

胎生期低塩分暴露によるエピジェネティックスの攪乱と生活習慣病発症との関連

望月 和樹

山梨大学大学院総合研究部生命環境学域(生命環境学部地域食物科学科)

概要

我々は、2017年度に貴財団の助成を受けて、妊娠したマウスに異なる塩分量を有する食餌{通常食:0.26% (w/w), 高塩分食:0.8% (w/w), 低塩分食:0.1% (w/w)}を与え、出生した仔の肝臓と脂肪組織における代謝遺伝子の mRNA の発現量を調べた。その結果、出生後 22 日齢の仔の脂肪組織において、ブドウ糖の取り込みに関する遺伝子や、脂肪酸合成と脂肪酸酸化に関連する遺伝子の mRNA 発現量が、高塩分食を摂取した母マウスから生まれた仔において対照食摂取群より低いこと、同マウスの肝臓における脂肪酸合成関連遺伝子、脂肪酸酸化関連遺伝子、脂肪肝誘導転写因子 Pparg2 遺伝子の mRNA 発現が、対照食摂取群より低いことを明らかにした。一方、妊娠したマウスに低塩分食を与えた場合には、22 日齢の仔の肝臓において脂肪酸酸化関連遺伝子や脂肪滴形成因子である Cidec の発現が対照群と比較して高いことを明らかにした。これらの知見は、高塩分食、低塩分食を摂取した妊娠したマウスから生まれた 22 日齢の仔では、脂肪組織のエネルギー代謝の低下に起因して血液中のグルコースや脂質濃度が増大しそれらが肝臓に流入した結果、肝臓において、脂肪肝発症を誘導する代謝遺伝子の発現が増大したと考えられた。しかし、成長後のマウスについての解析は行っていない。

本研究では、高塩分食もしくは低塩分食を摂取した妊娠マウスから産まれた出生後 72 日齢の仔の肝臓における代謝遺伝子 mRNA 発現量の変化について観察した。また、最近の研究によって代謝酵素によって生じる細胞質のアセチル CoA がヒストンアセチル化の基質として使われることが報告されたため、ヒストンアセチル化が仔の肝臓における遺伝子の発現変化に関与しているかを検討した。

その結果、高塩分食もしくは、低塩分食を摂取した妊娠マウスから産まれた出生後 72 日齢の肝臓において、解糖系や脂肪酸合成に関連した遺伝子の mRNA 発現量が低下することが明らかとなった。ヒストンアセチル化修飾は、低塩分食グループにおいて Cidec の Gene body 領域と脂肪酸合成関連遺伝子 Fasn のプロモーターおよび Gene body 領域において対照群と比較して低い傾向があった。一方、Cidec の Gene body 領域、脂肪酸合成酵素である Fasn のプロモーターと Gene body 領域、中性脂肪合成関連遺伝子 Gpd1 のプロモーターおよび Gene body のヒストンアセチル化は、対照食群と比較して高塩分食群で顕著に高いもしくは、高い傾向があった。

以上の研究成果は、高塩分食もしくは低塩分食を摂取した妊娠マウスから産まれた 72 日齢の仔は、肝臓において解糖系や脂肪酸合成に関連した遺伝子の発現量が低下することを示唆している。また、低塩分食を摂取した妊娠マウスから産まれた仔の肝臓の遺伝子発現変化にヒストンアセチル化が関与する可能性は高いが、高塩分食を摂取した妊娠マウスから産まれた仔の肝臓の遺伝子発現の変化は、他のメカニズムで制御される可能性が高いと考えられた。

1. 研究目的

近年、最近の発育環境が、2 型糖尿病や高血圧症などの生活習慣病の発症を加速させる可能性が危惧され、

Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 学説という考え方が提唱されている^[1]。DOHaD 学説に対して、様々なヒト疫学研究によるエビデンスが提示されてい

る。Barkerらは、1911年から1930年に生まれた児15,726人を対象に、出生体重が小さくなるとともに脳梗塞による死亡率が上昇することを示した^[2]。また、1944 - 1945年の第二次世界大戦中の冬のオランダで、ドイツ軍占領下に飢餓を経験した母親から生まれた子供が50 - 69歳になるまで追跡したコホート研究では、飢餓時に生まれた対象者は、同じ母親から非飢餓時に生まれた対象者比較して、肥満体質であるとともにインスリン分泌能が顕著に低かったことが報告された^[3]。これらのことから、ヒトにおいて胎生期低栄養環境が生活習慣病や精神疾患の発症リスクをさらに増大させる可能性があるといえる。

これらの背景の中、我々は、貴財団の助成のもとで、妊娠マウスに塩分量の異なる食餌(対照食が塩分0.26%、高塩分食が塩分0.8%、低塩分食が塩分0.1%の組成)を与え、それぞれの母マウスから生まれた仔の肝臓・脂肪細胞における代謝関連遺伝子のmRNA発現を調べた。その結果、高塩分食モデルでは、離乳期(22日齢)の腸間膜脂肪において、グルコースの細胞取り込みに関与するGlucose transporter 4(Glut4)の発現量が減少しており、脂肪酸合成経路のAcetyl-Coenzyme A carboxylase alpha (Acaca), Acetyl-Coenzyme A carboxylase beta (Acacb)の発現量ならびに脂肪酸のβ酸化関連遺伝子のAcyl-CoA synthetase long-chain family member1 (Acs11), Acyl-Coenzyme A oxidase1 palmitoyl (Acox1)の発現量が減少することを明らかにした。肝臓においては、Acacb、脂肪酸のβ酸化関連遺伝子のAcox1のmRNA発現が増加していたほか、脂肪肝促進に関与する転写因子であるPeroxisome proliferator activated receptor gamma 2 (Pparg2)、脂肪酸の細胞内動態に働くFatty acid binding protein (Fabp4)のmRNA発現量が増加していた。このことから、脂肪組織における代謝経路の活性低下によって取り込まれなかった糖や脂質が肝臓で脂肪合成に使われ、脂肪肝のリスクが増大している可能性が示唆された。低塩分食モデルにおいても離乳直後(28日齢)の肝臓でFatty acid binding protein 4 (Fabp4), Acs11, Acox1、脂肪滴形成遺伝子Cell death-inducing DFFA-like effector c (Cidec)のmRNA発現量が増加しており、脂肪肝のリスクが増大している可能性が示唆された。さらに、高塩分食モデル・低塩分食モデルともに、成長後(72日齢)において体重・肝臓重量・血中インスリン濃度が減少していた。このことから、

妊娠期の高塩分食、低塩分食の摂取はともに、仔の発育遅延を誘導することが考えられ、肝臓の臓器の成熟不足・インスリンの作用低下により代謝経路が正常に機能していないことが考えられた。しかしながら、妊娠期の高塩分食、低塩分食の摂取によって、72日齢の仔の肝臓における代謝関連遺伝子の発現が変化するかは未だ明らかとなっていない。また、妊娠期の塩分の過不足による仔の肝臓や脂肪組織における代謝関連遺伝子の発現量攪乱機構の発症機構については未だ明らかとなっていない。

胎生期環境による遺伝子発現の変化は、胎生期の環境要因を体内に記憶したことによると考えられることから、DNAやクロマチンに後天的に刻印される情報による制御、すなわちエピジェネティクスによって制御されていると想定される。エピジェネティクス情報にはヒストン修飾(アセチル化・メチル化・リン酸化・ユビキチン化)、DNAのメチル化がある。しかしながら、胎生期の環境要因によるエピジェネティクス異常の詳細は未だ明らかになっていない。近年、細胞質で産生したアセチルCoAが核内に移動し、ヒストンアセチル化修飾に利用されることが報告されていた^[4]。それゆえ、胎生期の低栄養による代謝異常がアセチルCoAの産生にヒストンアセチル化修飾を変化させる可能性がある。

これらの知見から、本研究では、妊娠期の高塩分食、低塩分食の摂取が、成長後(72日齢)の肝臓の代謝関連遺伝子の発現異常を誘導するか、またその発現異常にヒストンアセチル化修飾が関与するかについて検討した。

2. 研究方法

2.1. 動物:妊娠1日後のICRマウス(8 - 10週齢、日本SLC、浜松、日本)12匹を搬入後、1ケージにつき1匹で、AIN-93基準食群、高塩分食群、低塩分食群(**Table 1**)の3つに群分けをし、飼料および水道水を自由摂取させ飼育をした。妊娠17日以降はすべての群でAIN-93G食を自由摂取とした。24日齢以降は雌雄に分け、Western食(高脂肪・高ショ糖食)(**Table 1**)および水道水を自由摂取させ、飼育した。72日齢(雄)の仔マウスを体重測定後、断頭により屠殺し、採血を実施し、血清を得るとともに肝臓を採取した。

総RNA抽出とmRNA発現量の測定:採取した肝臓の総RNA抽出はグアニジンチオシアネート法に従い抽出し

Table 1 Consumption of diets

(%)	AIN-93G	HS	LS	Western diet	
	Control (salt 0.26%)	High salt (salt 0.8%)	Low salt (salt 0.1%)	F2WTD	
Corn starch	39.7	39.7	39.7	Sucrose	34.0
Milk casein	20.0	20.0	20.0	Milk fat	20.0
α -Corn starch	13.2	13.2	13.2	Casein	19.82
caster sugar	10.0	10.0	10.0	Maltodextrin	9.98
Soybean oil	7.0	7.0	7.0	Cellulose	5
Cellulose	5.00	4.50	5.16	α -Corn starch	4.9958
AIN93G-mineral mix	3.24	3.24	3.24	AIN93G-mineral mix	3.5
NaCl	0.26	0.80	0.10	AIN93-vitamin mix	1
AIN93-vitamin mix	1	1	1	Soybean oil	1
L-cystine	0.30	0.30	0.30	L-cystine	0.3
Choline Bitartrate	0.25	0.25	0.25	Choline Bitartrate	0.25
TBHQ	0.0014	0.0014	0.0014	cholesterol	0.15
Total (%)	100	100	100		100.0

Abbreviations:TBHQ, tertiary butylhydroquinone

た。cDNA の合成は、逆転写酵素 SuperScript III (Invitrogen, Waltham, MA)を用いて行った。合成された cDNA を用い、Light Cycler System (Roche Diagnostics, Basal, Switzerland)によって PCR 反応を行った。n サイクルの反応で 2n 倍とする Delta 法を用い、各遺伝子の発現量を換算した。また、目的の mRNA 発現量を補正するため、内部標準遺伝子として Actin beta (Actb) を定量リアルタイム PCR 法にて同様に解析し、目的とする遺伝子の mRNA 発現量と対応する内部標準遺伝子の発現量値の比を計算し、発現量の相対値を求めた。

2. 2. クロマチン免疫沈降法: 採取した肝臓組織を 1% のホルムアルデヒドを含む溶液で固定し、牛胎児血清を含むリン酸生理緩衝液で洗浄した後に可溶化溶液 (50 mM Tris-HCl (pH8.0), 10 mM EDTA (pH8.0), 1% SDS, Complete Mini/20 mL SDS lysis buffer) を 1 mL 加え、DNA サイズが 150 ~ 300 bp に切断されるように超音波処理を行い、17,800 G, 8°C で 15 分間遠心し -80°C に保存した。100 μ L に分注したサンプルを 1 本ずつ溶解し、既報の論文で報告されている方法で、クロマチン免疫沈降を抗 IgG 抗体 (SIGMA Aldrich, St. Louis, MI), 抗アセチル化ヒストン H3 抗体 (Millipore, Billerica, MA) に対して行った^[5]。

2. 3. 統計解析: 実験データは平均値 \pm 標準誤差 (SEM) で表した。Student-t-test を行い、P < 0.05 の場合を統計学的に有意な差と判断した。

3. 研究結果

3. 1. 妊娠期における異なる塩分摂取が仔マウスの肝臓における解糖系関連遺伝子に及ぼす影響

塩分比の異なる食餌摂取をした母獣から生まれた 72 日齢の仔獣の肝臓における解糖系関連遺伝子である Citrate synthase (Cs), Phosphoinoside-dependent kinase (Pdk)1, Pdk2, Pdk3, Pdk4, Dihydrolipoyl acetyltransferase (Dlat), succinate dehydrogenase (NAD(+)) 3 catalytic subunit (Idh3) a, Idh3b, Idh3g, Pyruvate dehydrogenase E1 alpha 1 (Pdha1), Pyruvate dehydrogenase E1 beta subunit (Pdhb), Pyruvate dehydrogenase complex, component x (Pdhx), ATP-citrate lyase (Acly), Acyl-CoA synthetase2 (Acss2), Oxoglutarate dehydrogenase (Ogdh) の mRNA 発現量に及ぼす影響を real time RT-PCR 法を用いて検討した。高塩分食群において、Pdk4, Pdha1, Pdhb, Pdhx, Acly, Acss2 の mRNA 発現量が、対照食群と比較して有意に低かった。低塩分食群において、Dlat, Acss2 の mRNA 発現量が、対照食群と比較して有意に低かった (Fig. 1)。

3. 2. 妊娠期における異なる塩分摂取が仔マウスの肝臓における脂質代謝系関連遺伝子に及ぼす影響

塩分比の異なる食餌摂取をした母獣から生まれた 72 日齢の仔獣の肝臓における脂質代謝系関連遺伝子である Acetyl-Coenzyme A carboxylase (Acac) a, Acacb,

Diacylglycerol O-acyltransferase1 (Dgat) 1, Dgat2, Fatty acid synthase (Fasn), Malic enzyme 1, NAD(+) dependent, cytosolic (Me1), Stearoyl-Coenzyme A desaturase1 (Scd1), Cluster of differentiation 36 (Cd36), Cell death-inducing DFFA-like effector c (Cidec), Acyl-Coenzyme A oxidase1, palmitoyl (Acox1), Acyl-CoA synthetase long-chain family number1 (Acs11), Carnitine palmitoyltransferase 1a liver (Cpt1a), Peroxisome proliferator activated receptor gamma 2

(Pparg2), Glycerol-3-phosphate dehydrogenase1 (Gpd1)の発現量に及ぼす影響を real time RT-PCR 法を用いて検討した。高分食群において、Acaca, Fasn, Me1, Scd1, Cidec, Gpd1 の mRNA 発現量が、対照食群と比較して有意に低かった。低塩分食群において、Acaca, Acacb, Scd1, Cidec の mRNA 発現量が、対照食群と比較して有意に低かった。Acs11 が対照食群に対して有意に増加していた (Fig. 2)。

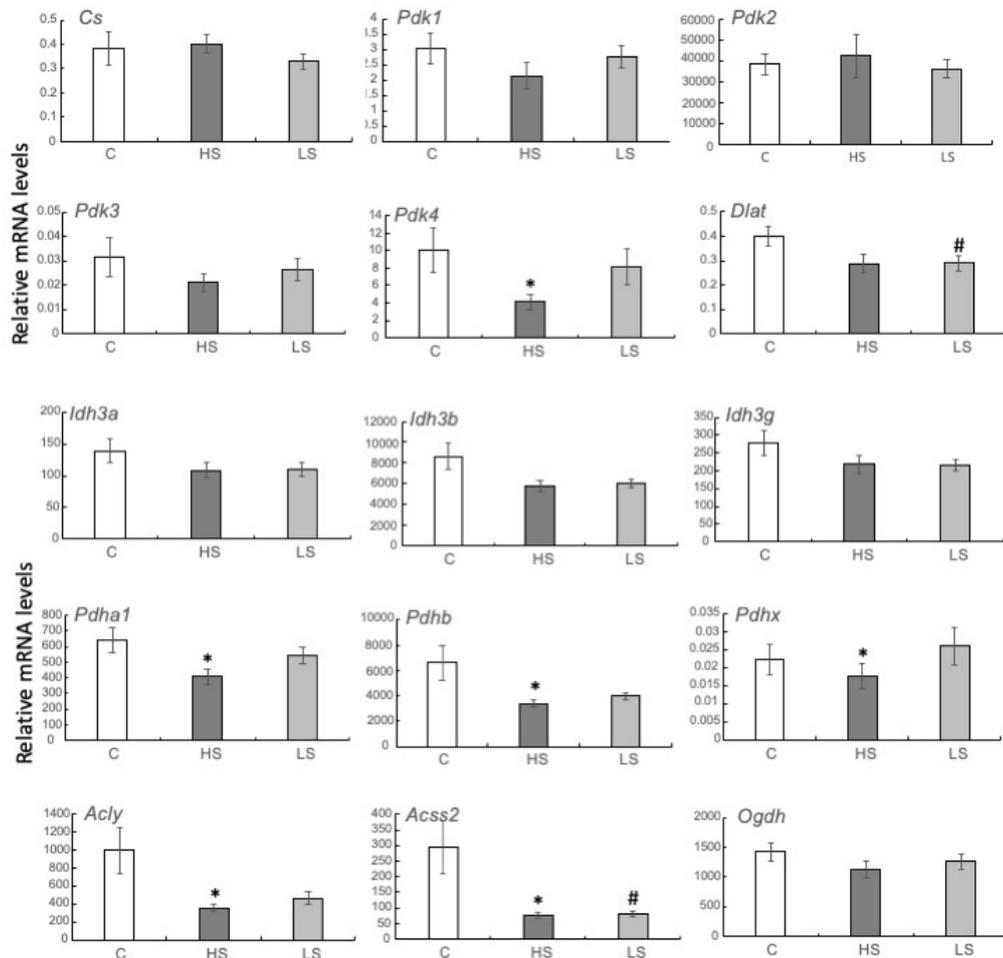


Fig. 1 Effects of feeding mother mice a higher salt diet or a lower salt diet on mRNA expression levels of genes related to glycolytic pathway in the liver of newborn male mice at 72 days after birth

Total RNA was extracted from the liver and quantitative real-time RT-PCR was performed and the mRNA levels were normalized to Actin, beta (Actb) mRNA abundance. Data are expressed as means \pm SEM for 15 - 18 mice. Asterisks indicate significant differences compared with the levels of the control-high salt (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$) and with the levels of the control-low salt (# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$) by student's t-test. C: control diet, HS: high salt diet, LS: low salt diet

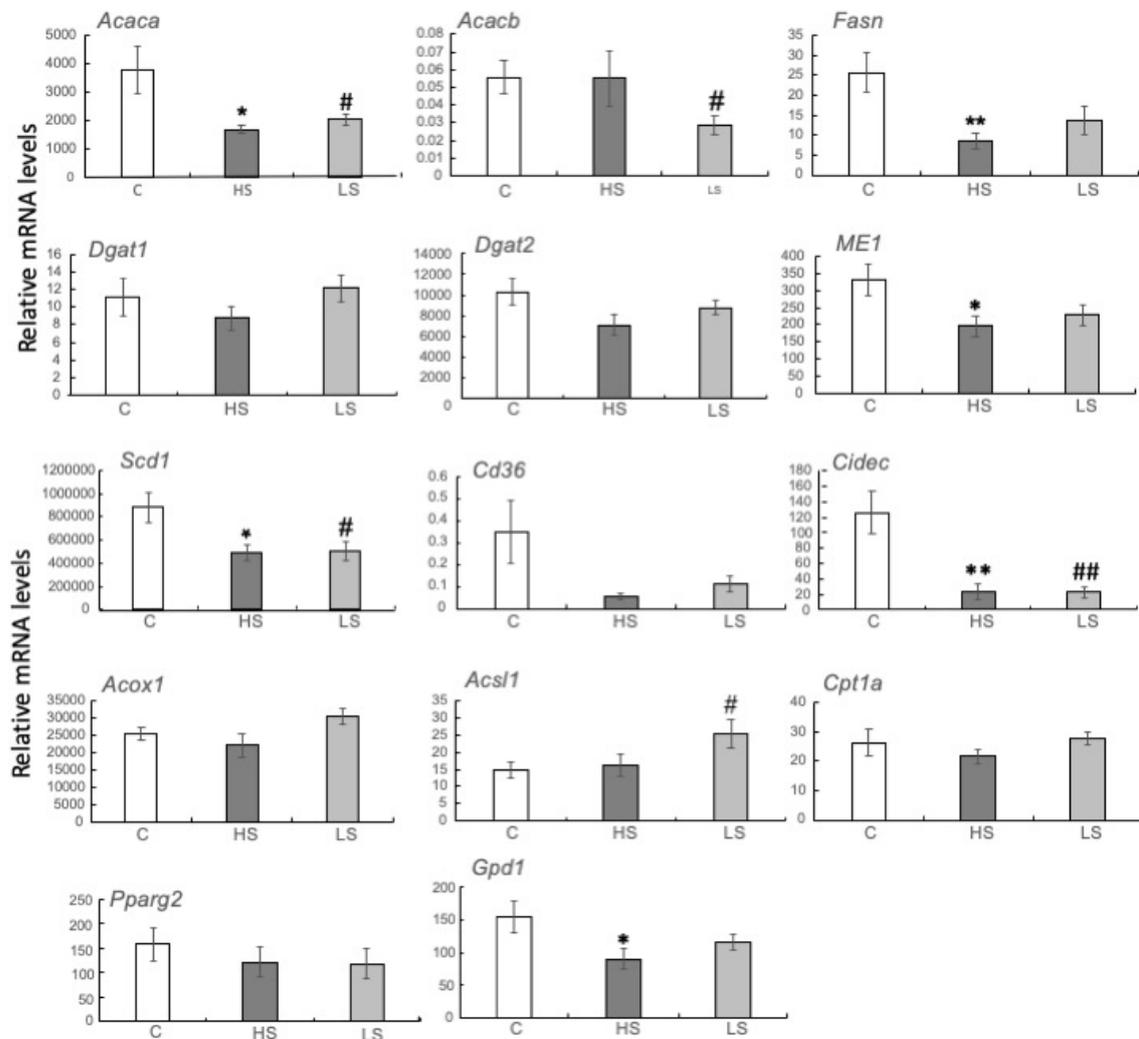


Fig. 2 Effects of feeding mother mice a higher salt diet or a lower salt diet on mRNA expression levels of genes related to lipid metabolism in the liver of newborn male mice at 72 days after birth

Total RNA was extracted from the liver and quantitative real-time RT-PCR was performed and the mRNA levels were normalized to Actin, beta (*Actb*) mRNA abundance. Data are expressed as means \pm SEM for 15-18 mice. Astarisks indicate significant differences compared with the levels of the control-high salt (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$) and with the levels of the control-low salt (# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$) by student's t-test. C: control diet, HS: high salt diet, LS: low salt diet

3. 3. 妊娠期における異なる塩分摂取が仔マウスの肝臓の標的遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化修飾に及ぼす影響

塩分比の異なる食餌摂取をした母獣から生まれた 72 日齢の仔マウスの肝臓における遺伝子発現の制御機構に

ついて調べるために、real time RT-PCR 法によって発現量が対照群に対し減少していたことが明らかとなった、*Cidec*, *Gpd1*, *Fasn* に焦点を当て、これらの遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化量をクロマチン免疫沈降法を用いて調べた。*Cidec* 遺伝子では、高塩分食群において対

照群と比較して有意な差は見られなかったが、低塩分食群において、*Cidec* 遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化レベルが転写領域で、対照食群に対して減少傾向にあった ($P = 0.23$)。 *Gpd1* 遺伝子では、高塩分食群において、*Gpd1* 遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化レベルがプロモーター領域および転写領域で、対照食群と比較して有意に高かった。低塩分食群において、*Gpd1* 遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化レベルがプロモーター領域

で、対照食群に対して減少傾向にあった ($P = 0.29$)。 *Fasn* 遺伝子では、高塩分食群において、*Fasn* 遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化レベルが転写領域で、対照食群と比較して有意に高く、低塩分食群において、*Fasn* 遺伝子周辺のヒストン H3 のアセチル化レベルがプロモーター領域で、対照食群に対して減少傾向にあった ($P = 0.12$) (Fig. 3)。

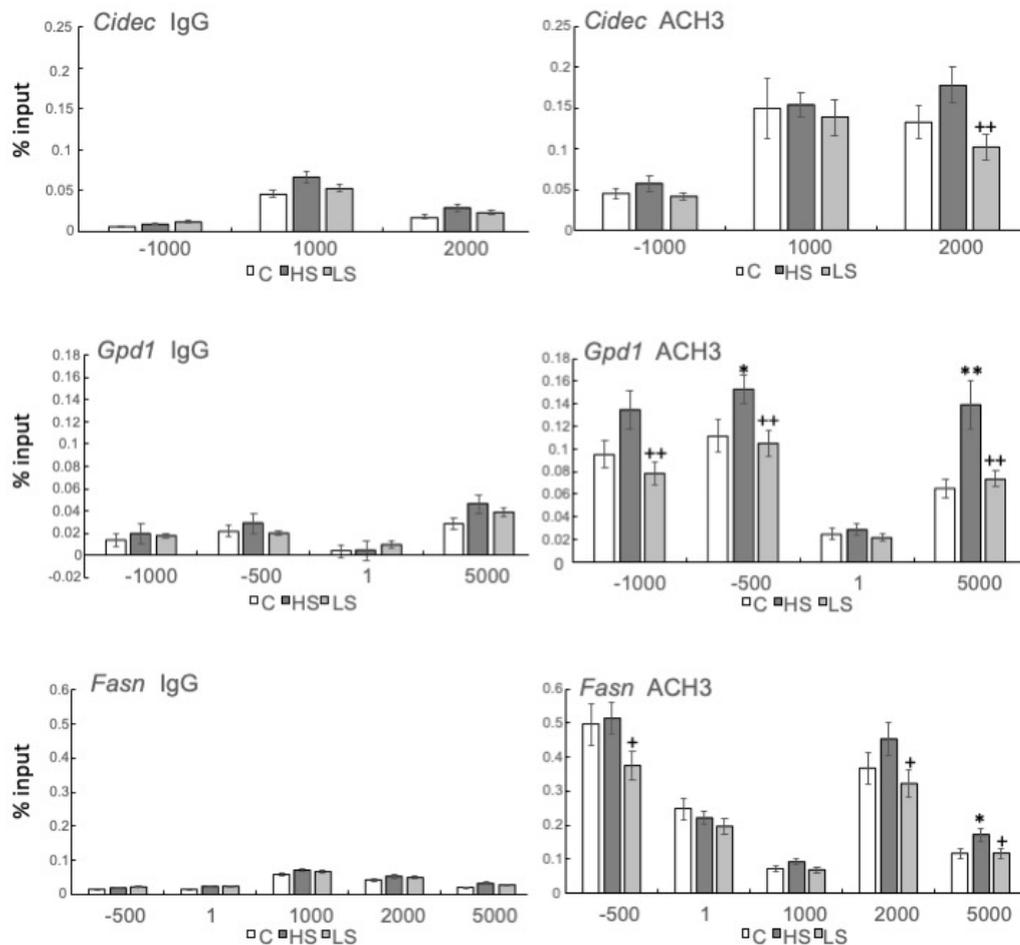


Fig. 3 Effects of feeding mother mice a higher salt diet or a lower salt diet on histone H3 acetylation around genes related to lipid metabolism in the liver of newborn male mice at 72 days after birth

Chromatin immunoprecipitation signals for the liver were detected by quantitative real-time PCR and normalized to input signals. Data are expressed as means \pm SEM for 15-18 mice. Astarisks indicate significant differences compared with the levels of the control-high salt (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$) and with the levels of the high salt-low salt (+ $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$) by student's t-test. C: control diet, HS: high salt diet, LS: low salt diet

4. 考 察

本研究によって、母獣が高塩分食および低塩分食を摂取した成長後の仔の肝臓では、解糖系や脂肪合成経路といったエネルギー代謝経路の遺伝子の mRNA 発現が低下することが明らかとなった。これまでの研究によって、解糖系や脂肪酸合成は、インスリンによって正に調節されることが明らかとなっている。また、我々の先行研究により、妊娠期に高塩分食や低塩分食を摂取した母獣から生まれた仔は、血中インスリン濃度が、通常食を摂取した母獣から生まれた低い傾向(高塩分食)もしくは仔より低い(低塩分食)ことが明らかとなっている。よって、本研究で観察された肝臓の代謝異常は、インスリン分泌低下やそれに伴うインスリン抵抗性の増大が関与している可能性が考えられた。

このような妊娠期の栄養の過不足による仔の肝臓における脂質代謝遺伝子の発現変動がどのように誘導されているかは、未だ明らかとなっていない。近年、エネルギー代謝の過剰活性化および活性低下に伴う細胞質のアセチル CoA の量的変動がヒストンアセチル化修飾等のエピジェネティクス情報に影響を与え、遺伝子発現を誘導させることがわかってきた。実際に本研究においても、高塩分食や低塩分食を摂取した母獣から生まれた仔の肝臓において、細胞質のアセチル CoA 合成酵素である *Acly*, *Acss2* の遺伝子発現量の減少が見られた。これらアセチル CoA 合成酵素によって産生する細胞質のアセチル CoA は、核内に移動し、ヒストンアセチル化修飾に利用されることが報告されている^[4]。以上の知見から、妊娠期の高塩分食もしくは低塩分食の摂取は、成長後のこの肝臓においてアセチル CoA の減少を介してヒストンアセチル化レベルの低下をもたらす、結果として脂質代謝遺伝子の発現量の低下がみられたのではないかという仮説を検証するために、対照食に対して高塩分食群および低塩分食群で mRNA 発現量に顕著な減少が見られた脂肪酸合成関連遺伝子である *Cidec*, *Gpd1*, *Fasn* の遺伝子周辺のヒストンアセチル化レベルについてクロマチン免疫沈降法を用いて調べた。

その結果、低塩分食モデルでは、*Cidec* の転写領域、*Fasn* の転写領域やプロモーター領域のヒストンアセチル化修飾が、通常食群と比較して顕著に低い傾向が得られた。また、低塩分食群の *Cidec* の転写領域、*Gpd1*, *Fasn*

の転写領域やプロモーター領域のヒストンアセチル化修飾は、高塩分食群と比較して顕著に低い結果となった。そのため、低塩分食を摂取した母獣から生まれた仔の肝臓における *Cidec*, *Fasn* 遺伝子の発現低下には、これら遺伝子上のヒストンアセチル化の低下が関与する可能性があると考えられた。

一方、高塩分食では、*Cidec* の転写領域、*Gpd1* のプロモーター領域および転写領域、*Fasn* の転写領域でヒストンのアセチル化レベルが対照食群に対して有意に増加もしくは増加傾向を示していた。これは仮説と相反する結果であり、高塩分食モデルでは、遺伝子発現調節にはヒストンアセチル化以外の要因が関与していることが考えられた。

これらの異なる塩分比の食餌を摂取した母獣から生まれた仔獣に関する動物実験を総合すると、低塩分食モデルでは、成長後において発育低下・肝臓重量の低下がみられ、エネルギー代謝経路の活性低下が見られた。さらに先行研究から、低塩分食モデルでは脂肪細胞における脂肪合成経路の活性化がみられ、肥満のリスクが増大していることが推測された。また低塩分食モデルの肝臓における脂肪酸合成関連遺伝子の発現変動には、細胞質のアセチル CoA の減少によるヒストンのアセチル化減少による転写抑制が関与している可能性が示唆された。高塩分食モデルにおいては、成長後において体重・肝臓重量・血中インスリン濃度の低下が報告され、肝臓における解糖系・脂質代謝に関与する遺伝子発現量の減少、糖新生関連遺伝子の遺伝子発現量の増大がみられた。このことから、肝臓の成熟不足による機能低下やインスリン作用の低下によってエネルギー代謝経路の活性低下が誘導され、またそれに伴う同化作用の低下が、発育遅延や体重減少を誘導したと推測された。また、低塩分食群におけるエネルギー代謝関連遺伝子の発現低下には、ヒストンアセチル化修飾の関与が考えられたが高塩分食においては異なる経路が存在することが示唆された。

5. 謝 辞

本研究に対して援助をいただいた公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団に深く感謝いたします。本研究は、山梨大学生命環境学部地域食物科学科食品栄養学

部門の研究室の所属学生の協力のもとに行われたものです。ここに感謝いたします。

6. 文献

- [1] P.D. Gluckman, M.A. Hanson, Living with the past: evolution, development, and patterns of disease, *Science* 305 (2004) 1733-1736. 10.1126/science.1095292.
- [2] D.J. Barker, C. Osmond, Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales, *Lancet* 1 (1986) 1077-1081. 10.1016/s0140-6736(86)91340-1.
- [3] T. Roseboom, S. de Rooij, R. Painter, The Dutch famine and its long-term consequences for adult health, *Early Hum Dev* 82 (2006) 485-491. 10.1016/j.earlhumdev.2006.07.001.
- [4] K.E. Wellen, G. Hatzivassiliou, U.M. Sachdeva, T.V. Bui, J.R. Cross, C.B. Thompson, ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation, *Science* 324 (2009) 1076-1080. 10.1126/science.1164097.
- [5] A. Yamada, K. Honma, K. Mochizuki, T. Goda, BRD4 regulates fructose-inducible lipid accumulation-related genes in the mouse liver, *Metabolism* 65 (2016) 1478-1488. 10.1016/j.metabol.2016.07.001.

Relation between Epigenetics and Development of Life-Style Diseases by the Exposure of Low-Salt during Fetal Stage

Kazuki Mochizuki

University of Yamanashi

Summary

We previously performed experiments supported by the salt-science foundation at 2017 that pregnant mice were fed diets with different amounts of salt {control diet: 0.26% (w/w), high-salt diet: 0.8% (w/w), and low-salt diet: 0.1% (w/w)} and mRNA levels of metabolic genes in the liver and adipose tissue of the offspring were measured. We found that mRNA levels of genes related to glucose incorporation into the cells, fatty acid synthesis and fatty acid oxidation in the adipose tissue were lower in the offspring at 22 days after birth born from the mother mice fed a high-salt diet than in those born from the mother mice fed a control diet. In addition, feeding pregnant mice a high-salt diet led to increase mRNA levels of genes related to fatty acid synthesis, fatty acid oxidation and a fatty liver-inducible transcriptional factor Pparg2 in the liver of the offspring. In addition, feeding pregnant mice a low-salt diet led to increase mRNA levels of genes related to fatty acid oxidation and an lipid droplet inducing factor Cidec in the offspring. These results indicate that increased glucose and lipids caused by reduction of metabolic activity in the adipose tissue of the offspring born from pregnant mice fed a high- or low-salt diet may be used as substrates of fat synthesis and may induce subsequent development of fatty liver development.

From the results of previous our study, we investigated in this study whether feeding pregnant mice a high- or low-salt diet alters mRNA levels of metabolic genes in the liver of the offspring at 72 days after birth. In addition, we investigated whether histone acetylation is involved in these expressional changes in the liver of the offspring, because recent studies suggest that acetyl-CoA in cytosol produced by metabolic enzymes is used as a substrate of the histone acetylation.

We found in this study that feeding pregnant mice a high- or low-salt diet reduced mRNA levels of genes related to glycolysis and fatty acid synthesis in the liver of the offspring at 72 days after birth. In addition, we revealed that histone acetylation in the gene body of Cidec, and in the gene body and promoter of a fatty acid synthesis-related gene Fasn tended to be lower in a low-salt diet-group than in control diet-group. Whereas, histone acetylation in the gene body of Cidec and Fasn and in the gene body and promoter of a triacylglycerol synthesis-related gene Gpd1, was significantly higher or tended to be higher in a high-salt diet-group than in control diet-group.

Our results in current study suggest that feeding pregnant mice a high- or low-salt diet reduces expression of genes related to glycolysis and fatty acid synthesis in the liver of the offspring. Histone acetylation is presumably concerned with these expression changes in the liver of offspring born from the mother mice fed a low-salt diet.

However, the expression changes in the liver of offspring born from the mother mice fed a high-salt diet would be regulated by other mechanisms.