

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

令和 8年 4月30日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人 金沢大学
職 名 准教授
研究代表者 亀井 宏泰

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 25011)

1. 共同研究課題名	ゼブラフィッシュの追いつき成長モデルを用いて 神経堤細胞のエピゲノム変化に生活習慣病の潜在的成因を探る		
2. 共同研究目的	生活習慣病は健康寿命の延伸を妨げるものの一つだが、発症には様々な成因が知られる。その一つには、胎児期の成長遅滞とその後の追いつき成長の経験があり『健康と病気の発生源説: Developmental Origine of Health and Disease (DOHaD)』として知られている。本研究では、生活習慣病関連組織の形成にも深く関わる『神経堤細胞: Neural crest cells (NCCs)』に着目し、エピゲノム変化が、NCCs での追いつき成長特有の遺伝子発現と生活習慣病発症に与える影響の解明を目指す。		
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ~ 令和8年3月31日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者) 亀井 宏泰	金沢大学 理工研究域 生命理工学系	職名: 准教授 学位: 博士(農学) 取得年月日: 2005.3.31	細胞分取・実験動物の準備 生化学実験・研究の総括
(分担研究者) 服部 奈緒子	群馬大学 生体調節研究所	教授	エピゲノム解析・可視化
中川 裕斗	金沢大学大学院 自然科学研究科生命理工学専攻	大学院生	生化学実験・動物実験
佐々木 彩良	金沢大学大学院 自然科学研究科生命理工学専攻	大学院生	生化学実験・動物実験
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝システム制御	氏 名 服部 奈緒子

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

本研究では、『追いつき成長個体の NCCs の変化は将来の生活習慣病の成因の一つになりうる』と捉え、神経堤細胞 (Neural crest cells: NCCs) に生じる追いつき成長特異的なエピゲノム変化を解明する。そのために、クロマチンの弛緩と同領域への転写因子のアクセスに焦点を当てた解析を行う。即ち、これまでに見出している『追いつき成長特異的な NCCs の遺伝子変化を司る転写因子 (CREB および KLF11)』が、追いつき成長時に弛緩したクロマチンのどの領域に結合するのか、また、その下流でどの遺伝子が発現制御を受けるかを各種 NGS 解析 (ATAC-seq/Cut&Run/RNA-seq) で特定する。その後、追いつき成長個体で標的分子の働きを一時的に阻害し、後の高脂肪食給餌実験で生活習慣病の兆候となる表現型について評価する。以上より、DOHaD が NCCs のエピゲノム変化で生じることを示す。

本年度は、上記計画の礎となる『追いつき成長特異的な NCCs の遺伝子変化を司る CREB の働き』を報文にまとめることに加え、ゼブラフィッシュ NCCs の ATAC-seq 解析と RNA-seq 解析を行うことを目指した。

7. 共同研究の成果

本共同研究では、ゼブラフィッシュモデルを用いて環境酸素の低下とそれに次ぐ酸素の再供給の環境変化が NCCs の遺伝子発現やクロマチンの凝集/開放の状態に与える影響を調べた。遺伝子発現の変化は RNA-seq とそれに次ぐエンリッチメント解析により調べた。解析には NCCs 特異的に GFP を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ (*Tg(sox10:GFP)*) を用いた。

咽頭胚期の *Tg(sox10:GFP)* の胚を 12 時間だけ低酸素水 (通常水の 1/10 濃度の酸素濃度) で処理し成長遅滞を誘導する。その後、通常の酸素濃度の環境水に戻すことで追いつき成長を誘導した。追いつき成長個体 (Catch-up growth: CUG) と常時常酸素水で飼育された通常個体 (Normal: Norm) からセルソーター (金沢大学・FACS-AriaIII) で NCCs を分取し、ATAC-seq に供した。これにより追いつき成長時の NCCs (NCCs^{CUG}) に特異的なクロマチン弛緩領域の特定を試みている。

また、本共同研究に先立ち、貴研究所の服部教授と亀井は、パスウェイ解析 (Ingenuity Pathway Analysis; IPA 解析) で NCCs^{CUG} 特異的な遺伝子発現制御因子として CREB と KLF11 を同定していた。そこで、NCCs^{Norm} と NCCs^{CUG} において、CREB や KLF11、そして修飾ヒストン (H3K9ac, H3K27ac, H3K4me1/3, H3K36me3, H3K79me2, H4K16ac) の抗体を用いて ChIP-seq を行い、各転写因子や転写活性化を担うヒストンが NCCs^{CUG} 特異的に結合するゲノム領域の同定を試みている。本件度は、各種抗体を購入し種々の条件検討を進めた。

加えて、本年度は服部教授・山岸助教らに協力をいただき、NCCs^{CUG} において、CREB による遺伝子発現制御が真に支配的かどうかを確かめる目的で発現遺伝子のエンリッチメント解析 (Gene set enrichment analysis: GSEA) を行った。その結果、CREB による発現制御が認められる遺伝子が、明らかに NCCs^{Norm} と比較して NCCs^{CUG} において発現上昇遺伝子セットとして濃縮されている事が確かめられた。(上記の研究成果は、全て生体調節研究所との共同研究が貢献した内容であり、現在執筆中の報文の主要な結果の一部となる予定である。)

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお, 論文の場合は, PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文
特になし(現在執筆中)

②この共同研究に基づくとの記載のある論文
特になし(現在執筆中)

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

1) 第19回国際比較内分泌学会(ICCE19), 2025年7月8-12日, ALTERATIONS OF CELLULAR SIGNALING AND PHYSIOLOGY IN ZEBRAFISH MODEL OF CATCH-UP GROWTH INDUCED BY HYPOXIA/REOXYGENATION

2) HypoxJP 2025 (2025年低酸素研究会), 2025年9月13日, ゼブラフィッシュモデルで探る酸素の欠乏と再供給が作り出す生理状態

3) 第48回日本分子生物学会年会, 2025年12月3-5日, 一時的な低酸素ストレスと酸素の再供給で誘導される追いつき成長の分子機構: ゼブラフィッシュモデルと1個体RNA-Seq解析を用いた遺伝子発現動態の解明 The molecular mechanisms of catch-up growth induced by hypoxia / reoxygenation: analysis of gene expression dynamics by single-embryo RNA-seq in zebrafish (「プログラムされたストレス」が駆動する真核生物の成長・発生戦略 Growth and developmental strategies driven by “programmed stress” in eukaryotes)

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・論文作成のための各種データのやり取りと解析条件の相談/結果の解釈に関する議論
- ・ATAC-seq解析に向けた細胞試料の調整条件の相談
- ・研究用試料や試薬の輸送に関する日程調整等の相談