

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：37109

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21558

研究課題名(和文)胎児期の低栄養が出生後の消化管に及ぼす影響に関する分子形態学的研究

研究課題名(英文)Molecular morphological study on the effect of low nutrition in fetal stage on the digestive tract after birth

研究代表者

熊谷 奈々 (KUMAGAI, Nana)

中村学園大学・栄養科学部・助教

研究者番号：70552983

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：通常妊娠および妊娠中の低栄養の時期が異なるWistar系雌性ラットより出生した新生仔の消化管(小腸および大腸)を用いて超微形態学的に観察した結果、妊娠中に低栄養状態の母親から生まれた新生仔(低栄養群)の回腸において、通常妊娠の母親から生まれた新生仔(正常、対照群)よりも短い絨毛が観察された。低栄養群の大腸では、対照群と比較して結腸近位部に差異が認められた。また、妊娠中の低栄養の時期によっても差異が認められたことから、妊娠中の低栄養状態は出生後の児の小腸および大腸に影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：I observed Molecular morphologically using the digestive tract (small intestine and large intestine) of neonates born from Wistar female rats, which are proper pregnancy or pregnant under low nutrition at different times. Shorter villi were observed in the ileum of neonates born from pregnancy mothers under low nutrition (low nutritional group) than the neonates born from normal pregnancy mothers (control・normal group). In the large intestine, proximal colon of the low nutritional group, there are some difference from the control group. In addition, differences were found depending on the timing of low nutrition during pregnancy, there are suggested that low nutrition during pregnancy effects the small intestine and large intestine of children after birth

研究分野：栄養形態学、解剖学、栄養学、栄養科学

キーワード：低栄養 妊娠 経産婦 胎児 新生児 乳児 消化管 分子形態学

1. 研究開始当初の背景

ヒトは生命活動と将来の生命活動のために栄養を摂取している。胎児は母体から胎盤を通して栄養を摂取しており、妊娠期の食生活は母親に加えてその子供のライフステージのもっとも初期段階での栄養状態を形づくるものとして重要である。近年、胎児期の栄養が子供の成人後の健康状態に及ぼす影響を示唆する様々な報告がなされ、妊娠前および妊娠中の適正な栄養管理が必要であるといわれている。しかし、胎児期の低栄養が出生後の生命活動を維持するための重要な器官である消化管に及ぼす影響についての研究はほとんどなされていない。

出生は胎児から新生児への移行過程であり、経胎盤栄養から経消化管栄養へと変化し、通常、出生後の新生児は母乳摂取を開始する。新生児期および乳飲期の小腸では、母乳中の栄養分を小腸吸収上皮細胞内に高分子のまま取り込む機構(エンドサイトーシス)が存在し、栄養分はライソゾーム内で消化を受けて低分子に分解されることが知られている

(Fujita et al., J Cell Sci, 1990、Med Mol Morphol, 2007)。これまでの研究において、出生直後の吸収上皮細胞は母乳を摂取すると抗体のレセプター (neonatal Fc receptor) が増加し、頂部細胞膜ドメインへ輸送され、母乳中の抗体を頂部細胞膜ドメインから基底側部細胞膜ドメインへ通過させる機構 (レセプター介在トランスサイトーシス機構) が存在することを明らかにした (Kumagai et al., Med Mol Morphol, 2011)。一方、下部小腸 (回腸) ではタンパク等の高分子物質をエンドサイトーシスによって大量に細胞内に取り込み、細胞内消化を行うことが解明された。また、新生児期のラット大腸上部 (盲腸・結腸近位部) では小腸と同様に絨毛が観察されるが、大腸下部 (結腸遠位部・直腸) には存在せず、盲腸と結腸近位部では絨毛は異なる形態を示すことが報告されている (Baba et al., Med

Electron Microsc, 1999、藤田ら、顕微鏡, 2010、研究業績参照)。しかし、乳飲期の初期にはこれらの構造は見られなくなる。限られた時期に、大腸の一部にも絨毛および小腸と同様な吸収上皮細胞による頂部細胞膜ドメインからのエンドサイトーシス機構が存在し、栄養の消化と吸収に関与することが示唆されている。

2. 研究の目的

胎児は母体から胎盤を通して栄養を摂取しており、妊婦の栄養不足は胎児の栄養状態に密接に関連している。出生後、栄養摂取の場は消化管へと移行し、その後の生命活動のために活躍することになる。しかし、胎児期の低栄養が出生後の消化管に及ぼす影響についての研究はあまりなされていない。

本研究計画では、胎児期の低栄養が出生後の消化管 (小腸および大腸) に及ぼす影響について詳細に検索することにより、妊産婦・胎児・新生児・乳児の栄養指導に役立てるための基礎的実験を行うことを目的としている。

3. 研究の方法

本研究では、胎児期の低栄養が出生後の小腸の構造および消化吸収機構に及ぼす影響に着目し、妊婦の低栄養により、低栄養状態に晒された胎児が出生した場合と、適正な栄養状態であった胎児を出生した場合 (において、小腸および大腸での部位による構造の違いがあるかどうかについて検索した。また、出生後の発達段階 (新生児期～成熟期) および低栄養の時期 (妊娠初期・中期・後期) の違いによる検討を行った。妊娠初期の低栄養が出生後の消化管の及ぼす影響に関する実験

Wistar 系妊娠ラットを通常飼育 (正常群、対照群)、または妊娠初期 (妊娠0～6日) は水のみを与え、妊娠中期および妊娠後期は通常摂食させ (妊娠初期低栄養群)、各群の妊娠ラットから出生した新生仔ラットを用いて生後0日齢 (出生直後、未授乳)、7日齢、14

日齢、21日齢の小腸（空腸・回腸）および大腸（盲腸・結腸近位部・結腸遠位部）を採取し、検索を行った。

形態学的検索

組織化学的検索：Periodic acid-Schiff (PAS) 染色、Alcian Blue (pH 1.0, 2.5) 染色等

超微形態学的検索

トレーサー投与実験

(1) 妊娠中期の低栄養が出生後の消化管の及ぼす影響に関する実験

Wistar 系妊娠ラットを通常飼育（正常群、対照群）、または妊娠初期は通常摂食、妊娠中期は水のみを与え、妊娠後期は通常摂食させ（妊娠中期低栄養群）、各群の妊娠ラットから出生した新生仔ラットを用いて生後0日齢（出生直後、未授乳）、7日齢、14日齢、21日齢の小腸（空腸・回腸）および大腸（盲腸・結腸近位部・結腸遠位部）を採取し、検索を行った。

形態学的検索

組織化学的検索：Periodic acid-Schiff (PAS) 染色、Alcian Blue (pH 1.0, 2.5) 染色等

超微形態学的検索

トレーサー投与実験

(2) 妊娠後期の低栄養が出生後の消化管の及ぼす影響に関する実験

Wistar系雌性ラットを通常飼育（正常群、対照群）または妊娠初期および中期（妊娠0～14日）は通常摂食、妊娠後期（妊娠15～21日）は水のみを与え、各群の妊娠ラットから出生した新生仔ラット（0日齢、未授乳）の小腸（空腸・回腸）および大腸（盲腸・結腸近位部・結腸遠位部）を採取し、検索を行った。

形態学的検索

超微形態学的検索

(3) 妊娠中の低栄養の時期の違い（妊娠初期、妊娠中期および妊娠後期）が出生後の児

の消化管に及ぼす影響に関する比較検討

4. 研究成果

本研究は、妊婦の低栄養により、低栄養状態に晒された胎児が出生した場合と、適正な栄養状態であった胎児が出生した場合において、小腸および大腸での部位による構造の違いがあるかどうかについて検索した。その結果、出生後の各発達段階（新生児期、乳飲期、離乳期、成熟期）において正常群（対照群）と実験群を比較し、胎児期の低栄養の影響について、ライフステージおよび栄養摂取形態（新生児期・乳飲期・離乳期：母乳栄養、離乳後固形食）の変化による小腸・大腸での消化吸収機構について、実験群において、妊娠時期中の低栄養の時期を変化（妊娠初期・中期・後期）させることにより及ぼされる小腸および大腸への影響を明らかにした。

(1) 平成27年度は、Wistar 系妊娠ラットを通常飼育（正常群、対照群）、または妊娠中期に低栄養で飼育、その他の期間は通常摂食させ（妊娠中期低栄養群）、各群の母ラットから出生した新生仔ラットを用いて生後0日齢（出生直後、未授乳）、7、14、21日齢の小腸（空腸、回腸）および大腸（盲腸、結腸近位部、結腸遠位部）を採取し、超微形態学的に検索を行った。

0日齢（出生直後、未授乳）の妊娠中期低栄養群の空腸はいずれの時期においても対照群（正常群）との違いはほとんど見られなかった。

0日齢（出生直後、未授乳）の妊娠中期低栄養群の回腸では対照群よりも絨毛が短く、日数を経過するごとに絨毛は伸張するものの対照群と比較すると短い絨毛が認められた。

0日齢（出生直後、未授乳）の妊娠中期低栄養群の回腸吸収上皮細胞において、核上部に巨大ライソゾームが観察され

た。

21日齢において、対照群では回腸吸収上皮細胞内に巨大ライソゾームが見られなかったが、妊娠中期低栄養群においては認められた。

妊娠中期低栄養群の盲腸では、いずれの時期においても対照群との違いは見られなかった。

0日齢（出生直後、未授乳）の妊娠中期低栄養群および対照群の結腸近位部では、ヒダの上およびヒダとヒダの間に絨毛様構造が観察された。その粘膜上皮には吸収上皮細胞が見られ、核上部には巨大ライソゾームが観察された。

14日齢の妊娠中期低栄養群ではヒダの上およびヒダとヒダの間に絨毛様構造が一部観察され、巨大ライソゾームは日数を経過するごとに拡大した。しかし、21日齢では絨毛様構造および巨大ライソゾームを持つ吸収上皮細胞は見られなかった。

14日齢および21日齢の対照群では、絨毛様構造および巨大ライソゾームライソゾームを持つ吸収上皮細胞は見られなかった。

結腸遠位部ではいずれの時期においても対照群と同様に絨毛様構造は見られなかった。

- (2) 平成28年度は、Wistar 系妊娠ラットを通常飼育（正常群、対照群）、または妊娠初期に低栄養、その後は通常摂食させ（妊娠初期低栄養群）、各群の母ラットから出生した新生仔ラットを用いて生後0日齢（出生直後、未授乳）、7、14、21日齢の腎臓、小腸（空腸、回腸）および大腸（盲腸、結腸近位部、結腸遠位部）を採取し、超微形態学的に検索を行った。0日齢（出生直後、未授乳）の妊娠初期低栄養群の空腸はいずれの時期においても対照群との違いはほとんど見られ

なかった。

0日齢（出生直後、未授乳）の妊娠初期低栄養群の回腸では対照群よりも絨毛が短く、日数を経過するごとに絨毛は伸張するものの対照群と比較すると短い絨毛が認められた。

21日齢において対照群では回腸吸収上皮細胞内巨大ライソゾームが見られなかったが、妊娠初期低栄養群においては認められた。

妊娠初期低栄養群の盲腸では、いずれの時期においても対照群との違いは見られなかった。

0日齢（出生直後、未授乳）および7日齢の妊娠初期低栄養群および対照群の結腸近位部では、ヒダの上およびヒダとヒダの間に絨毛様構造が観察された。その粘膜上皮には吸収上皮細胞が見られ、核上部には巨大ライソゾームが観察された。

14日齢の妊娠初期低栄養群ではヒダの上およびヒダとヒダの間に絨毛様構造が一部観察され、巨大ライソゾームは日数を経過するごとに拡大した。しかし、21日齢では絨毛様構造および巨大ライソゾームを持つ吸収上皮細胞は見られなかった。

14日齢および21日齢の対照群では、絨毛様構造および巨大ライソゾームライソゾームを持つ吸収上皮細胞は見られなかった。

結腸遠位部ではいずれの時期においても対照群と同様に絨毛様構造は見られなかった。

PAS染色の結果、妊娠初期低栄養群および対照群の小腸および大腸の上皮において、杯細胞が赤紫色に染色された。両群の回腸、盲腸および結腸近位部において、巨大ライソゾームを持つ吸収上皮細胞では巨大ライソゾームの膜およびそ

の内部がわずかに反応した。

- (3) 平成29年度はWistar系妊娠ラットを通常飼育(正常群、対照群)、妊娠後期(15~21日)に低栄養を行い、その他の時期は通常摂食させ(妊娠後期低栄養群)、各群の母ラットから出生した新生仔ラットを用いて生後0日齢(出生直後、未授乳)、の小腸(空腸、回腸)および大腸(盲腸、結腸近位部、結腸遠位部)を採取し、超微形態学的に検索を行った。0日齢(出生直後、未授乳)の妊娠後期低栄養群の空腸は対照群(正常群)との違いはほとんど見られなかった。妊娠後期低栄養群の回腸では対照群よりも絨毛が短く、日数を経過するごとに絨毛は伸張するものの対照群と比較すると短い絨毛が認められた。妊娠後期低栄養群の回腸吸収上皮細胞内には、対照群には見られない巨大ライソゾームが認められた。妊娠後期低栄養群の盲腸では、対照群と同様に管腔側に向かって伸びた絨毛様構造が観察された。妊娠後期低栄養群の結腸近位部では、対照群と同様に管腔側に向かって伸びた絨毛様構造がヒダの上およびヒダとヒダの間に観察された。妊娠後期低栄養群の結腸遠位部では、対照群と同様に絨毛様構造は見られなかった。
- (4) 妊娠中の低栄養の時期の違い(妊娠初期、妊娠中期および妊娠後期)が出生後の児の消化管に及ぼす影響に関する比較検討を行った。0日齢(出生直後、未授乳)では管腔に伸びた絨毛とその基部に浅い陰窩が観察された。一方、低栄養群の空腸では対照群と比較していずれの時期においてもほとんど違いが見られなかった。0日齢(出生直後、未授乳)の回腸では、妊娠初期低栄養群よりも妊娠中期低栄養群、さらに妊娠後期低栄養群において対照群よりも短い絨毛が認められ

た。、日数を経過するごとに絨毛は伸張するものの対照群と比較すると短い絨毛が認められた。

0日齢(出生直後、未授乳)の妊娠初期、中期および後期低栄養群の回腸吸収上皮細胞内に巨大ライソゾームが認められた。吸収上皮細胞では、妊娠初期低栄養群よりも妊娠中期低栄養群、さらに妊娠後期低栄養群において大きなライソゾームが認められた。

妊娠初期、中期、後期低栄養群の盲腸では、いずれの時期においても対照群との違いは見られなかった。

0日齢(出生直後、未授乳)の妊娠初期、中期、後期低栄養群および対照群の結腸近位部では、ヒダの上およびヒダとヒダの間に絨毛様構造が観察された。その粘膜上皮には吸収上皮細胞が見られ、核上部には巨大ライソゾームが観察された。

7日齢の妊娠初期、中期低栄養群および対照群においても同様であった。

14日齢の妊娠初期および中期低栄養群ではヒダの上およびヒダとヒダの間に対照群では見られない絨毛様構造が観察された。絨毛様構造は、妊娠初期低栄養群よりも妊娠中期低栄養群において長かった。

妊娠初期、中期、後期低栄養群の結腸遠位部では、いずれのじきにおいても対照群との違いは見られなかった。

- (5) 妊娠初期、中期および後期低栄養群の回腸において、対照群と比較して細く短い絨毛が観察されことから、低栄養群では対照群よりも回腸における吸収面積が狭く、栄養素の吸収が少ないことが考えられる。
- (6) 0日齢(出生直後、未授乳)の妊娠初期、中期および後期低栄養群の回腸吸収上皮細胞内に巨大ライソゾームが認められた。対照群の0日齢(出生直後、未授乳)の回腸吸収上皮細胞内に、巨大ライソゾームは見られなかった。また、21日齢において、妊娠初期低栄養群および対照群では回腸吸収上皮細胞内に巨大ライソゾームが見られなかったが、妊娠中期低栄養群においては認められた。以

前の研究では、乳飲期の吸収上皮細胞では母乳中のタンパク質などをエンドサイトーシスにより大量に細胞内に取り込み、細胞内消化を行うことが知られていることから、低栄養群の回腸では胎児期にすでに高分子物質をエンドサイトーシスにより吸収上皮細胞内に取り込んでいる可能性が示唆される。

- (7) 妊娠初期、中期低栄養群の回腸では、日数を経過しても絨毛が対照群と比較して短かったことから、妊娠中に低栄養状態になると、出所後の小腸、特に回腸における栄養素の消化・吸収に影響を及ぼすことが示唆される。
- (8) 0日齢、7日齢の妊娠初期、中期、後期低栄養群と対照群、14日齢の妊娠初期、中期低栄養群の結腸近位部において、絨毛様構造と巨大ライソゾームを持つ吸収上皮細胞が観察されたことから、対照群と比較して栄養の吸収期間を長くしていることが考えられる。
- (9) 妊娠中の低栄養の時期によっても差異が認められたことから、妊娠中の低栄養状態は、出生後の小腸および大腸における形態、構造および機能に影響を及ぼすことが考えられ、エピゲノム変化を引き起こすことが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計4件)

熊谷奈々、三成由美、藤田 守：妊娠中の低栄養が出生後の児の栄養補給系(小腸)に及ぼす影響に関する三次元的解析、第64回日本栄養改善学会全国学術総会、2017

熊谷奈々、馬場良子、三成由美、徳井教孝、藤田 守：栄養補給法の違いが新生児(仔)空腸吸収上皮細胞の吸収機構に及ぼす影響に関する超微形態学的・免疫組織化学的研究、第4回日本栄養改善学会九州・沖縄支部学術総会、2016

熊谷奈々、馬場良子、三成由美、藤田守：妊娠中の低栄養は出生後の栄養補給

系(小腸)に影響を及ぼす、第62回日本栄養改善学会学術集会、2015

藤田 守、熊谷奈々、馬場良子、森本景之、小林道也、中村桂一郎：胎内低栄養環境における消化管のエピゲノム変化、第47回日本臨床分子形態学会総会・学術集会、2015

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他](計1件)

藤田 守 中村宏子 熊谷奈々 川俣沙織 上原清子 太田啓介 中村桂一郎 馬場良子：栄養補給系の変容に基づく育児支援に関する基礎的研究、中村学園大学・中村学園大学短期大学部 プロジェクト研究 研究成果報告書 第4号、2016

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊谷奈々 (KUMAGAI, Nana)
中村学園大学・栄養科学部・助教
研究者番号：70552983

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし

(4) 研究協力者
なし