〈研究論文〉

胎仔期低栄養暴露が脳の遺伝子発現に与える影響

小野由美子*1・石野知子*2

Maternal under-nutrition effects on gene expression in postnatal stage

Yumiko ONO and Tomoko ISHINO

〈抄録〉

近年、「個体発生における低栄養暴露が、成人後の代謝や生理的な機能に影響する」という胎児期のプログラミング仮説が提唱され、低栄養暴露が生活習慣病の素因となる可能性も報告されている。特にDNAメチル化は、細胞分化の制御、環境との相互作用など、多くの役割を果たしていると考えられるため、これら後天的疾患に関連する可能性がある。

本研究では胎仔期低栄養暴露が与える次世代への影響を解析するモデルとして胎仔期低栄養マウスを作製し、成体での脳における遺伝子発現変化についてDNAマイクロアレイを用いて解析した。その結果、胎仔期低栄養に暴露された個体は、コントロールマウスと比較して、脳の遺伝子発現に変化が生じた。

特に発現が増加した遺伝子の中から脳の機能と関わりが深い4遺伝子（Atf3、Egr2、Spry4、Fosb）を抽出し、DNAメチル化解析を行った。また、発現変化があった遺伝子には、前初期遺伝子群が多く含まれていることが確認できた。

Key words：胎仔期低栄養、DNAメチル化、遺伝子発現変化

Ⅰ．はじめに

近年、わが国の母子健康状態に関して問題に挙がっていることの一つに、低出生体重児（早期、満期を含めた出生時体重が2500g未満）の割合増加がある。平成22年人口動態調査データによると、低出生体重児割合の年次推移は、1975年は5.1％であったが、1990年には6.3％、2010年には9.6％まで達しており、増加傾向が続いている。これに対して、「健やか親子21」の主要課題の一つに“低出生体重児の割合の減少傾向”が掲げられた（厚生労働省,2006）。しかし、低出生体重児の割合の減少傾向という目標は、2005年の第１回中間評価、2010年の第２回中間評価においても改善が乏しく、2014年までの重点的課題として残された。

このような中、近年、胎仔期低栄養暴露という環境因子によりもたらされた低出生体重児は、胎児期に生活習慣病の素因形成を生じ、出生児が成人後に生活習慣病や精神疾患を発症する率が高いという“生活習慣病胎生期発症説”が提唱され、英国を中心に欧州で盛んに研究されている（Kyle、2006： Baker、2004）。“生活習慣病胎生期発症説”による疾患の原因は、遺伝子変異による先天的変化ではなく、遺伝子の発現に変化（エピジェネティクス変化*）が生じていると考えられている。

これらに関与していると思われる遺伝子発現の変化は、ヒトでは胎内環境との関連で直接証明されたものはわずかであるが、動物実験からそのメカニズムは、エピジェネティクス変化によることが明らかにされつつある。実際に、母体に低栄養暴露を与え、仔を低体重にしたマウスの肝臓を遺伝子解析した渡辺ら（2009）の先行研究においては、低栄養暴露マウスの肝臓の遺伝子は生活習慣病に関連した遺伝子発現が著しく変化しており、エピジェネティクスな変化があったことが明らかになっている。また、精神疾患の発症率も高いと示唆されており、動物実験による先行研究においても、胎生期に経験した胎内環境によって脳内の遺伝子発現が変化し、脳発達に影響

＊1　元東海大学健康科学研究科（Graduate School of Health Sciences, Tokai University）
＊2　東海大学健康科学部（Graduate School of Health Sciences, Tokai University）

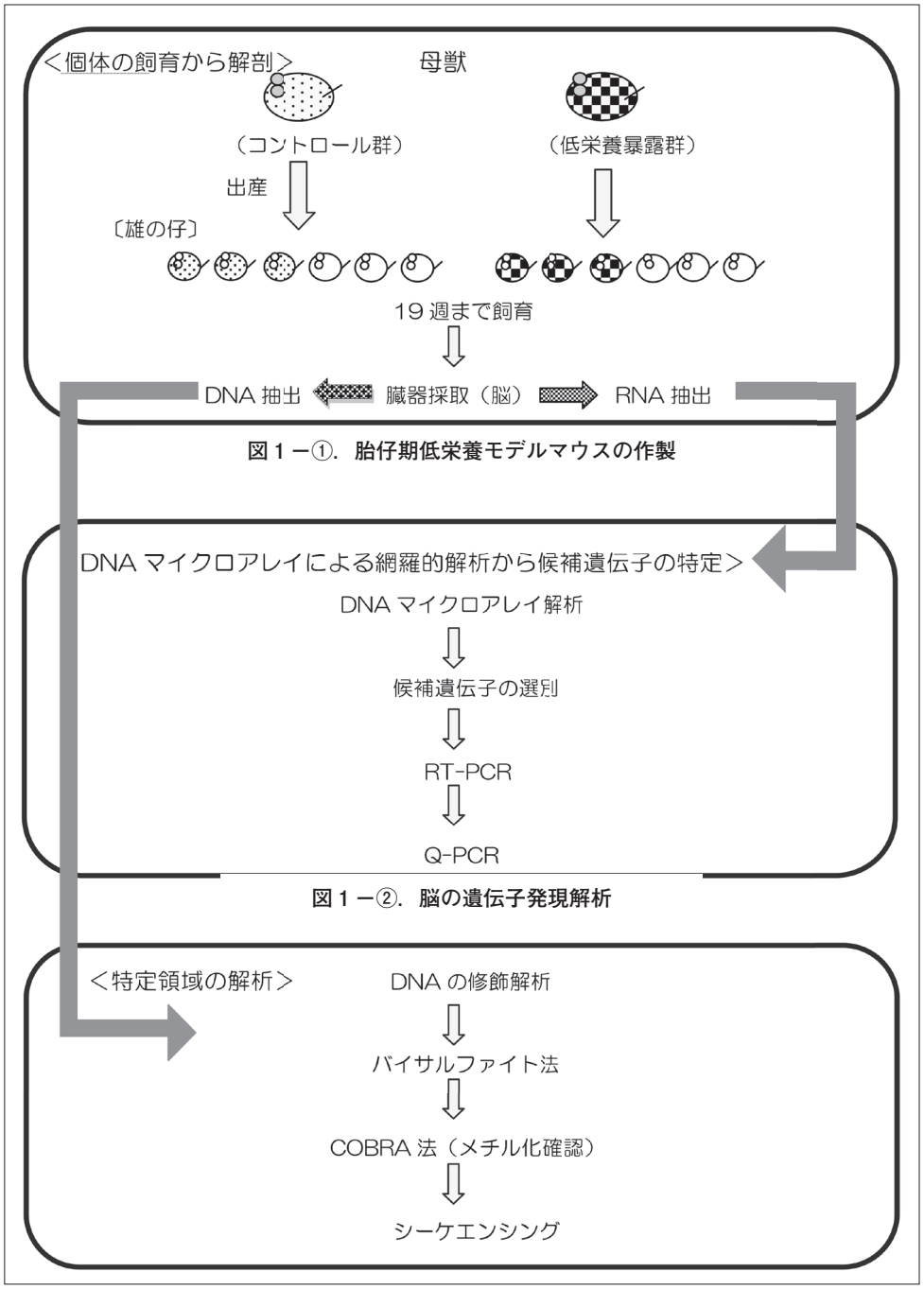

図１－①．胎仔期低栄養モデルマウスの作製

図１－②．脳の遺伝子発現解析

図１－③．遺伝子発現のメチル化解析

して精神疾患の発症につながっている可能性が考えられている（久保田、2008：前川ほか、2009）。

上記より本研究は、胎仔期に低栄養暴露を受けた仔の脳における遺伝子発現への影響の有無を検討するため、人のモデル動物として胎仔期低栄養モデルマウスを作製し、以下の２点について検証した。

①胎仔期低栄養暴露は、脳の遺伝子に発現変化が生じるか

②遺伝子に発現変化が生じていた場合、その発現変化の機構を明らかにする

本研究により得られた成果を念頭に、低出生体重児の減少に向けた健康教育の一端に貢献し、子どもが母親の胎内で十分な発育ができる環境を整えられるよう支援していきたい。

Ⅱ．研究方法

１．胎仔期低栄養モデルマウスの作成（図１－①）

実験動物は、プラグ陽性反応を受けた妊娠８日目になるC57BL/6マウス（日本SLC）の雌を15匹購入。搬入時は、環境の変化に対するストレスの影響による流産を

避ける目的で、９日までは水とCE2：日本クレア社製、マウス飼育繁殖用飼料の普通餌を制限せず自由に与えた。10日目からは、15匹を無作為に２グループに分類。低栄養暴露による死産等で生じる出生率の低下を考慮し、15匹のうち９匹を低栄養暴露群とし、残りの６匹をコントロール群とした。両群の栄養条件は、コントロール群はそれまでと同様に餌と水を制限なく自由に与え、低栄養暴露群はコントロール群が前日（24時間）に摂取した餌の70％に制限した。（摂取条件は胎仔期低栄養暴露に関する先行研究（Yura、2005：渡辺ほか、2009）において実績があるため）。また、仔の食殺を避けるため、妊娠19日目に2.5gの餌を追加した。

出生後は、生後25日目に離乳し、離乳後は１ケージにつき２匹とし、与える餌の栄養条件はコントロール、低栄養暴露群ともに制限なくCE2を与えた。サンプルには雄の個体を使用し、生後19週目に、安楽殺処分の後に各群から６個体ずつ必要な臓器“脳”を採取した。なお、マウスの妊娠期間は18～20日であり胎盤が形成される時期は８～10日である。

よって、この実験で設定した10日目からの餌制限は、妊娠の中期・末期の栄養制限に値するため、ヒトの妊娠の中・末期にあたる体重制限による低体重のモデルとなる。なお、マウスを研究に用いる利点は、ヒトと同じ哺乳類で遺伝子にホモロジー（相同性）があり、遺伝子が詳しく研究報告、解明されていること、さらに遺伝的背景が均一でありライフサイクルが短く繁殖が早いため、胎仔期低栄養暴露による次世代への影響を効率的に探ることができる点である。

以下の除外基準に当てはまるマウスは、研究に使用しないものとした。

①出生後の仔マウスの体重が、著しく低下した個体
②出生後の仔マウスの発育が、何らかの原因により遅れた個体
③１腹あたりの産仔数が２匹以下の母獣から生まれた個体

２．脳の遺伝子発現解析（図１－②）

①脳からRNAを抽出
②抽出したRNAを、DNAマイクロアレイにて網羅的に解析
遺伝子発現の解析は、student’s t-testによる２群間の比較を行い、ｐ＜0.05の遺伝子のみを抽出した。DNAマイクロアレイはWhole Mouse Geneme4×44k（G4122F）、（Agilennt　Technorogies、Inc.）を使用した。
③DNAマイクロアレイ解析結果から、コントロール群と胎仔期低栄養群の遺伝子を比較し（コントロール群の遺伝子の平均値＝１とする）、1.5倍以上に発現が増加した遺伝子と1/1.5倍に減少した遺伝子を抽出。
④平均値に大きな差が認められた（ｐ＜0.05）遺伝子の中から、脳と関連があり遺伝子の機能について報告がある上位４候補遺伝子を選別
⑤上位４候補遺伝子のRT‐PCR・Q‐PCRを実施し、DNAマイクロアレイ解析結果を検証

３．遺伝のメチル化解析（図１－③）

遺伝子発現の変化が生じる機構には、DNA塩基のメチル化による遺伝子発現の抑制と、ヒストンの化学修飾による遺伝子発現の活性化、抑制（化学修飾の種類にはメチル化、アセチル化、リン酸化がある）の２種類がある。

本研究では、平均値に大きな差が認められた（ｐ＜0.05）遺伝子について、主にDNAメチル化を検証するため、COBRA法、バイサルファイトシーケンシングを実施した。なお、各遺伝子のメチル化解析した領域は*Atf3*はF1R1、F2R2、F3R3の３領域、*Egr2*、*Fosb*、*Spry4*はF1R1である。

Ⅲ．結果

１．胎仔期低栄養暴露マウスの作製

妊娠期から出産までの低栄養暴露群の母獣の体重は、コントロール群と比較して有意に減少した（ｐ＜0.01）。母獣１匹あたりの産仔数は、コントロール群が6.4匹、低栄養群が5.8匹であり、低栄養暴露群から出征した仔の体重も、コントロール群に比べて有意に減少した（ｐ＜0.05）。離乳後から19週齢（サンプル採取時）までの飼料はCE2とし、サンプル採取時はコントロール群と低栄養暴露群の体重に有意差は認めなかった。

２．脳の遺伝子発現解析

１）DNAマイクロアレイ解析結果（表１）

コントロール群と、低栄養暴露群の脳の遺伝子発現変化におけるｔ検定の結果、有意差を認めた遺伝子は4065であった。この4065遺伝子から更にコントロール群と比較して遺伝子発現量が1.5倍以上に増加した遺伝子数は56、1/1.5倍以下に発現が減少した遺伝子数は97であった。なお、発現が増加した56遺伝子のうち25遺伝子と、発現が減少した97遺伝子のうち57遺伝子については、遺伝子名が決定しておらず、詳細が不明なため現時点では

表１　DNA マイクロアレイ解析結果

	全遺伝子数	ｐ＜0.05	U/WT 1.5＜	WT/U 1.5＜
遺伝子数	39429	4065（10.31%）	56	97

（WT：コントロール群　U：低栄養暴露群）

表２　メチル化解析した４遺伝子の機能（Atf3、Egr2、Fosb、Spry4）

ATF3（activating　transcription　factor 3）
ATF/CREB 転写因子ファミリーに属する転写因子で、種々のストレスに迅速に応答し、多くの場合、転写調節因子*として作用し、細胞増殖・分化あるいは細胞死のような多彩な細胞機能調節に関与することが知られている。その他、細胞内外の様々な刺激（熱ストレス、紫外線、X 線、虚血再灌流、薬剤、異常タンパク質蓄積など）によって誘導され、その誘導を介して別の炎症性遺伝子の発現を抑制すると報告されている[i]。 ＊転写調節因子とは、遺伝子の転写レベルが必要に応じて転写反応を促進、あるいは制御するタンパク質因子で、数百種類もの遺伝子が同定されている。これらが細胞内で複雑なネットワークを形成し、膨大な数の遺伝子発現を巧妙に制御している(早坂,2001)。
FosB（FBJ osteosarcoma oncogene b）
FosB は、ノックアウトマウス*により養育行動異常をきたす分子として 1996 年に報告された遺伝子であり脳内養育行動中枢である視床下部内側視索前野のニューロンにある転写因子である。養育期には *FosB* が誘導されて転写活性が上昇すると言われており、ラットやマウスでこの部分を外科的に破壊すると養育行動が消失、さらに *FosB* ノックアウトマウスは養育行動に異常があることが報告されている(Okuno,2012)。
Spry4（sprouty homolog 4）
Spry4 は胚性幹（ES）細胞、脳、膵島、大腸癌、頭頸部腫瘍、メラノーマ、膵臓癌において発現があり、増殖細胞の増殖刺激につながると報告されており、*Spry4* 遺伝子の機能喪失型変異は発癌につながる可能性があると言われている(村上ほか,2010)。
Egr2（Early growth response 2）
Egr2 は転写調節因子であり、末梢神経では髄鞘形成開始、Po 蛋白*や Myelinbasicprotein の発現などシュワン細胞の分化に関与していると考えられている。また、*Egr2* ノックアウトマウスでは、菱脳の分節生涯、骨形成障害、抹消ミエリン形成障害が認められ、Charcot-Marie-Tooth 病、Dejerine-Sottas や Conenital hypomyelination の病の症例においても、*Egr2* 遺伝子変異が確認されている(掘家,2011)。

＊ノックアウトマウス：標的遺伝子破壊マウスともいう。人為的に標的とする遺伝子が破壊された突然変異マウスのこと（分子細胞生物学辞典）。

＊Po 蛋白とは抹消ミエリンにおいて最も含有量の多いタンパク質（分子細胞生物学辞典）。

表３　発現が増加し、脳と関連がある遺伝子

↗：発現が上昇した遺伝子　↘：発現が減少した遺伝子

遺伝子シンボル	遺伝子名
Arc ↗	Activity-regulated Cytoskelet on-Associated Protein
*Atf3** ↗	activating transctiputionfactor3
*Egr2** ↗	early growth response2
Egr4 ↗	early growth response4
*Fosb** ↗	v-fos fbjmurine Osteosarc Oma Viral Onc homolog b
*Junb** ↗	Jun-b oncogene
Maff ↗	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)
Spry4 ↗	sprouty homolog 4
Reck ↘	reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs
Ube3a ↘	ubiquitin protein ligase E3A

*RT-PCR、Q-PCR で発現量を検証した遺伝子

分析から外した。

1.5倍以上に発現量が増加した遺伝子には、脳の発生や構造、機能と関連がある遺伝子が多く含まれていた。RT-PCR、Q-PCR の手法上、解析できる遺伝子数を特定する必要があったため、1.5倍以上に発現量が増加した31遺伝子中、脳との関連があり、且つ有意差が認められた遺伝子から上位４遺伝子（*Atf3*、*Egr2*、*Fosb*、*Spry4*）を特定し、DNA マイクロアレイ結果の確認解析を進めた。

この４遺伝子のうち、*Atf3*、Egr2の脳における主な機能は、細胞内で複雑なネットワークを形成し、膨大な数の遺伝子発現を巧妙に制御している転写調節因子である。その他 *Fosb* は、養育行動異常をきたす分子として1996年に報告された遺伝子、*Spry4*は、機能喪失型変異により発癌につながると報告がある遺伝子である（表２）。発現が増加した上位４遺伝子以外で、脳と関連がある遺伝子を表３へ示す。

２）*Atf3*、*Egr2*、*Fosb*、*Spry4*に関する RT － PCR 、Q － PCR

RT － PCR 、Q － PCR（図２）共に、低栄養暴露群の遺伝子はコントロール群と比較して、発現量が増加したことが明らかとなった。Atf3、Egr2は t 検定においても有意差があり、DNA マイクロアレイ解析と同様の結果が得られたことから、低栄養暴露群とコントロール群間の発現量に差があることが、定量的にも証明された。Fosb、Spry4は DNA マイクロアレイ解析と同様、低栄養暴露群の発現量が上昇する結果であったが、群内の個体差のため t 検定での有意差はなかった。

３．遺伝子のメチル化解析

１）COBRA 法

４遺伝子のうち *Fosb* と *Spry4*は、今回の制限酵素のサイトに関しては、メチル化に差がない可能性が高かった。Egr2は、メチル化されていない DNA が混在していることが分かったが、コントロール群と、低栄養暴露群のメチル化の差は不明であった。*Atf3*に関してもメチル化を受けている可能性があったが、コントロール群と低栄養暴露群間のメチル化の差は不明であった。

２）バイサルファイトシーケンシング

COBRA 法にて、*Fosb* と *Spry4*はメチル化には差が無い可能性が高い結果となったため、メチル化の可能性があった*Atf3*と *Egr2*の２遺伝子について、DNA メチル化解析（バイサルファイトシーケンシング）を行った。*Atf3*のメチル化を調べた３領域のうち、F1R1、F2R2に関しては、コントロール群と低栄養暴露群のメチル化率に有意差は認めなかった。F3R3はメチル化されていたが、コントロール群と低栄養暴露群のメチル化率に有意差は認めなかった。

*Egr2*に関しては、コントロール群と低栄養暴露群のプロモーターと推定した領域におけるメチル化率に有意差は認めなかった。各遺伝子のプロモーターを示した遺伝子構造図を図３に示す。

以上から、*Egr2*、*Atf3*遺伝子ともに、２群間における DNA メチル化の差異は認められなかった。

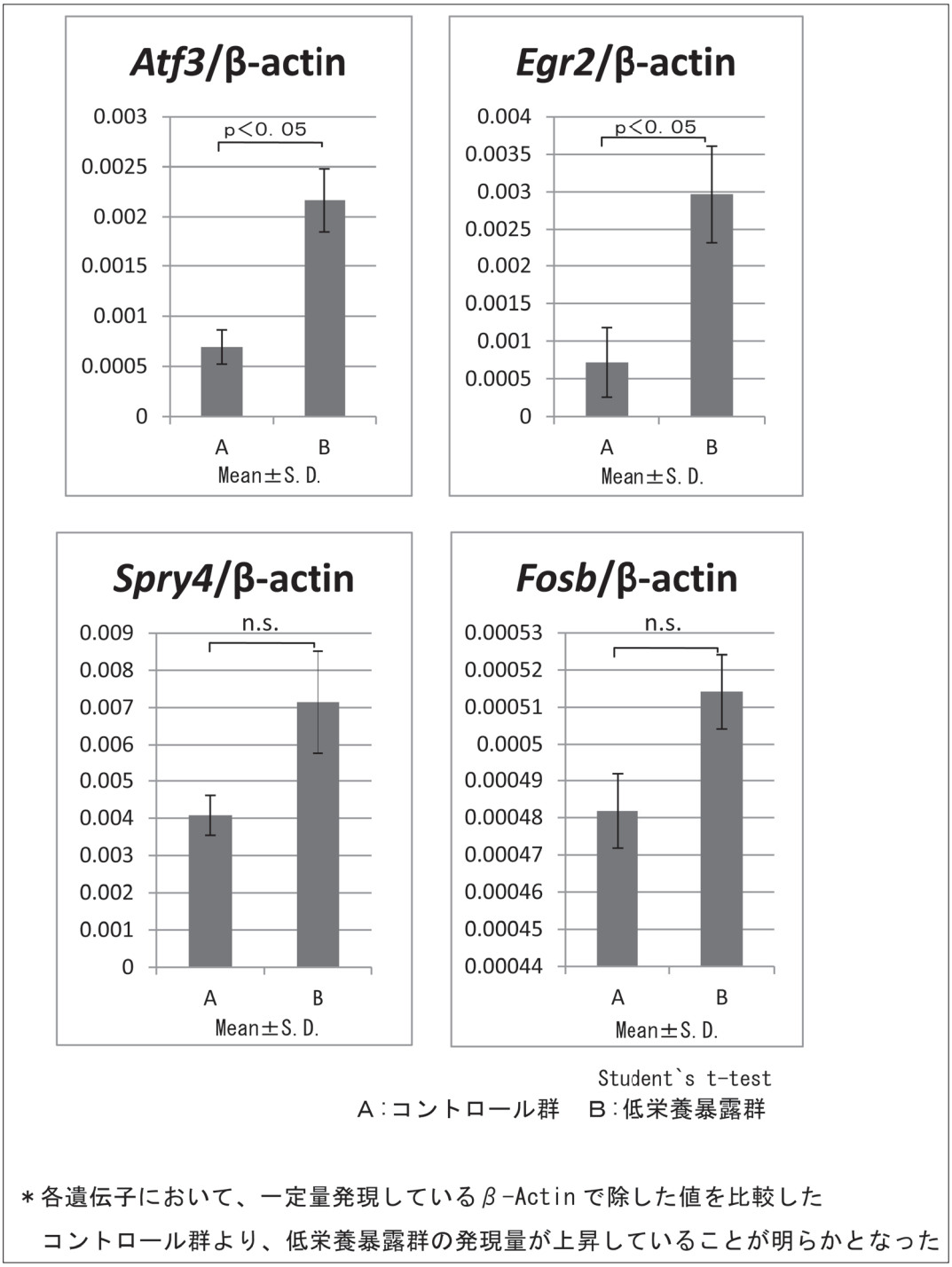
Atf3/β-actin
p<0.05
0.003
0.0025
0.002
0.0015
0.001
0.0005
0
A
B
Mean±S.D.
Egr2/β-actin
p<0.05
0.004
0.0035
0.003
0.0025
0.002
0.0015
0.001
0.0005
0
A
B
Mean±S.D.
Spry4/β-actin
n.s.
0.009
0.008
0.007
0.006
0.005
0.004
0.003
0.002
0.001
0
A
B
Mean±S.D.
Fosb/β-actin
n.s.
0.00053
0.00052
0.00051
0.0005
0.00049
0.00048
0.00047
0.00046
0.00045
0.00044
A
B
Mean±S.D.
Student`s t-test
A：コントロール群　B：低栄養暴露群
＊各遺伝子において、一定量発現しているβ-Actinで除した値を比較した
コントロール群より、低栄養暴露群の発現量が上昇していることが明らかとなった

図２　Q-PCR

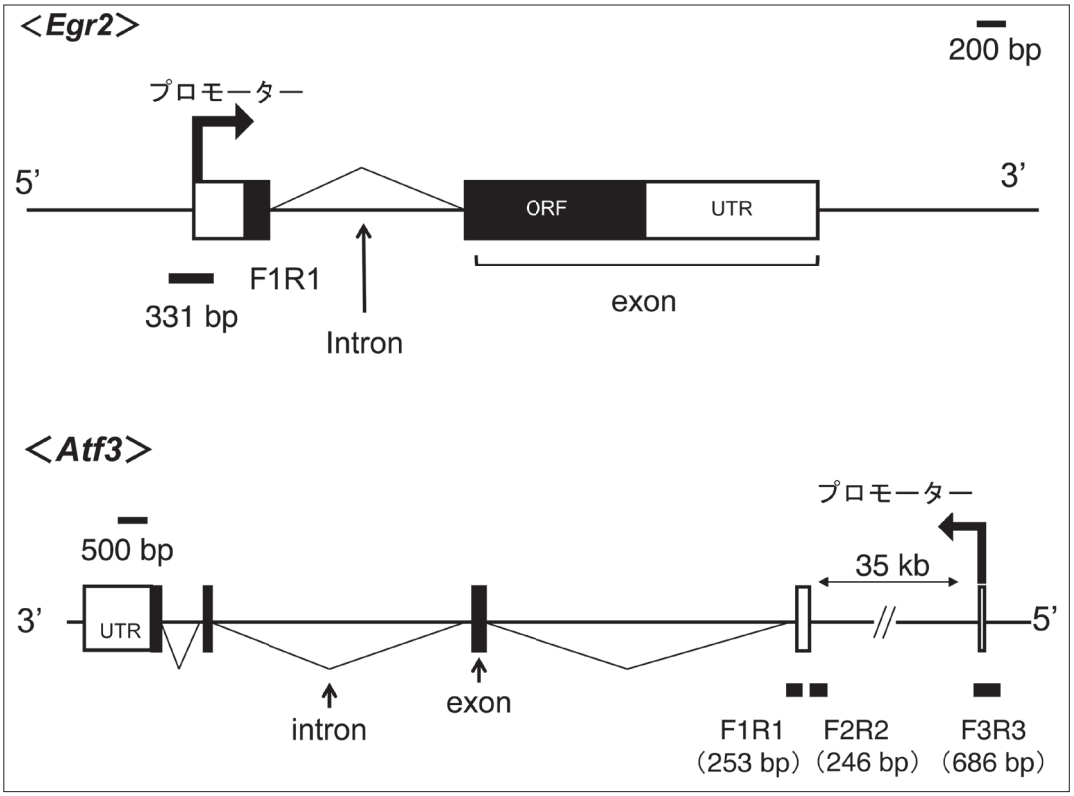

図３　*Egr2*、*Atf3*の遺伝子構造図

Ⅳ．考察

１．脳の遺伝子発現解析

生活習慣病の研究では胎児プログラミング現象におけるエピジェネティクスの関与が、渡辺ら（2009）による先行研究からも明確になりつつあり、このメカニズムが精神疾患にも関与していることが示唆されている。そして、死後脳においては、妊娠期に低栄養を経験した母親の子は、妊娠期間中の成長促進ホルモンとして機能する遺伝子 *IGF2*の DNA メチル化が低下しており、この遺伝子の低メチル化と脳重が小さいことと有意に相関していることが見いだされた（Molecular Psychiatry、2010）。よって脳は、渡辺らの報告にある肝臓の遺伝子発現変化と比較して、変化した遺伝子量こそ少ないが、その遺伝子の機能によっては脳の発達等に関連する可能性がある。そのため、変化した個々の遺伝子についての解析が必要と考え、脳における遺伝子発現制御について検証した。

低栄養暴露群における *Atf3*、*Egr2*、*Fosb*、*Spry4*遺伝子の発現量は、RT － PCR、Q － PCR の結果から、増加していることが明らかとなったため、DNA マイクロアレイ解析との整合性が証明されたと考える。したがって、この４遺伝子は、発現量上昇の機構を追求する実験、DNA メチル化解析を行うに値する遺伝子と考えた。

２．遺伝子のメチル化解析（バイサルファイトシーケンシング）

遺伝子にはシトシン（C）とグアニン（G）が並ぶ２塩基配列（CpG）の密度が高い CpG アイランドがプロモーター領域に存在することが知られており、DNA メチル化はそのプロモーター領域で高率に修飾される。

本研究においては、*Egr2*、*Atf3*遺伝子ともに、２群間における DNA メチル化の差異は認めなかった。ここで、各々をメチル化解析した領域について妥当性を検討してみる。*Egr2*、*Atf3*のプライマーは、先行研究（Unoki et al、2003： Miyazaki et al、2009： Pascual et al、2012： Wang et al、2006）を参考に CpG アイランドが密集している個所に焦点をあて作製した。しかし、遺伝子の塩基配列情報からのみ、プロモーターをはじめとする遺伝子調節領域を確実に決定することは困難であり、その CpG アイランドが各遺伝子のプロモーターか否かは不確定である。よって、今回解析対象とした CpG アイランド領域とは異なる領域で、メチル化が生じている可能性があることから、これらの遺伝子発現増加のメカニズムに、DNA メチル化が無関係とは断定できないと考える。

また、遺伝子発現変化のメカニズムは、DNA メチル化のみではなく、DNA を取り巻くタンパク質であるヒストンの修飾、もしくはアセチル化、リン酸化による可能性もある。DNA メチル化以外のヒストンの修飾を検証するためには、DNA と共にヒストンタンパク質を回収することが必要である。よって、今回 DNA メチル化解析をするためにタンパク質除去を行ったサンプルでは、ヒストンの修飾解析は不可能であったため、DNA メチル化以外の遺伝子発現変化の機構を明らかにはできなかった。

3. 発現量が増加した遺伝子とその機能と、脳との関連性について

Atf3、*Egr2*、*Fosb*、*Spry4*の 4 遺伝子に関しては、コントロール群と低栄養暴露群の間の DNA メチル化率に差はなかったことから、遺伝子発現変化のメカニズムは明確にできてはいない。しかし、遺伝子の発現が上昇したことは事実である。そして、メチル化解析した*Atf3*や*Egr2*は、遺伝子に結合し、その下流遺伝子のスイッチをオン・オフする役割を担う転写調節因子であることが分かった。この遺伝子の発現が増加（低メチル化）した事によって、脳がどのような影響を受けるのかは不明である。しかし、同様に、脳形成に関わる転写調節遺伝子、*Pax6*遺伝子に関する報告（大隅、1999）では、*Pax6*遺伝子の下流遺伝子群である約20の候補遺伝子は、*Pax6*遺伝子が変化することにより、これらの候補遺伝子にも影響があると述べられている。このことから、転写調節因子である*Atf3*や*Egr2*の発現変化が意味することは、単にこの２遺伝子の変化に留まらず、その下流の遺伝子にも影響を与える可能性があることが推測される。

この他、増減があった遺伝子のうち、脳との関連が示唆されている遺伝子リスト（表３）から読み取れることは、中枢神経における神経活動の指標として汎用されている前初期遺伝子群が多く含まれていることである。前初期遺伝子群を大別すると、*fos* ファミリー遺伝子群（*c-fos*、*fos-B*、*fra-1*、*fra-2*）、*jun* ファミリー遺伝子群（*c-jun*、*junB*、*junD*）、*zinc* ファミリー遺伝子群（*zif/268*、*egr-1*、*Krox-24*）、およびステロイド受容体と相同性が高い遺伝子群（*nur/77*）がある（上田、2005）。本研究結果からは fos ファミリー遺伝子群（*fos-b*）と *jun* ファミリー遺伝子群（*junb*）、*zinc* ファミリー遺伝子群（*egr2, 4*）に含まれる遺伝子の発現変化が確認された。

この前初期遺伝子群とは、即時型遺伝子ともいい、細胞増殖因子やホルモン、神経伝達物質などの外界刺激に応答して一過性に発現が誘導される遺伝子の一群で、他の遺伝子を誘導する転写因子などをコードしている遺伝子として働く（分子細胞生物学辞典、第２版）。つまり、細胞が種々の刺激（成長因子、ペプチドホルモン、ストレス等）を受けると一過性に、極めて早期に誘導され、他の遺伝子の発現を抑制する遺伝子である。

以上から、外部からの刺激にいち早く反応する、前初期遺伝子の発現変化が特徴として表れたことは、胎仔期低栄養暴露により外界刺激に対して過剰反応または、過少反応に傾く素地が形成される可能性が考えられた。

＊転写調節因子：遺伝子の転写レベルが必要に応じて転写反応を促進、あるいは制御するタンパク質因子。数百種類もの遺伝子が同定されているが、これらが細胞内で複雑なネットワークを形成し、膨大な数の遺伝子発現を巧妙に制御している（分子細胞生物学辞典、第２版）。

Ⅴ．結論

１．胎仔期低栄養暴露は、10.3% の脳の遺伝子発現に影響を与えたことが明らかになったが、精神疾患に関する遺伝子に、著しい発現変化は認めなかった。

２．胎仔期低栄養暴露は、転写調節因子や前初期遺伝子群と報告されている遺伝子の発現に、影響を与えることが明らかとなった。このことから、胎仔期に低栄養に晒された脳の遺伝子は、疾患に直結せずとも様々な刺激に対し、脆弱に傾く素地が形成される可能性が考えられた。

Ⅵ．研究の限界

本研究は、以下に示す限界がある。

１．胎仔期低栄養暴露モデルマウスの作製にあたって、仔マウスの死亡（食殺）などにより１度に理想の n 数を得ることや、ヒトの低出生体重に値する減少率にコントロールすることが困難であった。

２．遺伝子発現の変化を生じる機構には、今回検証した DNA メチル化の他に、ヒストン化学修飾による遺伝子発現の活性化、抑制がある。しかし、DNA メチル化を検証するために DNA を精製し、ヒストンを含むタンパク質を除去する必要があったため、ヒストン化学修飾に関する遺伝子発現変化の検証は不可能であった。

３．本研究結果は、モデル動物によるものである。このモデルマウスで見られた変化がヒトで同様に生じて

いるとは必ずしも言えない可能性がある。

これらの内容を実証していくためには、疫学的、実験的、臨床的側面からの研究の発展を行う必要があると考える。

Ⅶ. 終わりに

本研究結果から、胎仔期の低栄養暴露により脳の遺伝子発現が影響を受けたことで、疾患に直結せずとも、様々な刺激に対し脆弱に傾く可能性が考えられた。医療従事者は、これらのリスクを認識し、妊婦が過度に体重を抑制する必要はなく、しかし、体重が増えないことにこだわり過ぎずに、体重に関するストレスを最小限に至適体重を維持できる環境を整えることが重要だと考える。

参考文献

Baker DJ. (2004): The developmental origins of well-being. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 359: pp.1359-66

早坂清（2001）: 神経相互接着ダイナミックスの異常，脳21，4，pp.147-150

堀家真一（2011）：発達障害スペクトラムの原因遺伝子機能からとらえる発症機序の多角的解析 . 第一三共生命科学研究振興財団研究報告集，27，pp.205-214

厚生労働省（2006）：食を通じた妊産婦の健康支援方策研究会．妊産婦のための食生活指針「健やか親子21」推進検討会報告書

久保田健夫（2008）：精神発達障害疾患におけるエピジェネティック異常．医学のあゆみ，225，pp.570-573

Kyle UG, Pichard C.（2006）：The Dutch Famine of 1944-1945 a pathophysiological model of long-term consequence of wasting disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 9, pp.388-394

前川素子，大隅典子（2009）：発達期（特に胎児期）の低栄養が精神機能に与える影響．日本医事新報，4441，pp.39-43

Miyazaki Keisuke, Shoko Inoue, Kazuhiko Yamada, et al. (2009): Differential usage of alternate promotres of the human stress response gene *ATF3* in stress response and cancer cells. Nucleic Acids Research, pp 1-14

Molecular Psychiatry（2010）: Brain weight in males is correlated with DNA methylation at *IGF2*. Publishued online, 15, pp.880-882

村上孝壽，小野和哉，大内啓史他（2010）：隔離飼育マウスの潜在学習障害及び脳組織 EGR 変化とそれに対する社会復帰．日本薬理雑誌，135，pp.3

Okuno Hiroyuki, H Bito aruhiko（2012）: Inverse Synaptic Tagging of Inactive Synapses via Dynamic Interaction of Arc/Arg3.1 with CaMKII β . CELL, 149, pp.886-898

大隅典子（1999）: Pax6による神経発生の制御．細胞工学，18，pp.1838-1845

Pascual Maria, Bruno R. Docouto, Silvia Alfonso-Loeches, et al.(2012): Changes in histon acetylation in the perfrontal cortex of sthanol-exposed adolescent rats are associated with ethanol-induced place conditioning. Neuropharmacology, 62, pp 2309-2319

上田陽一（2005）：ストレスが変える視床下部の遺伝子．日本薬理雑誌，126，pp.179-183

Unoki Motoko , Yusuke Nakamura.（2003）: Methylation at CpG Islams in intron 1 of *EGR2* confers enhancer-like activity FEBS Letters. 554, pp67-72

Wang Jianghua, Benlamin Thompson, Chengxi Ren, et al. (2006): Sprouty4, a Suppressor of tumor Cell Motility, is Downregelated DNA methylation in Human Prostate Cncer. The Prostate 66, pp 613-610

渡辺久子（2009）：マウスをヒトのモデル動物とした胎仔期低栄養暴露が与える仔への影響，東海大学健康科学部看護学専攻　修士論文

Yura Shigeo, Hiroaki Itoh, Norimasa sagawa, et al. (2005): Role of premature Leptin surge in obesity resulting from intrauterine undernutrition. Cell Metabolism, 1, pp.371-378

財団法人　厚生労働統計協会（2012）：国民衛生の動向．59，pp.51

Abstract

Recently, several lines of epidemiological and experimental evidences suggest that maternal under-nutrition is closely associated with several life style related diseases, thus giving rise to the concept of “developmental origins of health and disease (DOHaD)” that presumably develop by interaction between environmental and genetic factors. DNA methylation plays important roles in cell differentiation and development, thus it is likely that epigenetic regulation via DNA methylation is potentially related to these diseases.

To elucidate the effect of maternal under-nutrition on postnatal growth and development, we made a mouse model in which offspring were subjected to under-nutrition in fetal stage (U offspring). In adult brain of the U offspring, we detected several genes exhibiting higher or lower levels of expression comparing with

controls. Among them, there were several genes functioning as immediate early genes in the brain. Then, we further analyzed DNA methylation about the 4 genes exhibiting up-regulation, such as *Atf3*, *Egr2*, *Spry4* and *Fosb*, because they are frequently used for indexes of nerve activity in the central nerve system. Important finding of this study is that the immediate early genes that usually react to several stimulations from outside were actually affected by the maternal under-nutrient treatment.

Key words: Maternal under-nutrition, DNA methylation,Gene expression