

令和 3 年 4 月 6 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00858

研究課題名(和文) 妊婦のトリプトファン代謝異常と低出生体重の関係～トリプトファン摂取の効果の解析～

研究課題名(英文) Relationship between tryptophan metabolism abnormality during pregnancy and low birthweight: effect of tryptophan supplementation

研究代表者

佐野 光枝 (Sano, Mitsue)

滋賀県立大学・人間文化学部・准教授

研究者番号：20524911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内胎児発育遅延(IUGR)の母体でセロトニン合成能力が低下することが明らかになっている。そこで妊娠ラットに低タンパク質飼料を与える方法でIUGRのモデルラットを作成し、これにトリプトファン(Trp)を負荷することでIUGRの症状が改善するかどうかを検討した。IUGRの改善のメカニズムを明らかにするために現在最後の結果を解析中であり、また今後さらなる研究も必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満や糖尿病などの生活習慣病を持つ人は世界中で増加しており、日本も例外ではない。低出生体重児はこの生活習慣病のリスクを持っていることが明らかになっていることから、出生体重を増加させることや、出生後の病気の発症を予防するための先制医療につながる基礎研究は重要である。本研究は妊娠中の食餌にTrpを負荷することでIUGRが改善するかどうかを調べた。なぜTrpの負荷によってIUGRが改善するのかは、本研究期間内に明らかにするに至らなかったが、今後関係する遺伝子の修飾状態を調べたり、Trp負荷の期間を変えるなどして今後明らかにしていきたい。

研究成果の概要(英文)： It has become clear that intrauterine growth restriction (IUGR) is a result of the mother's declining ability to synthesize serotonin. Therefore, we produced IUGR model rats by providing low-protein diets to pregnant mothers, and investigated whether adding tryptophan (Trp) to the maternal diet improved the birthweight of IUGR fetuses. We are currently analyzing the samples to clarify the mechanism of this improvement, but further studies will also be necessary in the future.

研究分野：分子栄養学

キーワード：トリプトファン代謝 子宮内胎児発育遅延

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮内胎児発育遅延 (IUGR) は、推定児体重が妊娠週数別の推定児体重基準曲線で一定値未満の場合診断される。日本の低出生体重児の出生率は年々増加しており、これが肥満や生活習慣病、学習障害等の増加と関連があると考えられている。必須アミノ酸の一つである Trp は異化代謝の過程でセロトニン、メラトニン、キノリン酸、ナイアシン (ビタミン B₃) といった重要な生理活性物質が作られる。セロトニンは神経伝達物質であり、さらに膵臓の細胞の増殖を促進してインシュリンの分泌能を上昇させる作用を持つ。

研究代表者らはこれまでに、安定同位体ラベルされた Trp と 3 つの代表的代謝産物であるセロトニン、L-キヌレニン、QA をガスクロマトグラフ質量分析計を用いて同時定量する方法を開発し、さらに安定同位体ラベルされた Trp を妊娠ラットに投与してラベル物質の代謝動態と胎盤輸送を解析するトレーサー実験を行ってきた。そして妊娠初期から末期まで低タンパク質飼料を与えた IUGR のモデルラットではセロトニンの合成能力が低下し、その胎児でナイアシンの合成能力が低下することを明らかにした。研究代表者らはこの結果から、母体の Trp の摂取量や体内での代謝異常が、IUGR で生まれた子供が持つ肥満や生活習慣病、学習障害のリスクと関連があるのではないかと考えている。

2. 研究の目的

IUGR は全妊娠の 8 ~ 10% を占め、生まれた子供は生活習慣病等の発症リスクが高くなるとの報告がある。研究代表者が研究協力者である Darmaun 教授の下で行った先行研究の結果から、IUGR モデルラットは Trp からセロトニンを合成する代謝経路が抑制されていることが明らかになった。そこで本研究は、その現象を人間の IUGR でも共通して起こるかどうかを検証すると共に、セロトニンの前駆体である Trp の経口摂取によって IUGR の症状が改善するかどうかを明らかにする。また更に Trp 代謝経路が IUGR の発症に關与するメカニズムを解明することを目的としている。

3. 研究の方法

申請時の計画では、2 年間に ~ の 3 つの研究を行う予定であった。IUGR の妊婦さんの血液中のセロトニン含量がコントロールの妊婦さんと比較して低値を示すかどうかを調べる研究。IUGR モデルラットに Trp を経口摂取させ、IUGR が改善するかどうかを検証する研究。で IUGR の妊婦さんのセロトニン含量が低値を示し、で IUGR の改善効果が認められた場合、IUGR のヒトに安定同位体ラベルした Trp を摂取してもらい、安定同位体ラベルされたセロトニンを始めとした Trp 代謝産物産生量を解析する研究である。

研究期間に実施した項目は、の一部と、そしてで得られたサンプルを用いてエピゲノム解析を行う研究である。ではフランスの研究室にてセロトニンを HPLC で分析できるように測定法を立ち上げたが、血液サンプルを得ることが出来なかったため分析には至らなかった。予定どおり実施されたでは妊娠ラットに 8% タンパク質を含む低タンパク質飼料を与える方法で IUGR モデルラットを作成すると同時に、低タンパク質飼料に Trp を負荷することで IUGR が改善するかどうかを調べた。Trp 負荷は負荷しない群 (0% Trp 群)、コントロール飼料と同じ Trp 摂取量になるように与えた群 (0.1% Trp 群)、0.1% Trp 群の 10 倍量の Trp を負荷した群 (1% Trp 群) の 3 群に分けた。妊娠初日から出産直前の 20 日目まで実験飼料を与え、飼育期間中に 3 回採尿を行った。妊娠 20 日目に帝王切開にて出産させ、子の体重を測定して安楽死の後、母仔の肝臓と血液、羊水のサンプルを採取した。サンプル中の Trp、セロトニン、セロトニンの代謝産物である 5-HIAA (5-hydroxyindole acetic acid) の含量を分析した。また肝臓サンプルからゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト

シーケンス法にてエピゲノム修飾状態の異常を調べた。

4. 研究成果

動物実験において、妊娠 20 日目の母体の体重は 4 群間に差は無かったが、胎児の体重は低タンパク質食に 0%Trp 群及び 0.1%Trp 群で低値を示し、更に 1%Trp 群ではコントロールと同じレベルに回復していた。コントロール飼料中の Trp 含量は、低タンパク質食飼料に 0.1%Trp 添加した飼料と全く同じであるが、胎児の体重は単純に Trp 摂取量を同じレベルにするだけでは回復しないことが明らかになった。しかし添加する Trp 含量を 10 倍に増やすと、胎児の体重がコントロールと同じレベルまで増加し、IUGR から回復することが明らかになった。この時の母体と胎児体内の Trp 及び Trp からセロトニンを合成する代謝経路で重要なセロトニンと 5-HIAA 含量を分析した結果から推察すると、母体のセロトニン代謝は低タンパク質食摂取によって低下するが、Trp 摂取量を 10 倍に増やすことでコントロールと同じレベルに回復すると考えられる。また胎児では分析した 3 つの物質の含量が 4 群間で差が無かったことから、胎児のセロトニン合成経路は低タンパク質の影響も Trp 添加の影響も受けていないと考えられる。しかし母体のインシュリン分泌によるエネルギー代謝経路が改善することで胎児の発育が回復したのではないかと考えている。

サンプル採取が出来なかった の研究では、研究代表者が日本で分析しているものと同じ方法で、セロトニンや Trp の分析をフランスでも実施できるように分析方法を立ち上げることができた。しかし、予定外の（フランス側の）人手不足と予算不足のためにサンプルを得られなかったため、実際に分析することはできなかった。

の研究が頓挫してしまったため、の研究で得られた肝臓や羊水、血液サンプルを用いて DNA のメチル化修飾が IUGR モデルラットにおいて起こっているか否かを調べた。注目した遺伝子は生活習慣病に関連すると予想されるものを選択し、パイサルファイトシーケンス法で調べたが現時点で有意差のある結果は得られていない。

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〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：Dominique Darmaun

ローマ字氏名：ドミニク ダーマン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。