

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成27年4月20日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立研究開発法人 国立成育医療研究センター
職 名 周産期病態研究部 室長
研究代表者 中林 一彦



下記のとおり平成26年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号:13001)

1. 共同研究課題名	子宮内成長不全の DNA メチル化解析			
2. 共同研究目的	子宮内成長不全 (IUGR) における DNA メチル化と細かな臨床像・症状を関連させた解析をおこなう。			
3. 共同研究期間	平成 26年 4月 1日 ~ 平成 27年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 中林一彦	周産期病態研究部	室長	研究研究計画・実施全般	
(分担研究者) 秦健一郎	周産期病態研究部	部長	データ解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分野	氏 名	畑田出穂

※ 次の6, 7, 8の項目は, 枠幅を自由に変更できます。但し, 6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

前年度までの畑田らとの共同研究では、マイクロアレイを用いたDNAメチル化の網羅的解析法であるMIAMI法で IUGR 群の症例と正常妊娠群を比較解析してきた。その結果、メチル化が2倍以上変化しているものを選び出したところ、IUGR 群の方がメチル化している遺伝子に際立った特徴がみられることがわかった。またこれらの傾向を個々の症例20例でいくつかの遺伝子でも Pyro Sequence などで検討したところ少なくとも、そのメチル化の変化を確認することができた。さらにこれらの中から選択した数遺伝子に関して MassArray を用いた詳細なメチル化解析をおこなうとともに、症例収集をおこなってきた。今回の課題ではその成果をうけて、さらに100症例を目標にさらに症例収集するとともに MassArray を用いて詳細な解析をおこない、細かな臨床像・症状で分類し、DNA メチル化の異常との関連を解析する(エピフェノタイプ-フェノタイプ関連解析)。

7. 共同研究の成果

【目的と背景】妊娠期・胎児期・新生児期の環境が成人期の疾患の素因として大きく影響しているという概念は、Developmental Origins of Health and Disease 学説として認知されており、モデル動物においてもその機構が徐々に解明されてきている。我々は、新生児出生体重のみではなく、妊婦の体重変化(≡子宮内環境)に着目し、ヒト胎盤のエピゲノム変化を明らかにすることを目的とした。

【方法】合併症を伴わない胎児発育不全例(FGR); 14 例と正常体重出生児 (Normal); 19 例の産後胎盤の絨毛組織を用いた。上記の 2 群をさらに、妊娠全期間の母体体重の変化を指標に 3 群にわけ、計 6 群を設けた。厚生労働省の示す妊娠全期間を通しての推奨体重増加量の値より、7 kg から 12 kg の体重増加を適正群、7kg 未満の増加を不足群、12kg より多い増加を超過群とした。各組織より抽出した DNA は、illumina 社、Infinium HumanMethylation450 BeadChip を用いて、DNA メチル化解析を行った。

【結果】群間検定を行った結果、FGR vs Normal 間の 2 群でも、母体体重の変化を加味した 6 群でも、群間で共通して変化するメチル化サイトは検出されなかった。ところが、各サンプルに含まれるメチル化値の外れ値の数を比較したところ、Normal_適正群とそれ以外の 5 群で有意な差が認められた。メチル化変動が観察されるゲノム部位を解析した結果、転写制御関連因子をコードする遺伝子のプロモータ領域における高メチル化が高頻度に行っていることが見出された。

【結論】正常体重出生児であっても、妊娠全期間の母体体重変化が適正範囲を外れると、胎盤エピゲノムに揺らぎが生じやすくなり、外れ値を示す頻度が高くなることを認めた。DNA メチル化変動部位は症例群内の全てで共通ではないが、個々の症例における外れ値を集めて評価することでメチル化変動部位における機能的共通性を抽出することに成功した。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

1. 河合智子, 安部晃生, 嘉村浩美, 山田崇弘, 赤石理奈, 水上尚典, 中林一彦, 秦健一郎: 妊婦の妊娠期体重増加量と胎盤エピゲノム変化. 第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京, 2014.5.27
2. 森田純代, 中林一彦, 河合智子, 林恵子, 堀居拓郎, 木村美香, 荒井勇二, 亀井康富, 小川佳宏, 秦健一郎, 畑田出穂: インプリンティングと肥満遺伝子の関係について. 第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京, 2014.5.27
3. 河合智子: 妊婦の妊娠期体重増加量と胎盤エピゲノム変化. 第3回日本 DOHaD 研究会学術集会, 東京, 2014.7.25
4. 副島 英伸, 畑田 出穂, 中林 一彦, 秦 健一郎, 青木 茂久, 関 博之, 竹田 省, 城 圭一郎: Small for gestational age (SGA)胎盤のゲノムワイド DNA メチル化解析. 日本人類遺伝学会 第59回大会・日本遺伝子診療学会 第21回大会, 東京, 2014.11.21
5. 中林 一彦, 河合 智子, 安部 晃生, 嘉村 浩美, 山田 崇弘, 赤石 理奈, 水上 尚典, 秦 健一郎: 妊娠中の体重増加量と胎盤エピゲノム変化. 日本人類遺伝学会 第59回大会・日本遺伝子診療学会 第21回大会, 東京, 2014.11.21