



Comparative analysis of gene expression profiles in the adipose tissue of obese adult mice with rapid infantile growth after undernourishment in utero

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2024-10-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 美沙子 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/0002000249">http://hdl.handle.net/10271/0002000249</a>

博士（医学）鈴木 美沙子

論文題目

Comparative analysis of gene expression profiles in the adipose tissue of obese adult mice with rapid infantile growth after undernourishment in utero

（子宮内低栄養の後、授乳期の急速な成長を経験した肥満成獣マウスの脂肪組織における遺伝子発現プロファイルの比較解析）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

諸家による疫学研究から、胎生期低栄養（Under Nutrition: UN）環境に引き続き、乳児期において急激な成長（Rapid infantile growth: RG）を経験すると、成人後の肥満や代謝異常といったメタボリック症候群に罹患するハイリスク群となることが知られているが、分子メカニズムは十分に解明されていない。また、申請者らの研究グループはこれまでに二次胆汁酸（Tauroursodeoxycholic acid: TU）を UN マウスの産生仔に経口投与することにより脂肪蓄積が改善する事を報告した。本研究ではマウスモデルを用いて UN 環境に引き続き、出生後の授乳期に RG を経験すること並びに TU 投与の有無により、脂肪組織において遺伝子発現の網羅的解析を行いその特異的なプロファイルを検討する事を目的とした。

〔材料ならびに方法〕

C57BL/6妊娠マウスを自由摂餌(ad libitum: AD)群と摂餌制限(caloric restriction: CR)群に分け、それぞれ正常栄養(normal nutrition: NN)群と UN (under nutrition: UN)群とした。CR群は妊娠 11.5 日から 17.5 日まで母獣の摂取カロリーを AD 群の 40%減らして給餌した。出産後すぐに 1 母獣あたりが授乳する産生仔の匹数を、NN群は 8 匹とし、UN群は 4 匹に減らすことで RG を促した。それぞれの離乳した仔マウスに 9 週齢から 16.5 週齢まで 60%の脂肪を含んだ高脂肪食(HFD)を与えた。また、11 週齢から 16.5 週齢まで、vehicle (Veh) または TU を経口投与する群に分けることにより、NN-Veh群、NN-TU群、UN-GR-Veh群、UN-TU群の 4 群に分けた。16.5 週齢で全仔の血液および精巣周囲脂肪を採取した。血液から総コレステロール、中性脂肪、HDL コレステロール、血糖値を測定した。精巣周囲脂肪組織のマイクロアレイ解析を行い、fold change のカットオフ値および p 値から変動遺伝子を抽出した。Metascape オンラインツールを使用して、遺伝子リストから 2 つの比較群 (NN-Veh vs UN-RG-Veh、UN-RG-Veh vs UN-RG-TU)におけるエンリッチメント解析を実施し、7つの興味深い遺伝子 (Gene of interest: GOI) を抽出した。また、GraphPad Prism 9 ソフトを使用して NN-Veh、UN-RG-Veh、UN-RG-TU 群の遺伝子リストにおけるヒートマップ作成および主成分分析を行った。4 群それぞれの精巣周囲脂肪において、7つの GOI 遺伝子発現を定量 PCR 法で測定し比較検討した。脂肪組織において、マクロファージ特

異的 F4/80 免疫染色を施行し、2.4 mm<sup>2</sup>あたりの平均陽性細胞数を測定して 4 群間の比較を行った。

今回の研究は浜松医科大学動物実験委員会 (承認番号: H20-014) に承認された。

#### [結果]

産生仔の平均体重は、日齢 12.5 の時点で NN 群 5.38 (±0.37) g, UN-RG 群 6.39 (±0.74) g と、離乳までは UN-RG 群の方が NN 群より有意に高値 ( $p < 0.01$ ) であったが、離乳後は同程度の成長パターンであった。HFD 給餌後の産生仔の平均体重および精巣周囲脂肪組織重量は、UN-RG-Veh が NN-Veh より有意に高値を示し、UN-RG-TU が UN-RG-Veh より有意に低値を示した。精巣周囲脂肪組織のマイクロアレイ解析から、NN-Veh vs UN-RG-Veh 比較群と UN-RG-Veh vs UN-RG-TU 比較群においてエンリッチメント解析を行い、得られた Gene ontology (GO) のうち p 値の高いものを 20 個抽出した。2 つの比較群において、Inflammatory response、Response to interferon- $\gamma$ 、Regulation of cytokine production、Cellular response to interferon- $\beta$  の 4 つの GO が共通して認められた。4GO での代表遺伝子の発現量をヒートマップに示したところ、UN-RG によって発現が増加する遺伝子は TU によって発現が減少し、逆に UN-RG によって発現が減少する遺伝子は TU によって発現が増加することが判明し、主成分分析でも同様の結果であった。4 つの GO のうち少なくとも 2 回観察され、さらに fold change  $\leq 2$  または  $\geq 2$ 、p 値  $< 0.05$  の条件を満たした 7 つの GOI (Ubd, S100a8, Saa3, Hpx, Agt, Ptgs2, Casp1) について、精巣周囲脂肪組織において定量 PCR 法による遺伝子発現の検討を行ったところ、UN-RG-Veh の産生仔は NN-Veh と比較して、Saa3、Ubd、S100a8、Hpx の遺伝子発現が有意に高値を示し、Agt の遺伝子発現は有意に低値を示した。一方、UN-RG-TU の産生仔は UN-RG-Veh と比較して Saa3、Ubd、S100a8、Hpx の遺伝子発現が有意に低値を示し、Agt と Ptgs2 の遺伝子発現が有意に高値を示した。F4/80 陽性細胞の平均数は、UN-RG-Veh 産生仔では NN-Veh よりも有意に高値を示し、UN-RG-TU 産生仔では UN-RG-Veh と比較して F4/80 陽性細胞の平均数が有意に低値を示した。

#### [考察]

胎生期低栄養 (UN) 環境に引き続き、授乳期において急激な成長 (RG) をきたすマウス動物モデルを新たに確立し、その産生仔は摂餌誘発性肥満を発症し、TU 投与により有意に改善した。マイクロアレイ解析とエンリッチメント解析により、炎症に関連した 4GO が同定された事ならびにマクロファージの免疫組織染色の変化から、発生的にプログラムされた脂肪蓄積とその TU による改善に、慢性炎症の消長が重要な寄与をしている可能性が示された。以上の研究結果は、Developmental origins of Metaflammation (DOM) との新規概念を支持するものであった。

#### [結論]

発生期の栄養環境によりプログラムされた脂肪蓄積が増悪する機序に、脂肪組織局所の慢性炎症が関与する可能性が示唆された。