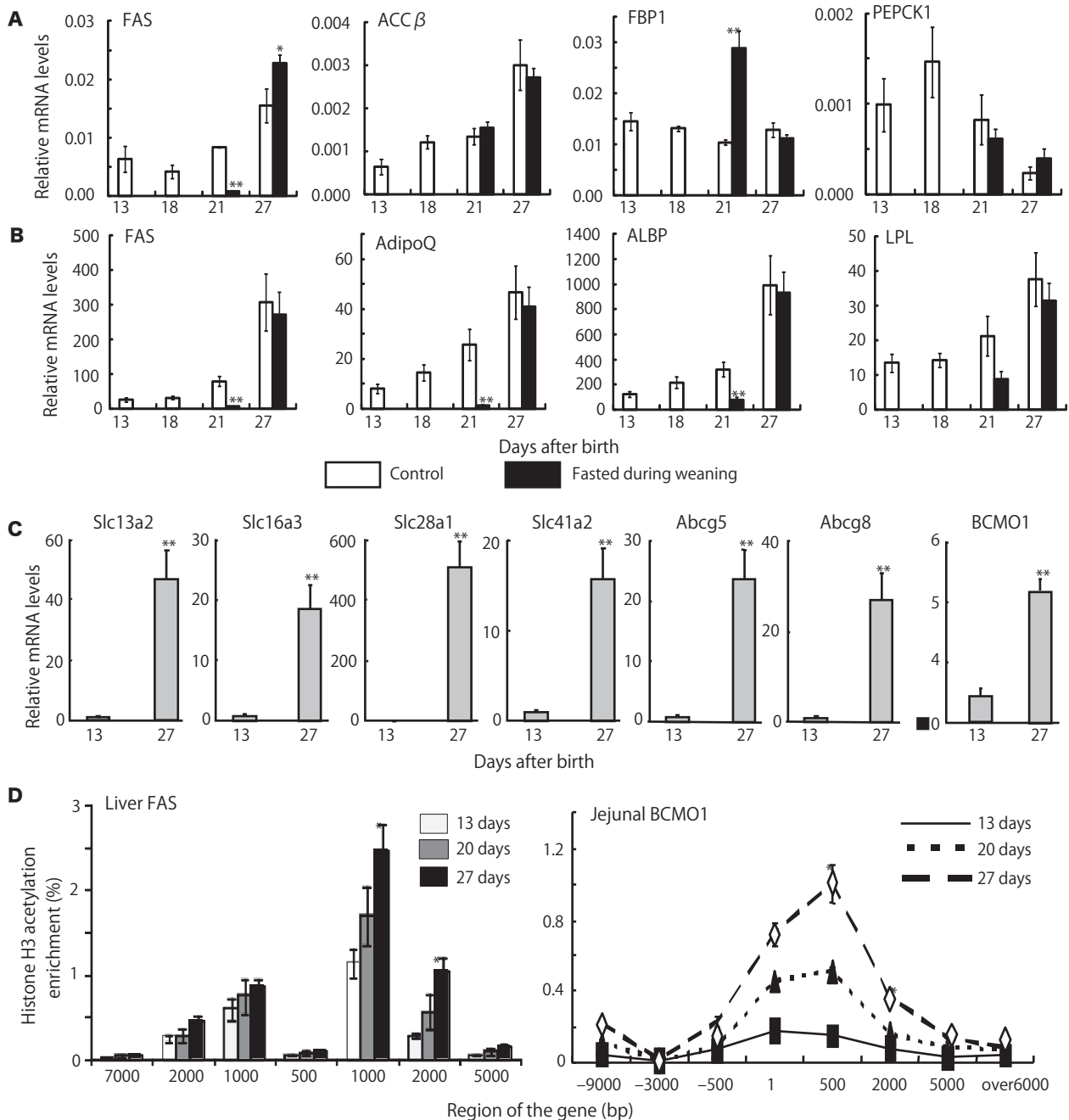


Figure 1

Changes of metabolic gene expressions (A-C) and histone acetylation (D) during suckling-weaning transient period in rats with or without fasting for 3 days from 18 days after birth. A) Liver, B) Mesenteric adipose tissue, C) Small intestine, D) Histone acetylation around FAS and BCMO1 genes. Data are expressed as means \pm standard error of the mean (SEM). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; significant different from the control group (A-B) or 13 days (C) on the respective days by student's t-test, or 13 days by Dunnett's test based on one way ANOVA (analysis of variance) (D). Abbreviations: FAS, fatty acid synthase; ACC, acetyl-CoA carboxylase; FBP, Fructose-1,6-bisphosphatase; PEPCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase; AdipoQ, adiponectin; ALBP, adipocyte lipid-binding protein; LPL, lipoprotein lipase; Slc, solute carrier family; BCMO1, β -carotene 15,15'-monooxygenase.

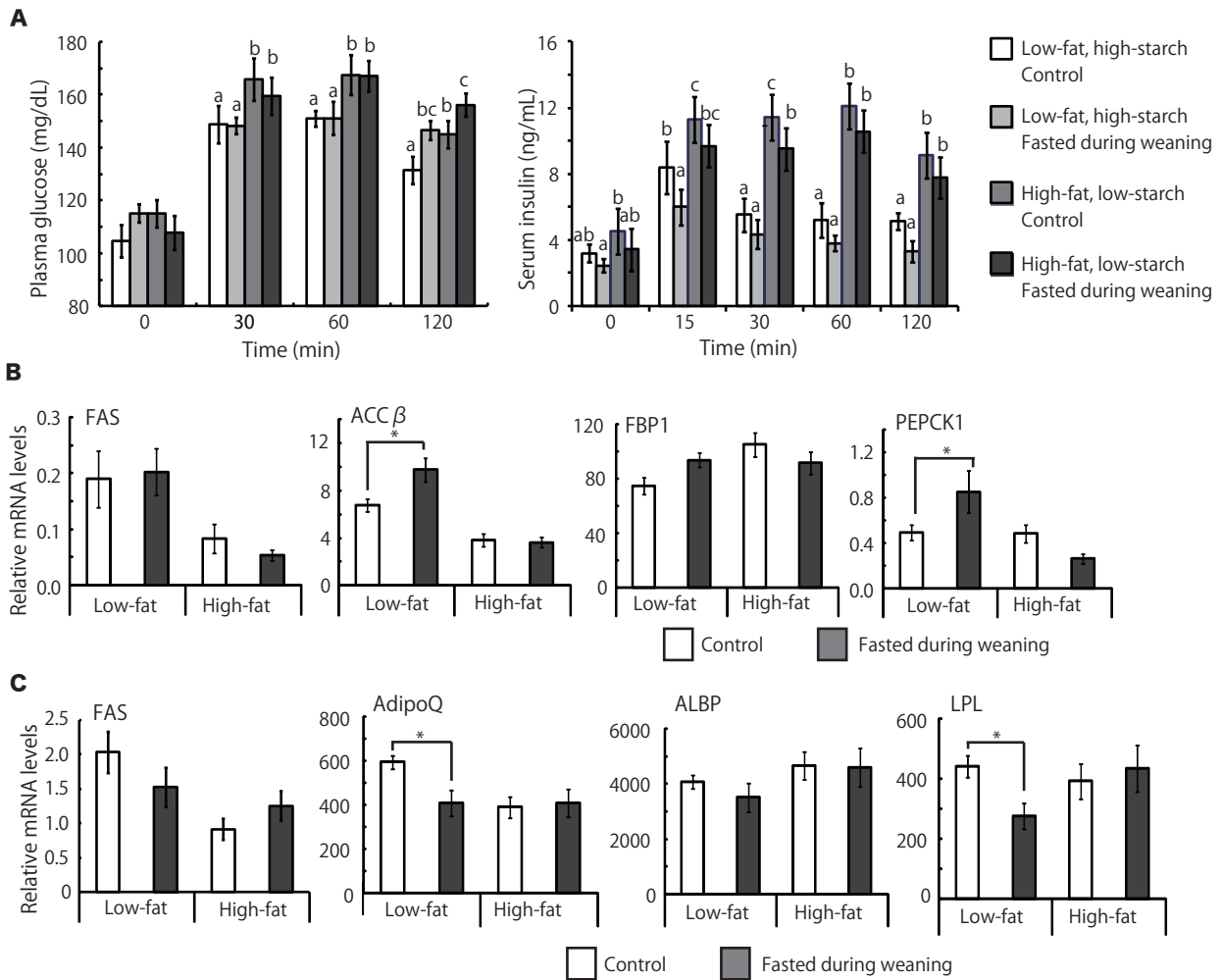


図 2

Effects of fasting during a weaning period on the blood parameters and mRNA levels of metabolic genes. A) Concentrations of plasma glucose and serum insulin. B) mRNAs in liver, C) mRNA in mesenteric adipose tissue. Data are expressed as means \pm SEM. a, b; Values not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$; Tukey's multiple range test based on one way ANOVA). * $P < 0.05$, significant different from the control group by Tukey's test based on two way ANOVA.

与した群の肝臓では、ACC α および糖新生関連遺伝子 (PEPCK1) の mRNA が、離乳期摂食群と比べ、離乳期絶食群において高かった (図 2B)。さらに、腸間膜脂肪組織では、AdipoQ および LPL の mRNA 発現量は、離乳期摂食群と比べ、離乳期絶食群において有意に低かった (図 2C)。

3. 離乳直後のラットへの高脂肪高フルクトース食投与がその後の耐糖能へ及ぼす影響

離乳直後の 5 週齢の SD 系ラットに高脂肪高フルクトース食 (エネルギー比率で脂肪 53%、フルクトース 23%、デンプン 8%) ならびに 10%フルクトース水を 22 週間摂取させた。その結果、軽度インスリン抵抗性

が発症した。この軽度インスリン抵抗性ラットを 2 群に分け、一方は高脂肪高スクロース食 (エネルギー比率で、脂肪 46%、スクロース 23%、デンプン 14%) を、もう一方には、同組成の食餌に食後高血糖を抑制する薬剤 α グルコシダーゼ阻害剤ミグリトールを添加した食餌を 22 週間投与した。軽度インスリン抵抗性が発症したラットにミグリトール添加食を投与すると体重および腸間膜脂肪組織重量の増大が抑制されるとともに、耐糖能が改善した (図 3A)。腸間膜脂肪組織における脂肪酸合成関連遺伝子 (FAS、G6PDH、ME) およびインスリン感受性遺伝子 (ALBP、LPL) の発現量がミグリトール添加食を投与することによって顕著に減少するとともに (図 3B)、FAS 遺伝子周辺のヒストン H3K4 のメチ

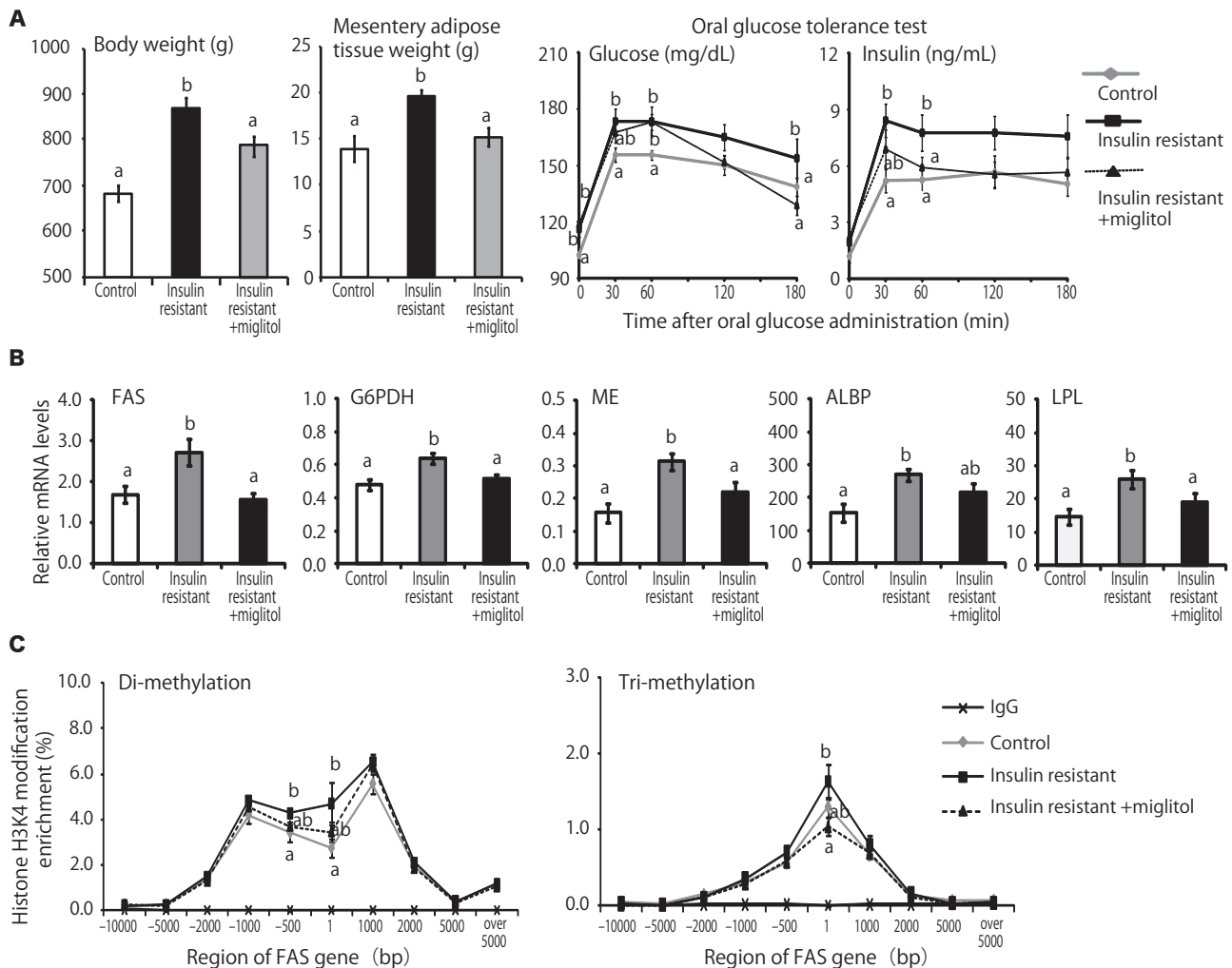


図 3

Effects of an α -glucosidase inhibitor miglitol on insulin resistance, mRNA levels of metabolic genes and histone H3K4 methylations on FAS gene. A) Changes of body weight, mesentery adipose tissue weight and concentrations of glucose and insulin on oral glucose tolerance test. B) mRNA levels of metabolic genes in mesentery adipose tissue. C) Histone H3K4 methylation around FAS gene. Data are expressed as means \pm SEM. a, b; Values not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$; Fisher's multiple range test based on one way ANOVA). Abbreviations: G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase; ME, malic enzyme.

ル化修飾が低下した (図 3C)。

考 察

本研究によって、肝臓および脂肪組織における脂肪合成関連遺伝子ならびにインスリン感受性遺伝子および、小腸の多くの栄養素の消化吸収関連遺伝子の発現が離乳に伴って増大することが明らかとなった。さらに、肝臓および脂肪組織におけるこれら遺伝子の多くは、その発現が絶食によって顕著に低下することが明らかとなった。これまでの研究によって、これらの遺伝子の発現は

高糖質食摂取で増大することが報告されている。それゆえ、哺乳 - 離乳移行期におけるこれらの遺伝子の発現増大は、離乳に伴う高糖質食の摂取の影響が大きいと考えられた。さらに、肝臓における FAS 遺伝子、小腸における BCMO1 遺伝子の発現増大にともない遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化および H3K4 のメチル化が増大することが明らかとなった。近年、我々の研究によって小腸の糖質の消化吸収関連遺伝子 (SI, MGAM および GLUT5) の糖質摂取時の発現増大時および離乳にともなう発現増大時には、それら遺伝子周辺のヒストン修飾

(ヒストン H3, H4 のアセチル化およびヒストン H3K4 のメチル化]が増大することが明らかとなった^{4,7,8)}。ヒストンのアセチル化およびヒストン H3K4 のメチル化は、転写開始複合体および転写伸長複合体をクロマチンに集合させることによって転写を増大させる。これらのヒストン修飾は、後天的にクロマチン上に記載される情報すなわちエピゲノム情報の一つである。それゆえ、離乳に伴う高糖質食の摂取というシグナルがクロマチンのヒストン修飾として蓄積し、遺伝子発現を増大させたと考えられた。さらに、本成果は、離乳期における食習慣の攪乱がエピゲノム異常を誘導し、その後の代謝異常が誘導する可能性が考えられた。

この仮説を証明するために、本研究では、離乳期の3日間絶食の後に標準固形飼料を19週間与え、その後高脂肪高スクロース食あるいは低脂肪高デンプン食を14週間投与し、肝臓、腸間膜脂肪組織の遺伝子発現と耐糖能との関連を調べた。その結果、高糖質高スクロース食を摂取した離乳期絶食群の肝臓における脂肪合成関連遺伝子および糖新生関連遺伝子の発現が高糖質食を摂取した離乳期摂食群と比較して高いとともに、腸間膜脂肪組織におけるインスリン感受性遺伝子の発現が低いことが明らかとなった。さらに、離乳期絶食群では、離乳期摂食群と比較して高脂肪食摂取群、低脂肪食摂取群とともに耐糖能の悪化およびインスリン分泌能の低下が観察された。それゆえ、離乳期の絶食シグナルが体内に蓄積することによって、肝臓における脂肪合成関連遺伝子および糖新生関連遺伝子、および腸間膜脂肪組織におけるインスリン感受性遺伝子の発現を変動させ、耐糖能が悪化した可能性が考えられた。さらに、離乳直後に高脂肪高フルクトース食を与えると、耐糖能が悪化し脂肪組織における脂肪合成関連遺伝子 (FAS など) の発現が増大することが明らかとなった。さらに食後高血糖を抑制する

と、耐糖能異常およびこれらの遺伝子の発現が正常化することが明らかとなった。特に、この FAS 遺伝子の発現変動は、同遺伝子周辺のヒストン H3K4 のメチル化修飾の変動を伴うものであった。それゆえ、離乳期・離乳直後の食習慣の攪乱は、体内に蓄積し耐糖能異常を誘導する可能性が高いと考えられた。さらに、その蓄積はヒストン修飾を介している可能性が考えられた。今後、ヒトにおいてその妥当性を調べる必要があると考えられる。

要 約

以上の結果より、離乳期・離乳直後の生活習慣は体内にエピゲノム情報として蓄積し、成長後の代謝性疾患の発症リスクを増大させる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究に対して援助をいただいた公益財団法人三島海雲記念財団に深く感謝いたします。本研究は、静岡県立大学 食品栄養科学部 栄養生理学研究室 合田敏尚教授、研究室の所属学生の協力のもとに行われたものです。ここに感謝します。

文 献

- 1) R.S. Redman and L.R. Sweney: *J Nutr.* 106, 615-626, 1976.
- 2) S.J. Henning: *Am J Physiol.* 235, E451-456, 1978.
- 3) J. Girard, et al.: *Gut.* 19, 1088, 1978.
- 4) 望月和樹, 日本栄養・食糧学会誌 . 62, 281-290, 2009.
- 5) M. Tsujikawa and S. Kimura: *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* . 26, 367-374, 1980.
- 6) V. Rousseau, et al.: *Biochem J.* 321, 451-456, 1997.
- 7) K. Mochizuki, K. et al.; *Mol Nutr Food Res.* 54, 1445-1451, 2010.
- 8) S. Yorita, et al.; *Biosci Biotechnol Biochem.* 73, 933-935, 2009.