

Vol.2, No.1

ISSN 2187-2562

第2卷 第1号

DOHaD 研究

Developmental Origins of Health and Disease Research

June 2013

平成25年6月

第2回日本 DOHaD 研究会年会講演集

日本 DOHaD 研究会

The Japan Society for Developmental Origins of Health and Disease

第2回日本 DOHaD 研究会年会

講演集

DOHaD 研究の発展に向けて：
病態発症のメカニズム理解、そしてその先へ

日 時：平成25年6月7日（金），8日（土）

会 場：厚生労働省戸山庁舎 共用第一会議室

日本 DOHaD 研究会事務局

〒351-0197 埼玉県和光市南 2-3-6

国立保健医療科学院・生活環境研究部内

TEL 048-458-6131, FAX 048-458-6287

E-mail jdohad@niph.go.jp

HP <http://square.umin.ac.jp/Jp-DOHaD/index.html>

開催挨拶

DOHaD 研究の発展に向けて

瀧本 秀美

独立行政法人国立健康・栄養研究所

2011年8月に第1回研究会年会開催以来、代表幹事の福岡秀興先生を始めとした設立メンバーの先生方に支えられ、第2回年会を開催できたことに感謝しております。私が初めて DOHaD (Developmental Origin of Health and Disease) の元となった Barker 仮説を知ったのは、2000年ごろだったと記憶しています。1996年12月に当時の厚生省（現：厚生労働省）から「生活習慣に着目した疾病対策の基本的方向性について」とした意見具申が発表され、脳卒中、がん、心臓病などのいわゆる「成人病」から、疾病の発症や進行に個人の生活習慣が深く関与していることを重視した「生活習慣病」という名称に変更することが提唱されたこともあり、胎内環境が中高年になって発症する疾患に影響するという説が非常に不思議に思えました。また、当時国立健康・栄養研究所長でおられた小林修平先生から「日本人の出生体重は低下傾向にあるので、この原因を研究してはどうか」と示唆をいただいていたにも関わらず、日本の乳児死亡率は世界一低いから多少出生体重が低くてもさして問題はないのではないか、と深く考えておりませんでした。

その後、第2次大戦中のオランダにおいて、胎内で「飢餓の冬」を体験した人々の長期追跡研究結果を知り、妊娠中の栄養はただ単に妊娠合併症や分娩障害の予防のためだけに重要なのではなく、胎児の生涯にわたる健康に重要ではないかと認識を改めました。また、動物実験等の基礎研究からも、妊娠中の栄養状態によって特定の遺伝子の発現の有無が左右されることが明らかとなってきました。人々の生涯にわたる健康の維持・増進という観点から、今後ますます妊娠期から乳幼児期にかけての栄養の重要性が増していると、私は考えます。その意味でも、様々な分野の研究者が DOHaD という共通の関心で一堂に会する本研究会は、今後の研究の発展に大きな意味をもつものなのです。

最後に、この貴重な会の開催を支えてくださった関係者各位、理解を示してくださった独立行政法人国立健康・栄養研究所古野純典理事長、そして事務局として活躍いただいた河村由香さんに感謝いたします。

第2回日本 DOHaD 研究会年会
DOHaD 研究の発展に向けて：病態発症のメカニズム理解、そしてその先へ

日 時 2013年6月7日(金)～8日(土)

場 所 厚生労働省 戸山研究庁舎

〒162-8636 東京都新宿区戸山 1-23-1

年会長 瀧本 秀美 (独立行政法人国立健康・栄養研究所)

内 容 (1) 基調講演

DOHaD を巡る最近の流れ (早稲田大学 福岡 秀興)

(2) 特別講演

糖尿病の成因 (国立国際医療研究センター 春日 雅人)

(3) 会長講演

妊娠期・子育て期女性の栄養摂取制限の課題 (瀧本 秀美)

(4) 教育講演

I 未熟児医療と DOHaD (昭和大学小児科 板橋 家頭夫)

II 発達障害支援施策の現状 (厚生労働省障害保健福祉部 日詰 正文)

III 低出生体重の影響に関する経済的分析 (大阪大学経済学部 大竹文雄)

IV DOHaD を視点に入れた地域健康づくり (女子栄養大学 香川靖雄)

(5) シンポジウム

I DOHaD のメカニズムの解明～最近の知見～

II 胎生期環境と発達障害

III 疫学・臨床医学の立場から見た DOHaD

(6) 一般演題 (ポスター発表)

連絡先 第2回日本 DOHaD 研究会年会事務局

〒162-8636 東京都新宿区戸山 1-23-1

独)国立健康・栄養研究所 栄養疫学研究部内

TEL 03-3203-5721, FAX 03-3202-3278

E-mail j-dohad2nd@nih.go.jp

<http://square.umin.ac.jp/Jp-DOHaD/index.html>

プログラム

初日：6月7日（金）

- 9時～ 受付開始（ポスター受付開始）
- 9時50分～10時 開会挨拶
独）国立健康・栄養研究所理事長 古野純典
研究会長 瀧本秀美
- 10時～10時30分 基調講演 「DOHaDを巡る最近の流れ」
代表幹事 福岡秀興（座長：瀧本秀美）
- 10時30分～11時30分 特別講演Ⅰ 「糖尿病の成因」
国立国際医療研究センター理事長 春日雅人
（座長：瀧本秀美）
- 11時30分～12時 教育講演Ⅰ 「未熟児医療とDOHaD」
昭和大学小児科教授 板橋家頭夫（座長：杉山隆）
- 12時～13時 昼休み（幹事会）
- 13時～15時30分 シンポジウム1 「DOHaDのメカニズムの解明
～最近の知見～」（座長：伊東宏晃・秦健一郎）
- 1 古瀬民生・若菜茂晴（理化学研究所）「マウス胎生期低栄養モデルからの知見」
 - 2 小川佳宏（東京医科歯科大）「肝臓におけるエピゲノム変化と糖脂質代謝変化」
 - 3 酒井寿郎（東京大学）「肥満・生活習慣病発症におけるヒストン脱メチル化酵素Jmjd1aと交感神経経路の役割」
 - 4 望月和樹（山梨大学）「栄養による遺伝子のエピジェネティクス変化」
 - 5 後藤貴文（九州大学）「ウシの研究からみたDOHaDの理解とその応用の可能性」
- 15時30分～15時45分 休憩
- 15時45分～17時40分 シンポジウム2 「胎生期環境と発達障害」
（座長：武井教使・久保田健夫）
- 1 武井教使（浜松医科大学）「オーバービュー ～観察研究からみた胎生期環境と精神障害～」
 - 2 松崎秀夫（福井大学）「発達障害発症基盤としての胎生期脂質代謝異常」
 - 3 黒田洋一郎・木村-黒田純子（環境脳神経科学情報センター、東京都医学研）
「発達障害児増加の原因としての胎児・乳児脳内化学物質環境
～エピジェネティックな発症メカニズム」
（追加発言） 厚労省障害保健福祉部 田中剛課長補佐（座長：秦健一郎）
- 第8回国際DOHaD学会参加の呼びかけ 福岡代表幹事
- 18時～ 懇親会（戸山庁舎食堂）

2 日目：6月8日（土）

- 8時30分～ 受付開始
- 9時～9時30分 会長講演 「妊娠期・子育て期女性の栄養摂取制限の課題」
独) 国立健康・栄養研究所 瀧本秀美 (座長：久保田健夫)
- 9時30分～10時 教育講演Ⅱ 「発達障害支援施策の現状」
厚生労働省障害保健福祉部 日詰正文専門官 (座長：土屋賢治)
- 10時～10時45分 教育講演Ⅲ 「低出生体重の影響に関する経済学的分析」
大阪大学経済学部教授 大竹文雄 (座長：伊東宏晃)
- 10時45分～10時55分 休憩
- 10時55分～11時40分 教育講演Ⅳ 「DOHaD を視点に入れた地域健康づくり」
女子栄養大学副学長 香川靖雄 (座長：佐田文宏)
- 11時40分～12時30分 昼休み
- 12時30分～14時 ポスター発表
(座長：野原恵子、望月和樹、加藤則子、鈴木啓二)
- 14時～16時 シンポジウム3 「疫学・臨床医学の立場から見たDOHaD」
(座長：宇田川潤・佐田文宏)
- 1 杉山隆 (東北大学) 「過栄養と胎児発育：児発育に影響を与えるのは糖質代謝だけか？」
 - 2 佐田文宏 (国立保健医療科学院) 「出生時～幼小児期の体格と成人期のアウトカム」
 - 3 宮本恵宏 (国立循環器病研究センター) 「内科臨床医からみたDOHaD研究-都市部コホート研究を用いた検討-」
 - 4 西條泰明 (旭川医科大学) 「DOHaDと炎症としての動脈硬化」
- 16時～16時30分 総会
優秀演題と優秀ポスター賞の発表・表彰状授与
閉会式

一般演題発表者へのご案内

1. ポスターのサイズは、85×155cmの範囲内に収まるようにしてください。貼り付け用の画びょうやセロハンテープは受付でご用意しています。
2. ポスターは、6月7日（金）の9時から掲示できます。
3. ポスターの掲示場所は、受付でご案内します。貼り付け場所の左上に演題番号がありますので、その下に貼ってください。
4. 演者一人当たりの発表時間は3分、質疑応答は2分です。時間厳守をお願いします。
5. 優秀ポスターの投票は、6月8日（土）の14時まで専用投票箱で受け付けています。
6. 優秀演題賞は、抄録の締め切り期日までに抄録をご提出いただいた演題に限らせていただきました。なにとぞご了承ください。
7. ポスターは演者が各自責任を持って、6月8日（土）の16時以降取り外してください。お忘れになったポスターは、事務局で廃棄しますのでご了承ください。

運営上のご連絡

1. 受付

日 時：6月7日（金）9時～、 6月8日（土）8時30分～

場 所：厚生労働省 戸山研究庁舎（国立健康・栄養研究所） 1階ロビー

2. 学会参加費（事前受付）

会員・入会希望 1,000円（入会希望の方は、入会申込書をご提出ください）

一般・非会員 2,000円

懇親会参加費 3,000円（事前受付に限らせていただきます）

3. 口演発表要領

(1) 発表者受付 発表用ファイルは前日までに事務局（j-dohad2nd@nih.go.jp）にご提出ください。

(2) 発表形式

Windows版PowerPointによるPC発表

4. 昼食

6月7日（金）12:00～13:00、 6月8日（土）11:40～12:30

持参された弁当類は、会場内で食べていただくことは可能です。

飲物は、1・2階の自動販売機が利用できます。

金曜日は戸山庁舎1階の食堂が営業していますが、混雑が予想されます。

周辺のレストラン等もご利用ください。

土曜日は食堂が営業しておりませんので、お弁当を持参いただくか、周辺のレストラン等をご利用ください。

5. 懇親会

日時：6月7日（金）18:00～

場所：戸山庁舎1階食堂

6. その他

(1) 会場内は全て禁煙です。

(2) 会場内での携帯電話による通話は禁止とさせていただきます。電源をオフにするかマナーモードでご使用ください。

(3) 会場内にクロークはございません。お荷物は各自で管理ください。

交通案内



地下鉄大江戸線 若松河田駅から(徒歩10分)

河田口を出て正面の信号を渡り、200メートルほど直進。大久保通りの信号を渡り、国立国際医療センターを左手に見ながら坂を下る。400メートルほど先の、道の右側にある青い建物が当所です。

地下鉄東西線 早稲田駅から(徒歩10分)

高田馬場駅寄り出口を出て、早稲田通りを高田馬場方面に100メートルほど進む。馬場下町の信号を左折して次の信号まで250メートルほど進む。信号を左折し、箱根山通りの坂を次の信号まで200メートルほど登る。信号を左折し、50メートルほど先の、道の左側にある青い建物が当所です。

地下鉄副都心線 西早稲田駅から(徒歩14分)

1番出口を出て、明治通りを新宿方面に100メートルほど進む。最初の信号を左折して諏訪通りを2つ目の信号まで600メートルほど進む。信号を右折し、箱根山通りの坂を次の信号まで200メートルほど登る。信号を左折し、50メートルほど先の、道の左側にある青い建物が当所です。

目次

基調講演	2
特別講演	5
教育講演	7
会長講演	7
シンポジウム	16
一般演題	39

基調講演

DOHaD (Developmental Origins of Health and disease) を巡る最近の流れ

演者 福岡 秀興(早稲田大学)

座長 瀧本 秀美 (国立健康・栄養研究所)

【演者の略歴】

福岡 秀興(早稲田大学)

昭和 48 年 東大学医学部医学科卒。東大助手(医学部産婦人科学教室)、香川医科大学助手、講師(母子科学教室)、米国ワシントン大学医学部薬理学教室(セントルイス) Research Associate、Rockefeller 財団生殖生理学特別研究生、東大大学院助教授(医学系研究科発達医科学)を経て、平成19年4月より早稲田大学胎生期エピジェネティック制御研究所教授。平成23年6月より総合研究機構研究院教授現在に至る

米国内分泌学会会員、日本内分泌学功労代議員、日本母性衛生学会監事、評議員(日本骨代謝学会、日本骨粗鬆症財団、日本妊娠糖尿病学会、日本性差医学学会、日本臨床栄養学会、他)

認定臨床栄養学術師(日本臨床栄養学会)

産婦人科専門医

第 6 次第 7 次「栄養所要量」及び「妊婦のための食生活指針」策定委員等

基調講演

DOHaD (Developmental Origins of Health and disease) を巡る最近の流れ

福岡 秀興
早稲田大学総合研究機構

D.Barkerの提示した「成人病（生活習慣病）胎児期発症起源説」は、現在「DOHaD説」に進展している。「受精時や胎生期の子宮内及び乳幼児期の、望ましくない栄養環境や環境化学物質・ストレスへの曝露がエピゲノム変化を起し、一部はそのまま存続し、その存続したエピゲノム変化が疾病の素因となり、出生後の環境要因との相互作用によって成人疾が発症する。成人病はこの2段階を経て発症する。その素因に対し、早期にライフスタイル、時に薬物による介入を行う事で疾病の発症を効率的に予防出来る。」という学説である。ヒトでの解析対象となる臓器・組織（胎盤、臍帯、臍帯血、末梢有核血球細胞）は限定されているために、前世紀はその少ない知見しか得られず、仮説に過ぎないとまでされてきた。しかし疫学及び動物実験での研究が進むと同時に、これらヒト臓器での知見が大きく進み、生活習慣病といわれる成人病の発症機序を解明し得る「21世紀最大の医学学説」へと変貌を遂げつつあり、もはや仮説とする時代ではない。受精時、胎生期、新生児期（Developmental stage）という短時間に起こる環境と遺伝子の相互作用が、一生の健康度、更に世代を超える健康を決定するのである。また統合失調症・双極性障害は、2型糖尿病、脂質異常症等の合併率が高く、これらの疾患は共通した胎生期のエピゲノム変化に由来する可能性がある。一方、発展途上国を中心に、NCD (Non communicative diseases) は、今後20年間に1.7-1.8倍の著増が予想され、その予防なくして世界または各国の経済的・社会的発展は望めない。この状況で、DOHaD説こそが予防医学・先制医療の基本であり、エピゲノムに可塑性のある早期からの介入によって疾病予防が可能との認識が広がりつつある。これは、生命科学は勿論、健康・疾病・疾病予防・社会構造・経済その他の概念を大きく変えるパラダイムシフトを我々に課すものでもある。

その視点に立脚した早期介入方法の検討が精力的に検討されている。即ち妊娠中のエピゲノム代謝（DNAメチル化、ヒストン修飾）を制御する栄養素としての **One carbon metabolism** 関連栄養素、炭水化物、ビタミンA、D、脂質の意義が明らかとされつつあり、妊娠前、妊娠中、乳幼児期の重要性が注目されている。また肥満、耐糖能低下、インスリン分泌予備能低下に対するレプチン、インクレチン、メトフォルミン、高血圧発症に対するARBの有効性を示す知見が集積されている。乳幼児期のスキンシップを含めた育児方法、脂肪リバウンド時期と肥満・思春期発来時期との関連性、更にこれらと成人病との関連が明らかとなりつつある。離乳時期とアレルギー疾患発症との知見も特筆すべきといえる。更に生殖補助医療(ART)におけるエピゲノム変化の特性、**Personalized epigenetic signature**(Feinberg AP,2010)の早期からの解析の重要性、**Trans-generational effect**(ソフトな世代間伝達現象：E. Jablonka)現象の分子機序、妊娠中のストレスや薬物の胎児臓器形成への影響等多方面での知見が急速に集積されつつある。

次世代の健康を考えると日本の現況は必ずしも望ましくない。若年女性の痩せ願望は強く、「小さく産んで大きく育てる」とする考え方が今も存続していると伝聞され、低出生体重児の頻度はOECD加盟国の中でも極めて高い。出生体重の小さかった妊婦は妊娠糖尿病罹患リスクが高い事や、その治療に強いカロリー制限が一部では行われており、次世代の健康への配慮が望まれている。一方で、発達障害児、小児生活習慣病児、小児CKDの増加が続いている。これらは次世代に成人病の多発と、社会経済的に厳しい状況が出現する可能性を示唆するものであり、栄養・教育・メディア・社会経済・行政等の多分野の方々と一丸となって行動していかなくては解決不能な大きな社会現象である。日本DOHaD研究会はその中心学会として機能していきべき責務を負うものである。講演を通じて皆様と共に考えていきたい。

一方で動物実験では、脂質代謝、交感神経系、視床下部—下垂体—副腎系、海馬、腎臓等でのエピゲノム変化の解析が進み、人では血液、胎盤、臍帯と分析対象は限定されるが、インプリント遺伝子IGF-2、one carbon metabolism に関連したLine1 遺伝子、臍帯のRXRa 遺伝子等での変化が明らかになりつつある。健やかな次世代を確保する責任を持つべき我々世代は、この第二のダーウィニズムともいふべき「成人病胎児期発症起源説、胎児プログラミング説、儉約遺伝子説とも称されているDOHaD 説」を共有して、世界DOHaD 学会とも連携を取りつつ、次世代の幸せを願いつつ共に進みたい。

特別講演 糖尿病の成因

演者 春日 雅人 (国立国際医療 センター理事長)
座長 瀧本 秀美 (国立健康・栄養研究所)

【演者の略歴】

春日 雅人

国立国際医療 センター理事長

昭和 48 年 3 月 28 日 東京大学医学部医学科卒業
昭和 48 年 6 月 8 日 東京大学附属病院非常勤医員(研修医)
昭和 50 年 7 月 1 日 東京大学附属病院非常勤医員
昭和 54 年 7 月 9 日 米国国立衛生研究所(N.I.H., Diabetes Branch)留学
(~昭和 56 年 7 月 8 日)
昭和 56 年 7 月 10 日 米国 Joslin 糖尿病センター留学(~昭和 57 年 11 月 20 日)
昭和 58 年 3 月 1 日 東京大学附属病院非常勤医員
昭和 58 年 7 月 16 日 文部教官東京大学助手医学部附属病院
平成元年 5 月 16 日 東京大学 講師 医学部
平成 2 年 4 月 1 日 神戸大学 教授 医学部
神戸大学大学院医学研究科担当
平成 11 年 4 月 1 日 神戸大学大学院医学系研究科担当
平成 13 年 4 月 1 日 神戸大学 教授 大学院医学系研究科
平成 16 年 10 月 1 日 神戸大学医学部附属病院長
平成 19 年 4 月 1 日 神戸大学大学院医学系研究科内科学講座教授
平成 20 年 4 月 1 日 国立国際医療センター研究所長
平成 22 年 4 月 1 日 独立行政法人国立国際医療研究センター理事, 研究所長
糖尿病研究センター長
平成 24 年 4 月 1 日 独立行政法人国立国際医療研究センター総長(現職)

所属学会

日本糖尿病学会
日本内分泌学会
日本肥満学会
日本臨床分子学会
日本内科学会

特別講演

糖尿病の成因

春日 雅人
国立国際医療研究センター

糖尿病は慢性的に高血糖が持続する疾患であり、高血糖を放置しておくると特有の細小血管障害や大血管障害を合併する。糖尿病は単一の成因で発症する疾患ではなく、その成因が非常に不均一であることがその特徴といえる。日本糖尿病学会も糖尿病について「慢性の高血糖を主徴とする代謝疾患群」と定義しており、米国糖尿病協会も「a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia …」と表現している。すなわち、糖尿病という疾患は、その成因は非常に不均一であるが、その成因にかかわらず高血糖が持続すると合併症の発症等同様の臨床経過をとるのでひとつの疾患としてまとめられていると考えられる。

糖尿病は現在、「1型」、「2型」、「その他の特定の機序、疾患によるもの」ならびに「妊娠糖尿病」に大別されているが、これは成因に基づく分類であり、このことからその成因の多様性は明らかである。糖尿病の95%以上をしめる2型糖尿病は、いくつかの遺伝素因といくつかの環境要因が重なりあって発症すると考えられている。本講演では遺伝素因と環境要因という観点から糖尿病の成因について解説したい。

教育講演 I 未熟児医療と DOHaD

演者 板橋 家頭夫 (昭和大学小児科教授)
座長 杉山 隆 (東北大学)

【演者の略歴】

板橋 家頭夫 (昭和大学医学部小児科学講座教授・昭和大学病院副院長・昭和大学病院総合周産期母子医療センター長)

経歴

- 昭和 54 年 3 月 昭和大学医学部卒業
- 昭和 54 年 4 月 昭和大学小児科学教室入局 (主任：奥山和男教授)
- 昭和 63 年 2 月 葛飾赤十字産院小児科 部長
- 平成 2 年 7 月 昭和大学小児科 専任講師
- 平成 8 年 8 月 浦和市立 (現さいたま市立) 病院小児科 科長
- 平成 11 年 7 月 埼玉医科大学総合医療センター
(主任：小川雄之亮教授) 総合周産期母子医療センター新生児部門助教授
- 平成 14 年 4 月 昭和大学横浜市北部病院 こどもセンター教授
- 平成 15 年 12 月 昭和大学医学部小児科主任教授
- 平成 20 年 4 月 昭和大学病院 副院長
- 平成 25 年 4 月 昭和大学病院総合周産期母子医療センター長

学位

医学博士 (授与大学：昭和大学) 昭和 60 年 3 月授与

学会活動その他

- 日本小児科学会専門医、日本周産期・新生児医学会 (暫定) 指導医
- 日本小児科学会代議員、日本小児科学会新生児委員会委員長、薬事委員会委員
- 日本周産期・新生児医学会 理事、教育研修委員会委員長
- 日本未熟児新生児学会 理事、評議員、医療訴訟問題検討委員会委員長
- 日本母哺育学会 理事長
- 新生児栄養フォーラム 代表世話人
- 東京都周産期医療協議会 委員
- Breastfeeding Medicine Editorial Board
- International Society for Developmental Origins of Health & Disease 会員
- 国際協力事業団短期専門家 (エジプト・カイロ大学付属特殊小児病院)
- 財団法人日本医療機能評価機構 産科医療補償予防対策委員会委員 (H21.2.1～)
- 日本臨床薬理学会認定医制度指導医 (H21.1.1～H25.12.31)
- 財団法人成長科学協会 成育治療研究委員会委員 (H21.7.1～H23.6.30)
- 第 54 回日本未熟児新生児学会学術集会会長 (平成 21 年 11 月 29 日-12 月 1 日 ; パシフィコ横浜)
- 昭和大学初期研臨床研修プログラム委員会委員長、昭和大学病院研修委員長

主要研究領域

- 1) 低出生体重児の栄養管理 (静脈栄養・母乳強化パウダーの開発)
- 2) 低出生体重児の発育
- 3) Developmental Origins of Health & Disease
- 4) 在胎期間別出生時体格標準値の作成 (H.22)
- 5) 厚生労働科学研究費成育疾患等克服事業「HTLV-1 母子感染予防に関する研究：HTLV-1 抗体陽性妊婦からの出生児のコホート研究」主任研究者 (H23~25 年度)

教育講演 I

未熟児医療と DOHaD

昭和大学医学部小児科学講座

板橋 家頭夫、中野 有也

Barker らによって、胎児期や乳児早期の発育不全およびそれに引き続く急速な成長が、メタボリックシンドロームや生活習慣病のリスクにつながることを示され、その後多くの研究が報告された。この領域の研究の多くが正期産児を対象としていたが、2000 年代に入り、早産低出生体重児や極低出生体重児を対象とした研究も散見され、早産低出生体重児や極低出生体重児出身の小児や青年では、正期産正常出生体重児出身の対照に比べて、血圧が高いことや脂質異常が認められること、インスリン抵抗性が高いことなどが報告されているが、必ずしも見解が一致しているわけではない。最近報告された在胎 37 週未満の早産児で 18 歳以上の対象とした研究のメタアナリシスによれば、対照に比べ収縮期・拡張期血圧ともに有意に高く（それぞれの較差は 4.2mmHg、2.6mmHg）、LDL コレステロールも 0.14mmol/L 高かったが、インスリン抵抗性や動脈硬化の指標には差はなかったという。

極低出生体重児を対象とした Helsinki study では、青年期のインスリン抵抗性や血圧は対照に比較して高く、骨密度が低いと報告されているが、脂質異常の発生は差がなく、動脈硬化の指標となる intima-media thickness (IMT) や Flow mediated diameter にも差は認められていない。我々も、極低出生体重児出身の青年を対象にインスリン抵抗性の評価を実施したが、同年齢の対照と比較して明らかに空腹時インスリン値および HOMA-IR が高いことが示され、Helsinki study を支持する結果が得られている。併せて青年期の体格を評価したが、両親の身長をもとに計算した目標身長に比べて -0.7SD 低く、また BMI については“やせ”が一般人口に比して高率に認められた。

DOHaD (developmental origins of health and disease) 仮説は、感受期の環境によって遺伝子のエピジェネティック変化がメタボリックプログラミングをもたらし、その後の環境とのミスマッチにより non-communicable disease に進展するという考え方である。極低出生体重児に対して DOHaD 仮説をあてはめて考えてみると、プログラミングを促す感受期の環境として、早産をもたらす原因として最も多い子宮内炎症や胎児発育不全、NICU 入院中の管理や様々な処置、合併症（中心静脈カテーテルの挿入やステロイド投与、重症感染症、低栄養/過栄養、feeding intolerance、未熟児動脈管開存症や低血圧、代謝性アシドーシスに伴う循環動態の変化、低酸素血症や過酸化物の増加など）などがあげられる。これらが単独に、あるいは複合してメタボリックプログラミングに関与する可能性がある。

正期産低出生体重児では、胎児期の栄養不足がメタボリックプログラミングをもたらし、これを基盤に出生後の（相対的に）過剰な栄養が内臓脂肪の蓄積、メタボリックシンドロームに関与するとの考え方が一般的となっているが、極低出生体重児に対してこのような考え方が当てはまるのかどうかは明らかでない。我々の検討では、極低出生体重児出身の青年期の overweight は高率でなくむしろ“やせ”が多いこと、対照に比較して血清総アディポネクチン値に差がないこと、レプチン抵抗性がないこと、fat scan では内臓脂肪の占める面積が多くないことなどから、メタボリックドミノとは別のメカニズムが関与しているのではないかと考えている。

極低出生体重児出身の思春期におけるインスリン抵抗性や脂質異常、動脈硬化の指標は、NICU 入院中の生後 2 週間の成長速度が速いことと関連しているという報告があり、suboptimal な栄養管理が生活習慣病のリスクを軽減できるのではないかという見解もある。このような報告があったとしても、現状の極低出生体重児の栄養管理は、できるだけ胎児発育に近づけ出生後の発育不良を回避し精神運動発達を向上させることを目的とした early aggressive nutrition が普及しつつある。Early aggressive nutrition は 2000 年代になってから次第に普及してきた栄養管理法であり、このような栄養管理下ではたして生活習慣病のリスクが高くなるのかどうかは現時点で明らかではなく、今後の検討を待たねばならない。

教育講演Ⅱ 発達障害支援施策の現状

演者 日詰 正文（厚生労働省社会・援護局障害保健福祉部障害福祉課）
座長 土屋 賢治（浜松医科大学）

【演者の略歴】

日詰 正文

障害児・発達障害者支援室 発達障害対策専門官

金沢大学を卒業後、長野県精神保健福祉センター勤務を経て、平成19年より厚生労働省 社会・援護局障害保健福祉部 精神・障害保健課に発達障害対策専門官として、発達障害者支援に関わる法改正や諸施策の推進に携わる。

平成23年より、長野県健康長寿課において、発達障害支援員として勤務。

平成25年4月より現職。

教育講演Ⅲ 低出生体重の影響に関する経済学的分析

演者 大竹 文雄（大阪大学経済学部教授）
座長 伊東 宏晃（浜松医科大学）

【演者の略歴】

大竹 文雄

大阪大学社会経済研究所 教授 大阪大学理事補佐

1983年 京都大学経済学部卒業

1985年 大阪大学大学院経済学研究科博士前期課程修了

1985年 大阪大学経済学部助手等を経て、2001年より大阪大学社会経済研究所 教授

大阪大学博士（経済学） 専門：労働経済学、行動経済学

主要論文

"Population Aging and Consumption Inequality in Japan," *The Review of Income and Wealth*, Ser.44, No.3, 1998, 361-381, (with Makoto Saito)

"Who Supports Redistribution?" *Japanese Economic Review*, Vol. 55-4, 2004, pp.333-354. (with Jun Tomioka)

"Testing the Morale Theory of Nominal Wage Rigidity" *Industrial and Labor Relations Review*, Vol. 61, No. 1, 2007, pp. 59-74,(with Daiji Kawaguchi)

"Time Discounting: Declining Impatience and Interval Effect," *Journal of Risk and Uncertainty*, Aug 2009, Vol. 39, No. 1, pp.87-112.(Yusuke Kinari, F. Ohtake, Yoshiro Tsutsui)

"Unemployment and Happiness," *Japan Labor Review*, Vol.9, No. 2, Spring 2012, pp.59-74.

著 書

『日本の不平等』、日本経済新聞社、2005年5月

『経済学的思考のセンス』、中公新書、2005年12月

『格差と希望』（2008年、筑摩書房）

『競争と公平感』（2009年、中公新書）など

主な受賞歴

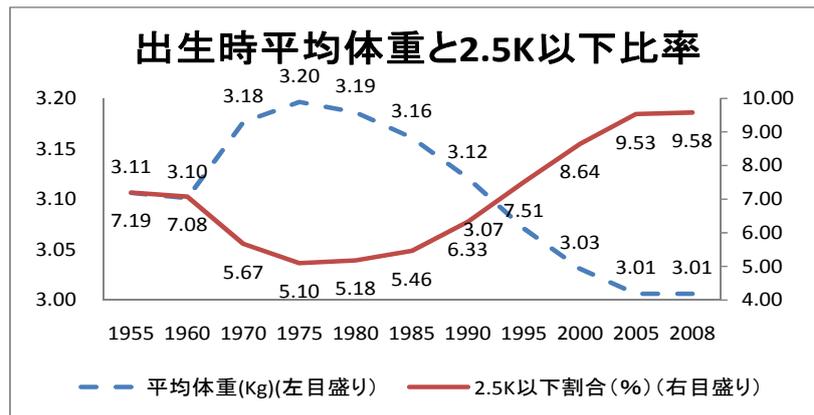
- ・2005年11月 第48回日経・経済図書文化賞：『日本の不平等』
- ・2005年11月 第27回サントリー学芸賞：『日本の不平等』
- ・2006年4月 第46回エコノミスト賞：『日本の不平等』
- ・2006年10月 第1回 日本経済学会・石川賞
- ・2008年6月 日本学士院賞 など

低出生体重の影響に関する経済学的分析

○大竹文雄¹

¹大阪大学社会経済研究所

【はじめに】日本の子供の出生時の平均体重は、低下傾向が続いている。出生時の平均体重は、1980年には3200グラムだったが、2010年には3000グラムに低下している（「人口動態統計」(厚生労働省)。2500グラム未満の低体重で生まれてくる比率は、1980年は5.18%だったが2010年には9.62%まで高まっている(図)。



このような出生時体重の低下が生じた理由はいくつか考えられる。妊娠中毒症などの疾病を防ぐために妊婦検診における体重管理を厳しくしたこと、「小さく産んで大きく育てる」という考え方が広まったこと、日本の若い女性の中の「やせ願望」が高まったこと、若者の間の貧困・失業が増えて妊婦の栄養が不足していること、女性の喫煙率の上昇などである。理由の解明が急がれるが、低出生体重児の増加そのものが、将来の日本経済に大きな影響を与える可能性がある。二つのルートを通じた影響である。第一は、低出生児は将来メタボリック症候群を引き起こしやすいことから生じる医療費の増加である。第二は、低出生体重児の学歴や所得の低下である。

【出生時の体重とメタボリック症候群】

1998年のクリニカル・サイエンス誌によれば、英国のサウサンプトン大学のバーカー教授は、一連の研究で出生時の体重が低いと成人になってから冠状動脈性心臓病・糖尿病・高血圧などの生活習慣病にかかる人の割合が高いことを明らかにしている (Barker(1998))。胎児の間の栄養状態が悪いと、代謝のメカニズムがその環境に応じてプログラムされて生まれてくるというのがバーカー教授の主張である。胎児における栄養が少ないと、飢餓状態に耐えられるように、体内に脂肪を蓄積しやすいように体質をプログラムするという考えである。生まれてきた世界は、饑餓ではなく飽食の世界である。飢餓に備えて作られた体質は、飽食の環境では、肥満に象徴されるメタボリック症候群をもたらしてしまう。

2008年8月、日本学術会議の臨床医学委員会・健康・生活科学委員会における合同生活習慣病対策分科会(2008)が、「出生前・子どものときからの生活習慣病対策」という提言で、日本でもこの問題が深刻であることを示している。この提言によれば、胎児期に栄養状態が悪いと、様々な臓器は発育不全になり、インスリン分泌不全、インスリン抵抗性、グルココルチコイド過剰状態、レプチン抵抗性、腎機能低下などが起こる。また、このような胎児期の機能の変化は胎児プログラミングとも言われている。変化した機能の特性は出生後も継続されるので、出生後に栄養過多になると、肥満、糖尿病、高脂血症、高血圧、メタボリックシンドロームなどに罹患しやすくなる、という。

日本学術会議の提言によれば、日本でもいくつかの疫学的研究が行われており、日本人におい

ても、胎児期の低栄養が将来的なメタボリックシンドローム、高脂血症、インスリン抵抗性、2型糖尿病の要因になることを示している。要するに、低体重児は将来メタボリック症候群を引き起こす可能性が高いため、その分、日本経済からみれば医療費の高騰要因となる。

【出生時体重と大人になってからの経済状態】

胎児期の栄養状態が、生まれてからの健康状態に大きな影響を与えるのが本当だとすれば、大人になってからの経済状態にも影響を与える可能性がある。健康は、経済状況を大きく左右するからである。

実際、出生時の体重とその後の社会経済状況との関係が、最近多くの経済学者によって研究され始めている。なかでも、バーカー仮説を最初に経済学的に分析した Currie(2009)は、衝撃的な内容である。この論文によれば、出生時体重が低いことと、注意欠陥・多動性障害 (ADHD) の発生率の高さ、教育水準の低さ等の間に相関があることが多くの研究で明らかにされてきているという。イギリスのデータを使ったカリ教授の研究によれば低体重児は 0 レベルという大学入試資格試験の英語と数学の合格率が 25%以上低いことや雇用される確率が低いことが示されている。日本でも全国学力テスト (小学6年生と中学3年生) の都道府県別平均点と出生時体重との間には正の相関がある (小原・大竹(2009))。ただし、『21世紀出生児縦断調査』のパネルデータを分析した川口・野口(2012)によれば、2500g以下で生まれることは2歳半時点での発達を贈らせているが、6歳半時点での行動には統計的な影響を与えていないとしている。また、彼らは低出生体重をもたらすのは、母親の喫煙と出産6ヶ月前の母親の就業であることを見いだしている。特に、出産6ヶ月前に母親がフルタイム就業している場合には、2500g未満の低体重出産となる確率を2.4%ポイント上昇させるとしている。

もともと、出生時の低体重とその後の教育水準の間に相関があっても、低体重が低い教育水準をもたらしたという因果関係を示すことにはならない。なぜなら、子供が生まれ育った家庭が貧しいということが、その子供の出生時の低体重と低い教育水準の両方を引き起こしている可能性があるからだ。この点について、低出生時体重とその後のアウトカムに関する因果関係を明らかにする研究が急速に進んでいる。例えば、Black 他 (2007) は、ノルウェーの双子のデータを使って、双子同士での出生時体重の違いが IQ、教育、所得などに影響を与えることを明らかにしている。彼らの推定結果によれば、出生時体重が 10%重いと所得を 1%高めている。ただし、カリフォルニアのデータを用いた Royer(2009)の研究では、出生体重が教育年数に与える影響は統計的には有意だが、250gの増加で 0.03~0.04年の教育年数の増加をもたらす程度にすぎないとしている。

他にも、母親の妊娠時の栄養状態を悪化させる様々な要因 (景気の状態、インフルエンザの流行、チェルノブイリの放射線事故の影響、大気汚染など) が、生まれた子供のその後の悪影響を与えることを示す研究が数多くなされている (Almond and Currie(2010))。

Currie(2009)は、貧困家庭の子供が貧困となり、その子供も貧困になるという貧困の連鎖の原因を、遺伝ではなく、つぎのような説明をしている。栄養状態の悪い妊婦から低体重児が生まれ、その子供が育っても健康状態が悪く、所得が低くなる。所得が低い親となって、子供を生むと低体重の子供が生まれる。そうすると、またその影響が子供が大人になったときに現れるというものである。

Barker DJP(1998) "In Utero Programming of Chronic Disease" *Clinical Science* 95, 115-128.

Black, SE, PJ Devereux, & KG Salvanes.(2007) "From the Cradle to the Labor Market? The Effect of Birth Weight on Adult Outcomes," *Quarterly Journal of Economics* 122 (1), 409-439.

Currie, J (2009)"Healthy, Wealthy, and Wise? Socioeconomic Status, Poor Health in Childhood, and Human Capital Development," *Journal of Economic Literature* 47 (1), 87-122.

Almond D & J Currie (2010) "Human Capital Development before Age Five," NBER WP 15827.

Royer, H. (2009) "Separated at Girth: US Twin Estimates of the Effects of Birth Weight." *American Economic Journal: Applied Economics*, 1(1): 49-85.

川口大司・野口晴子(2012)「低体重出生：原因と帰結」一橋大学 GCOE DP 265.

小原美紀・大竹文雄(2009)「子供の教育成果の決定要因」『日本労働研究雑誌』no.588、67-84

教育講演Ⅳ DOHaD を視点に入れた地域健康づくり

演者 香川 靖雄 (女子栄養大学副学長)
座長 佐田 文宏 (国立保健医療科学院)

【演者の略歴】

香川 靖雄

女子栄養大学副学長

学歴 昭和 32 年 東京大学医学部医学科卒業

昭和 37 年 東京大学大学院生物系研究科博士課程修了 (医学博士)

職歴・経歴 昭和 33 年 聖路加国際病院医師実地修練 (日野原重明先生に師事)

昭和 40 年 東京大学医学部生化学助手

昭和 42 年 東京大学医科学研究所化学部助手

昭和 43 年 信州大学医学部生化学教授

昭和 45 年 米国 Cornell 大学生化学分子生物学客員教授

昭和 47 年 自治医科大学大学生化学教授

昭和 48 年 自治医科大学放射線管理 RI 委員長 (研究・臨床の管理)

昭和 61 年 長崎大学医学部原爆後障害医療研究施設非常勤講師 等

平成 10 年 女子栄養大学教授 自治医科大学名誉教授

平成 11 年 女子栄養大学副学長 (現職)

兼任栄養科学研究所長、女子栄養大学坂戸診療所長

受賞歴 昭和 60 年 日本医師会医学賞受賞 (人体の ATP 合成酵素研究に対し)

平成 8 年 紫綬褒章 (生化学研究に対し)

平成 18 年 瑞宝中綬章 (教育研究に対し)

研究領域 人体の生体エネルギー学、生化学分子生物学、栄養生化学

主な著書 香川靖雄編：日本栄養・食糧学会監修：時間栄養学 女子栄養大学出版 2009

香川靖雄他、日本ビタミン学会監修：ゲノムビタミン学、建帛社 2008

香川靖雄：香川靖雄教授のやさしい栄養学 女子栄養大学出版、東京 2006

学会および社会における活動等

昭和 52 年～平成 11 年 文部省学術審議会専門委員 (組換え DNA、遺伝子治療など)

昭和 53 年～平成 7 年 日本生化学会常務理事 (間歇的に計 5 期) 同学会名誉会員、元副会長、元

教育委員長等、文部 (科学) 省特定研究「生体エネルギー」班長、「遺伝子病」班長

日本遺伝子治療学会元会長、内閣府元高齢者対策委員、文部科学省元医学視学委員、

理事：細胞科学振興財団 他、会議：埼玉県食育推進会議座長 他

教育講演Ⅳ DOHaD を視点に入れた地域健康づくり

○香川靖雄¹

¹女子栄養大学医化学研究室

【はじめに】DOHaD は人体発生時のエピジェネティックな過程で発症するので、その基本的な1炭素反応を担う葉酸とその周辺のビタミンB₆、B₁₂の適量摂取が適正体重維持と共に重要である(1)。世界72ヶ国で行われている穀類の強制的葉酸強化(図①)は妊娠以前からの国民平均血清葉酸を7ng/mlから14ng/mlに倍増して、二分脊椎症を予防し、DOHaD のリスクを軽減し、循環器疾患、癌の減少と医療費削減に成功した(2)。しかし、日本での妊婦の葉酸摂取は2000年の厚生労働省勧告にかかわらず時期、量ともに不適切(3)で、低体重児率が増加し(96/千人、2009年)、異常児発生頻度も増加した。2011年国民・健康栄養調査では20歳代女性のエネルギー摂取量は1595kcalで食事摂取基準の身体活動レベルⅠの1700kcal以下、BMI<18.5は21.9%、葉酸摂取量227μgは妊婦推奨量の半量以下である。葉酸はCpGアイランドのメチル化を介して低体重児を減らし(4)(図②)、低栄養母体の妊娠後のDOHaDを予防する(5)。

【目的】DOHaDの予防も含めた葉酸栄養、適正体重維持、リスク遺伝子多型検査を基本とした地域健康づくり「さかど葉酸プロジェクト」を日本人集団で始めて試行し、生活習慣病を予防して医療介護費を削減する(1)。二分脊椎症のリスクであるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR)TT多型(6)の影響も解明する。

【方法】対象は人口10万人の坂戸市民全体であるが、詳細な検診、栄養調査、遺伝子検査、料理教室、体育指導、朝食奨励を含む半年のコース(図③)を受講したのは約1000名で(1)、残る市民にはボランティア団体、健康メニュー食堂等を介する広汎な指導を行った(1)。テーマメイト栄養指導に不可欠なMTHFR等の遺伝子多型の安価、迅速、簡易な自動分析装置を開発した(7)。葉酸摂取量増加のために葉酸、ビタミンB₆、B₁₂を含む「葉酸米」を人体試験で確認して開発・商品化し葉菜・茶と共に摂取を奨励した(1)。DOHaD予防については、懐妊時の対策は誤りで(3)、婚姻届時に葉酸摂取と適正体重維持を十分に指導した。

【成績】日本人の15%を占めるMTHFRのTT多型であっても400μg/日の葉酸補給でCC多型と同水準の血清葉酸、血清ホモシステインに達した(8)。コース前後で全てのMTHFR遺伝子型で有意(p<0.001)に血清葉酸は増加し(約10ng/dl)、血清ホモシステインは減少した(1)(図④)。食品成分表から算出した食事からの葉酸摂取量にコースの前後で差はなく、緑黄野菜の摂取はCT型、TT型を告知した場合に有意に増加した。血清葉酸増加の主な原因は葉酸米の寄与が最も多かった。2011年度埼玉県民栄養調査では、県内都市に比して男性では有意(p<0.04)に糖尿病、高血圧、肥満症、脂質代謝異常と診断された者が少なく、女性では貧血が有意に少なかった(図⑤)。2006年のプロジェクト開始以後の医療費(図⑥)、介護費(図⑦)の減少の主要な原因は心筋梗塞、脳卒中、認知症の順であった。坂戸市の2011年の出生率は8.1/千人で1999-2003年平均に比し、低出生体重児出生率は102.7→104.5/千人と微減し、極低出生体重児出生率は2006年以降7.3→4.8~6.1/千人(図⑧)、乳児死亡率も5.9→3.4/千人と減少傾向を示した。

【考察】さかど葉酸プロジェクト(1)は全米での葉酸強化に伴う生活習慣病削減(2)と類似の成果を挙げたが、血清葉酸の増加が米国水準に達しなかったこと(図④)、医療費(図⑥)、介護費(図⑦)の減少が限界に達した原因は、全住民への穀類の葉酸強化(図①)ではなく、任意の摂取推奨法の限界である。葉酸投与がDOHaDの極低体重児を減らす傾向もあったが(図⑧)、疫学的判定には出生数(約800/年)が少なく、観察期間に約50年を要するので、胎盤の関連遺伝子のCpGアイランドのメチル化の実測が望まれる(図②)。このために母子の遺伝子、栄養素解析を環境省エコル計画宮城ユニットセンターの6500人を対象に協力している。DOHaDの病因として、人工的子宮内胎児発育遅延において腭島形成の転写因子遺伝子Pdx1の発現阻止機構等が知られているが、同様なエピジェネティクスによる代謝記憶が各種生活習慣病のレガシー効果の原因であることが知られ(9)、DOHaDを視点に入れた地域健康づくり指針となっている。

【文献】(タイトルは紙面の都合で短縮してある。)

- 1) 香川靖雄:臨床栄養:「さかど葉酸プロジェクトによる医療介護費削減」2012; **120** (4): 398-400.
- 2) Bentley TG et al. A cost-effectiveness of folate fortf. in US. *Public Health Nutr.* 2009; **12**(4): 455-467.
- 3) Sato Y et al. Prevalence of inappropriate folate use in Japan. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2013; **22** (1): 83-89.
- 4) Fryer AA et al. Human epigenetic profiling of CpG loci and birth weight. *Epigenetics.* 2011; **6**: 86-94.
- 5) Burge GC et al. Folate induces variations in fetal programming. *Br J Nutr.* 2007; **97**: 1036-1046.
- 6) Yan L et al. MTHFR C677T polymorphism and neural tube defects. *PLoS One.* 2012; **7**(10): e41689.
- 7) Kagawa Y et al. Automated SNP typing using bead array tube. *J Biosci Bioeng* 2010; **111**: 505-508.
- 8) Hiraoka M et al. Gene-nutrient interactions. *Biochem. Biophys Res Commun* 2004; **326**: 1210-1216.
- 9) Reddy MA et al. Epigenetic mechanisms in diabetes. *Cardiovascular Res.* 2011; **90**(3):421-429.

① 世界60カ国で米を含む穀類への法的葉酸強化
Compulsory Folate Fortification of Cereals by 60 Countries

January 2012: Fortifying with at least iron and/or folic acid (64カ国)



出生時体重百分順位を葉酸がエピジェネティックに高める事を示すベン図表

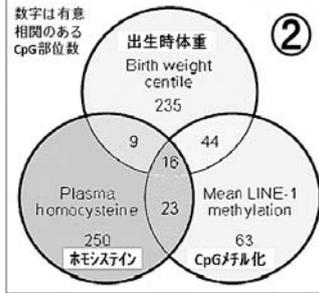


Figure 3. Venn diagram showing number of autosomal CpG sites significantly associated with each of the three parameters across the 12 samples; birth weight centile, plasma homocysteine concentration and mean LINE-1 methylation.

ヒト出生時体重と臍帯血ホモシステイン濃度がCpGアライメントのメチル化部位と関連することを定量的高分解能エピジェネティック解析で証明した。

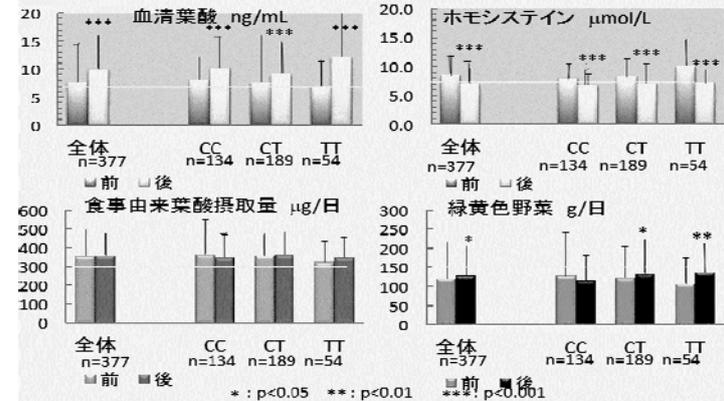
Quantitative, high-resolution epigenetic profiling of CpG loci identifies associations with cord blood plasma homocysteine and birth weight in humans

Fryer AA, et al. *Epigenetics* 2011; 6:1, 86-94

③ 第2回さかど葉酸プロジェクト

- 9月3日:解説一同意書 ↓ 9月5日:採血(朝食を摂らない)
1. 葉酸摂取の不足をホモシステインで計る
10月1日:結果通知・指導 ↓ 11月5日調理実習(2グループ)
2. 葉酸が不足しやすい体質を遺伝で判定
- 食事調査(アンケート)と指導
- 1月21日採血(判定用) ↓ 2月13日結果通知・指導
- 認知症になりやすい生活習慣を判定して改善
- 妊娠への注意: 婚姻届時に葉酸、適正体重を指導

④ テーラーメイド栄養指導効果【2006~2011】



香川靖雄: 臨床栄養 2012; 120 (4): 398.

平成23年度 埼玉県民健康・栄養調査報告書

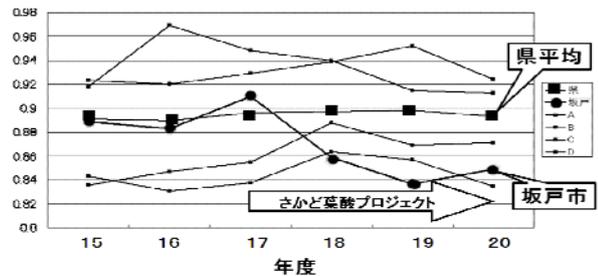
指摘を受けた既往歴頻度(埼玉県保健医療部 平成24年3月)

健康状態調査(全項目で坂戸市が秀れている傾向にある)



⑥ 坂戸市の医療費の全国、近隣市との比較(給付費ベース)

(全国平均を1とし坂戸市は0.85)厚生労働省HP(医療費地域差指数)
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/hoken/iryomap>



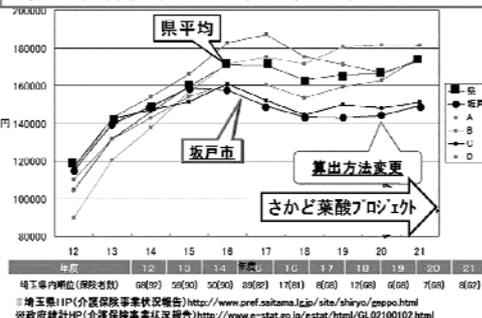
H20は後期高齢者医療制度の創設に伴い、給付費等の範囲拡大のため単純比較はできない。

坂戸市の極低出生体重児出生率は2006年以降減少傾向
全国の上出生率は2009年に6(H22厚労省出生統計)

【極低出生体重児出生率】 (出生千対)

	4~8年	6~10年	8~12年	10~14年	12~16年	14~18年	16~20年	18~22年
坂戸市	5.3	6.3	6.3	7.8	7.3	5.7	4.8	6.1
埼玉県	5.3	5.4	5.7	6.2	6.9	7.4	7.3	7.0

⑦ 埼玉県の一人当たりの介護給付費(第1号被保険者)坂戸市は県平均より2万円安



⑧ 極低出生体重児出生率 体重<1500g



図④註: テーラーメイド栄養指導効果はMTHFRの遺伝子型、栄養摂取量、検診結果の告知と指導の効果。

会長講演 妊娠期・子育て期女性の栄養摂取制限の課題

演者 瀧本 秀美（独立行政法人国立健康・栄養研究所）
座長 久保田 健夫（山梨大学）

【演者の略歴】

瀧本 秀美

独立行政法人国立健康・栄養研究所 栄養疫学研究部長

1991年	東京医科歯科大学医学部医学科卒業、産婦人科医師として勤務ののち
1994年	国立健康・栄養研究所母子健康・栄養部研究員採用
1999年	同主任研究官
2001年	独立行政法人国立健康・栄養研究所健康・栄養調査研究部 主任研究員
2005年	国立保健医療科学院生涯保健部 母子保健室長
2012年	独立行政法人国立健康・栄養研究所 栄養教育研究部長
2013年	4月より現職

会長講演

妊娠期・子育て期女性の栄養摂取制限の課題

○瀧本秀美

独立行政法人国立健康・栄養研究所 栄養疫学研究部

【目的】妊娠期の低栄養による胎児発育抑制は、児の成人後の肥満・循環器疾患・2型糖尿病などの生活習慣病の発症リスクを高める可能性があることが先行研究より指摘されている(Baker JL, et al. Epidemiology, 2008)。日本では他の先進諸国と異なり、妊娠可能年齢の女性における「やせ」の割合が「肥満」よりも高く(Takimoto H, et al. Am J Pub Health, 2004)、低出生体重児割合も増加傾向にある(Takimoto H, et al. J Obstet Gynecol Res, 2006)ことから、妊娠前～妊娠期を通じて低栄養のリスクにあるものが多いと推察される。さらに、「肥満」でない妊婦の約3割が医師や栄養士のアドバイスに基づかず、自己判断による食事制限を実施していた(Takimoto H, et al. Asia Pac J Clin Nutr, 2011)。このような現状にあって、妊娠期の低栄養の予防は急務と考えられる。

【方法】

1) 妊婦栄養講座でのアンケート調査

平成21年12～3月に、東京都M市と大阪府O市J区の保健センターで開催された、初産婦を対象とした栄養講座の参加者を対象とした。O市J区では、「プレママクッキング」として1日の講習と1日の離乳食調理実習を組み合わせた講座を年1回開催している。M市では毎月第2火曜日に、講習とグループワークを中心とした「プレママの栄養講習会」を開催している。本研究について文書と口頭で説明を行った後、主旨に同意が得られた参加者からは同意書への署名を得た。別紙1に示したアンケートへの記入と、別紙2のバランスガイドチェックシートへの記入を無記名で行い、これをその場で回収した。

2) 1歳6カ月児健診参加者を対象にしたアンケート調査

平成21年12～2月に、東京都M市の1歳6カ月児健診に参加した保護者を対象に、本研究について文書と口頭で説明を行った後、アンケート用紙と返信用封筒を配布した。

【成績】

- 1) 妊婦栄養講座に参加した妊婦の年齢分布の中心は30歳代であり、10代の参加者がなかった。M市では参加者の1割強が40歳代であった。参加者の自己申告による身長と妊娠前体重から算出した妊娠前BMIの状況では、肥満者に比べ「やせ」の割合が高い傾向がみられた。参加者のほとんどが、現在健康であると認識していたが、現在の食生活については、16%が「あまり満足していない」または「全く満足していない」と回答した。妊娠前の自身の体型評価については、妊娠前BMIから肥満と判定された者はわずか6%であったにもかかわらず、18%が「太っていた」あるいは「とても太っていた」と認識していた。
- 2) 回答者は30歳代が中心で7割以上を占めていた。出生児のほとんどが正期産で第1子の割合が高かった。分娩方法は自然分娩が約8割であった。自己申告による妊娠前BMIの分布では、「肥満」に比べて「やせ」の割合が高かった。双胎・肥満・早産を除いて、「妊産婦のための食生活指針」の推奨体重増加量を用いて体重増加量を評価したところ、1歳6カ月児健診参加者で「不足」「過剰」が高い割合であった。

【考察】

保健センターが主催している妊婦栄養講座は、食生活に関心の高い、比較的高年齢の妊婦に参加者が偏ること、地域全体をカバーするには規模が小さいことが今後の課題であると考えられた。しかし、関心の高い集団内にもダイエット志向の者がいることから、妊娠期の食生活についての専門家からの情報提供の場として、重要な意義があると考えられた。若年者や就労している妊婦など、栄養講座に参加が難しい妊婦にどのようにして情報を提供していくべきか(インターネットやマスメディアの活用等)、また医療機関との連携についても検討を行う必要があると考えられた。

シンポジウム1 DOHaD のメカニズムの解明～最近の知見～

座長：伊東宏晃（浜松医科大学）・秦健一郎（国立成育医療研究センター）

- S1-1 マウス胎生期低栄養モデルからの知見 古瀬民生 若菜茂晴（理化学研究所）
S1-2 肝臓におけるエピゲノム変化と糖脂質代謝変化 小川 佳宏（東京医科歯科大学）
S1-3 肥満・生活習慣病発症におけるヒストン脱メチル化酵素 Jmjd1a と交感神経経路の役割
酒井 寿郎（東京大学）
S1-4 栄養による遺伝子のエピジェネティクス変化 望月 和樹（山梨大学）
S1-5 ウシの研究からみた DOHaD の理解とその応用の可能性 後藤 貴文（九州大学）

【シンポジストの略歴】

古瀬民生

- 2003年 東京農工大学大学院連合農学研究科応用生命科学専攻修了・博士（農学）
2003年 国立遺伝学研究所 非常勤研究員（研究機関研究員）
2004年 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター
動物ゲノム機能情報研究グループリサーチアソシエイト
2006年 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター
ゲノム機能情報研究グループ研究員
2008年～ 理化学研究所バイオリソースセンター
マウス表現型解析開発チーム（日本マウスクリニック）開発研究員

若菜茂晴

- 1986年 名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了 農学博士取得
実験動物中央研究所育種研究室研究員
1991年 国立遺伝学研究所細胞遺伝部研究員
1994年 実験動物中央研究所遺伝子解析室室長代理
2000年 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター
動物ゲノム機能情報研究グループチームリーダー
2008年～ 理化学研究所バイオリソースセンター
マウス表現型解析開発チーム（日本マウスクリニック）チームリーダー

小川 佳宏

現 職： 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
分子内分泌代謝学分野（糖尿病・内分泌・代謝内科）・教授
〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45
TEL/FAX: 03-5803-5966
Email: ogawa.mem@tmd.ac.jp

学 歴： 昭和56年 3月31日 兵庫県私立甲陽学院高等学校卒業
昭和56年 4月 1日 京都大学医学部入学
昭和62年 3月31日 京都大学医学部卒業
平成 元年 4月 1日 京都大学大学院医学研究科入学（内科系）
平成 5年 3月31日 京都大学大学院医学研究科修了（内科系）
平成 6年 3月23日 京都大学医学博士（医博 第1545号）

職歴： 昭和62年 6月 1日 京都大学医学部附属病院内科・医師
昭和63年 6月 1日 大阪府田附興風会北野病院・医師
平成 5年 4月 1日 京都大学医学部内科学第二講座・医員
平成 6年 4月 1日 日本学術振興会特別研究員
平成 9年 4月 1日 京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学講座(内分泌・代謝内科)・助手
平成15年 4月 1日 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野・教授
(平成24年3月31日まで兼任)
平成23年12月 1日 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
分子内分泌代謝学分野(糖尿病・内分泌・代謝内科)・教授

酒井 寿郎

学歴

1988年 東北大学医学部卒業。
1994年 東北大学医学部大学院医学研究科修了(医学博士)。

職歴

1994年-1998年 米国テキサス州立テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター
(Goldstein& Brown 博士) 分子遺伝学講座 研究員。
2000年 東北大学助手(医学部附属病院 腎・高血圧・内分泌科)。
2001年 科学技術振興事業団(JST) 創造科学技術推進事業(ERATO)柳沢オーファン受
容体プロジェクト、グループリーダー。
2003年1月 東京大学 特任教授(先端科学技術研究センター システム生物医学分野)。
2009年7月 東京大学 教授(先端科学技術研究センター 代謝医学分野)

賞

2011年7月16日 第43回 日本動脈硬化学会第6回 五島雄一郎賞

所属学会

日本内科学会・日本動脈硬化学会(評議員)・糖尿病学会・日本内分泌学会・日
本心血管内分泌学会(評議委員)・日本臨床分子医学会(評議員)・日本血管生物
医学会(評議員)・高血圧学会・分子生物学会・生化学会

内科認定医、動脈硬化専門医

望月 和樹

山梨大学 生命環境科学部 地域食物科学科准教授

1991年3月 静岡県立清水南高等学校卒業
1992年4月 静岡大学理学部生物学科入学
1997年3月 静岡大学理学部生物学科卒業
1997年4月 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻博士前期課程入学
1999年3月 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻博士前期課程修了
1999年4月 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻博士後期課程入学
2002年3月 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻博士後期課程修了
2002年3月 博士(食品栄養科学) 取得

2001年4月～2002年3月 日本学術振興会特別研究員
2004年1月～2005年8月 日本学術振興会特別研究員(NIH)

2005年 9月～2007年 3月 静岡県立大学 食品栄養科学部 栄養学科 助手
2007年 3月～2012年 3月 静岡県立大学 食品栄養科学部 栄養生命科学科 助教
2012年 4月～ 山梨大学 生命環境科学部 地域食物科学科 准教授

後藤 貴文

1996年 九州大学大学院農学研究科畜産学専攻博士後期課程修了

1997年 3月 博士(農学)、九州大学

同年3月より九州大学大学院農学研究院 助手

2000年 8月より九州大学大学院農学研究院 助教授(農学部附属農場高原農業実験実習場)

2001年 3月 「和牛骨格筋の産肉能力と組織化学的特質」にて日本畜産学会賞受賞

マウス胎生期低栄養モデルからの知見

古瀬民生 若菜茂晴

理化学研究所・バイオリソースセンター・マウス表現型解析開発チーム・日本マウスクリニック

【目的】

我々は日本マウスクリニックにおいて高度に統制されたマウス生産飼育条件と網羅的な表現型解析プラットフォームにより、多くの遺伝子改変マウスにおける網羅的な表現型解析を行ってきた。このシステムを用いて、マウスの胎児期における栄養条件、特に低栄養が行動表現型に与える影響を、行動表現型解析プラットフォームとDNAメチル化の定量、脳組織解析などを用いて検討し、発達障害、精神疾患におけるDOHaD (Developmental Origins of Health and Disease、成人病胎生期発症) 仮説の検証を目指している。

【方法】

本研究においてはまず、母体の妊娠時低体重モデルマウスを作製するため、妊娠前からマウスを低栄養状態で飼育し、その母仔に関して検討を行った。標準食としては、AIN93G を与え、低栄養状態は、母マウスに低タンパク食 (標準より 1/5 に減じたもの(LP))を与えることにより作出した。また、DNA 合成およびDNAメチル化基質として知られている葉酸を5倍量添加した低タンパク食(LP+FA)を与えた群も実験に供した。母獣に関しては血液検査、体重測定を行い、新生仔に関しては、脳と肝臓を採取してマイクロアレイによる網羅的発現解析を行い、離乳後には網羅的行動解析、マイクロアレイによる脳の網羅的発現解析、ゲノムメチル化解析を行う。網羅的行動解析としては、同一の個体に対して各週齢、次に示す網羅的行動試験を行った:5週齢: Open-field test(1回目)、6週齢: Open-field test (2回目)、6週齢:物体探索試験、7週齢:社会行動、8-9週齢: Home-cage activity、10週齢: Light/Dark-transition test、11週齢: Fear-conditioning test、12週齢: Tail suspension test。

【成績】

ICR マウス(母獣)と C57BL/6J マウス(仔獣)を用いてこれまで行ってきた実験の結果、妊娠前の母獣の体重に関しては各群に有意な差は認められず、妊娠後にLP群、LP+FA群で低下が見られた。妊娠前の血中タンパク質、血中脂質、血糖値などのパラメータにLP群と通常食群との間に差がみられた。また、新生仔の体重に関してはLP群において標準食群と比較して有意に低下しており、LP+FA群は標準食とLP群の中間的な値となった。新生児の脳における遺伝子発現の変化に関して顕著な差は見られなかったが、成獣の脳の遺伝子発現には標準食-低タンパク食群で明瞭な差が見られた。離乳後の雄個体に関して行動表現型解析を行ったところ、低タンパク食で行動表現型の差異(物体探索、社会探索行動の減少)が認められた。現在は、各群のゲノムメチル化に関して解析を進めている。

【考察】

今後、行動関連遺伝子改変マウスを用いて、胎児期低栄養状態に暴露し、このマウスに関して上記の解析を行い、遺伝子変異と環境の相互作用、変異マウスの発達障害モデルとしての妥当性を検証する計画である。最終的には、これらのデータをもとに総括を行うことにより、発達障害、精神疾患におけるDOHaD仮説の検証を行いたい。

肝臓におけるエピゲノム変化と糖脂質代謝変化

○小川佳宏

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子内分泌代謝学分野

糖尿病に代表される生活習慣病は環境因子と遺伝素因の複雑な相互作用により発症する代表的な多因子疾患であり、この分子基盤としてDNAやヒストンの後天的修飾によるエピゲノム制御が注目されている。従来、多くの疫学調査や動物実験により、胎生期の栄養環境を反映する出生時体重と成人期に発症する生活習慣病の関連が指摘されている。即ち、胎児期あるいは個体の成長が著しい新生児期は全身臓器の可塑性が高い時期であり、胎児期や離乳前後の急激な栄養環境の変化がDNAメチル化によるメタボリックメモリーとしてエピゲノム記憶され、成獣期に発症する生活習慣病に対する疾患感受性を決定する可能性が想定される。我々は既に、低カロリー食により飼育した妊娠マウスが出産する子宮内胎仔発育遅延マウスでは成獣期の高脂肪食負荷による肥満が増悪することを証明し、マウスの胎仔期の栄養環境が何らかの形で記憶されて代謝障害をもたらすことを明らかにした (*Cell Metab.* 1: 371-378, 2005)。一方、新生仔期のマウスでは抑制されている肝臓の新規脂肪合成は、離乳後に急増するが、これは脂質の少ない経口食が主体となる離乳後には経口摂取した糖質より新規に脂肪合成されるためであると考えられる。我々は最近、新生仔期のマウスの肝臓では新規脂肪合成の律速酵素 glycerol-3-phosphate acyltransferase 1 (GPAT1) 遺伝子のプロモーター領域におけるDNAメチル化のダイナミックな変化により発現が制御されること、妊娠期～授乳期の母マウスを過栄養にすることにより、産仔の肝臓におけるGPAT1遺伝子のDNAメチル化の減少と発現の亢進に伴って肝脂肪蓄積が増加することを明らかにした (*Diabetes* 61: 2442-2450, 2012)。最近では、出生直後のマウスの肝臓では新規脂肪合成と同様に、脂肪酸β酸化に関連する遺伝子群がDNAメチル化・脱メチル化の変化により巧妙に制御されている可能性を見出している。胎仔期から新生仔期におけるこれらのエピゲノム変化が成獣期の糖脂質代謝の変化にどのように関連するのか興味深いところである。

本講演では、DNAメチル化・脱メチル化に焦点を当てて、肝臓における糖脂質代謝のエピゲノム制御と生活習慣病の関連について議論したい。

肥満・生活習慣病発症における

ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd1a と交感神経経路の役割

東京大学 先端科学技術センター 代謝医学 酒井寿郎

メタボリックシンドロームや動脈硬化など多因子の疾患の解明は 21 世紀の生物医学の大きな課題となっている。肥満を基盤としたメタボリックシンドロームでは、生理機能の破綻した脂肪細胞が原因で糖尿病、動脈硬化などが発症するというメカニズムが注目されており、脂肪細胞の分化に関わる動作原理の解明が求められている。近年、細胞の分化に於いては遺伝子発現や遺伝子配列情報に加え、ヒストン修飾によるクロマチンの変化と遺伝子発現(後天的ゲノム修飾、エピゲノム)への理解も重要となっている。

脂肪細胞のマスターレギュレーターである核内受容体 PPAR γ の ChIP on Chip, ChIP-seq^{1,2} からヒストン H3 の 9 番目のリジンが脂肪細胞での脂肪栄養分の蓄積に重要であること、そして H3K9 の脱メチル化異常はエネルギー消費に異常を来し肥満・インスリン抵抗性などヒトでいうメタボリックシンドロームに特徴的な症状を呈することを見いだした^{3,4}。しかし、この分子メカニズムは不明な点が多い。我々は褐色脂肪細胞における gain of function と loss of function 解析から、Jmjd1a が β アドレナリン受容体の発現に必須であることが明らかとした。これとは逆に、 β アドレナリン受容体を介した β 刺激そのものが Jmjd1a のセリンのリン酸化修飾を引き起こすこと、そしてこのリン酸化が β アドレナリン受容体発現制御に極めて重要であることを見いだした。以上より、 β アドレナリン受容体と Jmjd1a は互いにポジティブフィードバックループを形成し、相互依存性であることを明らかとした。

Jmjd1a ノックダウンまたは Jmjd1a(SA mut)発現細胞では、ISO によって誘導される細胞内 cAMP が著しく減少し、この結果として PKA の基質となる p38MAP キナーゼのリン酸化が著しく減少した。このことは、PGC1 α 、ATF2 など、脱共益蛋白 UCP1 を cAMP 依存性に誘導する重要なモジュール蛋白が活性化されないことを意味した。以上より、交感神経系刺激による Jmjd1a のセリンリン酸化が β アドレナリン受容体発現をエピジェネティックに制御し、肥満・インスリン抵抗性に重要な役割を担うメカニズムが明らかにされた。

本講演では分子遺伝学から最近のエピゲノミクスにいたる生活習慣病研究について概説する。

【参考文献】

- 1 Wakabayashi, K. et al., *Mol Cell Biol* **29** (13), 3544-3555 (2009).
- 2 Waki, H. et al., *PLoS Genet* **7** (10), e1002311 (2011).
- 3 Inagaki, T. et al., *Genes Cells* **14** (8), 991-1001 (2009).
- 4 Tateishi, K., et al., *Nature* **458** (7239), 757-761 (2009).

栄養による遺伝子のエピジェネティクス変化

○望月和樹¹、合田敏尚²

¹山梨大学 生命環境学部 地域食物科学科 食品栄養学研究部門

²静岡県立大学 食品栄養科学部 栄養生命科学科 栄養生理学研究室

ヒストンコード制御機構とは、ヒストンタンパク質の化学修飾を介した生命現象の調節機構のことである。これまでの研究によってヒストンタンパク質の N 末端にあるヒストンテールは、アセチル化、メチル化、リン酸化などの化学修飾を受けることが明らかにされている。これらの修飾されたヒストンは、クロマチンにさまざまなタンパク質複合体を集合させることによって、mRNA 転写促進、DNA 複製、有糸分裂などの生命現象を引き起こす。特に、ヒストン H3、H4 のアセチル化、ヒストン H3 の 4 番目リジン残基(K4)のメチル化は転写の活性化に関与することがわかっている。近年、我々は、糖質などの栄養素および糖代謝に関連するホルモン(甲状腺ホルモン、グルココルチコイドホルモン)は、標的遺伝子上流域に存在する転写調節領域への転写因子の結合を増大させるとともに、同領域のヒストンのアセチル化修飾、ヒストン H3K4 のメチル化修飾を誘導し、転写開始複合体の結合を増大させることを明らかにしてきた。これらの研究成果は、糖質などの栄養素および糖代謝に関連するホルモンは、転写因子を介し、ヒストンの化学修飾を促進することによって転写開始反応を増大させることを示している。さらに、発表者らのグループは、これらのヒストン修飾の糖質・ホルモンによる誘導は、転写開始点以降の転写領域においてより強く観察されることを発見した。転写領域のヒストンのアセチル化修飾は、プロモドメインタンパク質 Brd4 および転写伸長促進因子(P-TEFb 複合体)を同領域に集合させ、標的遺伝子の mRNA の転写伸張反応を促進することが、近年の発表者らのグループによって明らかにされている。転写伸長反応とは、転写開始反応以降に誘導される mRNA の伸長を促進する反応であり、合成される mRNA の量を調節する反応である。特に、Brd4-P-TEFb は、糖質の蓄積に関与する組織すなわち脂肪組織において、糖応答遺伝子の発現に関与する発現を制御することを明らかにしている。さらに、Brd4 ヘテロ欠損マウスでは、顕著な脂肪の蓄積の低下および発育不全が観察される。これらの結果は、糖質などの栄養素によって日々変動する遺伝子の発現は、転写因子-ヒストン修飾を介した転写開始反応の促進より、ヒストン修飾を介した転写伸長反応の促進による mRNA の量的な調節機構が重要である可能性を示唆しており、その攪乱が代謝性疾患の発症に関与する可能性を示唆している。本演題では、従来から知られていた転写因子-ヒストンコードを介した mRNA 転写開始反応ならびに、新規の転写伸長因子-ヒストンコードを介した mRNA 転写伸張反応の栄養素・ホルモンを介した調節機構を我々の研究成果を中心に紹介する。

ウシの研究からみた DOHaD の理解とその応用の可能性

○後藤貴文¹、衛藤哲次²、塩塚雄二²、高橋秀之¹、阿部 剛³、齋藤邦彦³
¹九州大学大学院農学研究院、²九州大学農学部附属農場、³家畜改良センター

【はじめに】

近年、胎児期から生後の初期成長期の各臓器の形成・成熟の感受性の高い、いわゆる可塑性の高い時期の栄養環境により、その後の動物体の代謝システム、特に肝臓、骨格筋および脂肪組織の代謝に多大な影響を及ぼすことが報告されている。エピジェネティクス研究と関連して代謝プログラミングとも呼ばれる。このメカニズムを家畜の飼養技術としてポジティブに取り入れ、すなわち、胎児期あるいは初期成長期の栄養制御により、ウシのフルライフにわたる基盤的な代謝レベルをプログラミングし、最終的な産肉性、特に肉質と肉量を制御し、効率的、省力的かつ種々の環境に適合できる次世代型の革新的家畜飼養システムを開発したい。九州大学大学院農学研究院（農学部附属農場高原農業実験実習場）では、特に出生直後の初期成長期から栄養環境を変化させ、新生子牛の肝臓、骨格筋および脂肪組織の代謝を網羅的に調査し、ウシの代謝プログラミング機構の解明のための基盤的実験を行っている。本講演にて代謝プログラミングの牛肉生産への応用の可能性について議論したい。

【背景と戦略】

近年、輸入飼料に過度に依存している日本の牛肉生産は BSE(牛海綿状脳症)等の発生に見られる食の安全性に関する問題、集約的経営形態から排出される大量の糞尿処理問題、それに関わる環境問題、集約的な飼養形態における家畜福祉等の多くの問題を抱える。ウシは本来、家畜としてヒトが消化できない植物中の粗い繊維質（繊維性の高い通常の動物では消化できない植物多糖資源）を分解し、草資源からタンパク質源としての食肉を生産し、それをヒトに供給するという重要な物質循環機能を担った反芻家畜（草食動物）である。言い換えるとセルロース等からタンパク質源を生産するコンバーターのアニマルと言える。

一方、近年、胎児期や生後の初期成長期に受けた栄養刺激により、その後の動物体の代謝システム、体質および形態、さらに最近の研究では、特に肝臓、骨格筋および脂肪組織の代謝に多大な影響を及ぼすことが明らかになりつつある(Gluckman et al., 2007)。近年、実験動物を用いた研究が医学分野で進んでいる。これは DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease: 成長過程の栄養状態や環境因子の作用に起因する疾患の発生) という概念として医学分野で捉えられ、エピジェネティクス研究分野と関連して代謝プログラミングあるいは代謝インプリンティングとも呼ばれる。演者らは、これまでの黒毛和種に関する研究により脂肪交雑の高さ(Gotoh et al., 2009)、骨格筋の組織化学的特徴(Gotoh, 2003)を確認しており、黒毛和種のユニークな能力を示してきた。現在、輸入濃厚飼料に過度に依存した黒毛和種の飼養システムを新しい生物科学的コンセプトを導入して革新し、現在の牛肉生産の問題点を解決したい(図1)。そのためには、黒毛和種の飼養を、輸入穀物飼料多給ではなく、本来の草食獣の飼養形態を基盤とする、すなわち、植物繊維(牧草等、植物資源)を基盤とした肥育システムへ、シフトすることが必要不可欠と考えている。

【これまでの成果】

演者らはこれまで、特に、生後の初期成長期、特に哺乳期と育成期の栄養環境により、この代謝インプリンティングを反芻家畜のウシ、黒毛和種に応用することで、ヒトが消化できない植物資源からタンパク質生産および良質牛肉の生産効率を革新的に向上させることを目指してきた。演者らは、黒毛和牛を用い

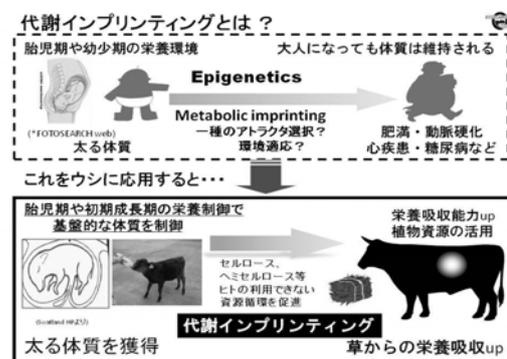


図1. エピジェネティクスの牛肉生産への応用

た生後の哺乳期と育成期の高栄養制御により、11カ月齢～30カ月齢までの肥育期間を牧草のみで肥育し、離乳から全く牧草のみで飼養及び肥育した群と比較検討した(図 2)。その結果、体重および胸最長筋内の脂肪割合が初期成長期(哺乳期と育成期)の高栄養処理により、有意に大きくおよび高くなることを見出した。さらに骨格筋のバイオプシーサンプルを用いて、脂肪形成関連遺伝子および糖代謝関連遺伝子群について、リアルタイム RT-PCR やマイクロアレイを用いて解析を行った。その結果、脂肪形成関連遺伝子群は、初期成長期の栄養に著しく攪乱されるが、糖代謝に関連した遺伝子群の発現は、初期成長期の栄養環境に影響されるものと、されないものに分かれる可能性を見出した。現在これらの遺伝子群のメチル化等の詳細な解析を進めている。これらの結果は、初期成長期、特に哺乳期の高タンパク質、高脂肪代用乳の強化哺育および育成期の高エネルギー飼料給与により、その後の粗飼料のみによる肥育期を経ても、肉量や肉質に著しい影響を及ぼす可能性を示している。しかし、このシステムでも育成期終了までに1トンの濃厚飼料(穀物飼料)が必要であり、今後この飼養システムをさらに効率化したい。

近年、胎児期や初期成長期の栄養環境とエピジェネティクスについて、マウスやラットの実験動物において、多くの報告がなされている。母親の妊娠期の低栄養は、生まれた子畜の体重及び体脂肪の増加、インスリン抵抗性等を示すことが報告されている。逆に、母親の妊娠期の過栄養も、出生子畜の肥満や糖尿病を示すことが示されている(Gregory *et al.*, 2009)。また、妊娠期の栄養の質においても、DNAやヒストンのメチル化動態に影響を及ぼすことも報告されている。これらのことは、胎児期の栄養環境と栄養の質が、生産された子畜の体質に著しい影響を与えることを示しており、畜産分野でこのメカニズムをポジティブに活用することができれば、これまでにない革新的な家畜飼養システムの構築が可能となることが推察される。一方、最近、ジョン・ホプキンス研究センターより、肥満体質には哺乳期の脂肪が胎児期の栄養より効果が高いとの報告も出ており、この点についてもウシで今後検証したい。

【まとめ】

日本を代表する和牛肉質の特徴を、エピジェネティクスを基盤とした代謝プログラミングで、輸入穀物でなく、牧草等の植物資源による肥育でも、発揮し生産することが可能となれば、わが国の植物資源を活用した循環型の生産システムが可能となり、世界的にも革新的で有意義な畜産システムを日本から世界へ発信できる。このような家畜生産、特に牛肉生産への応用研究はなく、独創的であり、物質循環(ヒトが消化不能セルロース等資源→牛肉ミルク:重要なタンパク質源)、環境調和と保全、畜産ライフスタイルの変換(放牧管理等による給餌法変換)、飼料自給率と食料の安全と強く関連し、畜産の新しい概念が構築されると確信している。

1. Gluckman, P.D.; Hanson, M.A.; Beedle, A.S., 2007. Early life events and their consequences for later life disease: a life history and evolutionary perspective. *American Journal of Human Biology* **19**, 1-19.
2. Gotoh T. 2003. Histochemical properties of skeletal muscles in Japanese cattle and their meat production ability. *Animal Science Journal*. 74: 339-354.
3. Gotoh, T., E.Albrecht, F.Teuscher, K. Kawabata, K.Sakashita, H.Iwamoto, and J.Wegner. Differences in muscle and fat accretion in Japanese Black and European cattle. *Meat Science*, 82:300-308. 2009.
4. Gregory. A.D. & Tracy L.B.. Maternal High-Fat Diet Promotes Body Length Increases and Insulin Insensitivity in Second-Generation Mice. *Endocrinology*, 150: 4999-5009, 2009.

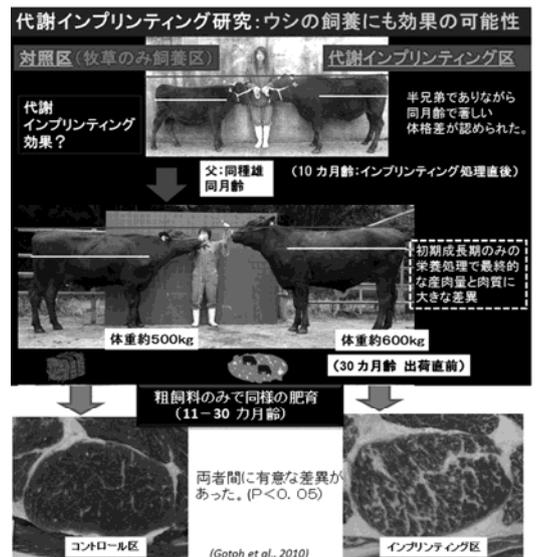


図 2. ウシ初期成長期における代謝インプリンティング実験

シンポジウム 2 胎生期環境と発達障害

座長：武井 教使（浜松医科大学）・久保田 健夫（早稲田大学）

- S2-1 Overview: 観察研究からみた胎生期環境と精神障害 武井 教使（浜松医科大学）
S2-2 発達障害発症基盤としての胎生期脂質代謝異常 松崎 秀夫（福井大学）
S2-3 発達障害児増加の原因としての胎児・乳児脳内化学物質環境—エピジェネティックな発症メカニ
ズム 黒田 洋一郎 木村-黒田純子（環境脳神経科学情報センター、東京都医学研）

【シンポジストの略歴】

武井 教使

1982. 3. 岩手医科大学医学部卒業

1994. 9. ロンドン大学大学院公衆衛生・熱帯医学
医学博士(東京大学)

PhD awarded

Master of Science awarded (London University)

1993. 6. ロンドン大学精神医学研究所(モズレー病院)講師

1995. 4. 同上助教授

1998. 4. 浜松医科大学医学部附属病院講師

2001.10. 浜松医科大学医学部 精神神経医学助教授

2002. 1. ロンドン大学精神医学研究所(モズレー病院)及び王立医科大学病院、客員教授

2007.4 浜松医科大学 子どものこころの発達研究センター 特任教授

2009.4 浜松医科大学 子どものこころの発達研究センター 教授 兼

大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究所 教授

松崎 秀夫

福井大学・子どものこころの発達研究センター 教授

1994. 3 大分医科大学・医学部医学科 卒業

2001. 3 大阪大学大学院医学系研究科 中途退学

2001. 4 浜松医科大学・解剖学第1講座 助手

2002.10 Yale 大学・医学部精神科 博士研究員

2006. 4 大阪大学大学院医学系研究科・子どものこころの分子統御機構研究センター 特任助教授

2010. 4 浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター 特任准教授

2012. 11 現職

黒田 洋一郎

環境脳神経科学情報センター代表

1966年東京大学農学部農芸化学科卒業。大学院(応用微生物研究所)で分子遺伝学を専攻。

1971年 British Council Scholar としてロンドン大学精神医学研究所に留学、脳研究に転向。

1973年 東京都神経科学総合研究所、研究員(記憶の分子細胞神経生物学・神経毒性学)

2002年参事研究員で定年退職。医学博士。1976-7年フランス国立科学研究機構、日仏学術交流研究員。1999-2005年科学技術振興機構,CREST 研究プロジェクト“環境化学物質の脳の発達への影響”研究代表者。著書:『アルツハイマー病』岩波新書、『脳と神経の科学』オーム社(共著)など

Overview: 観察研究からみた胎生期環境と精神障害

武井教使

連合小児発達学研究所・浜松医科大学(大阪大、金沢大、浜松医科大学、千葉大、福井大)、
Institute of Psychiatry, King's College London

精神疾患の疫学研究は、その多くが成人発症という性格から、長年、病因的関心は発症直前の心的・身体的要因に向けられていた。また、個々の診断の定義の曖昧さ、診察医・研究者間の診断の精度の信頼性に疑問がもたれ、研究の成果自体、その普遍性に疑問がもたれていた。また、精神医学に疫学的研究手法が導入されるまでは、ひとりの医師の長期の観察に基づく考察といった、(複数)症例報告が長年主流であった。精神医学が科学として漸く、研究者間で成果がある程度信頼をもって共有されるようになったのは、研究者診断用の操作的診断法が導入されるようになった1980年代以降である。

疫学手法(とりわけ、prospective follow-up study)の精神医学への普及は、cancer research による手法・解析法の進展(e.g., Breslow and Day)の恩恵が大である。1950年代のHill and Dollらの約4万人の医師集団の前方視的な長期追跡調査などがその1つである。しかし、成人期発症や、発症危険率の低い精神障害をターゲットにした前方視的な長期追跡調査は費用対効果は望めず成立しなかった。しかし、統合失調症の冬季出生パターンなどの知見を確立した ecological 研究をはじめとして、精神科疾患に関して人生早期の環境要因が病因として着目され始めた。80年代後半から、症例対照研究法を主として、周産期の産科学的合併症や、胎生期の感染が統合失調症の病因の可能性を示唆する報告が相次いだ。既に存在していた(前方視的)コホート研究をソースとした歴史的コホート研究が、症例対照研究法の結果を検証・補完する報告として追跡した(ソースとして1946年、1958年のBritish Cohort Studyがその代表格)。さらに最近では、北欧を中心に、出生登録データと、成人の健康(病歴)登録のデータをリンクさせた国家レベルの大規模研究に基づき、早期の(胎生期)曝露因子と、精神障害との関連研究が報告されるようになってきている。

発達障害に関する研究は、診断の体系化の遅れもあり、成人期の精神障害に比べ病因関連研究は遅れをとっている。その遅れは、自閉症性障害の有病率が近年ますます増加しているという報告が関心を集めているという風潮によく反映されている。病因研究が盛んになる前はやはり、統合失調症も有病率の経時的(時代的)増減、地域的相違に関心が集まっていた。

発達障害も含め精神障害の発症にかかわる、胎生期環境要因の関与、またその病態形成メカニズムに関しては未解明な部分が多く、今後の研究の展開が期待される。動物モデルを用いた研究など、多角的アプローチが希求される。

は、脂質代謝の側面から発達障害を理解しようとする独自の試みであり、この研究の展開によって、妊婦の栄養指導による発達障害の予防・治療手段の開発につながる可能性がある。また胎生期の高脂肪環境と発達障害発症基盤の関連が解明されれば、発達障害における環境要因の役割が一層鮮明となり、食文化の変遷などから発達障害の有病率上昇を解釈することが可能となる。

発達障害児増加の原因としての胎児・乳児脳内化学物質環境一

エピジェネティックな発症メカニズム

○ 黒田洋一郎¹、木村-黒田純子²

¹環境脳神経科学情報センター、

²東京都医学総合研究所、脳発達・神経再生研究分野、こどもの脳プロジェクト

【はじめに】

日米欧における、自閉症スペクトラム障害(以下自閉症)、ADHD(注意欠陥多動性障害)、LD(学習障害)など発達障害児の増加は著しく、遺伝要因でなく何らかの環境要因が増加の主な原因であることが確定的となってきた。発症の基本メカニズムは共通で、特定の脳高次機能に対応する機能神経回路の不全と考えられ、どの神経回路(シナプス)形成に異常が起こったかによって、症状が決まる。

「有機リン系農薬に曝露された子どもに ADHD のリスクが高まる」(Bouchard et al,2010)などの論文を始め、アセチルコリン情報伝達系をかく乱する農薬と発達障害との相関関係を示す疫学データが多数ある(Ross et al,Crit.Rev.Toxic.,43:21-44,2013)。台湾でのカネミ油症様中毒事件では、PCB に曝露された母親から生まれた子に知能指数(IQ)の低下など脳発達の異常がみられた。更に、ネオニコチノイド系農薬を含めた農薬や PCB など環境化学物質の発達障害との因果関係を示唆する、分子(遺伝子発現など)レベル、細胞(シナプス形成など)レベル、個体(動物行動など)レベルの実験データも数多く蓄積されて来た。2012 年米国小児科学会は声明を公表し、米国政府や社会に「発達障害や脳腫瘍など、農薬による子どもの健康被害」を警告した(Pediatrics,130,e1757)。

農薬や PCB などの環境化学物質は、主として母親の人体汚染を経て、胎児期や乳児期の子どもの脳に侵入し、丁度その頃脳内で活発に行われている脳高次機能の神経回路(シナプス)形成のうち、感受性期にある、毒性物質ごとにおそらく異なる脆弱部分の形成を阻害する。発症メカニズムの発端は遺伝子発現の異常、かく乱で、1942 年 Waddington のオリジナルなエピジェネティックスの定義の分子生物学的表現「生物の発生・発達や細胞分化の過程で、DNA 塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御現象の総称」にあてはまる(『科学』83,6月号, 693-708, 2013)。

【発達障害の原因研究の流れ一遺伝から環境へ:自閉症など発達障害はむしろ「環境病」】

「自閉症の原因には、遺伝要因が強い」という説が一般に信じられてきた。その科学的根拠とされるのは、Rutterらの自閉症の一卵性双生児法調査では最初の論文であった(Folstein & Rutter, 1977)。たった21組の解析、しかも診断基準は DSM 以前なので主治医の主観であったが、後の論文で「遺伝率」は91%~93%と計算された。Rutter 自身は結論を「自閉症は先天性(胎児期の環境要因を含めている)の障害である」とした。最近の、より検出力の高い論文では「遺伝率」は34%である。自閉症など脳の発達障害における一卵性双生児の一致率の高さには、遺伝子発現への環境の影響や、一卵性双生児特有の子宮内リスク、遺伝毒性を持った環境化学物質汚染による de novo な発症も含まれている。Rutter 本人も最近になって認めているように(Rutter, 2006)、従来の一卵性双生児法で算出された「遺伝率」には、実は環境要因も含まれてしまっており、遺伝要因が過大評価されている。

自閉症の関連遺伝子が非常に多いことは、「神経回路(シナプス)形成不全が発達障害の発症メカニズム」とすれば当然のことで、すでに枚挙されたものだけでも484遺伝子が報告されている。自閉症の発症しやすさの遺伝学的背景は、おそらく数千以上の小さな遺伝子変異の組み合わせで、それら遺伝子群の相互作用による多因子遺伝であることは明らかである。多因子といっても、このような膨大な数の遺伝子変異の順列組み合わせは天文学的な数字になり、とても一つ一つ特定できない。このことは実は古典遺伝学の時代から想定されており、「遺伝子背景」というまい表現が使われていた。むしろ DOHaD など一般の生活習慣病のように、「発症しやすさが遺伝的に規定されている遺伝子背景」があると理解すべきであろう。なお自閉症状を併発するレット症候群の原因遺伝子変異は、DNAのメチル化を抑制して遺伝子発現をかく乱するエピジェネティックな異常に関係する MECP2 遺伝子であった。有

機塩素系農薬ビンクロゾリンは、DNA のメチル化を介して、行動異常を数世代にわたって起こす。

【発症の引き金を引く胎児期、乳児期の脳内環境: 合成化学物質の発達神経毒性】

発達障害の発症に関わる環境要因にもHebbのいう「個人ごとに異なる外界からの感覚刺激」「外傷的体験」などさまざまなものがある。しかし主要なものは、胎児期、乳児期に子どもの脳に侵入する合成化学物質と思われる。近代工業が多種多様な化学物質を、その毒性には差し当たりかまわずに合成し、使用し、廃棄し、結果として全世界の人々が多様な毒性化学物質に曝露されるリスクが生じた。合成化学物質には薬品も含まれ、つわりの女性が鎮静剤としてサリドマイドを飲んだ所、特定の妊娠週令のみ飲んだ例ではアザラシ状奇形児は生まれず自閉症の子どもが生まれた。バルプロ酸化合物でも、同じことが起こった。また天然物ではあるがニコチンでも、妊娠中の喫煙は胎児にニコチン曝露を行うことになり、生まれた子どもがADHD、自閉症になるリスクを高めることが判明している。古くから自閉症との関連が指摘されている統合失調症も澤らによってDOHaDであろうと考えられている(Brandon & Sawa, 2011)。

【PCB、ピレスロイド系農薬、ネオニコチノイド系農薬による遺伝子発現のかく乱】

いわゆる環境ホルモンなど環境化学物質による逆 U 字型の低用量作用が確立し、毒性学は飛躍的に進歩した。低用量作用のメカニズムとして、1細胞あたり1カ所しかない DNA 上の特異的な転写調節部位(あるいは関連分子)への結合が考えられ、1分子の毒性物質の結合でも下流の遺伝子の発現はかく乱される(黒田洋一郎、2003)。ちなみに平均的細胞内の $1 \mu\text{M}$ は約 60 万分子。

甲状腺ホルモンと類似構造をもつ PCB 類は、甲状腺ホルモンで調節される転写調節部位に結合し、下流の遺伝子発現を低濃度で阻害した(Iwasaki et al, 2002)。ピレスロイド系農薬デルタメトリンは神経活動依存的に BDNF などの遺伝子発現をかく乱した(Imamura et al, 2006)。

【目的】

自閉症児の増加に並行する様に日本でも使用量が増えているネオニコチノイド系農薬は、2012 年 Science, Nature の3論文により、ミツバチ大量死の原因であることが判明し、EC は暫定的な使用禁止に踏切った。ニコチン類似物であるネオニコチノイドは、脳内アセチルコリン情報系をかく乱し、働きバチ成虫の記憶系に異常を起し帰巢できなくなるだけでなく、浸透性農薬のため稲などの花粉を汚染し、それを食べたハチ幼虫の脳に、より低濃度で発達障害を起こす可能性がある(木村-黒田純子・黒田洋一郎、『科学』83(2013年7月号、準備中)。これまでに我々は、ネオニコチノイドが、発達期のラット小脳神経細胞にニコチン類似の異常興奮性作用を持つことを報告した(Kimura-Kuroda et al, PLoS ONE, 7, e32432, 2012)。そこで、ネオニコチノイドが発達期神経細胞に及ぼす影響を DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現の解析から検討した。

【方法】

Toxicogenomics の常法どおり、ラット新生仔の小脳神経細胞にネオニコチノイド系農薬アセタミプリド、イミダクロプリド、ニコチンを $1 \mu\text{M}$ もしくは $10 \mu\text{M}$ 含んだ無血清培地で2週間培養し、total RNAを抽出・精製し、DNA マイクロアレイ(Agilent Whole Rat Genome Ver.3.0)で遺伝子発現を調べ、Gene Spring GX(Agilent)を用いて解析した。

【成績】

マイクロアレイに搭載された 30367 遺伝子のうち、約 20000 の遺伝子について信頼性のあるシグナルが得られた。その結果、ネオニコチノイド曝露群は対照群に比べ、多数の遺伝子に顕著な発現変動が確認された。これらには、シナプス形成、神経伝達系、神経回路形成、ホルモン系、転写因子などに関わる遺伝子が多数含まれていた。変動した遺伝子は、ニコチン曝露による遺伝子発現の変動と重なるもの以外に、ネオニコチノイド曝露によって特異的に変動する遺伝子群が確認された。

【考察】

ニコチンやネオニコチノイドが発現の変動を介し神経細胞の発達分化に影響を及ぼすことが示された。ネオニコチノイドはニコチン毒性と重なるものに加え、独自の毒性を持つ可能性がある。

文献は黒田洋一郎、木村-黒田純子:『科学』(岩波書店)83,693-708 (2013)の文献欄を参照。

シンポジウム 3 疫学・臨床医学の立場から見た DOHaD

座長：宇田川 潤（滋賀医科大学）・佐田 文宏（国立保健医療科学院）

S3-1 過栄養と胎児発育：児発育に影響を与えるのは糖質代謝だけか？ 杉山 隆（東北大学）

S3-2 出生時～幼小児期の体格と成人期のアウトカム 佐田 文宏（国立保健医療科学院）

S3-3 内科臨床医からみた DOHaD 研究—都市部コホート研究を用いた検討—
宮本 恵宏（国立循環器病研究センター）

S3-4 DOHaD と炎症としての動脈硬化 西條 泰明（旭川医科大学）

【シンポジストの略歴】

杉山 隆

東北大学病院 産科科長・特命教授

昭和 63 年 3 月 関西医科大学医学部医学科卒業

昭和 63 年 4 月 三重大学医学部附属病院産婦人科研修医

平成元年 4 月 三重大学大学院医学研究科博士課程修了

平成 6 年 7 月 三重大学医学部産科婦人科学講座 助手

平成 7 年 9 月～平成 10 年 8 月

米国テネシー州バンダービルト大学医学部分子生理生物学教室に研究員として留学

平成 10 年 9 月～ 三重大学医学部産科婦人科学講座 助手

平成 12 年 3 月～平成 13 年 3 月

大阪府立母子保健総合医療センター産科

平成 14 年 4 月 三重大学医学部附属病院周産母子センター 講師

平成 14 年 8 月 三重大学大学院医学系研究科病態解明医学生殖病態解明学

および附属病院周産母子センター 准教授

平成 24 年 5 月 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻 発生・発達医学講座 周産期医学分野

および東北大学病院 周産母子センター 准教授

平成 25 年 1 月 東北大学病院 産科科長・特命教授

佐田 文宏

国立保健医療科学院生活環境研究部上席主任研究官

北海道大学客員教授

略歴

1986 年 京都大学医学部医学科卒業

1986 年 京都大学医学部助手（衛生学）

1987 年 自治医科大学医学部助手（衛生学）

1989 年 東京大学医学部助手（公衆衛生学）

1996 年 フィンランド産業衛生研究所客員研究員

1997 年 米国立がん研究所客員研究員

1999 年 北海道大学医学部助手（公衆衛生学）

2000 年 北海道大学大学院医学研究科講師（公衆衛生学）

2003 年 同 助教授

2007 年 同 准教授

2008 年 北海道立衛生研究所生物科学部長

同年 国立保健医療科学院疫学部社会疫学室長

2011 年 改組により、現職、現在に至る

宮本 恵宏

国立循環器病研究センター 予防健診部長

国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター 予防医学・疫学情報部長

国立循環器病研究センター バイオバンク副バンク長

平成元年3月 京都大学医学部医学科卒業

平成元年6月 京都大学医学部附属病院内科研修医

平成2年6月 静岡県立総合病院内科研修医

平成4年4月 京都大学医学部附属病院第二内科医員

平成9年3月 京都大学大学院医学研究科博士課程修了

平成12年12月 国立循環器病センター動脈硬化代謝内科医員

平成17年11月 国立循環器病センター動脈硬化代謝内科医長

国立循環器病センター臨床研究開発部医長（併任）

平成22年10月 国立循環器病研究センター予防健診部長

同 研究開発基盤センター予防医学・疫学情報部長（併任）

平成24年4月 国立循環器病研究センター バイオバンク副バンク長（併任）

西條 泰明

旭川医科大学医学部健康科学講座地域保健疫学分野 教授

1992年3月 旭川医科大学医学部卒業

1992年6月 2000年3月 旭川医科大学第一内科及びその関連病院（内科、循環器内科医）

2003年4月 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助手

2005年9月 北海道大学医学部講師

2006年3月 北海道大学大学院医学研究科博士課程 単位修得退学

6月 北海道大学大学院医学研究科博士課程 修了（医学博士）

2006年4月 旭川医科大学医学部健康科学講座 助教授

2009年9月 同地域保健疫学分野 教授

過栄養と胎児発育：児発育に影響を与えるのは糖質代謝だけか？

○杉山 隆¹、村林奈緒²、梅川 孝²、西郡秀和¹、目時弘仁¹、菅原準一¹、木村芳孝¹、佐川典正³、八重樫伸生¹

¹東北大学医学部産科婦人科、²三重大学医学部産科婦人科、³洛和会音羽病院産婦人科

【はじめに】妊娠可能年齢女性のやせの増加は、低出生体重のリスク因子であることから重要であることは言うまでもない。一方、晩産化に伴い、30歳以上の女性では、肥満とやせの頻度は同程度であり、肥満も児発育に影響を与える点より無視できない。わが国における妊娠可能女性における脂質の摂取目標量は、脂肪エネルギー比率として20%以上25-30%未満とされている。しかし、2010年の国民健康栄養調査によると20歳代女性の44.8%、30歳代女性の65.5%において目標量を超える脂質摂取が認められ、若年女性において脂肪エネルギー比率の増加が顕著となっている。

一方、軽度GDMが児発育に影響を与えることは、大規模観察研究により証明されている。この大規模観察研究において、母体の血糖のみならず母体の体格が児発育に影響を与えることが判明した。すなわち、肥満が血糖とは独立して児発育に関与する因子であることが明らかになったのである。

【目的】肥満母体の児発育に関与する影響を検討すべく、ヒトおよびマウスによる検討を行った。肥満妊娠はインスリン抵抗性(IR)を増大させ、母体の糖脂質代謝の変化を介して胎児にも影響を及ぼすと考えられる。そこで、①軽度妊娠糖尿病女性において肥満の有無と治療介入による出生体重やheavy-for date (HFD)の頻度の相違を検討した。②高脂肪食負荷肥満妊娠モデルマウスを用いて、肥満妊娠が胎仔さらには若年期の仔における糖・脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

【方法】

1. 軽症妊娠糖尿病(GDM)の疫学研究

程度の軽いGDMであるGDMの1点異常群に対する管理が児発育に及ぼす影響を調べるために後方視的検討を行った。倫理委員会の承認下、全国35施設の協力を得、各施設における2006年から2010年までの5年間のGDMの旧診断基準の1点のみ異常を満たす症例を集めて解析した。臨床背景因子として、母体年齢、初産率、妊娠前BMI、妊娠中の体重増加量、診断検査である75gブドウ糖経口負荷試験の負荷前値・負荷後1時間値・2時間値、分娩週数等を検討しHFDおよび巨大児発症率等に関する比較検討を行った。

2. 高脂肪食摂餌母獣マウスにおける胎仔・次世代の表現型に関する研究

施設内動物実験委員会承認の下、4週間高脂肪食(HFD:45%)を与えた雌性肥満マウスを交配し、妊娠17日目に犠牲解剖を行った。胎仔および仔(10週齢および20週齢の雄)の糖・脂質代謝のパラメーターを解析し、標準食群(ND:10%)と比較した。

【成績】

1. 軽症妊娠糖尿病(GDM)の疫学研究

30施設より936例のデータを回収した。解析不可能症例を除外した結果、対象者数は894例となった。非介入(C)群543例、食事療法単独(D)群172例、食事療法+血糖自己測定(+インスリン療法)介入(DSI)群178例間における母児の合併症を比較検討した。その結果、臨床背景因子では、介入群において妊娠中の体重増加量が有意に少なかった。児の出生体重やHFD、巨大児の頻度に差を認めなかった。一方、肥満症例のみを抽出し同様の検討を行った結果、介入群において妊娠中の体重増加量は少なく、HFDの発症率はD群およびDSI群においてC群に比し有意に低かった(C群:25.5%、D群およびDSI群:9.1%, p=0.02)。

また、多変量解析の結果、1点のみ異常群のHFD発症に妊娠前BMIと妊娠中の体重増加量に関連することが明らかとなった。さらに肥満群のHFD発症には、治療介入が負の関与因子となることが判明した。

2. 高脂肪食摂餌母獣マウスにおける胎仔・次世代の表現型に関する研究

HFD群の母獣では、妊娠16日目に耐糖能の低下を認めた。一方、HFD群の仔において21週齢でイ

ンスリンの脂肪分解抑制作用の低下を認めた。さらに HFD 群の子では、血中アディポネクチン値の低下、腸間膜脂肪細胞面積の肥大化を認めた。膵臓の β 細胞の大きさは HFD 群の子で大きい傾向を認めたが有意差は無かった。

【考察】

軽症妊娠糖尿病の疫学研究より、軽度耐糖能異常妊娠では、血糖値よりも母体の肥満が出生体重に影響する可能性が示された。正常耐糖能妊婦でも肥満が児の発育を促進する影響を与え、肥満合併妊娠糖尿病では、さらに児への発育に強く影響を与えることが報告されている。母体肥満が児発育にどのように影響を与えるかに関する機序として、母体のインスリン抵抗性が児に影響を与えることが報告されているが、詳細は明らかではない。

一方、肥満妊娠モデルマウスを用いた検討により、妊娠時高脂肪餌負荷は内臓脂肪の肥大化を介して、仔のインスリン感受性に影響を与えている可能性が示唆された。すなわち、胎生期の母体脂質摂取の増大による栄養環境の変化が、次世代のインスリン作用の減弱という“胎児プログラミング”を引き起こしていると考えられた。本マウスモデルは、肥満母体による次世代の生活習慣病発症の機序解明のツールとして用い得ることも示唆された。

出生時～幼小児期の体格と成人期のアウトカム

佐田 文宏
国立保健医療科学院

【はじめに】

1980年代、英国 Southampton 大学の疫学研究者 Barker らは、英国の記述疫学研究により、循環器疾患死亡率の高い地域は、同世代が幼小児期当時の幼児死亡率が高いことを発見し、次いで1911年から約30年間の記録の残っている Hertfordshire の出生コホート研究から、出生時体重が軽いほど循環器疾患死亡率が高いことを見出した^{1,2}。これらの知見より、Barker らは、胎児期の低栄養環境が成人期の慢性疾患のリスクを上昇させるという**成人疾患胎児起源説**（Barker 説）を提唱した。今世紀に入り、**発達期可塑性**（developmental plasticity）と単に疾患だけでなく健康も胎児期～幼小児期の環境の影響を強く受けるとする幅広い概念を取り入れた **DOHaD**（Developmental Origins of Health and Disease）が提唱された^{3,4}。胎児期環境を手掛かりにエビジェネティックな制御機構が発現し（**発達プログラミング**）、出生時表現型が決定されるため、出生後の環境が胎児期環境とマッチしていれば健康を維持できるが、ミスマッチの場合、生活習慣病のリスクが上昇するという学説である。胎児期に低栄養環境にあると、中枢神経系の発達に栄養が消費されるため、腎臓や膵臓が未熟のまま器官形成されるというトレードオフという現象が知られ、成人期の慢性疾患発症との関連が推測されている。今後、ライフコースの視点に立った前向きゲノムコホート研究を推進し、個別化予防と先制医療に繋げていくことが重要である。

【出生コホート研究の現状と課題】

欧米では、出生コホート研究が盛んで、古くから大小様々な出生コホート研究が行われてきた。特に、欧州では古くから登録システムが制度化され、大規模な疫学調査が行いやすい環境にあり、長期間の追跡調査を継続することも比較的容易であった。例えば、1946年に開始された英国の出生コホート研究（1946 National Birth Cohort）は、一昨年、65年間もの間、追跡調査を継続してきたことで、生涯（Lifetime）研究として注目された⁵。現在、このような出生コホート研究はネットワークを構築し、専門領域毎にワーキンググループやコンソーシアムを立ち上げ、データ統合、メタアナリシス等の統合評価が盛んに行われている。欧州の出生コホート研究のネットワーク **Birthcohorts.net** (<http://www.birthcohorts.net/>) は、コホートや研究者間の情報交換や共同研究を容易にする目的で開設され、欧州を中心に、比較的最近開始された約70の出生コホート研究が登録され、登録開始年月日、登録終了年月日、参加人数のみならず、質問紙調査票及び登録データ、生体試料の種類と採取時期、さらには曝露要因、アウトカムが一覧表で示されている。EUの第7次研究・技術開発枠組みプログラム(7FP)の支援を受けている **CHICOS**（Developing a Child Cohort Research Strategy for Europe）(<http://www.chicosproject.eu/>) は、既存のコホート研究、登録制度及び関連する欧州のデータベースからのデータを統合評価し、今後15年間にわたって利活用できる健康データバンクを構築することを目指している。また、共通の研究テーマの基に、疫学のみならず実験系も含めた学際的なプロジェクトも盛んである。例えば、**ENRIECO**（Environmental Health Risks in European Birth Cohorts）(<http://www.enrieco.org/>) は、Birthcohorts.net を基盤とした化学物質の環境リスク評価に特化したプロジェクトであり、**OBELIX**（OBesogenic Endocrine disrupting chemicals: LInking prenatal eXposure to the development of obesity later in life）(<http://www.theobelixproject.org/>) は、小規模ながら欧州の7出生コホートと実験系が共同で、胎児期の内分泌かく乱物質曝露と人生後期の肥満との関連を明らかにすることを目的とする特徴的なプロジェクトである。一方、近年、出生コホート研究においても、ゲノムワイド関連研究（GWAS）に特化したコンソーシアムが構築され、ライフコース疫学の視点に立ち、様々なアウトカムのリスク評価が行われている。代表的なものとして、**EGG**（Early Growth Genetics

Consortium) (<http://egg-consortium.org/>) 及び **EAGLE** (EARly Genetics and Lifecourse Epidemiology Consortium) (<http://research.lunenfeld.ca/eagle/>) がある。欧州人 10,623 人の GWAS により、出生時体重と *ADCY5* 遺伝子 rs9883204 ($P=7 \times 10^{-15}$) 及び *CCNL1* 遺伝子近傍の rs900400 ($P=2 \times 10^{-35}$) との間に有意な関連がみられ、*ADCY5* 遺伝子には2型糖尿病の感受性 SNP も存在することから、低出生体重から2型糖尿病への進展に関するエビデンスが得られた⁶。ただし、この SNP は日本人ではほとんどみられない。また、欧州の主要な出生コホート研究が参画する GWAS メタアナリシスより、これらの SNP と出生体重との関連が確認された他、*CDKAL1*, *ADRB1*, *HMGA2*, *LCORL*, *5q11.2* が出生体重に関連していた⁷。この研究では、*ADCY5* とともに *CDKAL1* は2型糖尿病と、*ADRB1* は成人期の血圧と、*HMGA2*, *LCORL* は成人期の身長に関しても遺伝的な関連が存在することが初めて示された。このような出生コホート研究の GWAS は、成人のコホート研究で既に構築されていた **DIAGRAM** (DIAbetes Genetics Replication And Meta-analysis)、**GIANT** (Genetic Investigation of Anthropometric Traits)、**MAGIC** (Meta-Analyses of Glucose and Insulin-related traits Consortium)、**ENGAGE** (European Network for Genetic and Genomic Epidemiology) 等のコンソーシアムと共同で統合評価を行うことで、幼小児期のアウトカムと成人期の慢性疾患や形質と関連があることが明らかになった。

一方、日本では、成人を対象とするコホート研究は比較的多いが、出生コホート研究はあまり行われてこなかった。一昨年、環境省主導で開始された 10 万人規模の「子どもの健康と環境に関する全国調査」(エコチル調査) 以前には、生体試料を保存するゲノムコホート研究は、北海道、千葉、東京、浜松等で実施されているにすぎなかった(図)。



図 日本の出生コホート研究

最近、コホート研究は、オミックス解析中心の大規模ゲノム疫学研究が主流になりつつある。わが国の出生コホート研究はこのような視点が欠け、立ち遅れているが、今後、エコチル調査を含め、ネットワークの構築やコンソーシアムによる統合評価が急務と考えられる。

【文献】

1. Barker DJ, Osmond C. *Lancet* 1986;1(8489):1077-1081.
2. Barker DJ, Winter PD, Osmond C, et al. *Lancet* 1989;2(8663):577-580.
3. Gluckman PD, Hanson MA. *Science* 2004;305(5691):1733-1736.
4. Bateson P, Barker D, Clutton-Brock T, et al. *Nature* 2004;430(6998):419-421.
5. Pearson H. Epidemiology: Study of a lifetime. *Nature* 2011;471(7336):20-24.
6. Freathy RM, Mook-Kanamori DO, Sovio U, et al. *Nat Genet* 2010;42(5):430-435.
7. Horikoshi M, Yaghootkar H, Mook-Kanamori DO, et al. *Nat Genet* 2013;45(1):76-82.

○宮本 恵宏
国立循環器病研究センター 予防健診部

【はじめに】動脈硬化性疾患の危険因子の重積するメタボリックシンドロームは 2 型糖尿病と心筋梗塞や脳卒中の発症を高めるリスクとされている。本邦においてもメタボリックシンドロームとされる人の増大が認められ、その成因として過食や運動不足という改善が可能な生活習慣と儉約遺伝子など遺伝素因の関与が示唆されている。しかし、DOHaD を考慮しないと十分にその成因が理解できない。出生時体重と生活習慣病の関連についての報告は欧米の疫学研究から多数ある。血圧については出生時体重が増加すると成人期の血圧が低下するという報告が多数あり、Gamborg らは出生時体重と成長後の血圧との関連についてメタ解析をおこないその関連を報告している。¹⁾ また、出生時体重と 2 型糖尿病発症と耐糖能異常発症頻度についても報告がある。²⁾ つまり、低出生時体重児の場合、成人期に同程度の体重増加や肥満であっても、よりメタボリックシンドロームをきたしやすいと考えられる。しかし、本邦では報告はまだ少ない。日本においても出生記録と 20 歳時の検診記録から心血管リスク因子と出生体重の関係を示した報告があるが³⁾、中年期の成人を対象とした研究は少ない。我々は後ろ向き観察研究ではあるが中年から高齢期の成人を対象に出生時の体重と心血管リスク因子、特にメタボリックシンドロームとの関連を調査したので、その結果を報告するとともに内科臨床における意義について考察する。

【目的】 虚血性心疾患をはじめとする動脈硬化性疾患の危険因子として肥満、脂質代謝異常、高血圧、糖代謝異常というリスクファクターの重積したメタボリックシンドロームが注目されている。その成因には過食や運動不足という生活習慣のみならず遺伝素因の関与が示唆されているが明らかではない。一方、欧米の疫学研究から胎児期に低栄養にさらされた集団では、出生後の栄養状態とのミスマッチにより、成人後に高血圧や糖尿病を高率に発症することが明らかとなり、胎児期及び小児期の生活習慣が成人の生活習慣病の発症に重要であると考えられている。そこで、本研究の目的は疫学研究により胎児期及び小児期の生育とメタボリックシンドローム発症の関連を明らかにすることである。

【方法】 都市一般住民(吹田市)40~69 歳の検診受診者(男性 521 人、女性 720 人、計 1241 人)を対象に調査を行い、出生体重(記憶法による軽、中、重)と血圧、空腹時血糖、HOMA-IR、脂質異常との相関をみた。

【成績】 男性ではいずれも関連を示さなかったが、女性において出生時体重は収縮期血圧、拡張期血圧ともに関連しており、軽体重の方が有意に血圧は高値であった(軽、中、重;収縮期血圧 122.8±1.67、120.0±0.86、115.4±1.99mmHg、 $p=0.020$ 、拡張期血圧 75.1±1.07、73.8±0.55、70.6±1.27、 $p=0.024$)。また、インスリン抵抗性指標(HOMA-IR)も女性において出生時体重が軽体重の方が有意に高値であった(軽、中、重;HOMA-IR 1.32±0.09、1.08±0.05、1.05±0.10、 $p=0.039$)。また、アディポネクチンは出生時軽体重の女性は有意に低値を示した(軽、中、重; 11.8±0.56、12.2±0.28、13.8±0.64、 $p=0.0490$)。

【考察】 今回の研究は後ろ向きの観察研究であり、多くのリミテーションを有する。メタボリックシンドロームを含む生活習慣病の発症機序の解明には出生時からの研究が必要である。多くの臨床研究は専門領域にとらわれ、出生児からの影響をみる研究を行うには共通の目的をもつ複数の専門領域からなる研究チームを作成する必要がある。出生時から前向きに成人期までの調査を行う出生時コホート(バース・コホート)は次世代の疾患予防を戦略的に行うための情報を得ることができると考えられるが、膨大な研究費と長い研究期間を要する。現在進められているバース・コホートはアジア人の生活習慣病研究の基礎となる重要なプロジェクトになると考える。

1. Gamborg M, et al. Am J Epidemiol 166:634-645, 2007.
2. Hales CN, et al. Br Med J 303:1019-1022, 1991.
3. Miura K, et al. Am J Epidemiol 153: 783-789, 2001.

DOHaD と炎症としての動脈硬化

○西條泰明¹¹旭川医科大学健康科学講座地域保健疫学分野

動脈硬化への炎症の役割が注目されるようになり(Ross, R: New Eng J Med, 1999)、成人については古典的な心血管危険因子に加えて、炎症が重要な心血管疾患予防のためのマーカーとなることが報告されてきた。炎症のマーカーとしては、比較的簡便・安価に測定できることもあり、高感度法で測定した c-reactive protein (hsCRP) 値をマーカーとして用いた研究が進んできた。

hsCRP 値と LDL-コレステロール値との組み合わせにより心血管疾患予測が効果的になるとの報告もあるが(Ridker et al. Circulation. 1998)、hsCRP の上昇要因は主に、①動脈硬化巣自体、②脂肪組織(特に内臓脂肪)からのサイトカイン産生の影響を受けており、さらに年齢、性別、喫煙、併存する慢性炎症性疾患の影響を受ける。そのため、心血管疾患発症相対危険に対する影響を古典的な危険因子(肥満、喫煙、血圧、LDL コレステロール、トリグリセライド、HDL-コレステロール)で調整すると相対危険がそれほど大きな値を示さなくなることから、European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012) (Perk et al. European Heart Journal 2012)では心血管疾患発症の low risks 集団に対しては Grade III (Is not recommended)としている。また、同報告では有効な介入方法が乏しいことも推奨しない理由に挙げられている。ただし、低脂肪食、運動、減量、禁煙などの生活習慣や、Stains、Aspirin, clopidogrel など薬物療法による hsCRP 減少効果が報告されている。

以上のように現時点では、成人でも直ちに広く hsCRP を心血管疾患に対する予防的のために広く利用をすべきかについては疑問も残っている状況ではあるが、メタアナリシス(Emerging Risk Factors Collaboration. Lancet 2010)でも hsCRP は古典的危険因子に独立し心血管疾患発症に関連するのみならず、糖尿病発症や、さらにはがん死亡にも有意に関連することが報告されている。そのため、さらに hsCRP の有用性を検討することや、hsCRP が非特異的な炎症を示すマーカーであるのに対して、新たな動脈硬化特異的である炎症マーカーの開発が期待されている。

小児の hsCRP については、成人と同様に肥満・内臓肥満と関連し、さらに社会経済要因、胎児期の喫煙、アレルギー有病、微生物への曝露機会などの影響も報告されている。現時点では、先に述べたように成人でも予防マーカーとしてルーチンに利用する状況でなく、広く肥満やその他の心血管因子に関連する非特異的な炎症マーカーではあるが、将来の心血管疾患発症や、糖尿病発症、がん罹患にも関連することを考慮すると、小児期における hsCRP 上昇要因の検討や、その他の炎症マーカーの検討を行い、胎児期からの炎症増強要因を解明し、その炎症増強を抑制する介入方法を明らかにすることは、それら疾患発症の予防につながる可能性がある。

一般演題(受付番号順)

- 1 難波文彦 新生仔期に高濃度酸素暴露されたマウスの表現型と肺内ヘムオキシゲナーゼ-1の関与
- 2 鈴木武博 胎児期ヒ素曝露によるマウス肝腫瘍の領域特異的な DNA メチル化と遺伝子発現変化
- 3 谷内洋子 母体の体重歴(二十歳時 び妊娠時BMI)が母児の健康に及ぼす影響
- 4 中野有也 早産児の予定日までの皮下脂肪蓄積はアディポネクチン産生に寄与しているが、内臓脂肪蓄積はアディポネクチン産生に影響していない
- 5 深見達弥 視床下部におけるインスリン感受性の変化が肥満発症に与える影響
- 6 西崎直人 新規尿中バイオマーカー・angiotensinogen を用いた極低出生体重児のNICU 退院後における腎障害評価の有用性
- 7 山田真実 エピゲノム制御因子 Brd4 による脂肪細胞における脂肪蓄積の制御と出生後の発育との関連
- 8 熊本隆之 X 染色体不活性化を中心とした化学物質胎仔期曝露の脳神経系への影響
- 9 遠藤綾 女子大学生のDOHaDに関する認識についてのアンケート調査-結果報告- : Gage ら(AJCN 2011)の質問票を用いて
- 10 木村智子 妊娠初期の母体低栄養による出生後の後肢成長変化についての形態学的解析
- 11 前山弘樹 妊娠期母体精神ストレスに起因する 11 β -HSD1 発現上昇と肝脂質代謝異常
- 12 森下紗帆 出生後発達過程ラットの肝臓における脂肪酸合成酵素の遺伝子発現変動とそのエピゲノム制御機構
- 13 田村賢太郎 極低出生体重児の青年期における生活習慣病リスク因子 ~脂質代謝、インスリン抵抗性、CAVI、頸動脈 IMT の検討
- 14 河野大輔 視床下部室傍核特異的 DNMT3a ノックアウトマウスにおける肥満の発症
- 15 鈴木孝太 出生前の世帯年収が子どもの発育に与える影響の検討
& 世紀出生児縦断調査より~
- 16 林由美 胎生期フタル酸ジ-2-エチルヘキシル曝露による低栄養と生活習慣病および脳への影響
- 17 Tin-Tin Win-Shwe(ティンティンウィンシュイ) マウス新生児におけるダイアジノン 露が成獣の学習能力に及ぼす影響
- 18 関純枝 妊娠中のコレステロール値と出生児の成長後の動脈硬化との関係を調べるための妊婦の現状報告
- 19 木ノ内俊 乳児期のたんぱく質分解物ミルク使用の影響- 成長後の味感受性への影響
- 20 鈴木美記子 日本人乳児の発育哺乳量調査~人工栄養児の哺乳実態と発育~
- 21 田尻下怜子(タジリカレコ) 非肥満妊婦に対する食生活指導の効果についての検討
- 22 平野大志 低出生体重児を主体とした学校検尿におけるハイリスクアプローチ導入の必要性
- 23 江藤亜紀子 胎児の発育及び新生児の体格に影響を及ぼす胎児の遺伝要因
- 24 平井静 マウス胎生期の糖質栄養制限が出生後のメタボリックシンドローム発症に及ぼす影響
- 25 青山友子 日本人 男女における出生時体重とインスリン抵抗性の関係
- 26 河合智子 妊娠 重変化 と胎盤ゲノム8B5
- 27 妊産婦のフタル酸ジ-2-エチルヘキシル曝露と血中トリグリセライド・脂肪酸・出生児の体格との関連性
- 28 佐藤憲子 胎生初期の栄養変化による影響がマウス胎仔エピゲノムに現れるタイミング
- 29 村岡光恵

新生仔期に高濃度酸素暴露されたマウスの表現型と肺内ヘムオキシゲナーゼ-1 の関与

○難波文彦^{1,2}、郷勇人²、Phyllis Dennerly²

¹埼玉医科大学総合医療センター小児科、²フィラデルフィア小児病院新生児部門

【背景】

ヘムオキシゲナーゼ-1 (heme oxygenase-1, HO-1) は酸化ストレスにより誘導され、細胞保護作用を示す。われわれは、適度な HO 活性は細胞防御作用を示すが、過度な HO 活性は酸素毒性と有意に相関することを *in vitro* で報告している (Suttner DM, Dennerly PA. FASEB J. 1999)。

【方法】

肺内 HO-1 蛋白発現量の強弱が、その細胞防御機能に影響するかを *in vivo* で検討するため、HO-1 を低レベル (HO-1 (L)) または高レベル (HO-1 (H)) に過剰発現させた肺特異的トランスジェニックマウスを作製した。新生仔マウスを生後 3 日間 21% または 95% 酸素に暴露させ、以降 8 週齢までルームエア下で飼育した。

【結果】

HO-1 (L) は高濃度酸素による蛋白質の酸化修飾を減少させ、酸素暴露からの回復後、肺の構造を正常に保った。一方、HO-1 (H) では II 型肺胞上皮細胞の集簇を伴う肺胞壁の肥厚とヘモジデロースを認めた。新生仔期の高濃度酸素暴露は野生型成獣マウスの呼吸機能を悪化させる傾向を示した。高濃度酸素は HO-1 (H) 成獣マウスの呼吸機能を悪化させたが、HO-1 (L) では悪化しなかった。さらに HO-1 (H) 成獣マウスは MRI 上、最も重度な肺傷害を呈した。

【結論】

HO-1 (L) は高濃度酸素による肺傷害に対して、肺の酸化損傷を軽減することにより防御的に働き、一方、HO-1 (H) は肺ヘモジデリン沈着により、または、細胞増殖能亢進とアポトーシス減少の結果、II 型肺胞上皮細胞の集簇を伴う肺胞壁肥厚を生じさせることにより肺機能を悪化させる。

胎児期ヒ素曝露によるマウス肝腫瘍の領域特異的な DNA メチル化と遺伝子発現変化

○鈴木武博¹、山下聡²、牛島俊和²、内匠正太^{1,3}、佐野友春⁴、野原恵子¹

¹ 国立環境研究所 環境健康研究センター、² 国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野

³ 東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座、⁴ 国立環境研究所 環境計測研究センター

【はじめに】

有害物質の影響を受けやすいと考えられる胎児期や乳幼児期における環境化学物質曝露は、様々な後発的影響を誘導することが懸念されている。この後発的影響の分子メカニズムは主に、エピジェネティクスによると考えられている。エピジェネティクスの主要なメカニズムである DNA メチル化は、発がんメカニズムの解明にも重要である。さらに近年では、DNA メチル化変化を利用したがんの予測や診断、さらには治療がおこなわれており、各種のがんに特徴的な DNA メチル化変化を明らかにすることは医療の面においても極めて重要な課題であると考えられる。

無機ヒ素（ヒ素）は、バングラデシュやインドなど東南アジアをはじめ世界各国で、地質から井戸水等への混入を介してそれらを飲料水としている住民に深刻な健康被害をもたらし、大きな環境問題となっている。近年の疫学調査で、胎児期や乳幼児期のヒ素曝露によって成人後に膀胱、肺、肝臓などのがんが増加するということが報告されており、ヒ素による発がんにもエピジェネティック作用の関与が示唆されている。しかしながら、ヒ素による発がん と DNA メチル化との関連はいまだ不明な点が多い。

本研究では、ヒ素による発がんを検出するマーカーを同定するために、胎児期ヒ素曝露の実験系を用い、ヒ素による肝腫瘍に特徴的な DNA メチル化変化を示す領域をゲノムワイドに探索した。

【方法】

妊娠 8～18 日目まで 85 ppm の NaAsO₂ を飲水曝露した C3H マウスから産まれた 74 週令の雄マウス（ヒ素曝露群）及び対照群の雄マウスから、正常肝臓（正常部）、腫瘍が存在する肝臓の非腫瘍部（非腫瘍部）、腫瘍部を採取した。それらの部位からゲノム DNA 及び RNA を抽出し、以下の実験に用いた。

網羅的な DNA メチル化解析

対照群正常部とヒ素曝露群腫瘍部のゲノム DNA を用いて MeDIP（methylated DNA immunoprecipitation）-CpG island microarray を行い、マウス CpG island microarray によりメチル化が変化した領域を網羅的に検索した。メチル化の指標として Me value [Yamashita et al. DNA Res. 2009] を用いた。

領域特異的な DNA メチル化解析

網羅的解析の妥当性を検証するために、リアルタイムメチル化特異的 PCR (MSP) によりメチル化率を求めた。また、バイサルファイトシーケンシングにより個々の CpG の DNA メチル化変化を解析した。

遺伝子発現解析

各組織から cDNA を調製し、それぞれの mRNA の発現をリアルタイム PCR により測定した。

表 1. MeDIP-CpG island microarray により得られたメチル化状態に変化がみられた領域。Me-value は、完全メチル化が 1、完全非メチル化が 0 として表している。INSIDE は遺伝子領域内部。

染色体番号	位置	遺伝子名	メチル化の部位	Me value の平均		
				ヒ素曝露群腫瘍部	対照群正常部	差
3	086633247-086633682	Mab21l2	INSIDE	0.480	0.167	0.313
7	018463460-018463899	Fosb	INSIDE	0.577	0.187	0.390
14	030490675-030491319	Btd	INSIDE	0.635	0.173	0.462

【結果】

網羅的な DNA メチル化解析

MeDIP-CpG island microarray から、Me value の値による絞り込みでメチル化が変化していると考えられる 15 領域を得た。我々が着目した 3 領域 (*Fosb*、*Btd*、*Mab21l2*) を表 1 に示す。

領域特異的な DNA メチル化解析

対照群腫瘍部とヒ素曝露群腫瘍部でメチル化率を比較すると、*Fosb* と *Btd* の領域はヒ素曝露群腫瘍部でメチル化率が有意に増加し、*Mab21l2* の領域はヒ素曝露群腫瘍部で有意に減少していることが明らかになった。

遺伝子発現解析

癌遺伝子として知られている *Fosb* の発現が、ヒ素曝露群腫瘍部において、対照群とヒ素曝露群の他の組織よりも約 10 倍高かった。一方、*Btd* と *Mab21l2* は、対照群とヒ素曝露群の腫瘍部において、他の組織と比較して減少していたが、ヒ素曝露群腫瘍部と対照群腫瘍とで有意な変化はみられなかった。

【考察】

本研究では、対照群腫瘍部とヒ素曝露群腫瘍部とで DNA メチル化状態が異なる 3 領域を明らかにした。*Fosb* と *Btd* の領域は、ヒ素曝露群腫瘍部でメチル化率が有意に増加した。一般的に DNA メチル化の程度は腫瘍中の腫瘍細胞の割合に依存するため、ヒ素曝露群の腫瘍に腫瘍細胞が多い可能性が考えられた。しかしながら、*Mab21l2* 領域では、対照群腫瘍部と比較してヒ素曝露群腫瘍部でメチル化率が有意に減少したため、本研究で観測された DNA メチル化変化は、腫瘍中の腫瘍細胞の数を反映しているのではなく、ヒ素曝露が原因の腫瘍に特徴的な変化だと考えられる。したがって、これらの 3 領域はヒ素が原因の腫瘍とその他の要因の腫瘍を区別できる DNA メチル化マーカーになる可能性が示唆された。

また本研究では、各遺伝子の発現も各組織において特徴的な変化を示すことが明らかになった。特に、ヒ素曝露群腫瘍部における癌遺伝子である *Fosb* の増加が顕著であった。我々のこれまでの研究で、ヒ素曝露群腫瘍部において *Ha-ras* の変異が対照群腫瘍部よりも多いことが明らかとなっている。*Ha-ras* 変異による *Ha-ras* の活性化は、細胞増殖や分化を制御する ERK 経路を活性化することが報告されている。したがって、ERK 経路の下流に存在する *Fosb* の発現増加は、胎児期ヒ素曝露で肝腫瘍が増加するメカニズムに関与する可能性が考えられた。

遺伝子領域内部の DNA メチルは、遺伝子発現の抑制ではなく、遺伝子発現の活性化に対応することが報告されている。本研究から、*Fosb* の遺伝子領域内部の DNA メチル化がヒ素曝露群腫瘍部で増加し、さらに遺伝子発現もヒ素曝露群腫瘍部で大きく増加することが明らかになった。したがって、*Fosb* においても遺伝子領域内部の DNA メチル化が *Fosb* の発現と対応している可能性が示唆された。

母体の体重歴(二十歳時および妊娠時 BMI)が母児の健康に及ぼす影響

○谷内洋子^{1,2}, 田中康弘³, 西端泉⁴, 菅原歩美¹, 児玉暁¹, 鈴木亜希子¹, 羽生修¹, 曾根博仁¹
¹新潟大学大学院医歯学総合研究科血液・内分泌・代謝内科, ²山梨学院大学健康栄養学部管理栄養学科, ³田中ウイメンズクリニック, ⁴川崎市立看護短期大学

【はじめに】わが国では、中高齢者や男性における肥満が社会問題化している一方で、若年女性においてはやせ過ぎが深刻で、生理的に体重増加が求められる妊婦をも巻き込んで若年女性の痩身化が進んでいる。若年女性が「体重を減らしたい、やせたい」というやせ願望を持っていることは、世界中で報告されているが、国レベルでこれほど顕著に若年女性の BMI が実際に低下しているのは世界的にも稀である。このような現状から今日のわが国において、妊娠・出産年齢にある若年女性の栄養不良傾向が懸念されるとともに、その対策は喫緊の課題とされる。本研究では、近年の日本人若年女性の BMI およびやせの現状に着目し、妊娠前を含む母体の体重歴と母児における健康障害事象(妊娠糖尿病および児の出生体重の低下)との関連について、日本人健常妊婦を対象に前向きに検討した。

【目的】研究①:妊娠前および妊娠時の BMI や食生活が、妊娠糖尿病発症に影響することが明らかにされているが、20歳時 BMI や20歳から妊娠時までの BMI 変化量などの体重歴と妊娠糖尿病発症との関連は明らかではない。そこで研究①では、20歳時 BMI および20歳以降の BMI 変化量と妊娠糖尿病発症との関連を解析する。研究②:若年女性のやせすぎは、女性本人の一生の健康への影響に加え、やせている状態で妊娠した場合、低出生体重児出産リスクの上昇および次世代の健康への影響も懸念されている。実際に、わが国の低出生体重児の出生割合は1995年以降、若年女性の「やせ」の割合に伴い上昇傾向にあり、2005年以降は停滞傾向ではあるものの依然9.5%以上を維持して推移、新生児の10人に1人の割合を占めるまでとなっている。低出生体重児は、成人後の耐糖能異常や、心血管疾患による死亡率が上昇することなどが数々の疫学研究によって明らかとなりつつある今、低出生体重児出産のリスク因子について、母体の体型を含めたより複合的な要因を探り当てる必要があると考えられる。そこで研究②では、単胎正常産児(妊娠37週~41週)で体重4000g未満の児を分娩し、妊娠合併症の見られなかった健常妊婦を対象に、低出生体重児出産を予測するリスク因子について、母体の体型(BMI)を含めて前向きに検討する。

【方法】研究①:都内産科医院を妊娠13週までに初診した健常妊婦624名(33.4±3.7歳、BMI19.8±2.1)を対象に28週に50g糖負荷試験(GCT)を実施、GCT陽性者には75g糖負荷試験を実施し国際糖尿病・妊娠学会の基準により妊娠糖尿病の有無を診断した。20歳時 BMI および20歳以降の BMI 変化量と妊娠糖尿病発症との関係を多変量解析により検討した。研究②:都内産科医院を妊娠13週までに初診した、糖尿病の既往がない妊婦585名(年齢33.4±3.4歳、BMI19.8±1.8)を対象に初診時(妊娠週数7.9±2.0週)および妊娠中期(27.0±1.2週)に空腹時採血を実施、さらに妊娠中期には耐糖能スクリーニングとして50g糖負荷試験(GCT)を実施した。出生体重2500g未満の児を低出生体重児とし、母体 BMI および初診時/妊娠中期における採血で得られた各パラメータと低出生体重児出産との関係を多変量解析により検討した。

【成績】研究①:28名が妊娠糖尿病を発症した。妊娠糖尿病発症を目的変数とし、年齢、経産歴、初診時 BMI、20歳時 BMI を説明変数としたロジスティック回帰分析の結果、20歳時 BMI が18未満の妊婦は、18以上の妊婦に比し妊娠糖尿病発症リスクが4.85倍高かった。同様に、20歳以降の BMI 変化量が1.85以上だった妊婦は、1.85未満の妊婦に比し3.05倍リスクが高かった。さらに20歳時 BMI が18未満の妊婦は、20歳時 BMI が18以上かつ BMI 変化量が1.85未満の妊婦に比し、妊娠糖尿病発症リスクは6.30倍に上昇した。研究②:妊娠糖尿病を発症した28名を除いた健常妊婦557名中、22名が低出生体重児を出産した。低出生体重児出産を目的変数としたロジスティック回帰分析の結果、妊娠週数、児の性別および母体の身体的特徴(BMI、身長、経産歴、年齢)とは独立して、GCT1時間値10mg/dl 上昇毎のオッズ比が0.74(95%CI:0.60-0.90)と有意な関連を認めた。また、GCT1時間値が第1四分位群(Q1; ≤108mg/dl)であった妊婦は、第2四分位群以上(Q2-4; >108mg/dl)と比較しオッズ比3.89(1.59-9.50)と低出生体重児出現リスクが有意に増大した。一方、母体の低い BMI は低出生体重児出産と強く関連し、初診時 BMI が19.5未満の場合、それ以上の者に比し約3倍、GCT時 BMI が22.8未満の場合、それ以上の者に比し約4倍低出生体重児出産リスクが上昇した。さらにGCT1時間血糖値と母体の BMI が低出生体重児出産に与える影響を検討した結果、GCT1時間値が108mg以下で初診時 BMI が19.5未満の妊婦では、GCT1時間値が108mgを超え初診時 BMI が19.5以上の者と比べて10.9倍リスクが上昇、出

生体重で表すと135g減少し、GCT1時間値が108mg以下でGCT時BMIが22.8未満の妊婦では、GCT1時間値が108mgを超えGCT時BMIが22.8以上の者と比べて11.9倍リスクが上昇、出生体重で166g減少した。

【考察】研究①において、20歳時の低いBMIおよび20歳以降のBMI増加が、それぞれ単独ならびに相乗的にも妊娠糖尿病発症を予測する有用な指標である可能性が示唆されたことから、妊娠前からの適正なBMIの保持と、成人以降の急激な体重増加を避けることは、妊娠糖尿病発症予防および母児の健康を守る上で重要課題と考えられた。研究②において、妊娠中期の50gGCT1時間値ならびに母体の妊娠前および妊娠中の低いBMIは低出生体重児出産を予測する指標として有用である可能性が示唆されるとともに、この2指標(GCT1時間血糖と母体BMI)の組み合わせは、低出生体重児出産に相加的なリスク因子であることが示唆された。妊娠時の母体高血糖のリスクは確立されており、重要な問題だが、健常妊婦において、GCT1時間血糖値が108mg/dl以下の場合、低出生体重児出産リスクが高かったことから、妊婦の正常血糖範囲の下限についても検討する必要性が示唆された。

本研究(研究①、②)結果から、妊娠前のやせ過ぎを未然に防ぎ、妊娠前・妊娠中を通して適正なBMIを保持することは、母児の健康を守る上で重要課題と考えられる。しかし、妊娠前および妊娠中の母体の体型(体重)が母親自身や生まれてくる子どもの将来の健康へ影響するという事実は、現在のところまだ広く知られておらず、若年女性に対する啓発活動が必要と考えられる。女性本人およびその将来のこどもたちが生涯を通して健康に生きていくために、「やせすぎ」の弊害についてわが国におけるエビデンスを蓄積するとともに、妊娠前からの栄養・生活習慣の改善および食育の推進、さらに健康的な体型の教育および啓発、「やせ」へのあこがれを含む社会的風潮の是正など、若年女性のやせ過ぎを改善するための多面的な取り組みが急務である。

早産児の予定日までの皮下脂肪蓄積はアディポネクチン産生に寄与しているが 内臓脂肪蓄積はアディポネクチン産生に影響していない

○中野有也、板橋家頭夫、滝元宏、宮沢篤生、櫻井基一郎、三浦文宏、水野克己、土橋一重
昭和大学医学部小児科学講座

【目的】

低出生体重児は、将来生活習慣病を発症するリスクが高いことが知られている。低出生体重児には主に子宮内発育不全に伴うものと早産に起因するものがあるが、子宮内発育不全に伴う低出生体重児と同様に、早産に伴う低出生体重児においても、将来のインスリン抵抗性獲得のリスクが高いという。しかし早産児におけるこういったインスリン抵抗性獲得のメカニズムははまだ明らかにされていない。

過去の報告から、予定日周囲の早産児は出生時の正常産児と比較して体脂肪率が有意に高く、内臓脂肪の量・割合の増加が認められることが示されている。また最近の我々の研究から、早産児は仮に予定日周囲に子宮外発育不全とならず正常産児と同等の体格になったとしても、この時期の血清アディポネクチン分画の構成が正常産児とは異なっていることが明らかとなった(高分子型アディポネクチンの割合は正常産児より早産児で有意に低い)。しかし、早産児の予定日にみられるこういったアディポネクチン分画の違いと、脂肪組織の mal-development (体脂肪率の増加や内臓脂肪量・割合の増加など)との関係は現在のところ不明である。

そこで今回我々は、早産児において予定日周囲に各種アディポネクチン分画を測定し、合わせて臍高で施行した CT-scan 画像を用いて、Fat-scan による腹部・体脂肪組成(皮下脂肪面積・内臓脂肪面積)を評価することで、これらの関係性を統計学的に検討した。

【方法】

研究の対象は、2010年1月から2012年5月の間に、昭和大学病院新生児集中治療室に入院した35週未満出生の早産児のなかで、ご両親から研究の参加に関する同意を文書で取得することができた53名である。うち7名は Small for gestational age (SGA) 児であり、5名は子宮外発育不全児となった(SGAは出生体重が $-2.0SD$ 未満、子宮外発育不全は予定日周囲の体重が $-2.0SD$ 未満と定義した)。

研究対象者は、予定日周囲(修正37週~41週)に臍高でCT-scan (LightSpeed; GE Healthcare Japan Co, Tokyo, Japan)を行い、市販の専用ソフト(Virtual Place Advance; AZE, Ltd., Tokyo, Japan)を用いて、臍高での皮下脂肪面積および内臓脂肪面積を評価した。また採取した血液の血清を用いて、総アディポネクチン(T-Ad)、高分子アディポネクチン(HMW-Ad)、レプチンを測定し、合わせてHMW-AdのT-Adに対する割合(HMW%)も評価した。出生時の計測値、予定日周囲の計測値に関するデータは診療録から後方視的に得た。

予定日周囲の血清 T-Ad、HMW-Ad、HMW%およびレプチンレベルに影響を与える因子を検討するため、Pearson の相関係数を用いそれぞれ単回帰分析を行った。また交絡因子を除外して検討するため、これらを従属変数として重回帰分析を行った。重回帰分析における独立変数には、性別、出生時因子(在胎期間、出生体重SDスコア、出生時BMI)、予定日周囲の因子(修正週数、体重SDスコア、BMI)に加えて、Fat-scan で評価した皮下脂肪面積および内臓脂肪面積を選択した。なお、出生体重および予定日周囲の体重は、在胎期間などの他のパラメータと共線性が強いため、独立変数から除外した。統計学的解析にはSPSS (IBM Company, Tokyo, Japan)を用い $p < 0.05$ を有意差ありとみなした。

【成績】

対象は男児23名、女児30名、計53名の早産児で、対象の出生時パラメータは在胎期間 32.1 ± 2.7 週、出生体重 $1592 \pm 499g$ 、出生体重SDスコア -0.7 ± 1.0 、BMI $9.3 \pm 1.5kg/m^2$ であり、予定日周囲のパラメータは、修正週数 39.3 ± 1.2 週、体重 $2737 \pm 354g$ 、体重SDスコア -0.8 ± 0.9 、BMI $12.2 \pm 1.4 kg/m^2$ だった。血清マーカーはT-Ad $22.8 \pm 7.6 \mu g/ml$ 、HMW-Ad $13.7 \pm 5.3 \mu g/ml$ 、HMW% $59.3 \pm 8.6\%$ 、レプチン $2.3 \pm 0.8ng/ml$ であり、皮下脂肪面積は $9.4 \pm 3.6cm^2$ 、内臓脂肪面積は $3.4 \pm 2.5cm^2$ だった(なお、パラメータは全て平均値 \pm SDで示した)。

単回帰分析で、T-Ad ($r = 0.315$, $p = 0.022$)、HMW-Ad ($r = 0.338$, $p = 0.013$)、HMW% ($r = 0.273$, $p = 0.048$)、レプチン ($r = 0.297$, $p = 0.031$) はそれぞれ皮下脂肪面積と有意な正の相関を示した。一方で、これらの血液マーカーのなかで内臓脂肪面積およびV/S比(内臓脂肪面積/皮下脂肪面積)と有意な

相関を示した項目はなかった。T-Ad、HMW-Ad、HMW%およびレプチンを従属変数とした重回帰分析では、皮下脂肪面積はそれぞれ T-Ad ($\beta = 0.580, p < 0.001$)、HMW-Ad ($\beta = 0.726, p < 0.001$)、レプチン ($\beta = 0.413, p = 0.031$)と有意な正の相関を示した。その他、性別が T-Ad ($\beta = -0.346, p = 0.004$)、HMW-Ad ($\beta = -0.295, p = 0.008$)、レプチン ($\beta = -0.347, p = 0.016$)と有意に関連していた(それぞれ女兒で有意に高かった)。一方、HMW%を従属変数とする重回帰分析では、回帰式自体が有意とはならなかった(Adjusted $R^2 = 0.134, p = 0.079$) (Table 1 に重回帰分析の結果を示す)。

Table 1 予定日の T-Ad、HMW-Ad、HMW%およびレプチンに関連する因子(重回帰分析)

	予定日周囲に測定した血清レベル							
	T-Ad ^b		HMW-Ad ^c		HMW % ^d		Leptin ^e	
	β^a	p	β^a	p	β^a	p	β^a	p
在胎期間(週)	0.183	0.384	0.238	0.225	0.300	0.251	0.452	0.080
出生体重 SD スコア	-0.230	0.234	-0.148	0.418	0.162	0.497	0.069	0.766
出生時 BMI (kg/m ²)	0.367	0.074	0.375	0.050	0.106	0.671	-0.224	0.362
性別 (男児)	-0.346	0.004	-0.295	0.008	0.044	0.754	-0.347	0.016
修正週数 (週)	-0.276	0.059	-0.355	0.010	-0.248	0.168	-0.202	0.248
予定日体重 SD スコア	0.119	0.545	-0.106	0.561	-0.394	0.110	-0.042	0.861
予定日 BMI・SD スコア (kg/m ²)	-0.195	0.318	-0.109	0.547	0.107	0.659	0.331	0.164
皮下脂肪面積 (cm ²)	0.580	<0.001	0.726	<0.001	0.631	0.002	0.413	0.031
内臓脂肪面積 (cm ²)	-0.054	0.653	-0.117	0.296	-0.092	0.533	-0.227	0.122

有意差のある項目を太字で示した。^a β は標準化した、^b Adjusted $R^2 = 0.439, p < 0.001$ 、^c Adjusted $R^2 = 0.514, p < 0.001$ 、^d Adjusted $R^2 = 0.134, p = 0.079$ 、^e Adjusted $R^2 = 0.171, p = 0.042$

【考察】

今回の我々の検討から、早産児における予定日周囲までの皮下脂肪蓄積はアディポネクチン(T-Ad および HMW-Ad)の産生増加に寄与していることが示された。これは、小児や成人の肥満において、脂肪蓄積に伴ってアディポネクチン産生能が低下することとは逆の関係である。こういった矛盾が生じる明らかな理由は不明だが、早産児の予定日までの皮下脂肪蓄積は脂肪細胞の数の増加により生じており、細胞の肥大によるものが主ではないことを示唆しているかもしれない。また、今回の検討では、内臓脂肪蓄積とアディポネクチンとの間に有意な関係性は確認できなかった。このことは、早産児における予定日周囲のアディポネクチン分画の変化が、内臓脂肪蓄積とは異なる機序で生じていることを暗に示している。早産児における予定日周囲のアディポネクチン分画の変化がどのような機序で起こっているのか、そしてそれが将来のインスリン抵抗性獲得や生活習慣病リスクと関わっているのかを明らかにするためには、さらなる検討が必要である。

視床下部におけるインスリン感受性の変化が肥満発症に与える影響

○深見達弥^{1,2}、Mina Desai²、Michael G. Ross²
¹福岡大学産婦人科、²UCLA

【目的】肥満はエネルギー収支バランスの不均衡により引き起こされ摂食過多が関係している。胎児プログラミング仮説における肥満発症の機構を解明するために子宮内発育遅延(IUGR)で出生した児の摂食中枢(視床下部弓状核 ARC)において摂食を抑制するインスリンシグナル(pAkt/Akt)の違いをラットモデルを用いて検討した。また、摂食に関与する神経伝達物質(NPY; 摂食促進, POMC; 摂食抑制)の発現も検討した。

【方法】IUGR児を出生するために母胎ラットは妊娠10日目から21日目(21日目に分娩)まで50%のカロリー制限を行った。出生した児のIUGR群と対照群において4週齢で脳室内カテーテルを挿入し、5週齢でインスリン脳室内投与群 vs. インスリン脳室内非投与群における食物摂取量を測定した。6週齢においてインスリン脳室内投与群 vs. インスリン脳室内非投与群でARCにおけるmRNA(NPY, POMC)およびタンパク質(pAkt/Akt)発現解析を行った。

【成績】IUGR群は対照群に比べ出生時に約19%の低体重を認めた(6.12 ± 0.14 vs 7.57 ± 0.08 g)が6週齢においては体重差を認めなかった。インスリン非投与群・自由摂食時においてIUGR群はNPY mRNAの増加(1.8倍)、POMC mRNA(0.3倍)、pAkt/Akt比(0.8倍)の低下を認めた。インスリン投与群・自由摂食時においてIUGR群はNPY mRNAの増加(1.2倍)、POMC mRNA(0.6倍)、pAkt/Akt比(0.6倍)の低下を認めた。この結果に一致しIUGR群においてインスリン投与、非投与にかかわらずコントロール群に比べ約1.2倍の摂食量増大を認めた。

【考察】胎児プログラミングにおける肥満発

症の一因としてIUGR児の摂食中枢におけるインスリンシグナル伝達障害、摂食促進ペプチドの増加、摂食抑制ペプチドの低下が示唆された。

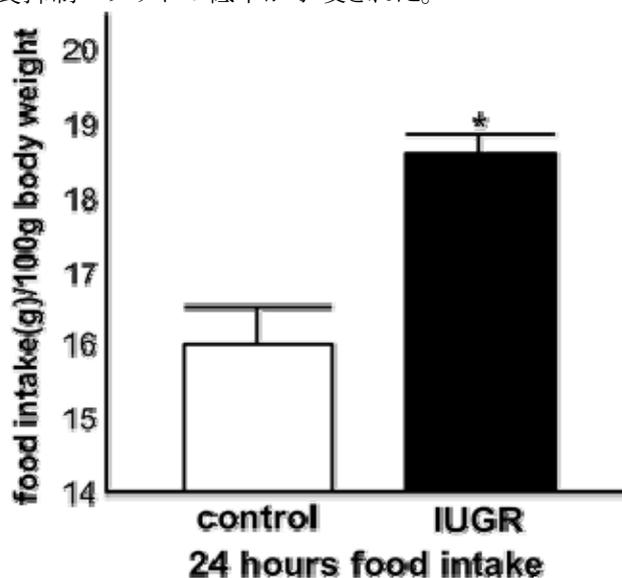


図1. 摂食量

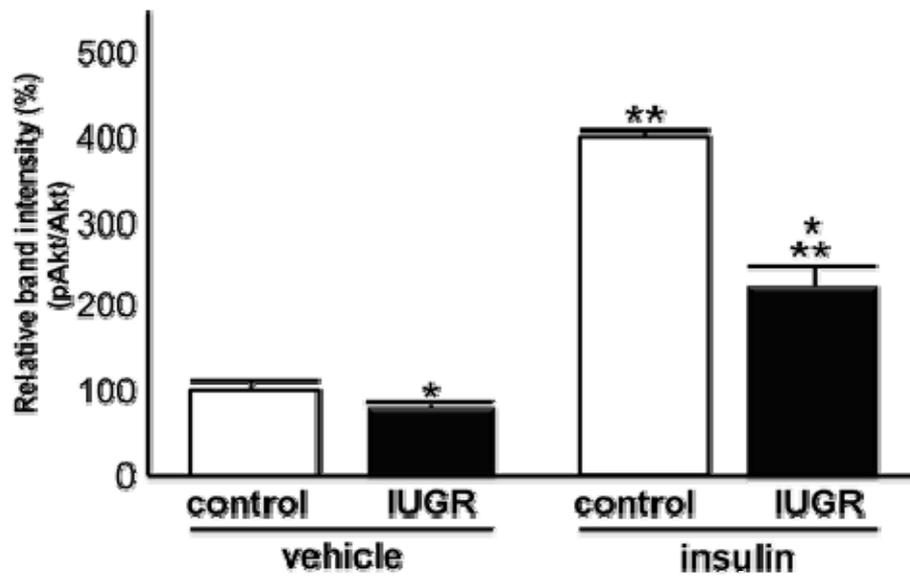


図2. 視床下部弓状核におけるAkt比の変化

新規尿中バイオマーカー・angiotensinogen を用いた 極低出生体重児の NICU 退院後における腎障害評価の有用性

○西崎直人¹、平野大志²、藤永周一郎³、永田智⁴、大友義之⁵、東海林宏道⁶、清水俊明⁶

¹順天堂大学医学部附属静岡病院新生児センター、²東京慈恵会医科大学小児科、
³埼玉県立小児医療センター腎臓科、⁴東京女子医科大学小児科、
⁵順天堂大学医学部附属練馬病院小児科、⁶順天堂大学小児科

【はじめに】

周産期医療の進歩によって早産児や低出生体重児の生存率は飛躍的に向上したものの、これら未熟児は生来のネフロン数が少ないことに起因する成長後の腎障害のリスクが高いことが種々の疫学調査から判明してきた。しかしこのような未熟児の腎障害が NICU 退院後のどのタイミングで出現するのかは明らかでなく、またリスク因子や発症頻度を示した報告は少ない。そのため現状ではNICU退院後の腎機能の監視方法の gold standard はないため、施設や新生児科医・小児科医の各々の判断に委ねられている。

一方で近年、各臓器に特異的に独立し発現する tissue renin-angiotensin system (tRAS)が注目され、腎においては産生された angiotensin II (Ang II)が病的状況下で腎障害に関与することが報告された。特に RAS 唯一の基質である angiotensinogen (AGT)は腎内の局所で産生され、排泄された尿中 AGT は腎内 RAS 活性を直接反映するため鋭敏な腎障害の指標になることが報告されている。

【目的】

極低出生体重児 (VLBWI) の NICU 退院後に尿中 AGT を用いて腎障害を評価し既存の指標に比べ、より早期に非侵襲的に評価可能か検証する。

【方法】

VLBWI のため当院 NICU へ入院歴のある児のうち 2012 年 4 月から 12 月に外来受診した未熟児群 50 例; 男/女=28/22, 在胎週数 26 週 (22-35 週), 出生体重 899g (390-1,461g), 受診時月齢 60 カ月 (7-135 カ月), (中央値・範囲)。および対照群 (正期産かつ 2,500g 以上) 25 例; 男/女=10/15, 在胎週数 39 週 (37-41 週), 出生体重 2862g (2,560-4,300g), 受診時月齢 57 (5-144 カ月) (中央値・範囲)。両群の血清 AGT、Cre、 β 2MG、Cys-C と尿中 AGT、Cre、 β 2MG、Alb を比較し統計学的検討を行った。

【結果】

受診時身長、体重、収縮期血圧は両群間で有意差はなかった。血清 Cre、血清 Cys-C は未熟児群で高値 ($p < 0.05$) であり推定糸球体濾過率 (eGFR) は未熟児群で低値 ($p < 0.05$) であった。尿中 β 2MG/Cre と尿中 Alb/Cre は両群間に有意差はなかった。一方で血清 AGT は両群間に差はなかったが (19.3 vs. 11.7 \cdot g/g, $p=0.062$)、尿中 AGT/Cre は未熟児群の方が有意に高値であった (41.0 vs. 51.9 \cdot g/ml, $p < 0.01$)。

【考察】

通常、ヒトのネフロン数は腎臓 1 個あたり約 85 万個とされている。またネフロン数は出生体重により異なり、出生体重が 1kg 増加するごとにネフロン数は約 26 万個増えると考えられている。低出生体重児では生下時から数の少ないネフロンへの糸球体過剰濾過が起り、残存ネフロンへの負担が増すことでポドサイト傷害から糸球体硬化に至る (Hyper-filtration theory)。また胎生期に fetal growth restriction (FGR) のあった児では成長後の糸球体障害に加えて、尿細管間質での線維化マーカーの発現が増加することも報告されている。本検討における VLBWI の成長後の尿中 AGT の上昇は糸球体障害と間質尿細管障害による腎内 RAS 活性を反映している可能性が考えられた。

近年、RAS 阻害薬は全身の降圧作用とは別にいわゆる「Beyond blood pressure lowering effect」として

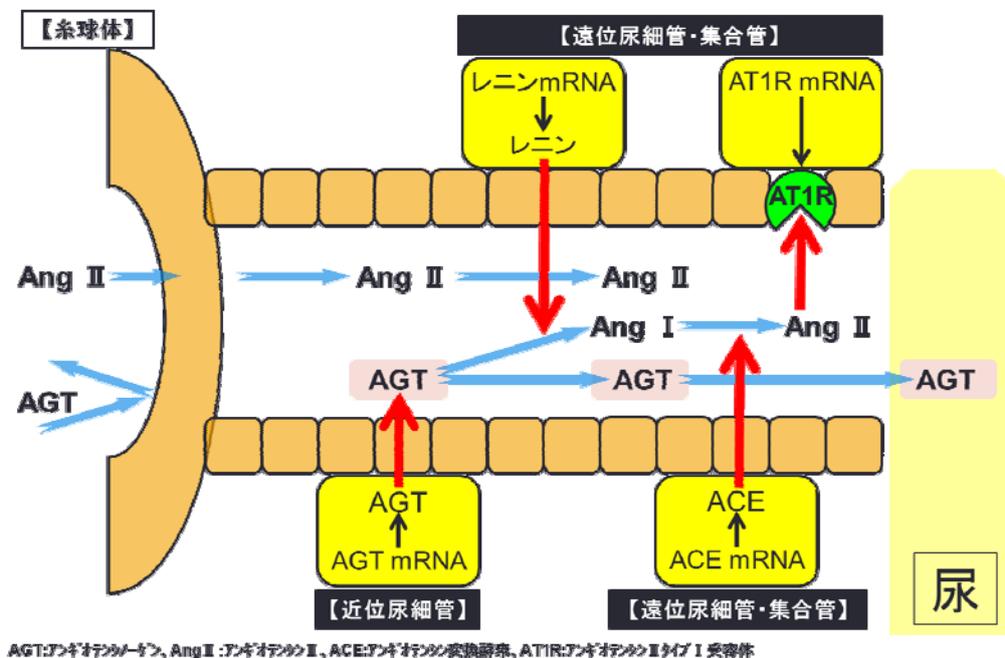
臓器保護作用があることが報告された。実際、慢性腎臓病(CKD)における大規模臨床治験のエビデンスとして RAS 阻害薬が糖尿病性腎症や非糖尿病性の CKD による腎機能低下を遅らせることが示されており高血圧を呈する CKD 患者の第一選択薬として用いられている。低出生体重児においても尿中 AGT は腎局所での RAS 経路の活性状態を反映する可能性があることから、これら腎障害発症ハイリスク児の腎保護戦略を考えるうえで NICU 退院後の尿中 AGT 測定は重要な情報源になると考えられる。

【結語】

VLBWI の NICU 退院後の腎障害に対し尿中 AGT 測定は採血を要さないため簡便かつ非侵襲的であり、これまで汎用されてきた尿中 $\beta 2$ MG や尿中 Alb よりも鋭敏なマーカーであることから腎障害評価に有用であると考えた。

【参考】

< 腎臓における局所 RAS >



漆原. 日児腎誌 2012 より引用, 一部改変

エピゲノム制御因子 Brd4 による脂肪細胞における 脂肪蓄積の制御と出生後の発育との関連

○山田真実¹、望月和樹²、合田敏尚¹

¹静岡県立大学 栄養生理学研究室、²山梨大学 食品栄養学研究部門

【目的】肥満や2型糖尿病をはじめとする生活習慣病は、生まれもった遺伝因子と生活習慣などの環境因子が相互作用して発症する多因子疾患である。近年、栄養などの環境因子がエピゲノムを変化させ、それが記憶されることや生殖期の親が環境因子に暴露されると世代を超えて子孫に影響を与える可能性が示唆されてきた。エピゲノム変化は、DNA 修飾酵素によるマーキング、マークされた遺伝子領域への特異的なタンパク質の結合、タンパク質複合体のリクルートによるクロマチン形成というメカニズムで機能していると考えられている。

最近の研究によって、アセチル化ヒストンに結合するプロモドメインを2つ含むタンパク質から成る Brd タンパク質が、標的遺伝子への転写複合体のリクルートにおいて重要な役割を担っていることが示唆されている。とりわけ、Brd2 は、その欠損マウスは重度の肥満を呈し、その一方で Brd4 のヘテロ欠損マウスでは、脂肪組織が顕著に萎縮していることが明らかにされている。これらの報告は Brd2 および Brd4 タンパク質が、個体内の脂肪の蓄積を調節するマスターレギュレーターである可能性が高いことを示唆しており、これらタンパク質の活性の攪乱は、生活習慣病の発症リスクを増大させる可能性が高いと考えられる。

脂肪組織は脂肪蓄積機能のほかにアディポカインやホルモンなどを分泌する内分泌器官としての機能を持っており、末梢組織におけるグルコース代謝や脂質代謝にも関連している。したがって、グルコースや脂質の代謝異常を防ぐためには、脂肪細胞の機能を制御することが重要である。

そこで、脂肪細胞における遺伝子発現や脂肪蓄積において重要な役割を担っている可能性のある Brd4 に焦点を当て、分化過程の脂肪細胞における Brd4 の役割と Brd4 ヘテロ欠損マウスの生後の発育状態および脂肪組織における遺伝子発現を検討した。

【方法】Brd4 siRNA および control siRNA を、レトロウイルスベクターを用いて 3T3-L1 細胞に発現させ、Brd4 タンパク質の発現が低下している細胞株および対照株を樹立した。それぞれの細胞に分化刺激を与え、脂肪細胞分化誘導後 0 日、2 日、8 日目の細胞を回収した。回収したサンプルから総 RNA を抽出しマイクロアレイ解析を行い、Brd4 タンパク質発現の低下に伴って発現が減少する遺伝子を探索し、real time RT-PCR 法で定量的に遺伝子発現量の変化を確認した。さらに、出生後の発育過程における Brd4 の役割を検討するため 10、14、21 日齢の Brd4 ヘテロ欠損マウスの脂肪組織における遺伝子発現量を real time RT-PCR 法を用いて検討した。

【成績】Brd4 siRNA による Brd4 タンパク質の発現抑制によって 3T3-L1 脂肪細胞内の脂肪蓄積量が顕著に低下した。分化の初期段階である 2 日目の細胞を用いてマイクロアレイ解析を行った結果、発現が検出された遺伝子は 23,332 遺伝子であった。その結果、多くの脂肪蓄積に関連する遺伝子[トリアシルグリセロール合成関連遺伝子 (*Gpd1*, *Dgat2*)、脂肪酸再エステル化関連遺伝子 *Acs11*、脂肪滴形成関連遺伝子 (*Cidec*, *Plin1*) など]の発現が低下した。

20 週齢の Brd4 ヘテロ欠損マウスでは、同週齢の野生型と比較して体重および体重あたりの肝臓重量、腸間膜脂肪重量、副睾丸脂肪重量が有意に低かった。また、10、14、21 日齢の Brd4 ヘテロ欠損マウスの脂肪組織における *Dgat2*, *Gpd1*, *Acs11*, *Cidec*, *Plin1* など脂肪蓄積に関連する遺伝子の発現量が、野生型と比較して有意に低かった。

【考察】Brd4 siRNA 発現細胞および Brd4 ヘテロ欠損マウスの結果から、Brd4 の発現が低下すると脂肪細胞における脂肪蓄積関連遺伝子の発現量が減少し、脂肪蓄積機能が著しく低下することが明らかとなった。プロモドメインタンパク質である Brd4 は標的遺伝子上のアセチル化ヒストンに結合し、転写伸長因子 (P-TEFb 複合体) を標的遺伝子上に集合させ、転写伸長反応を促進することによって mRNA の発現量を調節することが先行研究によって明らかにされた。以上のことから、Brd4 は脂肪細胞の機能を維持するために重要であり、その制御機構には転写伸長反応を介した mRNA の発現量の調節が関与している可能性が示唆された。

X 染色体不活性化を中心とした化学物質胎仔期曝露の脳神経系への影響

○熊本隆之、押尾茂
奥羽大学薬学部

【目的】X 染色体不活性化は胎児期、特に発生初期段階で女性の二つある X 染色体の片方を不活性化させ、男性の発現量と同じくするメカニズム(いわゆるライオニゼーション、X 染色体の遺伝子量補償)である。X 連鎖遺伝子は量的に多く、特筆事項として脳神経疾患、精子形成異常、免疫疾患の原因遺伝子を非常に多く有している特徴がある。X 染色体不活性化はほぼ単一の遺伝子(Xist; X-inactive specific transcript)によって制御され、免れる部分が存在し不活性パターンは個々で大きく異なり、さらにエピジェネティック機構の代表例のひとつであることから化学物質の作用点になりうる事が予見される。これまで発表者らはディーゼル排ガスのマウス胎仔期曝露により Xist 遺伝子が曝露濃度依存的に変動すること(Kumamoto, J Tox Sci, 38(2), 2013)、さらにビスフェノール A 胎仔期曝露が Xist およびそのアンチセンスである Tsix 遺伝子の発現変動とともに X 連鎖精神遅滞をはじめとする X 連鎖性脳神経発達関連遺伝子の発現を変動させることを見出している(Kumamoto, J Tox Sci, 38(3), 2013)。今回、ビスフェノール A と同様に可塑剤として広く用いられている DEHP (フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)) の胎仔期曝露を行い、X 染色体不活性化関連遺伝子および X 連鎖性脳神経発達関連遺伝子の発現変動を中心に検討した。

【方法】ICR 系妊娠マウスに、2 および 20mg/kg の DEHP を妊娠 8 および 15 日目にそれぞれ皮下注射で投与した。溶媒はコーンオイルを用いた。その雌性出生仔を 4 日齢で解剖に供し大脳部を摘出、Total RNA を抽出し逆転写の後リアルタイム PCR 法により遺伝子発現量を検討した。検討遺伝子は X 染色体不活性化関連遺伝子として Xist および Tsix、X 連鎖性脳神経発達関連遺伝子として Fmr1 (Fragile X mental retardation 1)、Gdi1 (Guanosine diphosphate dissociation inhibitor 1)、Nlgn3 (Neuroligins 3)、Ophn1 (Oligophrenin 1)、Pak3 (p21-activated kinase 3)、エピジェネティクス関連遺伝子として Dnmt1 (DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1)、Hdac1 (Histone deacetylase 1)とした。統計学的処理は Dunnett 法による多重検定を行った。

【成績】20mg/kg 曝露において Xist 遺伝子の有意な発現減少(0.64 倍)と Tsix 遺伝子の有意な発現上昇(2.59 倍)が認められ、また Fmr1、Nlgn3、Pak3、Hdac1 遺伝子の有意な発現減少(それぞれ 0.74、0.49、0.48、0.52 倍)が認められた。0.02mg/kg 曝露において Xist および Tsix に有意な差はなかったものの同様の傾向が得られ、Nlgn3 遺伝子の有意な発現減少(0.47 倍)が認められた。

【考察】DEHP 胎仔期曝露は Xist および Tsix の発現変動より何らかの形で X 染色体不活性化の不安定化を生じさせ、X 連鎖性遺伝子発現に影響を及ぼしているものと推察される。Fmr1 は神経細胞での mRNA 輸送に関与し脆弱 X 症候群の原因遺伝子となること、Nlgn3 はシナプス同士の連結に関与し遺伝性自閉症の原因遺伝子となること、Pak3 はニューロン突起の伸張に関与し X 連鎖精神遅滞の原因遺伝子となることがそれぞれ報告されている。DEHP の神経系への影響として成人期においては疫学・動物実験とも目立った報告はないが、妊娠中の母親や子どもへの曝露と子どもの神経行動発達との関連は横断研究だけでなくいくつかの前向きコホート研究からも示唆されており、本研究で認められた遺伝子発現変動との関連性も考えられた。しかしながら今回得られた Xist および Tsix、Hdac1 の発現変動と X 連鎖性遺伝子の発現減少という制御方向は一致せず、今後、X 染色体不活性化の本体でありこの間を介するエピジェネティクスを中心に詳細な検討が必要と考えられる。

女子大学生の DOHaD に関する認識についてのアンケート調査-結果報告- Gage ら(AJCN 2011)の質問票を用いて

○遠藤 綾^{1,2}、大久保 岩男¹、小山田 正人²
¹天使大学大学院 看護栄養学研究科栄養管理学専攻
²藤女子大学 人間生活学研究科食物栄養学専攻

【目的】Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)とは、胎芽期から出生後の発達期における栄養を含む種々の環境因子が、成長後の健康や生活習慣病をはじめとする非感染性の慢性疾患[Non communicative disease (NCD)] の発症リスクに影響を及ぼすという概念である。これまで疫学的に、胎芽期～幼小児期の低栄養や発育遅延が、心筋梗塞・脳卒中・高血圧・2型糖尿病・骨粗鬆症・悪性腫瘍・精神神経疾患等のリスク要因となることが明らかにされている。一方、日本の現状(2500g 以下の低出生体重児が 1 割に迫っていること、出生時平均体重が減少していること、20 歳代女性のやせが多いこと)は、今後 DOHaD に関連する NCD が増加する危険性を示している。したがって、DOHaD の概念を社会へ普及させ、妊娠前から妊娠中そして幼小児期に適切な栄養を維持させることは、公衆栄養学的にも管理栄養士・栄養士の役割とその公益性においても重要であると考えられる。

DOHaD 普及活動を行うためにはまず現状認識についての分析が必要である。2011 年、Gage らは DOHaD の認識を調査するための独自の質問票を作成し、ヨーロッパ 5 カ国の初産婦に対するアンケート調査を行った。そこでは「1 歳までの栄養摂取が、生涯に渡る健康や疾患発症にどの程度影響を及ぼすと考えているのか」について調査し、遺伝や生活習慣よりも影響が小さいと初産婦に考えられているという結果を報告した(Am J Clin Nutr 2011;94 (suppl): 2018S)。しかし、上記のような現状を抱える日本での DOHaD の認識についての報告はこれまで存在していない。

本研究は、今後の DOHaD 普及活動の基礎資料として、日本人女子大学生の DOHaD に対する認識を明らかにすることを目的とした。そのため、日本人女子大学生が、

- (1)1歳までの食事が、遺伝や生活習慣(遺伝・環境と生活習慣の要素)に比べて、成人になった時の健康に、どの程度影響を及ぼすと考えているのか、
- (2)1歳までの食事が、生涯に渡った不健康な食嗜好、肥満症になるリスク、慢性疾患の発症などにどの程度影響すると考えているのか、

を明らかにするため、Gage らによる質問票を用いてアンケート調査を行った。

【方法】研究対象は、日本人女子大学生で、F 女子大学人間生活学部食物栄養学科、保育学科、人間生活学科の3専攻の約 1,000 名(80 名×3 学科×4 学年)、年齢はおおよそ 18～22 歳前後であった。

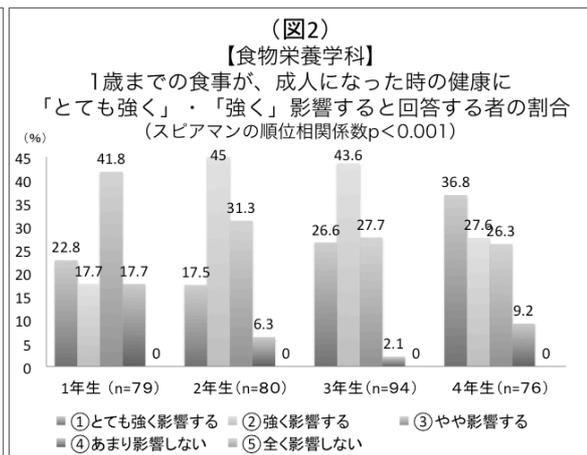
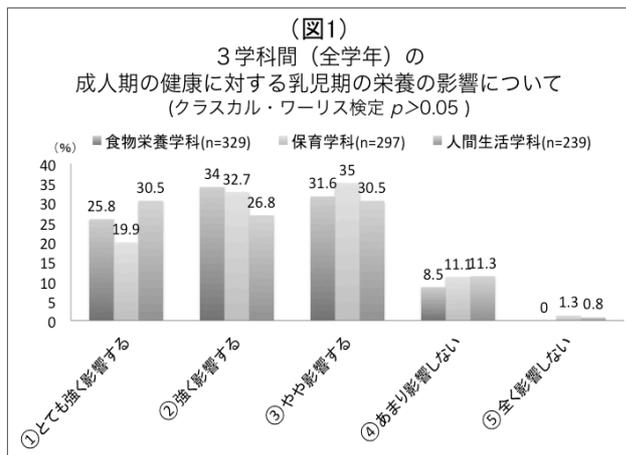
調査方法は、Gage らによる質問票を英語から日本語へと翻訳したアンケートを用いた。予め用意した文書による説明後、対象者の同意を得た上で記名式での調査を行った。質問票は 4 つの大項目と 21 個の設問(うち自由記載1個)で構成されており、記載の所要時間は 15 分程度であった。アンケートはマークシート式により行い、その後、機械的にデータを集計した。アンケート・調査票及び個人データについては慎重な取り扱いをした。具体的には、アンケート・調査票と個人データの両データを一致させた後、個人識別を暗号化し、個人を同定できないようにし、その後エクセル統計(第 3 版)を用いてマン・ホイットニ検定、クラスカル・ワーリス検定、ノンパラメトリック多重比較検定(Steel-Dwass 法)、スピアマンの順位相関係数の検定など使い分けて統計解析を行った。

【結果】1. 研究対象の女子大学生は、「1歳までの食事が、遺伝や環境・生活習慣の因子に比べて、成人になった時の健康にどの程度影響を及ぼすと考えているのか」について、

(1)1 歳までの食事が成人になった時の健康に、「とても強く」あるいは「強く」影響すると答えた者の割合は全体の 56.6%で、他の遺伝、環境あるいは生活習慣の因子に比べて、成人の健康への影響が小さいと認識していた(表1)。

(2)3 学科ごとにそれぞれ 1 年生から 4 年生を合

(表1) 各因子が成人期の健康に「とても強く」・「強く」 影響すると答えた者の割合 (%) n=865名 (有効回答数)	
乳児期 (1 歳未満) の 栄養 (母乳/ミルク/食事など)	56.6
タバコ	94.2
子供～思春期の食事	82.1
成人期の食事	74.2
子供～思春期の運動	74.6
環境汚染	70.2
成人期の運動	66.0
遺伝子/遺伝	59.2
家庭の収入	35.4



わせたとき、1歳までの食事の影響について、「とても強く影響する」・「強く影響する」と考えていた者は、人間生活学科 57.3%、食物栄養学科 59.9%、保育学科 52.5%だった。この各3学科間の比較において、統計学的に有意な差はみられなかった(図1:クラスカル・ウォリス検定 $p>0.05$)。

(3)食物栄養学科では学年進行に伴って、1歳までの食事が成人になった時の健康により強く影響すると回答する者の割合が増加していた(図2:スピアマンの順位相関係数 $p<0.001$)。また、食物栄養学科では、1年生と3年生間、1年生と4年生間において、高学年で「影響が強い」と答えた者が1年生に比して有意に多かった(ノンパラメトリック多重比較検定(5段階))。人間生活学科・保育学科においては、このような学年進行に伴う認識の上昇は認められなかった。

2.「1歳までの食事が、生涯に渡った不健康な食嗜好、肥満症になるリスク、慢性疾患の発症などにどの程度影響すると考えているのか」について、研究対象の女子大学生は、1歳までの食事が、不健康な食嗜好(好き嫌い)(57.1%)や食物アレルギー(55.6%)への影響を強いと考える傾向が見られた。しかし、生活習慣病との関係性を考えた者は少なく、中でも癌への影響を強いと考えた者は最少であった(19.5%)(表2)。

【考察】1. DOHaDの認識 一学生達とヨーロッパの母親の考え方から

研究対象の日本人女子大学生において、1歳までの食事が成人になった時の健康にかなり強く・強く影響すると答えた者の割合は56.6%であり、ヨーロッパ5カ国の初産婦でのGageらの報告(63.7%)と同様に、1歳までの食事の影響を低く評価していることが分かった。この結果から、日本におけるDOHaD普及活動の必要性が裏づけられた。

2. DOHaDの普及活動と教育効果の可能性

乳児期(1歳未満)の栄養の影響の考え方については、食物栄養学科・保育学科・人間生活学科の各3学科間の全学年比較において、差はみられなかったが、食物栄養学科では、他の二学科(保育学科と人間生活学科)とは異なり、1年生に比べ、3,4年生で学年進行に伴って理解度が上昇していた。食物栄養学科の学生達には、2年生時からDOHaDに関する講義が実施されている。今回の結果は教育により、DOHaDの認識を高められる可能性を示唆している。

これらを踏まえ、今後は更に調査対象を広げて行くことを計画しており、合わせてDOHaDの普及活動に繋げていきたい。

(表2)
1歳までの栄養・食事が、生涯に渡った不健康な食嗜好・肥満症になるリスク・慢性疾患の発症などに「とても強く」・「強く」影響すると考えている者の割合
n=865名(有効回答数)

不健康な食嗜好(好き嫌い)	57.1
食物アレルギー	55.6
骨の弱さ/骨粗鬆症	52.5
肥満	45.2
湿疹や喘息や花粉症	37.0
糖尿病	32.7
心臓病	24.4
高血圧	24.3
ガン(癌)の発症	19.5

妊娠初期の母体低栄養による出生仔の後肢成長変化についての形態学的解析

○木村智子^{1,2}、玉川俊広¹、金子隼也¹、原澤俊也¹、河野匡暁¹、日野広大¹、
野津瑛未奈¹、森田航³、中務真人³、山田重人⁴、宇田川潤¹、工藤基¹
¹滋賀医科大学解剖学講座、²滋賀医療技術専門学校、
³京都大学大学院理学研究科自然人類学研究室、
⁴京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻

【背景】

胎生期の低栄養環境は、成人期以降の2型糖尿病や発達障害のリスク要因となることが示されてきた。しかし、胎生期の低栄養環境が運動器系の発生に与える影響については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、Wistar 系ラットの胎生初期の低栄養環境による仔ラット後肢の骨成長変化について検討した。

【材料と方法】

実験の概要

〈実験1〉

胎生初期に低栄養環境に曝された出生仔ラットを成獣まで成長させ後肢の骨成長を解析した。

〈実験2〉

胎生初期に低栄養環境に曝された出生仔ラットの後肢の骨成長を出生直後に解析した。

実験動物

〈実験1および2〉

実験には10週齢のWistarラット雌(体重:実験1;200~240g、実験2;170~210g)を用い、自然交配によりPlugの形成が確認された日の午前0時を胎生0日とした。

給餌制限

〈実験1および2〉

妊娠成立後のラットを対照群(実験1;3匹、実験2;3匹)と給餌制限群(実験1;4匹、実験2;3匹)に分けた。両群ともに、交配二日前まで標準精製固形飼料 CE-2(日本クレア)を自由摂取させた。交配前日より出産までの期間は、両群ともに標準精製粉末飼料 AIN-93G(オリエンタル酵母工業)を摂取させた。対照群は全期間において自由摂取とし、給餌制限群は胎生5.5日から10.5日まで給餌量を対照群の50%に制限し、その他の期間は自由摂取とした。出産日以降は両群ともに標準精製固形飼料 CE-2を自由摂取させた。

実験1の仔ラットは離乳後、雌雄別々に1ケージ2~3匹に分けて飼育した。

組織試料採取と計測

〈実験1〉

仔ラット雄(対照群7匹、給餌制限群5匹)を13週齢まで飼育し、体重を測定した。また、大腿骨および脛骨を採取し、骨長ならびに骨端最大幅を計測した。

〈実験2〉

仔ラット雄(対照群10匹、給餌制限群8匹)を生後0日で安楽死させた。その際、体重ならびに胴長(肩甲骨から殿部まで)を測定した。また、右大腿骨ならびに右脛骨を採取し、各々の骨長および骨幹長を計測した。

【結果】

〈実験1〉

生後13週齢において対照群と給餌制限群の間で体重に有意差は認められなかった。大腿骨長および脛骨長は給餌制限群で有意に短く、大腿骨遠位端最大幅も給餌制限群で有意に小さかった。

〈実験2〉

生後0日の新生仔ラットで、給餌制限群の体重は対照群に比べ有意に重く、胴長も有意に長かった。大腿骨長および脛骨長においては、両群間に有意差が認められなかった。大腿骨ならびに脛骨の骨長/胴長比は、どちらも給餌制限群が有意に小さかった。大腿骨ならびに脛骨の骨幹長/骨長比は、対照群と給餌制限群で有意差が認められなかった。

【考察】

新生仔ラットにおける給餌制限群の体重は対照群と比較して重く、胴長も長いことから、胎生初期に低栄養環境に曝されても、その後胎内で十分にキャッチアップできることが示唆された。また、新生仔ラットの後肢骨長は両群間で差がなかったため、給餌制限群における仔ラット後肢の体内での成長は、出生までに対照群と同程度までキャッチアップされることが示唆された。一方、給餌制限群の成獣ラット雄における大腿骨長、脛骨長、および大腿骨遠位端最大幅の減少は、胎生初期の低栄養環境が生後の骨成長に影響を与える可能性を示している。以上のことから、低栄養による胎生初期の未分化な細胞のエピジェネティクス変化が、生後の骨成長の抑制をもたらす可能性が考えられた。

妊娠期母体精神ストレスに起因する 11 β -HSD1 発現上昇と肝脂質代謝異常

○前山弘樹¹、田原佑里子¹、小幡千枝^{1,3}、望月和樹²、平澤孝枝^{1,3}、久保田健夫¹

1:山梨大学大学院医学工学総合研究部 環境遺伝医学講座

2:山梨大学生命環境学部 地域食科学科

3:独) 科学技術振興機構、CREST

【はじめに】

胎生期の栄養や環境要因が成人期における肥満体質を形成しやすくなることが疫学調査で明らかになされ、さらに「妊娠中の精神ストレスでも生まれて来た子どもが肥満になりやすい」ことが指摘されるようになった。これをふまえ、肥満発症のメカニズムを明らかにするために、マウスの妊娠母体に拘束ストレスを負荷し、ストレスに応答するグルココルチコイドや 11- β -ステロイド脱水素ホルモンを介した脂質代謝異常の発症メカニズムを調べた。具体的には、C57/BL6J 系統の妊娠マウスを、胎生 8 日齢より出産まで 12 日間 1 日 3 時間 50ml プラスチックチューブに母親マウスを入れ、不動化させることにより、その影響を調べた。その結果、拘束ストレスを負荷された母体マウスから生まれた仔マウスの体重は、コントロール群の仔マウスと比べ、有意な差はなかったが、生後 37 日齢の仔マウスの肝臓組織切片をオイルレッド染色法にて脂肪染色をした所、拘束ストレス群で脂質の蓄積が亢進していた。このとき、PPAR α 、PPAR γ 、11 β -HSD1 の発現増加がみられた。以上の結果と 11 β -HSD1 が II 型糖尿病患者において発現が増加していることを踏まえると、この仔マウスは糖新生の活性化が誘引する脂質代謝が亢進しており、成熟とともに II 型糖尿病予備群となると考えられた。

【本文】

【目的】妊娠期の母親の環境により、生まれてくる子供にも影響が出てくることが報告されてきている。胎生期において過剰なストレスに暴露されたとき、小児期および成人期の精神面の感受性の変化が見られ、短期的および長期的な神経発生に対して有害な影響を与え、また、胎生期の栄養や環境要因が成人期における脂質代謝の異常を引き起こし肥満体質を形成しやすくなることが疫学調査で明らかになされた。しかし、この異常がどのようなメカニズムで引き起こされるのか知られていない。これらを踏まえ本研究の目的は、妊娠期の母体マウスに拘束ストレスをかけることにより、「精神ストレスを負荷したとき、生まれてくる仔マウスが成長したときに脂質代謝異常を生じ、肥満になりやすいのか」を検討し、その異常のメカニズムやそれに関わる遺伝子異常を調べた。その標的として、ストレス応答に関与するグルココルチコイドの細胞内作用強度を、不活性型のコルチゾンから活性型のコルチゾールへ変化させて制御する 11 β -HSD1 (11- β -ステロイド脱水素酵素; 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase Type 1) などを検討した。

【方法】C57/BL6J 系統の妊娠マウスを、胎生 8 日齢より出産まで 12 日間 1 日 3 時間 (AM 9:30~12:30) 50ml プラスチックチューブに母親マウスを入れ、マウスを不動化させ、「拘束ストレス」を負荷した。胎生 18 日齢、生後 21 日齢、37 日齢においてマウスの解剖を行い、母体血清、仔マウスの血清、肝臓を採集し、ウェスタンブロットや RT-PCR にて 11 β -HSD、PPAR (ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体; peroxisome proliferator-activated receptor)、GR (グルココルチコイド受容体; glucocorticoid receptor) および糖新生関連酵素の解析を行い、ELISA 法を用いて血清コルチコステロンの解析を行った。

【結果】拘束ストレスを負荷された母体マウスから生まれた仔マウスの体重は、コントロール群の仔マウスと比べ、有意な差はなかった。しかし、生後 37 日齢の仔マウスの肝臓組織切片をオイルレッド染色法にて脂肪染色をした所、拘束ストレス群で脂質の蓄積が亢進していた(図1)。このとき、胎内のエネルギー代謝や脂肪蓄積に関わる遺伝子である PPAR α 、PPAR γ の mRNA、タンパク質の発現が増加していた。血清コルチコステロンは、拘束群とコントロール群に有意差は認められず、コルチコステロンの受容体である GR の発現は mRNA、タンパク質で変化は見られなかった。しかし、11 β -HSD1 の発現は mRNA では変化は見られなかったが、タンパクレベルで上昇していた。

この発現増加胎生期からの変化であるかを調べるため、胎生 18 日齢の仔マウスの肝臓を解析したところ、PPAR において mRNA、タンパク共に発現の変化は見られなかった。PEPCK や G6Pase のような糖新生関連酵素の mRNA を調べたところ、その発現は増加していた。さらに、胎児血清コルチコステロンの有意差は認められなかったが、減少傾向が認められ、GR、11 β -HSD1 の発現の変化は見られなかった。

さらに栄養状態が変化する、離乳期(生後 21 日齢)での仔マウスを解析した。血清コルチコステロンの変化は拘束群では減少傾向にあり、GR、11 β -HSD1、PPAR では変化がなかったが、糖新生関連酵素の mRNA の発現が増加していた。

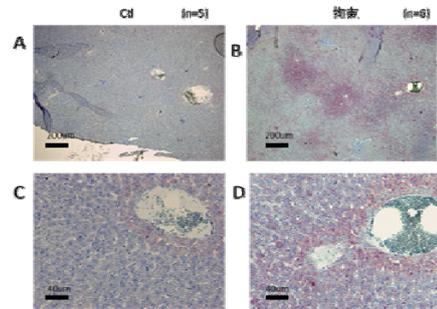


図1 オイルレッドO染色による肝臓の脂肪染色
生後37日齢の肝臓の脂肪滴を染色した。
(A, C) コントロール群 (A, 4倍, C, 20倍)
(B, D) 拘束ストレス群 (B, 4倍, D, 20倍)

【考察】本研究において、母体に拘束を行うことで負荷される「精神ストレス」は、仔マウスに体重の変化は生じないものの、肝臓において脂質の蓄積を亢進させることが確認された。11 β -HSD1 は、II 型糖尿病患者において発現が増加していることが知られており、母体に精神ストレスを負荷されて生まれた仔マウスにおいて 11 β -HSD1 の発現が増加していたことを踏まえると、この仔マウスは糖新生の活性化が誘引する脂質代謝が亢進しており、成熟とともに II 型糖尿病予備群となると考えられる。さらに、このような脂質蓄積異常や 11 β -HSD1 の発現増加と糖新生関連酵素の発現上昇の関係性や、その根底となるエピジェネティクスな変化を明らかにすることにより、妊娠期の母体にかかる精神ストレスのメカニズムを明らかにして行く予定である。

出生後発達過程ラットの肝臓における

脂肪酸合成酵素の遺伝子発現変動とそのエピゲノム制御機構

○森下紗帆¹、望月和樹²、合田敏尚³

¹常葉大学健康栄養学科、²山梨大学地域食物科学科、³静岡県立大学栄養生命科学科

【目的】

げっ歯類の離乳期においては、脂肪を多く含む母乳から糖質の多い固形食へと食事組成が著しく変化する。その過程で、糖質の摂取量の増大に対応して、肝臓では脂肪酸の合成に関与する酵素の遺伝子発現が増大することが知られている。本研究では脂肪酸合成の律速酵素である脂肪酸合成酵素（FAS）に着目し、出生後の発達に伴うラットの肝臓における FAS 遺伝子の発現変動に、転写因子の結合量の変化、あるいはヒストンのアセチル化およびメチル化修飾が関与するかを検討した。

【方法】

離乳初期から離乳完了期にあたる生後 13 日、20 日、27 日の SD 系ラットから肝臓を採取し、総 RNA を抽出した。リアルタイム RT-PCR 法で FAS 遺伝子の遺伝子発現レベルを測定し、発達に伴う変動を観察した。またウエスタンブロット法でタンパク質発現レベルを確認した。さらにクロマチン免疫沈降法によって、FAS 遺伝子への転写因子 ChREBP の結合量および、FAS 遺伝子近傍のヒストンのアセチル化・メチル化修飾レベルを測定した。

【結果および考察】

肝臓における FAS の遺伝子発現は、離乳初期で低く、離乳完了期である生後 27 日では離乳初期の約 7 倍に増大した。FAS タンパク質の発現についても同様に変動する傾向がみられた。ChREBP の FAS 遺伝子への結合量は、プロモーター/エンハンサー領域で増大する傾向がみられ、離乳完了期に高まることが明らかになった。ヒストン H3 のアセチル化ならびにヒストン H3 の 4 番目リジン残基（K4）のトリメチル化は、いずれも転写領域で高くなっており、この領域におけるこれらのヒストン修飾レベルは、離乳初期よりも離乳完了期の方が高まっていた。それゆえ、出生後の離乳期における FAS 遺伝子の発達に伴う急激な発現増大には、ヒストンのアセチル化およびメチル化などのエピゲノムの調節が関与している可能性が示唆された。

極低出生体重児の青年期における生活習慣病リスク因子 ～脂質代謝、インスリン抵抗性、CAVI、頸動脈 IMT の検討～

○田村賢太郎¹、吉田丈俊¹、小浦詩¹、猪又智実¹、相澤まどか²、板橋家頭夫²
¹富山大学附属病院周産母子センター、²昭和大学小児科

【目的】

近年、低出生体重児では成人期における生活習慣病の発症リスクが高いと報告されている。今回我々は、厚生労働省「極低出生体重児の思春期以降の予後」研究のアンケート調査に追加して、青年期における生活習慣病リスク因子の検討を行った。

【方法】

1990-1995年に富山大学附属病院周産母子センターから生存退院した極低出生体重児を対象に、現在の体格や健康状態などについてアンケート調査を行った。また、同意が得られた方に血液検査(総コレステロール(以下 T-C)、HDL-C、LDL-C、空腹時血糖、HOMA-IR など)、血圧測定、心臓足首血管指数(CAVI)測定、頸動脈内中膜複合体厚(IMT)測定を行った(VLBW群)。コントロールとして同年齢の健康ボランティアに協力を依頼した(Control群)。得られた結果は t 検定を用いて統計学的解析を行い、p 値 0.05 未満を有意差ありと判定した。

【結果】

極低出生体重児 93 人のうち 22 人からアンケートの回答を得た。年齢は男性 19.1±2.2 歳、女性 19.2±1.7 歳、出生体重は男性 1096±182g、女性 1029±285g であった。追加検査を行った VLBW 群 13 人(男性 6 人、女性 7 人)と Control 群 10 人(男性 5 人、女性 5 人)の血液検査を比較すると、VLBW 群の男性では T-C、HDL-C が Control 群より有意に低値であり、女性では有意差はないものの同様の傾向がみられた。空腹時血糖や HOMA-IR に有意差は認められなかった。血圧や CAVI は両群に有意差はなく、頸動脈 IMT は VLBW 群の 1 人が max-IMT 1.0mm と境界域であった。

【考察】

今回の検討より、青年期において極低出生体重と脂質代謝異常との関連が示唆された。ただし症例数は十分ではなく、今後の症例数の蓄積やより高年齢での検討が必要と考えられた。

視床下部室傍核特異的 DNMT3a ノックアウトマウスにおける肥満の発症

○河野大輔^{1,2}、Joel K Elmquist²

¹群馬大学 先端科学研究指導者育成ユニット、²テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター

【目的】

肥満は、日本を含めた多くの地域で増加しており、大きな社会問題となっている。近年の肥満の増加には環境要因が関係していると考えられるが、その分子メカニズムはいまだ明らかではない。最近、肥満の発症や増加にエピジェネティクスが関与していることが疑われている。主要なエピジェネティクス修飾のひとつである DNA のメチル化においては胎児期が重要であり、おもに胎児期に DNA メチル化のパターンが形成され、そのパターンは長期に渡って持続する。DOHaD や Barker 仮説で知られているように、胎児期や発達期は環境の影響を受けて将来の肥満や生活習慣病のなりやすさが決められる時期でもある。この時期的な共通性などから、胎児期や発達期の環境に由来する疾患の発症機序に DNA のメチル化が関与していることが疑われている。体重は、エネルギーの摂取と消費のバランスを反映しており、全身のエネルギーバランスを決定している中心的な部位は視床下部摂食代謝中枢である。そこで我々は視床下部摂食代謝中枢における DNA メチル化の役割を明らかにすることを目的とした。De novo DNA メチル化酵素である DNA methyltransferase 3a (DNMT3a)を、摂食代謝調節ニューロンが局在する視床下部室傍核特異的に欠損させたマウスを作成し、その表現型を解析した。

【方法】

Cre/loxP システムを用いて、視床下部室傍核特異的に Cre を発現する Sim1 Cre マウスと DNMT3a flox マウスを掛け合わせて、視床下部室傍核特異的 DNMT3a ノックアウト (DNMT3a KO) マウスを作成した。コントロールマウスおよび DNMT3a KO マウスの体重、体長、摂食量、酸素消費量、呼吸商を測定した。また、ブドウ糖負荷試験とインスリン負荷試験を行った。高脂肪食負荷の影響を調べるため、離乳直後から高脂肪食 (42%脂肪食) を与え、体重および血清中の脂質濃度を調べた。

【成績】

DNMT3a KO マウスはオス、メスともに、コントロールマウスと比較して7週令から有意に体重の増加を呈した。また、体長も有意に増加していた。体重増加の原因を調べるため、摂食量と酸素消費量、呼吸商を測定した。摂食量は DNMT3a KO マウスで有意に増加していたが、酸素消費量と呼吸商に有意な違いは見られなかった。ブドウ糖負荷試験により、投与60分後および120分後の血糖値の有意な増加が認められた。また、インスリン負荷試験により、投与30分後から120分後の有意な血糖値の増加が認められた。高脂肪食を与えたところ、高脂肪食負荷 DNMT3a KO マウスは高脂肪食負荷コントロールマウスおよび通常食 DNMT3a KO マウスと比較して7週令から有意に体重の増加を呈した。さらに血清中の脂質を測定したところ、総コレステロール値および LDL コレステロール値の有意な増加が認められた。

【考察】

視床下部室傍核の DNMT3a が体重やエネルギー代謝の調節に不可欠な役割をしており、その破綻により肥満や耐糖能、インスリン感受性の悪化、高 LDL コレステロール血症が引き起こされることが明らかになった。これらの表現型は Barker 仮説とも類似しており、視床下部室傍核の DNMT3a を介した経路が Barker 仮説の機序となっている可能性がある。視床下部室傍核における DNMT3a を介したエピジェネティクス調節が、人における肥満の発症や増加に関与している可能性がある。

出生前の世帯年収が子どもの発育に与える影響の検討 ～21世紀出生児縦断調査より～

○鈴木 孝太¹、片野田耕太²、祖父江友孝³、山縣然太郎¹

¹山梨大学大学院医学工学総合研究部 社会医学講座

²独立行政法人国立がん研究センターがん対策情報センターがん統計研究部がん統計解析室

³大阪大学大学院医学研究科 社会環境医学講座

【目的】平成 25 年度から実施される健康日本 21(第二次)においては、健康格差の縮小が項目として記載され、都道府県格差の縮小が目標とされている。母子保健領域においても、低出生体重児の割合の減少が目標として記載されている。一方、国民健康栄養調査においては、世帯所得が低いほど、野菜の摂取量が少なかったり、運動習慣がなかったりするなど、生活習慣に問題がある人の割合が高くなる傾向がしめされている。このように社会経済的状況による「健康格差」の拡大は社会的な課題になっている。しかしながら、母子保健分野において、収入などを含め、出生時の状況がその後の発育にどのような影響を及ぼしているかの検討は世界的にも少なく、わが国においてはほとんどない。そこで、人口動態調査データと 21 世紀出生児縦断調査データを連結し、出生前の世帯年収によるその後の児の発育の違いを、マルチレベル解析により検討したので報告する。

【方法】統計法(平成 19 年法律第 53 号)第 33 条の規定に基づき、調査票情報の提供の申出を、平成 25 年 2 月 13 日付で厚生労働大臣宛てに行い、人口動態調査の出生票、第 1 回～第 10 回 21 世紀出生児縦断調査の調査票データを入手した。これらのデータは突合され、人口動態調査-第 1 回縦断調査-第 2 回...-第 10 回縦断調査という形で連結した 1 つのデータセットとして提供された。なお、21 世紀出生児縦断調査の対象者は、全国の 2001 年(平成 13 年)1 月 10 日から同月 17 日の間及び同年 7 月 10 日から同月 17 日の間に出生した子であり、今回の検討では単胎で出生した児のみを解析対象とした。上記のデータセットを用いて、以下のように解析を行った。まず、出生前 1 年間の世帯年収を四分位により分類し説明変数として用いた。さらに、第 1 回調査(生後約 6 ヶ月時)における母親の喫煙状況(あり・なし)を同様に説明変数として用いた。子どもの発育については、第 1 回～第 10 回の縦断調査における身長・体重を用いて body mass index(BMI)を計算した。世帯年収四分位および喫煙の有無のそれぞれについて、各調査回の BMI を目的変数とし、男女別にマルチレベル解析(SAS PROC MIXED)を行い、その後、喫煙の有無により層化し、世帯年収四分位について同様の解析を行った。さらに解析結果を用いて、それぞれの群における BMI の推移を軌跡として描いた。解析には SAS Ver9.2 を用いた。

【成績】全調査対象者 47015 人のうち、単胎 46039 人について解析を行った。このうち、男児は 23903 人(51.9%)であった。まず、出生前 1 年間の世帯年収はデータが存在する 42927 人について、四分位により、「380 万円未満」「380 万円以上 500 万円未満」「500 万円以上 690 万円未満」「690 万円以上」と分類された。男女別にマルチレベル解析を行ったところ、各調査時点との交互作用項において、特に女兒の 7 歳以降で最も収入の低い群と高い群の間で有意差を認めた。この結果をもとに描いた軌跡でも、女兒の 7 歳以降で最も収入の低い群の BMI が大きくなる傾向を認めた。また、母親の喫煙に関するデータが存在する 45763 人について、母親の喫煙ありと回答したのは 8038 人(17.6%)であった。収入と同様に男女別の解析を行ったところ、男女ともに喫煙している群で有意に BMI が大きくなる傾向を認めた。さらに、喫煙の有無により層化して、世帯年収四分位による解析を行ったところ、特に女兒では、喫煙状況によらず最も収入の低い群で 7 歳以降、BMI が大きくなる傾向を認めた(図 1、図 2)。

【考察】日本の子どもを代表していると考えられるデータを用いて、出生前の世帯収入と出生後早期の母親の喫煙状況が、子どもの発育に与える影響を検討した。今回解析に使用した体格データを含むほぼ全てのデータが、質問票によって収集されているなどの限界はあるものの、社会経済的状況と強く関連していると思われる、母親の喫煙状況を考慮しても、特に女兒で、世帯年収が低いことが小児期の BMI の増加と関連していることを世界で初めて示した。母子保健の分野でも、社会較差が健康格差に影響していることを示唆しており、今後、地域差などを含めた詳細な解析を行っていく予定である。なお本研究は、厚生労働科学研究費補助金(政策科学総合研究事業(統

計情報総合研究)「厚生労働統計データの利用促進等に関する研究」(研究代表者:大阪大学大学院医学研究科 社会環境医学講座 教授 祖父江友孝)の成果の一部である。

図1: 世帯収入 (女児単胎、母親非喫煙者)

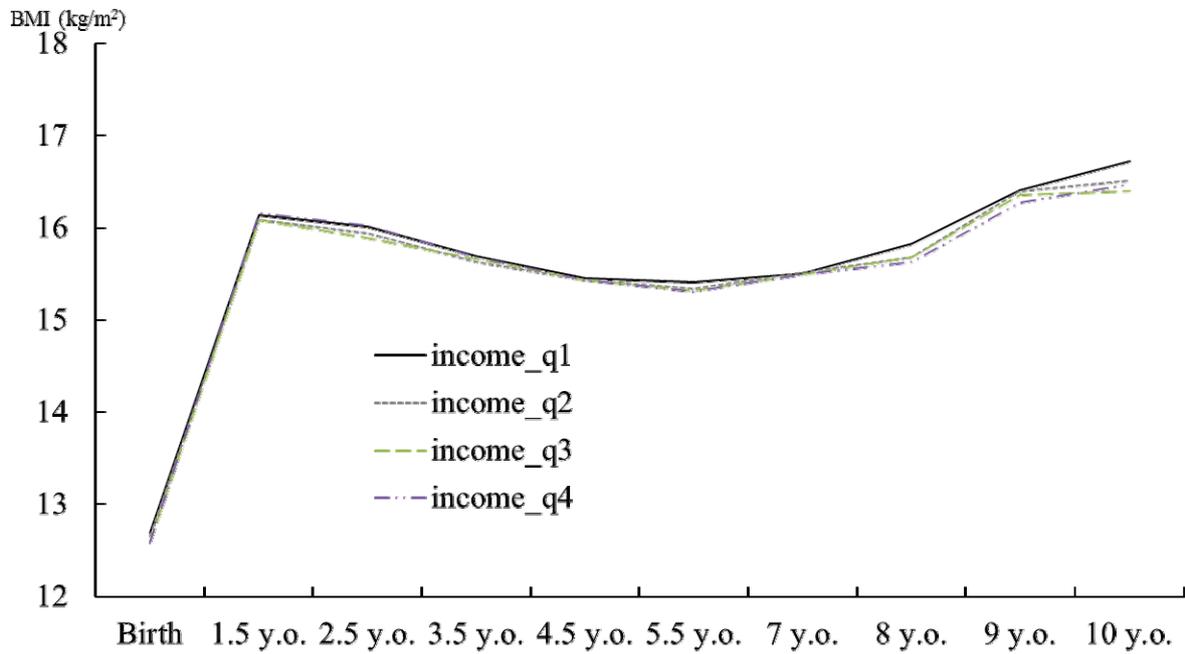
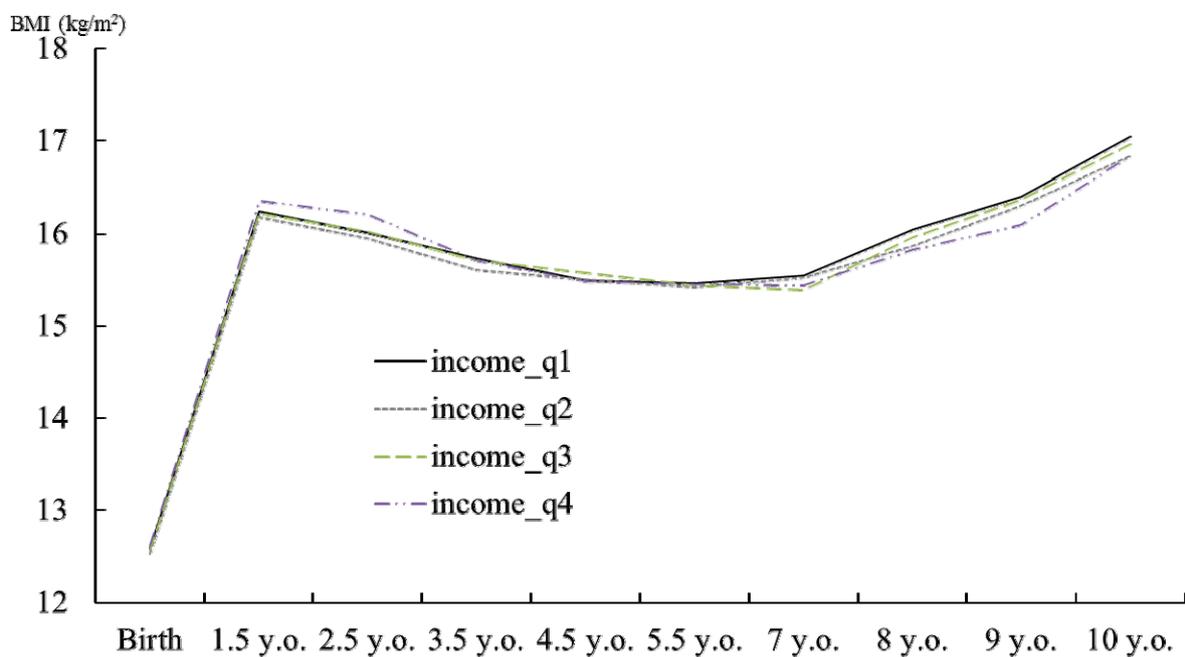


図2: 世帯収入 (女児単胎、母親喫煙者)



胎生期フタル酸ジ-2-エチルヘキシル曝露による低栄養と生活習慣病および脳への影響

○林由美¹、伊藤由起²、内藤久雄³、近藤高明¹、上島通浩²、那須民江⁴

¹名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻病態解析学講座、²名古屋市立大学大学院医学研究科・社会医学講座環境保健学分野³、名古屋大学大学院医学系研究科・環境労働衛生学、⁴中部大学・生命健康科学部

【はじめに】胎生期低栄養と成長後の生活習慣病リスクとの関連について注目が集まるようになってきた。これまでに動物実験や疫学調査が行われてきたが、そのほとんどが飢餓や摂食制限による低栄養状態である。しかし、我々は妊娠期化学物質曝露によっても母親の低栄養状態を引き起こすことを明らかにした。プラスチック可塑剤として広く用いられているフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)は生殖・発達毒性が知られている化学物質であるが、その毒性メカニズムの詳細は不明である。我々は、妊娠期 DEHP 曝露が胎仔・新生仔マウスの生存数を減少させ、母マウスの血漿中トリグリセライドリノール酸およびリノレン酸濃度を有意に減少させることを明らかにした。これら脂質は妊娠期の重要な栄養であることから、妊娠期 DEHP 曝露は母親の低栄養を引き起こし、胎仔・新生仔の成長に影響を与えることが示唆された。

【目的】胎生期 DEHP 曝露による低栄養状態が成長後の仔マウスにどのような影響を与えるのかを生活習慣病、特に摂食行動と脳への影響を中心に明らかにすることを目的とした。

【方法】12 週齢雌雄の 129/sv 野生型、DEHP 代謝物がリガンドとなるペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体 PPAR α ノックアウト (Ppar α -null)、種差について検討するため、ヒト型 PPAR α を持つヒト型 PPAR α マウスを用いた。DEHP を 0, 0.01, 0.05 および 0.1% 餌に混ぜ自由摂取させた。4 週間後、同遺伝子・同曝露量のマウスを交配し、離乳するまで曝露を続けた。生後 3 週で一部の仔マウスを解剖し、血液を採取した。残りの仔マウスのうち、DEHP 0 および 0.05% 曝露群の仔マウスを 3 週齢で離乳し、通常食または高脂肪食を 8 週間自由摂取させた後解剖した (11 週齢)。離乳後から 11 週齢まで摂餌量および体重を計測した。3 週齢および 11 週齢マウスの血漿中レプチン濃度はキットを用いて測定した。脳視床下部および海馬における摂食調節因子の測定は定量リアルタイム PCR にて測定した。

【結果】胎生期 DEHP 曝露は、体重に有意な変化を与えなかったが、野生型およびヒト型 PPAR α マウスの摂餌量を増加させた。摂食行動に影響を与える因子として、血漿中レプチン濃度を測定したところ、野生型の新生仔 0.05% および 0.1% 曝露群、3 週齢 0.05% 曝露群で有意な減少が見られた。11 週齢マウスでは高脂肪食群 Ppar α -null マウスで DEHP 曝露により減少していたが、この群では摂餌量に変化は見られていなかった。摂食調節因子である視床下部の Neuropeptide Y (NPY) および proopiomelanocortin (POMC) の遺伝子発現量は、すべての遺伝子型において通常食群に比べ高脂肪食群で NPY 発現量の減少が見られ、通常食群のヒト型 PPAR α マウスで DEHP 曝露により減少した。POMC は DEHP 曝露および高脂肪食による影響は見られなかった。記憶・学習に関わる因子を測定したところ、NR2A/NR2B 発現量が通常食 Ppar α -null およびヒト型 PPAR α で増加傾向を示した。また、すべての遺伝子型において通常食に比べ、高脂肪食群で高値を示した。

【考察】胎生期 DEHP 曝露による低栄養状態は離乳期から成熟期にかけての摂食行動を亢進させ、それには新生仔期・離乳期のレプチン濃度が関与している可能性が考えられる。また、Ppar α -null マウスでは影響が見られなかったことから、Ppar α を介していると考えられるが、ヒト型 PPAR α マウスではレプチンに影響が見られず、他の経路があるのかもしれない。NR2A に比べ NR2B は記憶・学習機能を高めると考えられており、NR2A の相対的な増加は記憶・学習機能低下を引き起こす可能性が考えられる。

マウス新生児におけるダイアジノン曝露が成獣の学習能力に及ぼす影響

○Tin-Tin Win-Shwe¹、中島大介²、藤巻秀和²、新田裕史¹

¹ 国立環境研究所 環境健康研究センター、² 国立環境研究所 環境リスク研究センター

【背景および目的】 脳発達期における環境汚染物質の曝露は、子供や次世代の健康において重要な危険因子となる可能性があると考えられている。そのため、幼少期の化学物質曝露による学習能力の変化や、脳内のさまざまな領域における神経科学的变化のメカニズムの解明は重要な課題である。幼少期曝露の影響が懸念される物質のひとつに、ダイアジノンが挙げられる。ダイアジノンは有機リン系殺虫剤の1つであり、日本では現在も農産業ばかりでなく家庭園芸や屋内の害虫駆除などに使用されている。したがって呼吸、食物摂取、皮膚接触やマウシング等の経路を通じて新生児が曝露を受ける可能性が充分にある物質である。しかしながら、ダイアジノンの若年期曝露による脳内の神経化学的变化や神経活動、及びその作用機序については未だ解明されていないのが現状である。本研究では、ダイアジノンの新生児期曝露が、成獣マウスの学習行動と海馬における記憶関連遺伝子発現に及ぼす影響を検討することを目的とした。

【方 法】 実験動物として妊娠 14-15 日の C3H/HeN マウスを日本チャールスリバー(株)より購入し、仔マウスに対し出生後 8 日目から 4 日間 (PND8- 11) 連続で、0、0.5 及び 5 mg/kg のダイアジノンを皮下投与した。ダイアジノン (和光純薬工業株式会社、大阪) は、0.01% DSMO 生理食塩液に溶解したものを種々の濃度に調整し 10 µl 投与し、コントロールマウスには溶媒のみを投与した。新奇オブジェクト認知テストは、7 週齢時 (PND49) あるいは 12 週齢時 (PND84) のマウスを用いて、2 日間連続して 1 日 15 分間行う habituation phase、1 日 10 分間の training phase、1 日 5 分間の test phase を合わせて 4 日間 (PND 46~49 と PND81~84) 行った。新奇オブジェクト認知テスト終了後、PND50 および 85 のマウスから麻酔下で海馬を採取し、ニューロトロフィンと記憶関連遺伝子発現解析を real-time RT-PCR 法を用いて行った。さらに、脳内免疫担当細胞であるミクログリアの活性化も免疫組織学的法により調べた。

【成 績】 新奇オブジェクト認知テストの結果、ダイアジノン投与マウスは PND49 および PND84 いずれにおいても新奇オブジェクトの識別が困難であることが認められた。学習行動テスト終了 24 時間後に測定した体重、脳、肝臓、肺、腎臓及び脾臓重量は、PND50 及び PND85 のいずれにおいても対照群と投与群の間における差は認められなかった。ダイアジノン投与による神経毒性メカニズムを調べる目的で、海馬における N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体、転写因子及び神経栄養因子等の遺伝子発現を測定した。その結果、NMDA 受容体サブユニットである NR1 と NR2B、calcium/calmodulin プロテインキナーゼに関係する(CaMK)-IV、cyclic AMP 応答蛋白結合転写因子 (CREB)-1 の mRNA 発現はそれぞれ PND50 マウスにおいて減少した。しかしながら、PND85 マウスにおいては有意な変化は見られなかった。また、PND 50 および 85 のいずれにおいても、神経栄養因子 mRNA 発現の有意な減少が認められた。しかし、海馬におけるミクログリアの活性化においては、対照群と投与群の間に差は見られなかった。

【考 察】 出生後の PND 8-11 のダイアジノン投与は、その後の成長期の脳機能に影響を生じることが明らかとなった。その影響は海馬における記憶と関連する NMDA 受容体や神経栄養因子等を介して学習能力に攪乱作用を誘導することが考えられる。一方、記憶に関連する NMDA 受容体のリガンドであるグルタミン酸がかかわる経路への影響が、記憶・学習能力への影響に関与していると考えられる。さらに、グルタミン酸代謝の異常活性化を介して、神経損傷を引き起こしながら学習能力に影響することが推察される。本研究の結果からダイアジノンの出生 1-2 週目の時期の投与は、脳・神経系発達においては臨界期に当る可能性がある。この時期における有機リン系殺虫剤であるダイアジノン投与は、海馬において遺伝子変動を誘導し、海馬依存的なオブジェクト認知能力に影響する可能性が考えられた。

妊娠中のコレステロール値と出生児の成長後の動脈硬化との関係を調べるための 妊婦の現状報告

○関 純枝¹、戸高恵美子¹、中岡宏子¹、渡邊応宏¹、森千里^{1,2}
¹千葉大学予防医学センター、²千葉大学大学院医学研究院

【はじめに】

環境省では、2011 年より大規模かつ長期のコホート調査「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」を開始している。このエコチル調査は調査地区に居住する妊婦をリクルートの対象者として、調査に参加した母親、父親の血液や尿などの生体試料を採取・分析するとともに、出生した子どもが 13 歳に達するまで、質問票による追跡調査を行い、子どもの健康に影響を与える環境要因を明らかにすることを目的としている。

妊娠が成立し、胎児と胎児付属物が順調に発育していくためには、各栄養素などは必要不可欠であり、また、妊婦は種々の理由から、生理的に血清中性脂肪値やコレステロール値が高値になるといわれている。非妊娠時のコレステロール値などの脂質値は、動脈硬化性疾患の危険因子としてモニタリングされ基準値が示されているが、妊娠時の脂質値は上昇することが明らかになっているものの、いまのところ定期的な計測はされておらず、その平均値や上昇値がどれくらいになるかなどのデータや正常範囲などの基準値はみあたらない。しかし、妊娠中の高コレステロール値は早産との関連(Catov et al. 2007) や妊娠糖尿病との関連(Gonzalez-Clemente et al. 2007) が報告され、また子どもの動脈アテローム硬化症を促進するのではないかと推測(Bartelset al. 2012)されている。このように子宮内の様々な要因が成人の健康に影響を与える(Bartels and O'Donoghue 2011)ということが推察されるため、妊娠中の母親のコレステロール値などを測定、現状を把握し、その影響を調査することが必要となっている。

【目的】

妊娠中のコレステロール値が出生児の成長後の健康にどのような影響を及ぼすのかを調査するための第一段階として、妊婦の妊娠前期、中期および入院分娩時の脂質関連値とその上昇値がどれくらいなのか、現状を明らかにすることを目的とする。

【方法】

2011 年 2 月から 2012 年 12 月までエコチル調査の千葉地域においてリクルートした妊婦のうち、正期産で出産し、かつ出生した児の体重が正規体重(2500g 以上)であった 968 名を対象とした。また同時期にリクルートした父親 1939 名の調査も行った。エコチル調査ではまず全員からインフォームドコンセントを取得したのち、妊婦は前期(妊娠 12 週～16 週)、中期(妊娠 22 週～28 週)、入院分娩時の 3 回、父親については 1 回の採血等の生体試料採取をし、さらに身長、体重、出産回数、食事などに関する質問票調査を行った。それぞれの時期の生体試料から血中の脂質関連値を測定した。

【結果】

対象とした妊婦の平均年齢は 30.6 歳(16 歳～43 歳) そのうち初産は 379 人、経産は 585 人(不明 4 人)であった。また父親の平均年齢は 32.6 歳(20 歳～49 歳)であった。血中脂質については妊婦の妊娠前期、中期、入院分娩時の総コレステロール値の平均値はそれぞれ 207.2、255.3、264.2 mg/dL で、中期以降では平均値が非妊娠時の基準値(150～219 mg/dL)より高値であり、妊娠前期、中期、入院分娩時に進むにつれて有意に上昇($p < 0.01$)がみられた(図 1)。また、中期では 14%にあたる 134 人が 300mg/dL 以上の高値だった。妊娠前期の時点で総コレステロール値と BMI(25 以上と以下)について有意差($p = 0.65$)は見られなかった。初産と経産では総コレステロール値の

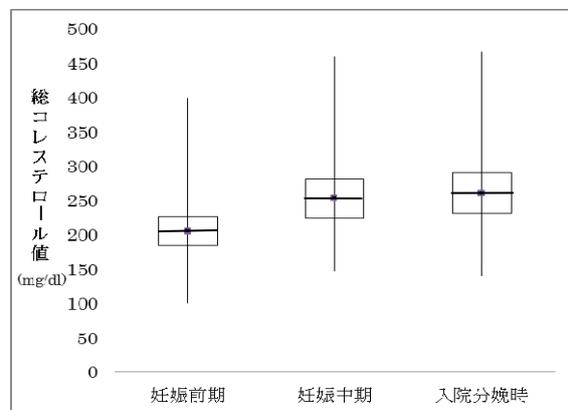


図 1 妊娠初期、中期、入院分娩時における妊婦の総コレステロール値

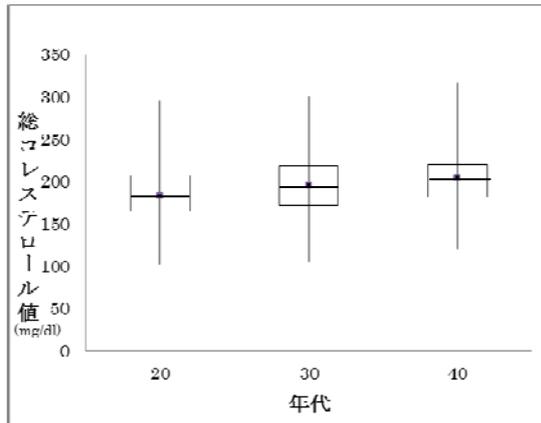


図2 父親の年代別総コレステロール値

平均値は初産で 208.6(前期)、259.0(中期)、261.7mg/dL(入院分娩時)、経産で 206.4(前期)、252.9(中期)、265.6 mg/dL(入院分娩時)で、いずれの時期においても両者に有意差はなかった。父親については総コレステロール値の平均値は 195.0 mg/dL で年齢が進むにつれて有意に高くなった。(p < 0.01)(図2)。年代別では20歳代で17%、30歳代で24%、40歳代で28%が基準値を超えていた。

【考察】

非妊娠時の成人の血中脂質異常は、動脈硬化性疾患の危険因子の一つであることから基準値が設けられ、特に40歳代以降では定期的な計測と予防が推奨されている。一方、妊婦の血中脂質については

一般に妊娠の経過に伴い増加し、脂質の動態は大きく変化するとされている。これは母体と胎児発育のために必要な変化と考えられているため、脂質値の定期的な計測や調査はされておらず、妊娠時のコレステロール値の基準値も設けられていない。また、妊娠時の高脂質値が母体の生涯に渡り、あるいは出生児の成長後において動脈硬化性変化を促進、増加するかの疫学的調査はされておらず、妊娠の継続や母体の救命に不可欠な治療を除いて、妊娠中は高脂血に対する治療はされないのが現状である。しかし妊娠中の高脂質値が妊娠の継続に何らかの影響を与えたり、出生児の成長後の動脈硬化を促進するのではないかと推測される報告(Bartelset al. 2012)もあり、今後、慎重に調査を進めていく必要があると思われる。

本研究は、その第一段階として、妊婦の血中脂質値の現状を調査したものである。本調査において妊婦は、妊娠前期から総コレステロール値が高い傾向にあり、前期では31%、中期では79%が非妊娠時の基準値以上であり、妊娠が進むにつれ有意に上昇していた。また、中期においては医療的介入が必要とされる300mg/dL以上の妊婦が14%みられたが、現在のところ、何も対策は取られてはいない。妊婦の心血管疾患を予防するためにも、今後、妊婦の定期的な脂質値の測定と何らかの予防的対策が望まれる。

ノルウェーのCARRDIP(妊娠中における心血管疾患低減食)調査では、妊娠中の低コレステロール食が母親のLDLコレステロール値に良い影響を与えているという報告(Khoury et al. 2007)があり、食事指導などで脂質値が改善される可能性がある。日本においては、自治体あるいは医療機関において妊娠中に数度「母親学級」が開かれ妊娠中の生活や食事について指導が行われる場合が多い。このような機会に妊婦の脂質値の現状を報告して脂質値を下げる食事についての指導を行うなどの対策をとることも必要ではないだろうか。

また、参考までに、父親の総コレステロール値も調査したが、血中脂質値の測定をされることが少ない20代、30代の男性も基準値以上の人が17%から24%程度いたことから、若い男性の脂質値についても定期的な測定や高値の人に対して対策をとる必要がある。上記の母親学級では、母親、父親での参加も多くみられるため、このような機会を活用することも有用であると思われる。

【結論】

妊婦の総コレステロール値は全般に高値で、妊娠が進むにつれて上昇していき、また妊娠中期以降は非妊娠時の基準値を超える割合が多いことが明らかとなった。今後、妊娠時の血中脂質値を定期的に測定して高い値の人には何らかの予防的対策をとること、および上記の結果が母親の生涯にわたって、もしくは出生児の成長後にどのような影響を及ぼすかの調査を慎重に進めることが必要である。また父親についても、脂質値を測定することが少ない20代、30代の年代の人の中にも基準値以上の高値の人が20%前後いることがわかったため、定期的な測定と予防的対策が取ることが望まれる。

【謝辞】

エコチル調査を進めるに当たり、多大なご協力とご支援をいただいている調査参加者の皆様、関係者の皆様に心より感謝申し上げます。

乳児期のたんぱく質分解物ミルク使用の影響 - 成長後の味感受性への影響

○木ノ内俊、井川愛、加藤裕美
(株) 明治 食機能科学研究所

目的

味覚形成が始まる乳児期にアミノ酸味の強い乳児用ミルクを使用することが成長後の味覚にどのように影響し得るか、ラット人工哺育技術を利用して評価した。

普通の乳児用ミルクが飲めないミルクアレルギー児のための牛乳たんぱく質分解物ミルクが市販されている。近年は、アレルギー回避を期待して牛乳たんぱく質分解物ミルクを健常児に使用するケースも増えている。これらの分解物ミルクのうち、特にカゼイン分解物(アミノ酸 60-80%が遊離型)を使用したミルクは、苦みやアミノ酸味、独特の臭いが強い。最近、「分解物ミルクで哺育された児は、5-10 歳における味覚または味嗜好が通常と異なる」という指摘があることから、ラットを用いて分解物ミルクでの哺育の影響について検討した。

方法

市販の通常の乳児用ミルク、ホエイ分解物ミルク、カゼイン分解物ミルクを人工ニップル哺乳器を使用して昼間に 4 回哺乳し、夜間は胃カテーテルを通してラット用ミルクを投与することで仔ラットを人工哺育した(9-20 日齢)。また、人工ニップル式ラット自発的哺乳装置(壁型)を用い、仔ラットをカゼイン分解物ミルクで人工哺育した(10-20 日齢)。人工哺育または母獣哺育したラットを 20 日齢で離乳させ、通常の固形食で飼育した。7、10 週齢時に 0.5%ロイシン溶液および 0.06%グルタミン酸溶液の嗜好性を水との二瓶選択法により評価した。

成績

7 週齢において、母獣哺育群、通常ミルク群、ホエイ分解物ミルク群は、水よりロイシン溶液およびグルタミン酸溶液を選択した率が高かったが、カゼイン分解物ミルクで哺育した群(哺乳器群、哺乳装置群とも)はアミノ酸溶液の選択率が有意に低く、50%に近かった。10 週齢では、群間の差は見られなくなった。なお、人工哺育期間中の哺乳量や全試験期間中の体重増加に群間の差は見られなかった。

考察

乳児期にアミノ酸味の強い乳児用ミルクを継続的に使用すると、アミノ酸の味に対する感受性もしくは嗜好性が変化する、離乳後も一定期間その状態が持続することが示唆された。また、乳児期に摂取する食品の風味が成長後の味覚に及ぼす影響を検証するのに人工ニップル哺乳器および人工ニップル式ラット自発的哺乳装置を用いた人工哺育系が有用である可能性が示された。

日本人乳児の発育哺乳量調査 ～人工栄養児の哺乳実態と発育～

○鈴木 美記子、木ノ内 俊、菅野 貴浩、神野 慎治、金子 哲夫
(株)明治 食機能科学研究所

【目的】

日本人乳児の発育哺乳量調査を実施し、人工栄養児の哺乳の量や回数の実態を把握するとともに、ミルクの栄養組成が哺乳に及ぼす影響について評価する。また、人工栄養児と母乳栄養児の発育を比較評価する。さらに、欧州での大規模疫学調査を通して提唱されている「人工栄養児はたんぱく質の摂取量が多いために乳児期の体重増加が大きく、そのことが小児期以降の肥満の原因となる」という仮説との比較検証を行う。

【方法】

出生体重 2,500g 以上で出生し、先天異常や感染症などを認めない生後 6 ヶ月までの乳児 33,642 名を対象に、前日の栄養方法*や哺乳量、ならびに発育状況などについて、保護者より聞き取り調査を実施した(2006 年 10 月～2007 年 9 月)。得られたデータを泌乳期および栄養法で分類し、人工栄養児については哺乳量や哺乳回数について分布や推移を詳細に解析した。また、ミルクの栄養組成が哺乳に及ぼす影響を調べるため、今回調査に使用した人工乳 A の哺乳実態と過去の調査に使用した人工乳 A' および人工乳 A'' (人工乳 A と同一銘柄でエネルギーやたんぱく質含量が異なる)の哺乳実態を比較検証した。

表 1. 人工乳 A、人工乳 A'、人工乳 A'' のエネルギーおよびたんぱく質含量

	エネルギー (kcal/100ml)	たんぱく質 (g/100kcal)
人工乳 A	68	2.30
人工乳 A'	70	2.30
人工乳 A''	70	2.40

統計解析には分散分析または χ^2 検定を用い、多重比較検定には Scheffe 法を用いた(有意水準 5%)。

* 調査前日の哺乳が全て母乳であった児を母乳栄養児、同様に全て人工乳であった乳児を人工栄養児、それ以外を混合栄養児と定義した。

【成績】

人工栄養児の哺乳実態

月齢を追うにつれて人工栄養児の 1 日あたりの平均哺乳量は緩やかに増加し、平均哺乳回数は減少することが明らかになった。これは、1 回あたりの哺乳量が増加することを意味する。しかしながら、同じ泌乳期の乳児でも 1 日あたりの哺乳回数や哺乳量には大きな個人差が存在した。さらに、同一乳児においても哺乳量は 1 日を通して一定でなく、哺乳毎に異なるケースのほうが多かった。

ミルクの栄養組成と哺乳

エネルギー濃度の低い人工乳 A の体重あたりの哺乳量はエネルギー濃度の高い人工乳 A' や人工乳 A'' と比較して有意に多かった。一方、エネルギー摂取量は人工乳 A、人工乳 A'、ならびに人工乳 A'' でいずれも有意な差を認めなかった。また、たんぱく質濃度の高い人工乳 A'' を摂取した場合のたんぱく質摂取量はたんぱく質濃度の低い人工乳 A や人工乳 A' を使用した場合と比較して多かった。

人工栄養児と母乳栄養児の発育の比較

今回調査した 6 ヶ月齢までの日本人乳児 33,642 名において、人工栄養児と母乳栄養児の間でいずれの泌乳期においても体重および身長は極めて近似しており、有意な差を認めなかった。

【考察】

乳児の哺乳には少なからず個人差が存在するものの、必要なエネルギー摂取量に応じて哺乳量を調節する能力を有することが示唆された。この能力があるため、たんぱく質などの栄養素摂取量はミルクの容量あたりの濃度ではなくエネルギーあたりの濃度に依存することが推察される。また、人工栄養児の体重および身長は母乳栄養児と有意な差を認めなかったことから、日本人乳児の人工栄養児の発育は母乳栄養児とほぼ同等で良好であり、人工栄養や人工乳中のたんぱく質含量が肥満のリスクとなっている可能性は極めて低いと考えられる。

以上

非肥満妊婦に対する食生活指導の効果についての検討

○田尻下怜子^{1,2}、瀧本秀美³、猿倉薫子³、角倉知子³、鈴木洋子³、
横山徹爾⁴、松原舞²、仁平光彦²、金子均²、久保田俊郎¹

1 東京医科歯科大学生殖機能協同学、² 日産厚生会玉川病院産婦人科、
³ 国立健康・栄養研究所、⁴ 国立保健医療科学院

【目的】

妊娠期の低栄養により胎児発育抑制は児の成人後の肥満・循環器疾患・2型糖尿病などの生活習慣病の発症リスクを高め可能性があることが先行研究より指摘されている。日本では「やせ」妊婦が多く、低出生体重児割合も増加傾向であることから、妊娠前～妊娠期を通じて低栄養のリスクがあることが推察される。

そこで、妊娠前の体格別に体重増加量をモニタリングしながら、栄養・食生活介入を行い、妊娠転帰への影響を検証する目的で介入研究を開始した。現在も研究を継続しているが、2013年3月までに分娩した者のうち、妊娠前の体格が非肥満である128名に対する介入の効果について検討した。

【方法】

妊娠20週から30週までを当院で健診を受ける妊婦を対象に、2006年に厚生労働省より発表された「妊産婦のための食生活指針」の中の「至適体重増加チャート」を用いて(図①)、助産師より保健指導および、28週前後で体重増加量が過少または過剰な者に対して、栄養士より個別の食事内容聞き取り調査および「妊産婦のための食事バランスガイド」を用いた食生活指導(図②)を行った。

2012年7月に登録を開始し、対象者の分娩は2012年11月より開始、2013年3月までに134名に至った。このうち、妊娠前に「やせ」および「普通」であった128名(介入群)の妊娠中の体重増加量や児の出生体重などの妊娠転帰を、2010年の同時期に分娩し、28週頃の体重増加量が診療録より明らかな非肥満者(コントロール群;127名)の分娩データと比較した。また、栄養士による食生活指導の効果を検証した。

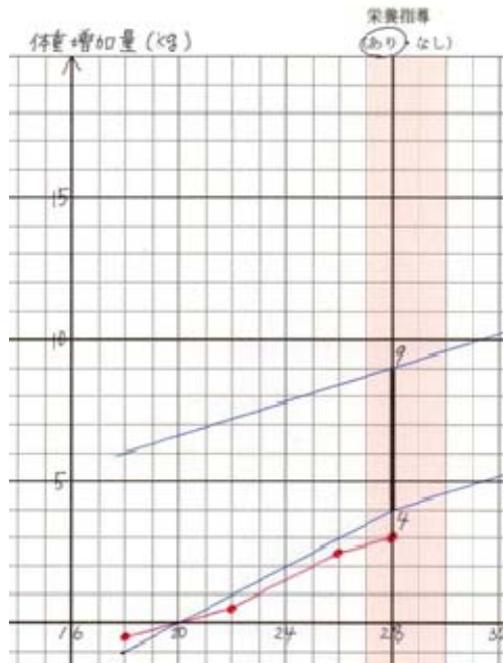
【成績】

母親の平均年齢は介入群(以下、I)33.1±3.9歳、コントロール群(以下、C)32.9±4.5歳、初経割合 I; 51.6%、C; 59.1%、妊娠前の平均BMI; 19.7±1.9、C; 19.8±1.9、やせ割合 I; 32.0%、C; 22.8%、平均体重増加量 I; 10.6±2.4kg、C; 10.5±3.0kg、帝王切開率 I; 14.8%、C; 16.5%、児の平均出生体重 I; 3026±342g、C; 3039±364g、低出生体重児割合 I; 5.5%、C; 3.9%、巨大児は両群とも0であった。両群間でいずれも有意差はなかった。合併症については妊娠高血圧症候群が両群とも2名、妊娠糖尿病については介入群で6名いたが、2010年とスクリーニング法および診断基準が変更されているため、比較は不可能であった。

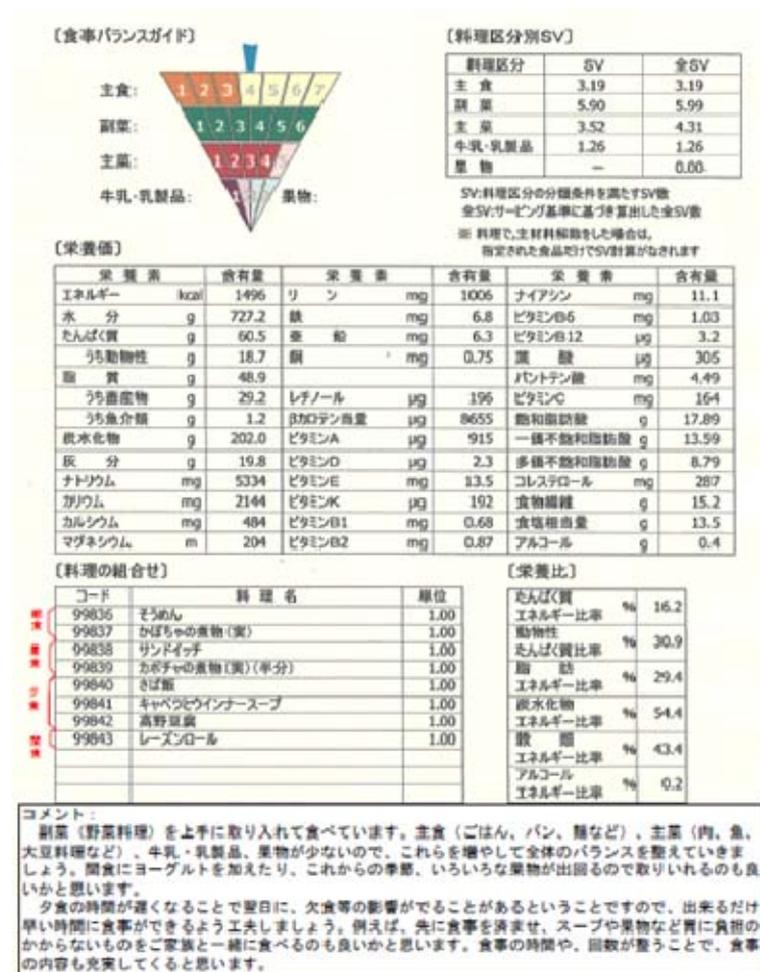
介入群において栄養士による食生活指導を受けた者は、過少(以下、28-under)20名、過剰(以下、28-over)18名であった。これをコントロール群においても28週頃の体重増加量を同様の基準にあてはめて比較検討した。28-under (I; 20名、C; 23名)のうち、最終的に過少な者(以下、total-under)は I; 9名、C; 14名であった。このうち、妊娠前に「やせ」であった者は、介入群では28-under 9名中、6名がtotal-underであったが、コントロール群では28-underであった5名全員がtotal-underであった。28-over (I; 18名、C; 18名)については、ほとんどが(I; 16名、C; 15名)最終的に過剰であった。

【考察】

対象者が少ないため、いずれも有意な差は認めなかった。しかし、28-under に対する食生活指導については効果が期待できると思われた。今後さらにデータを蓄積し、検証していきたい。



図①: 体重増加チャート



図②: 食生活指導

低出生体重児を主体とした学校検尿におけるハイリスクアプローチ導入の必要性

○平野大志¹、西崎直人²、櫻谷浩志³、宿谷明紀¹、井田博幸¹

¹東京慈恵会医科大学小児科学講座、²順天堂大学医学部附属静岡病院新生児センター、

³順天堂大学小児科

【目的】

我が国は先進国の中で平均出生体重が過去 25 年間で減少している唯一の国であり、出生数に対する低出生体重児の割合も約 10%と年々増加している。近年、胎内環境を予想するマーカーである出生体重が低いほど、慢性疾患の発症リスクが高くなることが示唆されている。実際、2,500 g 未満の低出生体重 (LBW) で出生した児が後に慢性腎臓病 (CKD) に罹患するリスクは正常体重児の約 1.7 倍であるという結果が欧米における大規模な疫学研究より報告されているが、現行の学校検尿システムでは早期に発見することが困難である。今回我々は、初期には見逃され、結果として早産低出生体重に伴うネフロンロスによる二次性巣状糸球体硬化症 (FSGS) と診断した三例を経験したため、今後の学校検尿のあり方も含めて考察する。

【症例 1】

14 歳男児。在胎 27 週 0 日、686g で出生。14 歳時に学校検尿で蛋白尿を指摘。身長 149.5cm、体重 38.8kg、血圧 99/59mmHg。低比重尿、尿中蛋白クレアチニン比 (uP/uCr)=0.89、腎機能障害 (BUN 24mg/dl、Cre 0.90mg/dl、u-β₂MG 5685 μg/l) を認めた。

【症例 2】

18 歳男児。28 週 2 日、728g で出生。14 歳時に学校検尿で蛋白尿を指摘。身長 158.6cm、体重 66.9kg、血圧 140/71mmHg。蛋白尿(3+)、uP/uCr=1.01、腎機能障害 (BUN 13mg/dl、Cre 0.89mg/dl、u-β₂MG 116 μg/l) を認めた。

【症例 3】

13 歳女児。23 週 5 日、630g で出生。13 歳時に学校検尿で初めて蛋白尿を指摘。身長 142.9cm、体重 38.4kg、血圧 110/70mmHg。低比重尿、蛋白尿(3+)、uP/uCr=1.10、腎機能障害 (BUN 12mg/dl、Cre 0.9mg/dl、u-β₂MG 818 μg/l) を認めた。

【結果及び考察】

3 症例ともに超低出生体重児として出生。いずれも幼少期には尿濃縮力障害に起因する低比重尿のため試験紙法による尿蛋白定性検査での異常の指摘はなく、思春期になって腎機能障害を伴ってから初めて学校検尿にて蛋白尿を指摘されたと考えられた。また、3 例とも後に行った腎生検では、いずれも糸球体サイズの大型化と硬化像が観察され早産低出生体重に起因した hyperfiltration の存在が強く示唆された。

【結語】

現行の学校検尿システムはポピュレーションアプローチであり、無症状で経過している慢性糸球体腎炎を数多く発見し、その予後改善に貢献してきた。しかし、同時に尿濃縮力障害を来すような低・異形成腎の早期発見は困難とされてきた。従って、現行のシステムに加えて低出生体重児をハイリスク群とし、彼らには u-BMG、血清シスタチン C を測定するなどのハイリスクアプローチを行うことが、将来の透析を回避、あるいは遅らせることにつながるのではないかとと思われる。

胎児の発育及び新生児の体格に影響を及ぼす胎児の遺伝要因

○江藤亜紀子¹、荒木敦子²、三井貴彦³、岸玲子²、野々村克也³、金谷泰宏¹、佐田文宏¹
¹国立保健医療科学院、²北海道大学環境健康科学研究教育センター、³北海道大学大学院医学研究科

【はじめに】

従来、ステロイド代謝酵素、受容体や性ホルモン結合グロブリン (SHBG) の遺伝子多型が、性ホルモン濃度と関連があることが報告されてきた。また、このような遺伝子多型は、新生児の体格と関連があることも報告されていた。近年、ゲノムワイド関連研究 (GWAS) により、テストステロン、エストラジオール及び性ホルモン結合グロブリン (SHBG) 濃度に影響を及ぼすこれまでに知られていなかった多くの遺伝子座が報告された。

本研究は、GWAS で報告されたテストステロン、エストラジオール及び性ホルモン結合グロブリン (SHBG) 濃度に影響を及ぼす遺伝子座が新生児の体格に及ぼす影響を明らかにすることを目的に実施した。

【方法】

北海道札幌市で実施されている北海道スタディの小規模コホート研究の参加者のうち、臍帯血が保存されている 228 組の母児を対象とした。北海道スタディで得られた臍帯血より QIAamp DNA Blood Mini kit (Qiagen) を用いてゲノム DNA を抽出した。これらのゲノム DNA 上の多型を解析するため、まず、異物・ステロイド代謝酵素遺伝子等の一塩基多型 (SNP) に着目した。使用するテンプレート量を少なくし、ハイスループットで効率的な解析を行うため、ジェノタイピングには、BioMark (Fluidigm 社) を用い、Fluidigm 48.48 Dynamic Array biochip (Fluidigm 社) 上で行った¹⁷。BioMark はリアルタイム PCR 機の 1 種であり、集積流体回路とナノバブルで構成されたバイオチップを反応チャンバーとして用いることにより、ナノリットルスケールでの遺伝子解析を可能にするシステムである。解析する多型は、最近のゲノムワイド関連研究 (GWAS) の結果等から、テストステロン、エストラジオールおよび性ホルモン結合グロブリン (SHBG) との関連が報告されたもののうち、日本人における出現頻度等を SNP データベースで検索、確認の上、46SNP を選択した。SNPtype アッセイ法でタイピングを行うため、着目した SNP に対し、多型を識別するプライマーを合成した。ナノスケールでの解析をより確実に行うために、ジェノタイピングのための PCR 反応に先立ち、ターゲットとする領域を特異的に増幅する STA (Specific Target Amplification) 反応を行った。STA 反応を行ったゲノム DNA は希釈してジェノタイピングのテンプレートとした。ジェノタイピングの結果は、Fluidigm SNP Genotyping Analysis ソフトウェアを用いて解析した。

ジェノタイピングの結果と、子宮内胎児発育遅延 (IUGR: 出生時体重 < 10 パーセンタイル)、低出生体重 (< 2,500g) および早産 (在胎週数 < 37 週) との関連を、母親の出産時年齢、出産歴、妊娠中の喫煙および飲酒歴、児の性別で調整した多重ロジスティック回帰分析により解析した。また、出生時体重、身長、頭囲、胸囲、在胎週数、Body mass index (BMI) および Ponderal Index (PI) との関連を直線回帰モデルにより解析した。

【結果】

解析した46SNPのアリル頻度を表1に示す。IUGRに対するrs402675(3p26.3、*CNTN6-RPL23AP38* 遺伝子間)における胎児TT遺伝子型に対するAA型およびAT型のオッズ比は、各々193.1(95%信頼区間(CI):5.0-7,354.8)および13.9(95%CI:2.9-66.3)であった。また、胎児TT型に対するAA型およびAT型の平均出生体重の低下は、各々673g(標準誤差(SE):221g)および132g(SE:66g)であった。

優性遺伝モデル(例えば、rs402675におけるAA+AT型対TT型)において、rs402675、rs10454142(2p16.3、*FOXN2-PPP1R21* 遺伝子間)およびrs72829446(17p13.1、*SHBG* 遺伝子近傍)の平均BMIの低下は、各々0.7 kg/m²(SE:0.3 kg/m²)、0.6 kg/m²(SE:0.2 kg/m²)および0.5 kg/m²(SE:0.2 kg/m²)であった。また、rs402675、rs10454142およびrs72829446の平均PIの低下は、各々1.8 kg/m³(SE:0.9 kg/m³と)、1.8 kg/m³(SE:0.6 kg/m³)および1.5 kg/m³(SE:0.5 kg/m³)であった(表2)。一方、rs402675およびrs293428(4q13.2、*UGT2B15* 遺伝子近傍)の平均胸囲の低下は、各々0.7 cm(SE:0.3 cm)と0.8 cm(SE:0.2 cm)であった(表)。

【考察】

最近のGWASにより、*CNTN6* 遺伝子の近傍に位置するrs402675は、閉経後の女性の血清エストロジオール濃度と関連があることが報告された(Prescott *et al. PLoS One* 2012)。一方、rs10454142とrs293428は、各々*LHCGR* および *UGT2B15* の遺伝子座に位置し、いずれも血清SHBG濃度と関連があることが報告された(Coviello *et al. PLoS Genet* 2012)。これらのSNPは性ホルモンの調節に関与する複数の遺伝子座の構成要因と考えられている。また、*SHBG* 遺伝子座に位置するrs72829446は男性の血清アンドロゲン濃度と関連があると報告された(Jin *et al. Hum Mol Genet* 2012)。本研究では、血清性ホルモン濃度やSHBG濃度と関連のあるいくつかのSNPは出生時の体格指標と関連があり、胎児の発育に影響を及ぼすことが示唆された。今後、これらのSNPと臍帯血中の性ホルモン濃度との関連を解析し、胎内のホルモン環境、胎児の性腺機能との関連について検討する予定である。

表 出生時体格指標と血清性ホルモン濃度と関連のある一塩基多型との関連†

	出生時体重 (g)		BMI (kg/m ²)		PI (kg/m ³)	
	B	SE	B	SE	B	SE
rs402675	-182**	69	-0.7*	0.3	-1.8*	0.9
rs10454142	-48	50	-0.6**	0.2	-1.8**	0.6
rs72829446	-92	56	-0.5**	0.2	-1.5**	0.5
rs293428	-121*	57	-0.3	0.3	-0.3	0.7

	出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)		出生時胸囲 (cm)	
	B	SE	B	SE	B	SE
rs402675	-0.3	0.4	-0.3	0.2	-0.7*	0.3
rs10454142	0.6	0.3	-0.1	0.2	-0.2	0.2
rs72829446	0.3	0.3	-0.1	0.2	-0.4	0.2
rs293428	-0.3	0.3	-0.5*	0.2	-0.8**	0.2

[注] B: 非標準化係数、SE: 標準誤差、BMI: Body mass index、PI: Ponderal Index

†母親の出産時年齢、出産歴、妊娠中の喫煙および飲酒歴、児の性別で調整した重回帰分析

*P<0.05, **P<0.01

マウス胎生期の糖質栄養制限が出生後のメタボリックシンドローム発症に及ぼす影響

○平井 静、田高 梨子、越野 由希絵、清水 佑宇也、小森 誠、江頭 祐嘉合
 千葉大学大学院 園芸学研究所 応用生命化学領域 食品栄養学研究室

【目的】 近年、胎児期の低栄養状態とメタボリックシンドローム発症との関与が示唆されており、妊娠期における摂取エネルギー制限やタンパク質制限による低栄養状態が、マウスの出生仔において肥満および糖・脂質代謝異常を引き起こすことが報告されている。しかし、このような妊娠期の摂取エネルギーまたは摂取タンパク質量に着目した研究では、特に後者の場合では飼料中のタンパク質を制限する代わりに糖質の含量を増加させた飼料設定となっているため、どのような栄養成分が出生仔におけるメタボリックシンドローム発症に関わるのかは不明であった (Fig.1)。

そこで本研究では、摂取エネルギーの主体である糖質に着目し、マウスの妊娠期における糖質のみの制限による摂取エネルギー制限が出生仔の肥満や糖・脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

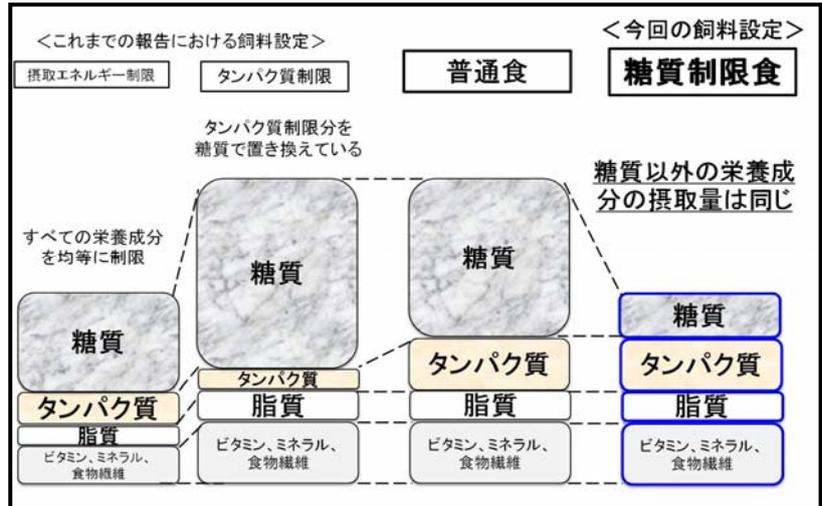


Fig.1 妊娠期低栄養に関するこれまでの研究で用いられてきた飼料設定

【方法】 妊娠 10.5 日目の C57BL/6J 雌マウスを、対照食摂取群 (C 群)、40%kcal 総エネルギー制限食摂取群 (R 群)、40%kcal 糖質制限食摂取群 (CHR 群) に分け、出産まで飼育した (Fig.2)。R 群には C 群が摂取した対照食の 40% 量を給与し、CHR 群には糖質のみの制限による 40%kcal エネルギー制限食 (糖質以外の栄養成分の摂取量は C 群と同等になるように設定) を給与した (Fig.1)。R 群と CHR 群の出生仔は、C 群と同様の栄養環境で出産を経験したマウスに里親として哺育させ、授乳期にはいずれのマウスにも対照食を給与した。8 週齢に達した仔マウスを雌雄別かつ妊娠期の栄養状態別にさらに対照食 (Normal diet; N) 摂取群、60%kcal 高脂肪食 (High fat diet; H) 摂取群に分け、5 ヶ月間飼育を行った (Fig.2)。経口糖負荷試験を行ったのちに解剖をし、各組織重量、糖・脂質代謝関連血中パラメーター、肝臓および脂肪組織における糖・脂質代謝関連遺伝子発現の測定を行った。

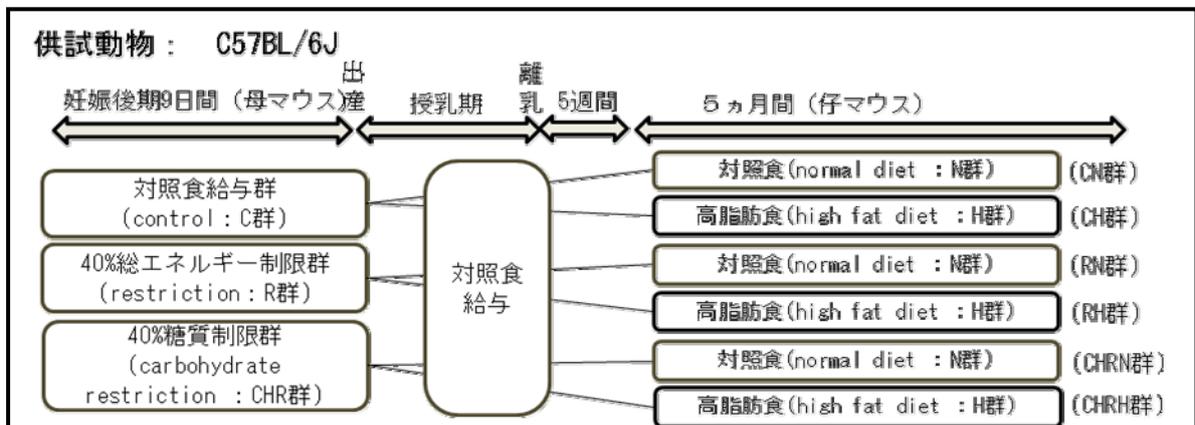


Fig.2 飼育スケジュール

【結果】妊娠後期における総エネルギー制限および糖質制限は、いずれも妊娠中の母獣の体重増加を抑制するとともに、仔マウスの出生時体重を有意に低下させた。しかし R 群および CHR 群のいずれの仔マウスの体重も、出生後数日以内に C 群の仔マウスの体重に追いついた。8 週齢に達した雌の仔マウスに高脂肪食を摂取させたところ、RH 群では体重、肝臓、白色脂肪組織重量が有意に増加したが、CHRH 群は CH 群とほぼ同程度であった。また、糖・脂質代謝関連血中パラメーターおよび経口糖負荷試験においても、同様の傾向が認められた。肝臓における脂質代謝関連遺伝子発現を調べたところ、RH 群では脂肪酸合成関連遺伝子の発現亢進が認められたが、CHRH 群は CH 群と同程度であった。また白色脂肪組織における遺伝子発現を検討したところ、RH 群では leptin mRNA 発現の上昇傾向および adiponectin mRNA 発現の低下傾向が認められたのに対して、CHRH 群では脂肪細胞分化のマスターレギュレーターである PPAR γ mRNA 発現の亢進が認められた。

【考察】本試験の結果より、妊娠後期における総エネルギー制限および糖質制限はいずれも低出生体重仔を増加させ、出生後の catch up growth を誘発することが明らかとなった。このことより、低出生体重および catch up growth は、妊娠期の摂取エネルギー不足によって引き起こされることが示唆された。一方、妊娠後期における総エネルギー制限は、出生仔において高脂肪食誘導性の肥満および糖・脂質代謝異常の増悪化を誘発したが、糖質制限下で出生した仔においてはこのような増悪化は認められなかった。以上のことより、胎生期の低栄養状態および出生後の catch up growth が必ずしもメタボリックシンドロームの増悪化を誘発するわけではなく、妊娠後期の糖質栄養制限はメタボリックシンドロームの発症増加には関与しないことが示された。

日本人成人男女における出生時体重とインスリン抵抗性の関係

○青山友子^{1, 2}、津下一代³、沼田健之⁴、宮武伸行⁵、
宮地元彦¹、田畑泉⁶、坂本静男⁷、曹振波⁷、樋口満⁷

¹国立健康・栄養研究所、²日本学術振興会特別研究員、³あいち健康の森健康科学総合センター、
⁴岡山県南部健康づくりセンター、⁵香川大学、⁶立命館大学、⁷早稲田大学

【目的】胎児期の栄養状態の間接的な指標とされる出生時体重(Birth weight: BW)が軽いヒトでは、成人期にインスリン抵抗性が高く、生活習慣病やメタボリックシンドロームを発症しやすいとの報告が地域や人種を超えて多数なされている。しかし、日本人を対象にBWとインスリン抵抗性との関係を調査した研究は数が少なく(Anazawa et al. 2003)、特に成人期以降の女性を対象とした報告はこれまでみられない。したがって、日本人成人の BW とインスリン抵抗性の関係に性差があるかも不明である。そこで本研究では、日本人成人男女を対象として、1)BWとインスリン抵抗性との関係を性別ごとに検討すること、2)BWとインスリン抵抗性との関係における性差を明らかにすることを目的とした。

【方法】本研究は、2007年～2010年にかけて国立健康・栄養研究所、あいち健康の森健康科学総合センター、岡山県南部健康づくりセンター、および早稲田大学において実施された「健康づくりのための運動基準・エクササイズガイド改訂に関する研究」に参加した日本人のデータベースを利用した。データベースから抽出された1943年以降に出生した20歳以上の男女968名に対して、BWを調査する質問紙を郵送した。質問紙は、母子健康手帳(妊産婦手帳・母子手帳)のBWの記録を転記してもらった形式としたが、母子健康手帳を紛失した場合でも、母親または本人がBWを明確に記憶している場合は回答を依頼した。有効回答が得られた379名(男性137名、女性242名)を分析対象として、データベースに保管されている対象者の身体計測指標、血圧、血液生化学検査指標、全身持久力(最大酸素摂取量)、喫煙習慣(1日あたりの喫煙本数)の値を本研究に二次利用した。血糖とインスリンの値から算出されるHOMA-IR(homeostasis model assessment of insulin resistance)をインスリン抵抗性の指標として用いた。なお、対象者のうち、母子健康手帳の記録に基づいたBWを提供した者は213名、低出生体重児(BW<2.5 kg)は21名、巨大児(BW \geq 4.0 kg)は14名であった。

【成績】対象者の年齢およびBWの平均値に男女差は認められなかった(Table 1)。年齢を共変量とした偏相関分析の結果、BWとHOMA-IRとの間に女性では弱い負の相関関係が認められたが($r=-0.16$, $p=0.015$)、男性では有意な相関関係は認められなかった($r=-0.13$, $p=0.139$)。重回帰分析を用いて、年齢、研究実施場所、平均血圧、血中脂質(TGおよびHDL-C)、喫煙習慣で調整を行ったところ、男女ともにBWは現在の肥満度(BMIまたは腹囲)や全身持久力とは独立したHOMA-IRの予測要因として認められた(Table 2)。また、BWのHOMA-IRに対する影響度を表す標準化係数(β)は、わずかではあるが女性より男性の方が大きい値を示した。これらの関係は、肥満の指標として独立変数にBMIを用いても(BMI Model)、腹囲を用いても(AC Model)、同様であった。

【考察】日本人成人を対象とした本研究において、男女ともにBWは、現在の肥満度や体力レベルなどの生活習慣を反映する指標とは独立したHOMA-IRの予測要因であることが示された。この結果から、我が国の成人期以降の女性においても、低出生体重がインスリン抵抗性の増大に関与している可能性が推察された。また、BWとインスリン抵抗性の関係は、女性より男性において強い可能性が示唆された。男児は、女児に比べて子宮内での身体発育が早いため、子宮内の低栄養環境に対してより脆弱であると考えられている(Eriksson et al, 2010)。そのために、胎児期の栄養環境を反映するBWの影響度が、男性と女性では異なった可能性が考えられる。今後、より大きなサンプルサイズに基づいて、BWとインスリン抵抗性の関係における性差を検証する必要がある。

妊娠期体重変化量と胎盤ゲノム DNA のエピジェネティック調節

○河合智子¹ 山田崇弘² 赤石理奈² 嘉村浩美¹ 水上尚典² 中林一彦¹ 秦健一郎¹
¹国立成育医療研究センター・研究所・周産期病態研究部、²北海道大学医学部産婦人科

【目的】 低出生体重と生活習慣病発症率に正の相関が認められるという疫学的エビデンスをはじめ、胎児期ならびに新生児期の環境がエピゲノム変化を起し、成人期の疾患の素因として大きく影響しているという、DOHaD 学説を裏付ける莫大なエビデンスが、これまでに疫学研究、動物実験から集積されてきている。一方で、この学説を裏付けるヒト臨床サンプルのエピジェネティックなエビデンスの集積は乏しい。今回、我々は、胎児の環境因子の一つとして、妊娠期（の妊婦のエネルギー摂取量を反映すると考えられる）体重変化量に注目した。若年女性の「やせ志向」に加え、「小さく産んで大きく育てる」ことを謳う俗説に促され、妊娠期の体重増加を制限する危険性を、生物学的根拠に基づいて示唆することを本研究の目的とした。

【方法】 本研究では胎盤絨毛を標的臓器とし、解析を行った。胎盤は、母体と胎児との物質交換を最前線で行う臓器であり、胎児環境を反映する臓器の一つである。本解析では、合併症を伴わない胎児発育不全例(FGR)と正常新生児体重出産例(Normal)を用いた。妊娠中の妊婦体重増加が7 kg以下(less)と13 kg以上の体重増加グループ(more)に分類し、FGR_less, FGR_more, Normal_less, Normal_more の4グループを各5例ずつ設けることができた。グループ間で妊娠前の母体BMIに有意差はない。一方、FGRとNormalでは、新生児の出生体重に有意差がある。さらに、Normal_lessとNormal_moreでは、Normal_lessで新生児の出生体重が低い傾向($p=0.1$)が見られたが、正常出生体重の範囲内である。それぞれの胎盤絨毛よりゲノムDNAを抽出し、illumina社 Infinium® HumanMethylation450 BeadChipを用いて、ヒト遺伝子約二万個のプロモーター近傍ならびにジーンボディーの合計45万箇所のCpGのDNAメチル化状態を、定量的に計測した。このhigh throughput analysisは、ヒトゲノムの99%の遺伝子プロモーター部位のメチル化検出が可能である。この結果を指標に、グループ間のエピゲノム変化の有無を検討した。尚、以上の研究は、国立成育医療研究センター並びに北海道大学の倫理委員会の承認を得て、説明と同意のもとに行った。

【成績】 性染色体を除く、常染色体上の473,850プローブのDNAメチル化率の結果に基づき、4グループをクラスタリングした結果、Normal_moreのみブランチが異なることが判明した。しかし、グループ間で統計学的に有意にメチル化の異なるCpG siteは存在しなかった。次に、CpGの局在位置からプローブを、遺伝子 promoter 遠位、近位、ジーンボディー、3'非翻訳領域とジーングループに分類し、ジーングループレベルで有意にメチル化の異なる遺伝子の抽出を試みた。まず、クラスタリングを行ったところ、ジーングループレベルでもNormal_moreはブランチが異なっていた。次に統計学的検定の結果、Normal_moreとFGR間で、ジーングループレベルで有意にメチル化の異なる遺伝子を4遺伝子同定した。一方で、Normal_lessとFGR間、Normal同士のmoreとless間では、有意に異なる遺伝子は認められなかった。Normal_moreでは、promoter近位超低メチル化領域(<0.1)の高メチル化傾向、3'非翻訳領域高メチル化領域の低メチル化傾向が認められた。

【考察】 Normal_moreの胎盤絨毛で認められた、他グループと異なるDNAメチル化の傾向は、遺伝子発現の抑制を示唆する傾向であったが、有意なエピゲノム変化は検出されなかった。また、特定の遺伝子の変化ではなく、グローバルな変化であった。出生後のさらなる環境因子の違いが、今回認められたグループ間のエピゲノム変化の差を更に増強する可能性は十分に考えられる。一方で、胎盤絨毛と、それ以外の組織のエピゲノム変化の関連をモデル動物で検討する必要もある。本解析で認められた傾向から、妊娠期の体重増加抑制の危険性を示唆する結論に至ることはできないが、正常出生体重範囲であっても、Normal_lessの胎盤絨毛は、クラスタリングで、FGRと同じブランチに含まれた結果は、解析例を増やしたさらなる検証の必要を示唆している、と考える。

妊産婦のフタル酸ジ-2-エチルヘキシル曝露と血中トリグリセライド・脂肪酸・出生児の体格との関連性

○賈小芳¹、原田由紀子²、田川雅大¹、内藤久雄¹、林由美³、加藤昌志¹、佐々木成子⁴、
荒木敦子⁴、宮下ちひろ⁴、池野多美子⁴、岸玲子⁴、那須民江⁵

¹名古屋大学大学院医学系研究科・環境労働衛生学、²信州大学大学院医学研究科小児科、
³名古屋大学大学院医学系研究科・医療技術学専攻病態解析学、
⁴北海道大学・[環境健康科学研究教育センター](#)、⁵中部大学・生命健康科学部

Objective Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) is a ubiquitous environmental contaminant. Exposure to DEHP decreased plasma levels of triglycerides (TG) and fatty acid (FA) components in prepartum mice. However, no such information exists in humans. The influences from maternal DEHP exposure on birth outcomes of infants are also not well documented. Thus, this study aimed to evaluate the relationships between prenatal DEHP exposure and plasma TG and FA levels in pregnant women, and birth weight and birth sizes of infants.

Methods A total of 318 mother-newborn pairs residing in Sapporo, Japan were recruited in this study. We obtained the characteristics of mothers and infants from self-administered questionnaire surveys and from medical records. We measured mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), a main metabolite of DEHP, TG and 9 FA species in maternal plasma, and analyzed the associations between MEHP level and maternal plasma TG and FA concentrations, and birth outcome measures, using univariate and multivariate regression models.

Results In the crude model, we found significant and negative correlations of MEHP exposure with TG, palmitic acid, palmitoleic and oleic acid of monounsaturated FA, and linoleic and α -linolenic acid of essential FA in maternal plasma (all $P < 0.05$). After full adjustment for potential confounders, we found a 10-fold increase in MEHP level correlated with a decrease in TG of 25.1 mg/dl [95% confidence interval (CI), 45.3 to 4.8 mg/dl], and similar relations in palmitic acid ($\beta = -581.8$; 95% CI, -906.5 to -257.0), oleic acid ($\beta = -304.2$; 95% CI, -518.0 to -90.5), linoleic acid ($\beta = -348.6$; 95% CI, -510.6 to -186.6), and α -linolenic acid ($\beta = -6.3$; 95% CI, -9.5 to -3.0) concentrations in maternal plasma. However, we observed no correlations between MEHP level and birth weight, birth length, chest circumference, and head circumference of infant, even though analyses were stratified by infants sex.

Conclusions These results indicate that prenatal DEHP exposure in the general environment is negatively associated with maternal plasma TG and specific FA levels, but has no influence on birth outcomes.

胎生初期の栄養変化による影響がマウス胎仔エピゲノムに現れるタイミング

○佐藤憲子¹、須藤カツ子²、村松正明¹

¹東京医科歯科大学分子疫学／環境エピゲノム、²東京医科大学動物実験センター

【背景】胎生期～乳幼児期の環境の良し悪しは、生涯にわたる健康状態、なかでも生活習慣病の発症リスクを左右することが多くの疫学研究及び動物実験によって示されて来た。ここで注目したい点は、オランダ飢饉に関する疫学研究は「胎内低栄養によって誘導される生活習慣病のリスクは低栄養に曝露された時期に依存する」ことを明確に示した点である。彼らのデータによると、経胎盤栄養供給が本格化する前の妊娠初期に低栄養であった母から生まれた人々が最も高い比率で生活習慣病を発症した。興味深いことに、その後調べられた *IGF2* DMR の DNA メチル化レベルの変化においても、妊娠初期飢饉群では飢餓による変化が認められるが、妊娠後期飢饉群では認められなかった。DOHaD 研究においては、妊娠中に母動物に低タンパク質食を与えて仔動物に肥満や糖・脂質代謝異常を誘導する実験系が広く用いられている。この場合、妊娠全期間あるいは受精前から授乳期に至る長期間にわたって低タンパク質食に曝露するという実験条件が一般に採用されている。しかし、この実験条件では栄養変化によるエピゲノムへの影響がいつ最初に現れる(起源: origin)のか、またその変化が発生分化の過程で維持されるのかどうかを明らかにすることは難しい。

【目的】本研究では、妊娠前期のみ(day 0 - 10)に限定して低タンパク質食を母マウス(F0)に与え、胎生初期低栄養が F1 マウスに及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。特に、胎生初期の栄養変化によって引き起こされる DNA メチル化状態の変化が検出できる分化段階はいつなのかを解析する。また、その変化が成体の組織における変化と一致するかどうかを検討する。

【方法】(研究倫理)本動物実験は東京医科大学動物実験委員会によって承認されている。

(実験動物)人工受精により得られた C57BL6/J 二細胞卵を偽妊娠 ICR 雌マウス (F0)に移植後、代理母を二群に分け、片方にのみ最初の10日間低タンパク質食を与えた。低タンパク質食(LP)群、コントロール(C)群それぞれから、出生前 F1 サンプルとしては、E3.5, E6.75, E10.5 (ts17), E13.5 全胚、及び E16.5 の MEF と羊膜 E16.5、出生後 F1 サンプルとしては、8-9週令の雄から白色脂肪組織を得、それぞれのゲノム DNA を単離した。

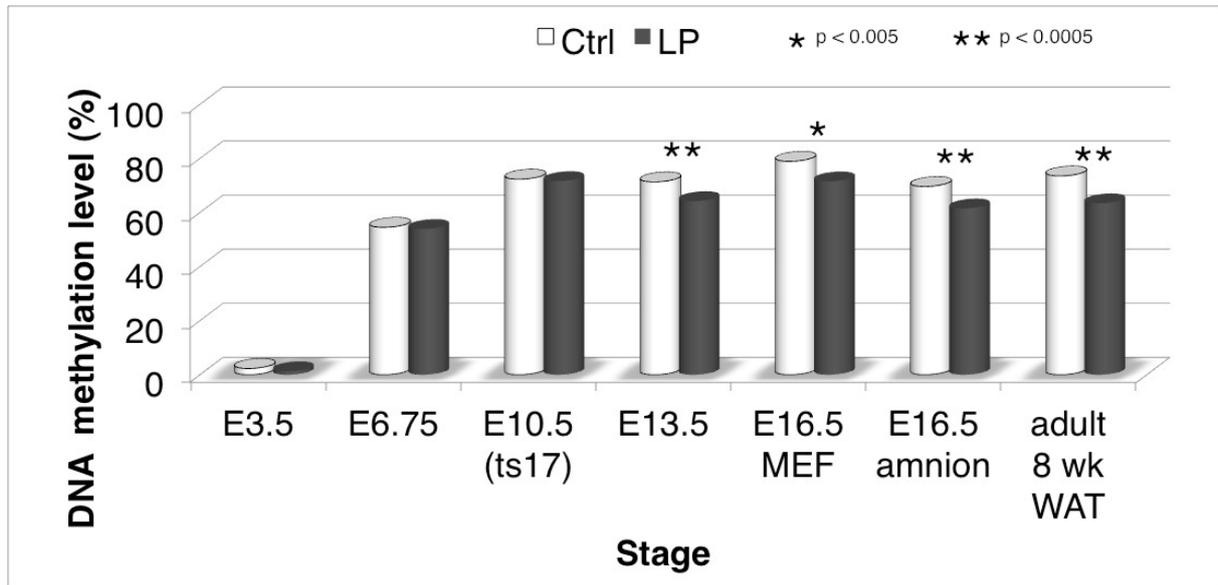
(DNA メチル化解析)*Lep*(レプチン遺伝子) TSS 近傍領域[-266~+164]の間にある 22 個の CpG のメチル化状態を bisulfite sequencing 法により解析した。

【結果】C 群、LP 群共に E3.5 では受精後リプログラミングにより、DNA メチル化修飾は消失しているが、E10.5 にかけて新生 DNA メチル化が進行し、両者とも約72%程度に DNA メチル化レベルが上昇した。しかし、E13.5 になると C 群と LP 群との間に差が生じ、C 群が71%なのに対し、LP 群では64%と低下した($p < 0.00035$, Fisher's exact test)。この傾向は、E16.5 の MEF ($p < 0.0037$) 及び羊膜($p < 0.0001$)でも見られ、LP 群の DNA メチル化レベルがコントロール群に比べて低かった。成体の白色脂肪組織においても一貫して LP 群の DNA メチル化レベルが低かった($p < 0.0002$)。

【考察】胎生初期の低栄養による DNA メチル化状態の変化は、*Lep* TSS 近傍領域においては新生 DNA メチル化が完了した E10.5 より後に検出されることがわかった。この差は、常に低栄養群においてメチル化レベルが低い変化として現れ、胎児組織だけでなく成体の白色脂肪組織にも永続していることがわかった。私はこれまでに ES 細胞の *in vitro* 分化系にゲニステイン(大豆に多く含まれる植物性エストロゲン: アグーチマウス(agouti viable yellow) において、初期胚の DNA メチル化状態を変化させることが知られている)を添加し、網羅的に遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化状態にどのような変化が誘導されるかを解析した。その解析の中で、ゲニステインによってメチル化レベルが低下する *Ucp1* や *Sty11* プロモーター領域は、新生 DNA メチル化過程が完了するまではコントロール群とゲニステイン添加群で変化しないのに対し、完了後の脱メチル化過程の間に差を生ずる事を見いだした(Sato, N. *et al.* PLoS ONE, 6(4), e19278, 2011)。これらの結果は共通に、初期の栄養変化が受精後の DNA 脱メチル化や新生 DNA メチル化過程に影響を及ぼすのではなく、新生 DNA メチル化が完了した後のメチル化状態の制御に影響を及ぼすことを示した。解析した対象遺伝子はまだ少ないため、今後この現象が一般的であるかを検

討する必要がある。また、組織分化過程においてどのようなエピジェネティックモジュレーターを介して栄養変化によるエピゲノム変化が生ずるのかを明らかにする必要がある。

【謝辞】本研究は科学研究費助成事業(基盤研究 C(佐藤))の支援により行われた。



重症妊娠悪阻による妊娠初期の母体低栄養が胎児発育に与える影響についての検討

○ 村岡光恵 高木耕一郎
東京女子医科大学東医療センター 産婦人科

【はじめに】妊娠中の母体の栄養状態の変化は胎児の物質代謝の調節系に作用し、児が出生した後、成人期以降にも及んで影響することが知られている。しかし、母体が妊娠中に低栄養に晒されても出生時の児の体重にはほとんど影響が現れないことも周知のことである。

【目的】本研究では妊娠初期に母体の低栄養を来す重症妊娠悪阻例の胎児発育を、妊娠初期、中期、末期の各時期にルーチン検査として行われる胎児超音波検査値を後方視的に調査し、母体の低栄養が胎児発育に及ぼす影響について検討する。

【方法】対象は2006年～2009の期間に当院で入院治療を要した重症妊娠悪阻患者とその児（E群29例）。妊娠20週、30週、36週の超音波胎児計測値を調べ、各時期の胎児発育標準値からの隔たり（SD score）を求め、胎児発育を評価した。また、同調査期間に当院で合併症のない母体から出生した正期産単胎児（C群1076例：双胎、糖尿病、妊娠高血圧症候群、35週未満の分娩を除外）の出生体重、性別を調査し、対象の児と比較した。入院治療の基準は、妊娠前に比して5%以上の体重減少、尿中ケトン体高値、経口水分摂取不可うち2つ以上を満たす者とした。対象者には説明ならびに同意を得ており、学内の倫理委員会の承認を得て研究を施行した。

【成績】E群の推定児体重のSD scoreは妊娠20週 $0.6 \pm 0.8SD$ 、30週 $0.4 \pm 0.7SD$ 、36週 $0.2 \pm 0.8SD$ であった。妊娠20週と36週での推定児体重を比較すると、20週でのSD scoreが大きく、36週ではmeanに近づいていた。躯幹に関しても同様の傾向を認めた。出生体重はE群 $3049 \pm 424g$ 、C群 $3024 \pm 426g$ で有意差は認めなかった。

【結論】重症妊娠悪阻例では母体が低栄養から回復したと考えられる妊娠20週の胎児発育が一過性に促進する傾向を認め、その後、妊娠末期に近づくにつれて正常発育に復すると考えられた。重症妊娠悪阻における妊娠中期の一過性の胎児発育の促進の意義は不明であるが、重症妊娠悪阻では血中hCGが高値をとることが報告されていることから、重症妊娠悪阻による母体の低栄養に対して、胎盤機能が代償性に亢進し、妊娠20週の児発育が促進された可能性が示唆された。重症妊娠悪阻の母体から出生した児が成人期にメタボリック症候群のリスクを有するかどうかについては、今後の研究課題であろう。

協賛一覧

株式会社DNAチップ研究所

杏林製薬株式会社

株式会社 ニチレイフーズ

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

パブリックヘルス リサーチセンター

ファイザー株式会社

株式会社 明治

ライオン株式会社

(五十音順)



「あなたの健康」を食事でささえる。

1 納得のおいしさで大人気!



ハンバーグ 野菜パイオン トマトソース仕立てセット

2 面倒な揚げ物だって簡単!



丸大豆醤油仕立ての 本和風鶏からあげセット

3 からだに嬉しいヘルシーメニュー!



白身魚の照焼きセット

気くばり御膳

冷凍食品

毎日の食卓に 3つの気くばり

1. おいしい

素材や調味に
こだわった
本格品質



2. 便利

レンジで
約5分
簡単調理



3. ヘルシー

栄養成分に
配慮した
ヘルシー設計



野菜使用量
100g以上^{※1}

平均カロリー
272kcal^{※2}

食塩相当量
2.8g以下

13品目以上
を使用

※1 一部商品を除く。野菜は芋類、きのこ類を含む。
※2 2011年3月現在は355kcalが最高。全33品の平均です。各惣菜セットごとのカロリーは、それぞれ平均値を超えることがあります。

今日を愛する。
LION

胃で分解されずに「腸」まできちんと届く!

LION ウェルネスダイレクトの 「ラクトフェリン」。

ライオンは、オーラルケア分野における研究のなかで、
私たちの生活を応援する健康成分「ラクトフェリン」を見い出しました。
現在も「ラクトフェリン」のさらなる機能と可能性を求め、日々研究に取り組んでいます。

.....

▶ **注目の健康成分「ラクトフェリン」とは?**

出産後の初乳などに含まれる乳由来の多機能たんぱく質です。ライオンは
オーラルケアの研究から、全身の健康に関与していることに着目しました。

▶ **最新技術で生まれた「ナイスリムエッセンス
ラクトフェリン」。**

ラクトフェリンは熱や酸に弱く、その
ままでは胃で分解されてパワー
が発揮できません! ライオン
は特殊なコーティング技術で
腸まできちんと届けることに
成功しました。



あなたの
スッキリ計画

小粒でスッキリ飲みやすい!
1日3粒目安だから続けやすい!

(実物大)



通信販売限定

ナイスリムエッセンス ラクトフェリン

内容量: 90粒入り(約30日分)
主要成分(3粒あたり): ラクトフェリン(乳由来)300mg

適度な運動とバランスの良い食事は私たちの健康生活に大切です。

.....

お問い合わせ・お申し込みはこちらまで。

やさしい つうはん
☎ **0120-834-208**

通話料無料

受付時間9:00~20:00
年中無休

<http://www.lionshop.jp>

LION ウェルネスダイレクト

ライオン株式会社 通販事業部 〒130-8544 東京都墨田区横網1-2-22



1日に、これだけ食べてますか？

妊婦さんは、1日400 μ gの「葉酸」摂取が必要です*。

妊娠前から妊娠3か月まで、葉酸を400 μ g摂ると、おなかの赤ちゃんの先天異常発症リスクが減ると言われています。そのことは母子健康手帳にも載っていて、厚生労働省は、栄養補助食品などで1日400 μ gの葉酸を摂るよう勧めています。しかし最近の調査結果では、9割以上の妊婦さんが葉酸不足。生まれてくる赤ちゃんのためにも、手軽なサプリメントで効率よく葉酸を補いましょう。

*監修：横浜市立大学大学院医学研究科(産婦人科学)教授 平塚史樹

1日1粒で、必要な葉酸400 μ gが手軽に摂れる。



葉酸
メーカー希望小売価格
120粒 **1,344**円(税込)
栄養成分 1粒(250mgあたり)
エネルギー/0.98kcal
たんぱく質/0.0008g
脂質/0.0021g
炭水化物/0.24g
ナトリウム/0.02mg
葉酸/400 μ g

1日2粒で、葉酸の吸収を助ける各種ビタミンも一緒に摂取。



葉酸+マルチビタミン
メーカー希望小売価格
120粒 **2,520**円(税込)
栄養成分 2粒(500mgあたり)
エネルギー/2kcal
たんぱく質/0.0318g
脂質/0.0254g
炭水化物/0.432g
ナトリウム/0.14mg
ビタミンE/10mg
ナイアシン/8.4mg
パントテン酸/4.0mg
ビタミンB2/1.2mg
ビタミンB6/1.2mg
ビタミンB1/0.8mg
葉酸/400 μ g
ビタミンD/2.5 μ g
ビタミンB12/2.4 μ g
ビタミンA/0 μ g
ビタミンK/0 μ g
ビオチン/0 μ g



Milton
はじめて
キット

出産後も
ママを
サポート!

Milton 専用容器×1個
Milton CP 36錠×2個
メーカー希望小売価格 3,969円(税込) 送料無料
※ご利用の前に『使用上の注意』を必ずお読みください。
※この商品は、キョーリンオンラインショップ限定商品となります。

葉酸に関する
ご質問も、
お気軽にどうぞ。

テレホンセンター(通話料無料。携帯電話からもご利用になれます。)
0120-668-601

受付/9:00~17:00(土・日・祝日除く)受付時間外は音声ガイダンスによるお申し込みを承っております。

[商品のお届けお申し込みから5日前後でお届けいたします。][送料]全国一律 525円(税込)。また、1回のご注文で 3,500円(税込)以上ご購入の場合、送料は無料とさせていただきます。[返品・交換]品質には万全を期しておりますが、万一不良があった場合には、返品・交換をお受けいたしております。また、お客様のご都合での返品・交換は、未使用品に限ってお受けいたします。その際の返品・再送料はお客様のご負担となりますので、あらかじめご了承ください。なお、返品・交換は商品到着後7日以内の受け付けとさせていただきます。商品到着後はすぐに内容をご確認ください。【お支払い方法】3つの方法からお選びいただけます。1.コンビニ決済 2.郵便振替(振替手数料弊社負担) 3.クレジットカード。また、ギフト等でのお届け先とご依頼主様が異なる場合は、ご依頼主様にお支払い用紙をお届けいたします。

販売者: 杏林製薬株式会社 東京都千代田区神田駿河台2-5

キョーリン製薬



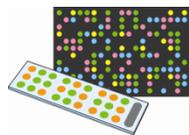
受託解析サービス



マイクロアレイ受託

■実験メニュー

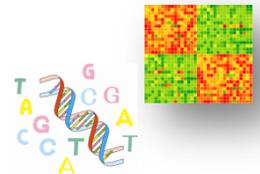
RNA/DNA抽出
 遺伝子発現解析-標準-
 遺伝子発現解析-微量サンプル-
 遺伝子発現解析-原核生物-
 miRNA発現解析
 ゲノム構造解析- CGH/CNV -
 メチレーション解析- MIAMI法-
 カスタムアレイ作製



※実験メニューでは、アジレント社製
 マイクロアレイを使用します。

■統計解析メニュー

発現変動遺伝子抽出
 クラスタ解析
 GO解析
 Pathway解析~ConPathNavigator~
 Network解析
 アノテーション構築
 -遺伝子機能予測/GO割当-
 ゲノム構造解析
 メチレーション解析
 マーカー探索
 論文支援



おすすめプラン

実験+統計解析

ConPath[®]

実験+正規化+Pathway解析

ConPathGO[®]

実験+正規化+Pathway解析+
発現変動遺伝子抽出+GO解析



次世代シーケンス解析

次世代シーケンス用ライブラリ調整
 エキソーム解析
 SNP/INDEL検出
 mRNA発現解析

Small RNA解析
 メチレーション解析
 メタゲノム解析
 ゲノム配列決定



株式会社DNAチップ研究所
 〒230-0045
 神奈川県横浜市鶴見区末広町1-1-43

Tel (代表) 045 (500) 5211
 (営業) 045 (500) 5225
 (技術サポートセンター) 045 (500) 5218

URL <http://www.dna-chip.co.jp/>
 E-mail dnachip-support@dna-chip.co.jp

