

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09827

研究課題名（和文）糖尿病の影響を受けた胎児の形態異常に関わる遺伝子のエピゲノム変異に関する研究

研究課題名（英文）Study on epigenetic changes of the genes involved in the malformations of the fetus affected by diabetes

研究代表者

大場 隆 (Ohba, Takashi)

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・准教授

研究者番号：50244132

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠初期にHbA1cが評価され、当施設で出生に至り母児の転帰を調査し得た単胎妊娠症例について、1型糖尿病12例、2型糖尿病10例、妊娠糖尿病13例、対照（妊娠初期にHbA1cが正常で、妊娠中の糖負荷試験でも正常値であった症例）7例について書面による同意を得て臍帯血と絨毛組織を採取しDNA、RNAの抽出を行った。新生児については当施設の新生児科で精査を行い尾部退行症候群（CRS）あるいは外性器異常を呈した児はなかった。新型コロナ禍の影響で解析の開始に遅延が生じていたが、現在エピゲノム変異の解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児形態異常は糖尿病合併妊娠における周産期死亡原因の約半数を占める。妊娠初期の高血糖が胎児形態異常の発生に関わることは明らかだがその機序は不明であった。我々は糖尿病合併妊娠に疾患特異的な稀少疾患である尾部退行症候群のモデルマウスの尾部において、隣臓特異的遺伝子であるPtf1a遺伝子の異所性過剰発現が生じていることを明らかにした（Semba K et al., 2013）。この結果より我々は胎生期に高血糖の曝露を受けた個体ではPtf1a遺伝子が異所性過剰発現し胎児形態異常を発症する。との仮説を立てた。本研究により糖尿病合併妊娠における胎児形態異常発症機序の一端が明らかになることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We obtained written consent from the pregnant women whose HbA1c was evaluated in early pregnancy and the outcome of the mother and child could be studied at our institution including 12 patients with type 1 diabetes, 10 with type 2 diabetes, 13 with gestational diabetes mellitus, and 7 controls (HbA1c normal in early pregnancy and normal on glucose tolerance test during pregnancy). Cord blood and trophoblastic tissue samples were collected for DNA and RNA extraction. No newborns presented with caudal regression syndrome (CRS) or external genitalia abnormalities. Although there was a delay in the start of analysis due to the COVID-19, analysis of epigenomic mutations is now underway.

研究分野：産科婦人科学

キーワード：胎児異常 糖尿病合併妊娠 エピゲノム変異 尾部退行症候群 PTF1A

1. 研究開始当初の背景

現代の日本において耐糖能異常合併妊娠の頻度は年々増加傾向にあり、もっとも高頻度に観察される妊娠合併症の位置を占めている。妊娠初期の高血糖は胎児奇形の危険因子であり、心奇形、中枢神経系奇形、腎奇形などの胎児形態異常は糖尿病合併妊娠の 6-9%に発生して周産期死亡原因の約半数を占めている。胎児形態異常の発生率は妊娠初期の HbA1c 値と相関するため、妊娠初期の高血糖が胎児形態異常の発生に関わっていると推定されてきたが、その機序は不明であった。

尾部退行症候群 (caudal regression syndrome, CRS)は、胎生 3~4 週における正中中部尾側原基の形成不全によって起こる直腸、尿路、性器、腰仙椎、下肢の奇形症候群で、発生頻度は 100,000 出生あたり 1 から 2.5 とされる稀少疾患である。糖尿病合併妊娠例における CRS の発生率は一般集団の約 250 倍とされており (Mills JL et al. 1979)、CRS は糖尿病合併妊娠以外の原因ではほとんど発症しない、糖尿病合併妊娠に疾患特異的な稀少疾患である。さらに CRS の多くは家族性を示さず、また必ずしも血糖値とも相関せず散発的に発生することが経験的に知られていた。このような理由から、CRS の発症には胎生期の高血糖によって惹起されるエピゲノム変異が関与していると推定されていたが、2013 年に共同研究者の荒木らは、尾部退行症候群モデルマウス (*Danforth's short tail*, *Sd*変異マウス)の尾部において、膀胱特異的に発現し膀胱発生に必須の遺伝子である *Ptf1a* 遺伝子の異所性過剰発現が生じていることを明らかにした (Semba K et al. 2013)。

2. 研究の目的

上記の結果より我々は CRS の発症機序として、1) *Ptf1a* 遺伝子あるいはその関連遺伝子にゲノム変異を持つ個体が存在する。2) この個体が、胎生期に高血糖の曝露を受けた結果、*Ptf1a* 遺伝子が胎児尾部に異所性過剰発現して CRS を発症する。との仮説を立てた。この仮説を検証するため、我々は「*PTF1A* 遺伝子の発現制御領域の変異 / 修飾を原因とする骨系統疾患の同定」と題した研究 (平成 26 年 7 月 18 日付熊本大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会承認)を行い、妊娠初期に母体の高血糖に曝された児では、CRS を含めた合併奇形の有無に関係なく、*Ptf1a* ホモログ遺伝子の発現制御領域のエンハンサー領域と近傍にある CpG 領域のメチル化率が有意に上昇していることを明らかにした (仙波ら、2016)。今回の研究は、熊本地震のため中断していた上記研究のうち臨床研究の部分を再開したものである。

3. 研究の方法

研究の対象は、妊娠初期に HbA1c が評価され、当施設で出生に至り母児の転帰を調査し得た単胎妊娠である。文書で同意が得られた妊娠糖尿病、糖尿病合併妊娠、および対照とする耐糖能異常のない妊婦について各症例あたり最大 8mL の臍帯血を EDTA 採血管にて採取した。胎盤は各症例あたり約 5g を採取し生理的食塩水で洗浄した後に耐低温性 RNase-free チューブ 2 本に保存した。診療録より母児の診療情報を得た。

生体試料の解析は熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル学分野から提供される情報に基づいて佐賀大学医学部 分子生命科学講座 分子遺伝学・エピジェネティクス分野にて行った。試料を同施設に輸送し、同施設にて DNA を抽出し、PCR/シーケンス/サザンブロット法を用いて遺伝子のゲノム配列解析に加えメチレーションの有無の解析を行った。解析する遺伝子

は、CRS の発現に影響を及ぼしていると考えられている *PTF1A*、*CDX2*、*T*、*WNT3A*、*CYP26A1* を対象とした。本研究は本学倫理委員会の承認（ゲノム第 401 号）を得て行った。

4 . 研究成果

1型糖尿病13例、2型糖尿病8例、妊娠糖尿病13例、対照（妊娠初期にHbA1cが正常で、妊娠中の糖負荷試験でも正常値であった症例）7例について書面による同意を得て臍帯血と絨毛組織を採取しDNA、RNAの抽出を行った。新生児については当施設の新生児科で精査を行い尾部退行症候群（CRS）あるいは外性器異常を呈した児はなかった。新型コロナウイルス禍の影響で解析の開始に遅延が生じており、現在エピゲノム変異の解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	副島 英伸 (Soejima Hidenobu) (30304885)	佐賀大学・医学部・教授 (17201)	
研究分担者	荒木 喜美 (Araki Kimi) (90211705)	熊本大学・生命資源研究・支援センター・教授 (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関