

氏名	景山 齋
学位の種類	博士(医療科学)
学位記番号	甲第40号
学位授与の日付	2024年3月10日
学位論文題名	Differential effects of excess high-fructose corn syrup on the DNA methylation of hippocampal neurotrophic factor in childhood and adolescence 「成長期および成獣期のフルクトース過剰摂取が海馬における神経栄養因子の発現に及ぼす影響」
指導教授	鈴木 康 司
論文審査委員	主査 教授 毛利 彰 宏 副査 教授 竹松 弘 教授 市野 直 浩

論文内容の要旨

【背景】

フルクトースは多くの食品や飲料に見られる天然甘味料で、その消費量は50年前と比べると20倍以上に増加している。最近では成人だけでなく、小児の過剰摂取も問題視されている。

近年の研究ではフルクトースは代謝性疾患だけでなく、中枢神経に悪影響を及ぼす可能性が示されている。特に海馬機能に障害を引き起こすことが報告されている。しかし、これらの研究は成獣個体を用いた過剰摂取モデルであり、成長期への影響は不明である。成長期は栄養環境に適応する時期であるため、過剰摂取の影響が成獣期と比べて強い可能性がある。

DNAメチル化はフルクトースの影響を受けやすいことが明らかにされている。DNAメチル化はエピジェネティクスのひとつであり、後天的に遺伝子発現を制御する現象である。特に海馬機能の維持に欠かせない神経栄養因子の発現はDNAメチル化により抑制される。成長期の海馬のフルクトース感受性が成獣期よりも高い場合、DNAメチル化率の変動に差異が生じることが考えられる。本研究では、DNAメチル化を指標に成長期および成獣期のフルクトース過剰摂取が海馬に及ぼす影響の違いを明らかにした。

【方法】

オスのSprague-Dawleyラットを成長期(生後21-60日)、成獣初期(生後60-100日)、成獣中期(生後100-140日)の3期間に分けた。蒸留水または20% High Fructose Corn Syrup (HFCS) 水を与え、Control群(C群)とHFCS群(H群)とした。神経栄養因子(Ngf: Nerve growth factor、Bdnf: Brain-derived neurotrophic factor、Nt-3: Neurotrophin 3、Nt-4)および神経栄養因子の受容体(TrkA: Tropomyosin receptor kinase A、TrkB、TrkC、

p75)の遺伝子発現量はリアルタイムPCR法で測定した。また、タンパク発現量はウェスタンブロット法で測定した。さらに、DNAメチル化率はパイロシーケンス法で測定した。

【結果】

遺伝子発現量解析の結果、成長期のH群の*Bdnf* mRNA量は約0.7倍の減少を示した($p < 0.05$)。成獣初期、成獣中期では変化は見られなかった。また、*Bdnf*タンパク発現は成長期にのみ約0.5倍となり、*Bdnf*の下流シグナルであるpAktも約0.7倍まで低下していた($p < 0.05$)。さらに、*Bdnf*遺伝子のプロモーター領域におけるDNAメチル化率を解析した結果、成長期にのみC群と比較してH群で高値を示した(C群 $2.8 \pm 1.0\%$ 、H群 $4.3 \pm 1.4\%$ 、 $p < 0.05$)。

【考察】

本研究では、成長期、成獣初期、成獣中期の期間における海馬への影響を評価した。結果として*Bdnf*発現、及びそのシグナリングは成長期にのみ低下することが示された。また、*Bdnf*遺伝子のプロモーター領域におけるDNAメチル化率の変動も成長期に限り観察された。これらの知見から、成長期の海馬は成獣期よりもフルクトースに対する感受性が高いことが考えられる。

DNAメチル化修飾は非常に安定であり、長期的に遺伝子発現を制御することが知られている。実際に動物個体を用いた研究では、海馬*Bdnf*遺伝子のDNAメチル化が生涯を通じて維持されることが報告されている。従って成長期のフルクトース摂取による*Bdnf*遺伝子のDNAメチル化率の上昇は、生涯に渡って海馬機能の低下を引き起こす可能性がある。

近年、子どものフルクトース過剰摂取が社会問題化している。成人と子どもの代謝や生理機能の違いから、フルクトースへの反応も異なる可能性があるが詳細は不明である。本研究では、DNAメチル化を通じてフルクトースの影響がライフステージによって変わることを示した。この結果は、フルクトース摂取と健康リスクの関連性を再評価する上での貴重な知見となることが期待される。

【結論】

本研究では、3つの異なる期間でのフルクトース過剰摂取が海馬の神経栄養因子発現やDNAメチル化に及ぼす影響を検討した。そして、成長期のフルクトース過剰摂取でのみ海馬における*Bdnf*発現を低下させること、成獣期の摂取で発現が変動しないことを明らかにした。さらに、摂取時期の違いによる*Bdnf*発現の変化は、成長期のDNAメチル化異常により惹起されることが示唆された。

最終試験結果の要旨

フルクトースによるBDNF発現変化に対する濃度・期間依存性、成長期特異的・ニューロトロフィンファミリー内でのBDNF特異的な減少の機序と海馬への影響、BDNF減少による脳機能への影響、グリア・神経細胞などのBDNFの細胞局在とそれに対するフルクトースによる影響、メチル化によるエピジェネティックなBDNF発現調節変化の機序とヒストンアセチル化と比較したその寄与度、フルクトースのBDNF発現に対する直接的・間接的影響などの質問に対し、申請者は的確に説明することができた。申請者は本研究を主体的に実施したこと及び専門領域の知識を十分有していたことを確認できた。本論文は、査読付き英文雑誌「PLoS One」に掲載されており、英語による論文作成能力も有していると判断した。博士(医療科学)の学位を与えるに十分な能力を有すると判定した。