

研究の公開様式20170728版						
試料・情報分譲申請用研究計画書（概要）						
研究番号	2021－0021－1		利用するもの	三世代コホート調査の、試料（DNA）、情報（基本情報、血液・尿検査悔過、調査票情報、特定健康診査情報、ミトコンドリアのゲノム情報）、カルテ転記情報、乳幼児健診転記情報、母子手帳転記情報		
主たる研究機関		北海道大学		分担研究機関	なし	
研究題目	ミトコンドリアDNAコピー数の遺伝様式と環境影響			研究期間	令和 3 年 10 月 1 日（承認後）～令和 7 年 3 月 31 日	
実施責任者	福永久典	所属	北海道大学 環境健康科学研究教育センター		職位	副センター長
研究目的と意義	細胞の主要エネルギーATPを産生するミトコンドリアは、独自のゲノム（mtDNA）を有しており、ヒトの場合、16,569塩基対の環状多コピーゲノムとして一細胞当たり数十～数千コピーが存在し、母性遺伝する。このmtDNAに生じる質的変異（点変異や欠失など）や量的変異（コピー数低下）が、近年、ミトコンドリア病だけでなく、ミトコンドリア機能異常を通じて循環器疾患、神経変性疾患、糖尿病、がんなどの様々な病態に関与することが明らかになってきた。本研究では、実施予定期間内に、「三世代コホート調査」に協力した三世代7人家族158組（計1107名）mtDNAコピー数を測定、解析する。そして、mtDNAコピー数の遺伝様式と新生児の出生時体重との相関を明らかにして、将来におけるmtDNA化学的操作（正常mtDNA配列を有する人工核酸分子の合成・補充など）の基盤的知見の創出に貢献したい。本研究から得られる成果として、例えばミトコンドリア機能異常を呈する可能性が高いと予想されるハイスルク者に対して、化学的な操作によって正常なmtDNAコピーを補うことで、病態の発症や増悪を予防するなどの臨床応用が想定されており、東日本大震災被災地域住民を含めた人類全体の健康に資することが期待される。					
研究計画概要	近年、「胎児期の環境が疾病素因を形成し、成人期の罹患リスクに影響する」というDevelopmental origins of health and disease、いわゆるDOHaD説が（Gluckman & Hanson. Science 2004）、学術的な概念として定着し、多くの疫学調査、動物実験によって支持されている。我々は、このDOHaD説の観点から、臍帯血ミトコンドリアDNAコピー数が妊娠中の母親の環境暴露によってどのように変化するのか、これまでの疫学研究を調査したところ、様々な胎児期環境刺激によって胎児のミトコンドリアDNAコピー数が増減することを明らかにしている。このような先行研究の結果と、ミトコンドリアがエネルギー産生の中心的役割を果たすだけでなく、アポトーシス、脂質代謝、カルシウム代謝などの様々な細胞機能に関与していることを鑑みて、我々は「ミトコンドリアDNAコピー数はDOHaDメディエーターの一つである」という仮説を立てた。実際、低出生体重児は、適正体重の出生児に比べて一細胞当たりのミトコンドリアDNAコピー数が少ないこと、そして成人後心血管疾患のリスクが高いことが、従来の疫学研究から明らかになっている（Gemma et al. Obesity 2006）。このことから、ミトコンドリアDNAコピー数を介して、胎児期環境影響が、乳幼児期、小児期を経て、成人期まで長期にわたって受け継がれるメカニズムに寄与する可能性が示唆される。 本研究では、上記の仮説に基づいて、祖父母、父母、子の三世代にわたってmtDNAコピー数がどのように継承され、その子の出生時体重にどのように影響を及ぼすのかを明らかにする。まず、三世代158組（1107名）の喫煙などの生活習慣、母の妊娠前BMI、在胎週数、血液学的検査結果（血球計算、白血球分画等）、新生児の体格（出生時体重等）などに関する情報を収集、解析する。次に、分譲可能なDNA検体（末梢血由来あるいは臍帯血由来）を用いて、定量リアルタイムPCRを行い、核DNA（nDNA）を基準として相対的にmtDNAのコピー数を測定する（mtDNAとnDNAのCt値の差からmtDNAのコピー数を相対定量にて算出する）。そのために設計されたプライマーセット（Human Mitochondrial DNA（mtDNA）Monitoring Primer Set, Takara Bio）及びリアルタイムPCR試薬（MightyAmp™ for Real Time（TB Green® Plus）, Takara Bio）を使用する。さらにリアルタイムPCR解析システムは所属機関の共通機器を用いる。1検体に対して複数回（3回以上）の反復測定を実施する。そして、三世代にわたってmtDNAコピー数がどのように継承されているのかを明らかにする。さらに、測定した母のmtDNAコピー数と新生児の出生時体重について、重回帰分析を用いた比較検討を行う。					
期待される成果	本研究によって期待される成果として、ミトコンドリア遺伝学の基盤的知見が得られるだけでなく、将来のミトコンドリア機能異常に対する治療戦略に資するような発見、例えば異常mtDNAコピーが蓄積したり、正常mtDNAコピーが枯渇したりすることで、将来的にミトコンドリア機能異常を呈する可能性が高いと予想されるハイスルク者に対して、人為的操作によって正常なmtDNAコピーを適切に補うことで病態の発症や増悪を予防するなどの臨床応用の可能性が想定される。このようにmtDNAコピー数に関する知見および人為的操作が秘める可能性は、生殖補助技術（ART）などに関する科学・技術面だけでなく社会全体へのインパクトも大きいと思われ、被災地住民を含めた人類全体の健康への貢献が期待される。 また、東北メディカル・メガバンク計画ではコホート参加者のミトコンドリアDNAコピー数の測定までは行っていないため、我々の研究結果をToMMo側へ還元することで、将来の医学研究における相乗効果も期待される。					
これまでの倫理審査等の経過および主な議論	北海道大学環境健康科学研究教育センターに設置された倫理審査委員会において承認済（承認番号：環健23-153）					
倫理面、セキュリティ面への配慮	分譲された情報・試料の保持と管理は細心の注意を払い、ToMMoのセキュリティ・ポリシーに沿った環境でのみ解析を行う。					
その他特記事項	開示すべき利益相反はありません。					
（事務局使用欄）		*公開日 2023年12月26日				