

令和元年5月22日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07732

研究課題名(和文) 妊娠期における日本型低栄養による次世代の生活習慣病素因形成機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenesis of lifestyle-related diseases in next generation caused by Japanese-type malnutrition during pregnancy

研究代表者

平井 静 (Hirai, Shizuka)

千葉大学・大学院園芸学研究科・准教授

研究者番号：90432343

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)：日本型低栄養としてたんぱく質および糖質制限に着目し、妊娠期におけるこれらの低栄養が次世代の糖代謝に影響を及ぼすメカニズムについて検討を行った。その結果、マウスにおける妊娠期の総エネルギー制限(たんぱく質を含むすべてのエネルギー源の制限)が次世代における膵臓細胞の発達を阻害し、その結果インスリン分泌不全による糖代謝不全を引き起こすに対し、妊娠期の糖質のみの制限によるエネルギー制限は膵臓の発達には影響せず、白色脂肪細胞の小型化を介してインスリン感受性を亢進する可能性が示唆された。同様の結果は、さらに日本の現状を反映した、肥満の雄マウスと妊娠期低栄養の雌マウスを用いたモデルにおいても認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、現在の日本人、特に妊娠を経験する若い女性や同年代の男性に多く認められる食生活パターンを反映した動物モデルを使用して、周産期の栄養が次世代に及ぼす影響をそのメカニズムとともに検討した。本研究で得られた成果は、日本人のための妊娠期栄養学の新たな知見になったとともに、糖尿病などの生活習慣病の発症を出生前から予防する先制医療という観点からも、極めて社会的意義を有するものであると考える。

研究成果の概要(英文)：Focusing on protein and carbohydrate restriction as Japanese-type malnutrition, we investigated the mechanism by which malnutrition during pregnancy affects the glucose metabolism in the next generation. As a result, total energy restriction (restriction of all energy sources including proteins) during pregnancy inhibited the development of pancreatic beta cells in the next generation, resulting in impaired glucose metabolism due to insulin deficiency. On the other hand, only carbohydrate restriction during pregnancy did not affect pancreatic development but may enhance insulin sensitivity through increasing small sized adipocytes in the next generation. Similar results were also observed in a model using obese male mice and pregnant malnourished female mice that reflect the current situation in Japan.

研究分野：栄養生理学

キーワード：妊娠期低栄養 日本型低栄養 糖質制限 糖代謝異常 男性肥満

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

### 1. 研究開始当初の背景

現在、我が国では、男性を中心として肥満人口が増大する一方で、戦中戦後の貧しさによる低栄養とは異なるタイプの栄養失調が進行している。すなわち、ダイエットや健康志向による粗食が原因となって生じるたんぱく質や糖質の摂取不足を特徴とする低栄養状態である。実際、厚生労働省「国民健康・栄養調査」の結果によると、ここ10年でみても、脂質摂取量はほぼ横ばいであるのに対して、糖質とたんぱく質の摂取量低下は著しく<sup>1)</sup>、そのため、特に20-30代の出産世代の女性におけるやせ人口は17.6-21.5%と非常に高くなっている<sup>2)</sup>。

近年、肥満や生活習慣病の新たな発症説として、胎生期における低栄養環境がこれらの疾患の素因となることが報告されているが、これまでに行われてきた基礎研究では、妊娠期における摂取エネルギーやたんぱく質の不足に着目したモデルが主体で、特に後者の場合はたんぱく質を制限する代わりに糖質を補う実験設定となっている。しかし、日本の産科臨床においては、低たんぱく質高糖質を母体が摂取することに起因する胎児発育不全はほぼ皆無であるという<sup>3)</sup>。また、近年、男性側の栄養状態も次世代に影響することが報告されていることから<sup>4)</sup>、日本人男性で主に問題となっている高脂肪摂取による肥満と、女性の低栄養による痩せとの相互作用についても検討する必要がある。

これまでの我々の研究において、摂取エネルギーの主体で、かつ日本人において摂取量低下が著しい「糖質」に着目し、マウスの妊娠後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次世代に及ぼす影響を、たんぱく質を含むすべてのエネルギー源の制限(総エネルギー制限)の影響と比較検討したところ、糖質制限下で出生した仔マウスでは、総エネルギー制限やたんぱく質制限下で出生したマウスで認められる高脂肪食誘導性の肥満や糖・脂質代謝異常の増悪化が認められないことが明らかになり、糖質制限下で出生した仔マウスでは、生後に糖質を有効に利用するための代謝システムの素因が胎生期に形成されている可能性が示唆された。

### 2. 研究の目的

#### (1) 妊娠期の日本型低栄養による次世代の糖代謝制御メカニズムの解明

妊娠期におけるたんぱく質制限は次世代において高脂肪食誘導性の糖代謝異常を増悪化させるのに対して、糖質制限ではそのような増悪化は認められない。そこで、このメカニズムを解明するために、インスリン分泌を行う膵臓に着目し、妊娠期における日本型低栄養、すなわち、たんぱく質または糖質の摂取制限を受けた母獣から出生した仔マウスの新生仔期における膵臓の発達の違いを検討する。

#### (2) 父親の肥満と母親の低栄養が次世代における生活習慣病発症に及ぼす影響

出産世代の日本人の食生活の現状をより反映したモデルとして、高脂肪食摂取によって肥満を呈した雄マウスとたんぱく質または糖質を制限した低栄養飼料を摂取した雌マウスを交配・出産させ、出生仔における代謝変化を検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 妊娠期の日本型低栄養による次世代の糖代謝制御メカニズムの解明

雌雄のC57BL/6Jマウスを交配し、妊娠10日目の雌マウスを、標準食を自由摂取させる対照群、摂取量を減少させることで摂取エネルギーを対照群の40%制限した総エネルギー制限群、糖質のみの制限により摂取エネルギーを40%制限した糖質制限群の3群に分けて各飼料を給与し、出産させた。全ての出生仔は対照群と同様の栄養環境で出産を経験した雌マウスに3週間哺育させ、里親マウスには対照食を給与した。授乳期間中の新生仔マウスを経日的に解剖して血液と膵臓を採取し、血中グルコースおよびインスリン濃度の測定と膵臓β細胞の解析を行った。

#### (2) 父親の肥満と母親の低栄養が次世代における生活習慣病発症に及ぼす影響

13週間の高脂肪食負荷により肥満および糖・脂質代謝異常を呈したC57BL/6J雄マウスと普通食を摂取させた正常な同系統の雌マウスを交配させ、妊娠10日目の雌マウスを、(1)と同様に対照群、総エネルギー制限群、糖質制限群の3群に分け、出産させた。また13週間普通食を摂取させた正常な雄マウスも正常な雌マウスと交配させ、妊娠10日目以降は対照食を給与し、出産させた。出産後の雌マウスには普通食を給与し、出生仔は3週間で離乳させた。5週齢に達した仔マウスに高脂肪食を摂取させ、15週目に経口糖負荷試験を行った後、16週目に解剖を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 妊娠期の日本型低栄養による次世代の糖代謝制御メカニズムの解明

総エネルギー制限群も糖質制限群も出生時体重は対照群より有意に低値を示したものの、離乳時までにはcatch up growthを示し体重差がなくなった。しかし新生仔期の皮下脂肪組織重量は、糖質制限群では対照群と同等であったのに対し、総エネルギー制限群では高値を示したことから、総エネルギー制限群では離乳時にすでに肥満の表現型を示していることが

わかった。

新生仔期における血中インスリン濃度推移を検討したところ、両群とも出生時には有意に低値を示したものの、離乳時には差が認められなくなった。また雄の総エネルギー制限群では、離乳時の血糖値に差が認められなかった。

そこで、膵臓のインスリン免疫組織染色を行い、膵島の解析を行ったところ、糖質制限群では新生仔期を通して対照群と同等であったのに対し、総エネルギー制限群では膵島数が少ない傾向が認められ、また離乳時には小型ながらもインスリン染色に対して強く陽性反応を示す膵島が認められた。このことより、妊娠期の糖質制限は出生仔の膵臓の発達に影響を及ぼさないが、総エネルギー制限は、血中インスリン濃度を維持するために新生仔期より少数の膵島を酷使し、それによって成獣後に糖代謝能が破綻する可能性が示唆された。

## (2) 父親の肥満と母親の低栄養が次世代における生活習慣病発症に及ぼす影響

肥満の雄マウスを正常な雌マウスと交配させた場合、交配率と腹仔数が有意に低下した。また、成獣後の雄仔マウスに高脂肪食を摂取させたところ、対照群と比較して糖質制限群では高脂肪食摂取による体重増加が有意に抑制され、皮下脂肪および腎臓周囲脂肪組織重量もそれぞれ有意に低下および低下傾向を示した。また、父親の肥満によって肝臓中トリグリセリド含量が有意に増加したが、母マウスの妊娠期糖質制限により有意に抑制され、妊娠期糖質制限は出生仔における脂質代謝異常を改善する可能性が示唆された。

さらに、糖代謝への影響に関して検討するため、経口糖負荷試験を行ったところ、妊娠期総エネルギー制限群では血中インスリン濃度の有意な低下と高脂肪食誘導性の高血糖状態の維持が認められ、膵臓の発達不全による糖代謝異常が示唆された一方で、糖質制限群では血中インスリン濃度および血糖値がいずれも有意に低下しており、インスリン感受性の亢進が示唆された。

そこで、インスリン免疫染色による膵臓細胞の解析を行ったところ、総エネルギー制限群の膵臓では、膵島数の減少により膵島総面積が減少傾向を示したのに対して、糖質制限群では膵臓の発達に影響は認められなかった。また白色脂肪組織である腎臓周囲脂肪組織内の脂肪細胞サイズを計測したところ、父マウスの肥満は肥大化脂肪細胞数を有意に増加させる結果となったが、母マウスの妊娠期糖質制限によって肥大化脂肪細胞数の有意な減少と小型脂肪細胞数の有意な増加が観察された。同様の結果は遺伝子発現レベルでも認められ、父マウスの肥満は脂肪細胞分化のマスターレギュレーターとして知られる PPAR mRNA 発現を有意に低下させたが、母マウスの妊娠期糖質制限は PPAR の標的遺伝子である aP2 mRNA 発現とインスリン感受性亢進に作用する adiponectin mRNA 発現を有意に上昇させた。

以上の結果より、父親の肥満は生殖率を低下させるだけでなく、仔における脂質代謝異常の増悪化や肥大化脂肪細胞の増加に関わることが示された。また、母親の妊娠期総エネルギー制限は、仔の膵臓の発達を抑制し、インスリン分泌能を減弱させることで糖代謝異常を誘導する一方で、妊娠期糖質制限は、仔の膵臓の発達には影響せず、脂肪細胞の小型化によりインスリン感受性を亢進させることで糖代謝を改善する可能性が示唆された。

## < 引用文献 >

- 1) 厚生労働省「国民健康・栄養調査」栄養素等摂取量
- 2) 厚生労働省「平成 25 年 国民健康栄養調査の概要」
- 3) DOHaD 研究 4(1): 62-64. 2015.
- 4) Ng SF et al., Nature 467: 963. 2010.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 9 件)

1. 石井彩香、平井静、中村絵里、小澤彩花、江頭 祐嘉合  
父親の肥満と母親の妊娠期栄養制限がマウス次世代の糖・脂質代謝に及ぼす影響  
日本農芸化学会 2019 年度大会、2019 年
2. 石井彩香、平井静、中村絵里、小澤彩花、江頭 祐嘉合  
父親の肥満と母親の妊娠期栄養制限による次世代の糖・脂質代謝への影響  
第 39 回日本肥満学会、2018 年
3. 平井静  
動物実験からみた妊娠期糖質制限が出生仔の糖・脂質代謝に及ぼす影響  
第 42 回日本産科婦人科栄養・代謝研究会(招待講演) 2018 年
4. 中村絵里、平井静、石井彩香、小澤彩花、江頭 祐嘉合  
父親の肥満と母親の妊娠期栄養制限が仔の糖・脂質代謝に及ぼす影響  
第 7 回日本 DOHaD 学会、2018 年
5. 石井彩香、平井静、中村絵里、小森誠、戸田絢子、江頭祐嘉合

妊娠期における糖質制限が新生仔期の糖代謝に及ぼす影響

第7回日本DOHaD学会、2018年

6. 石井彩香、平井静、小森誠、戸田絢子、越野由希絵、西野光里、江頭祐嘉合  
周産期における糖質制限が出生仔の行動に及ぼす影響  
第71回日本栄養・食糧学会大会、2017年
7. 小森誠、平井静、越野由希絵、西野光里、石井彩香、戸田絢子、江頭祐嘉合  
妊娠後期における糖質摂取状態がマウスの行動及びストレス応答に及ぼす影響  
日本農芸化学会2017年度大会、2017年
8. 平井静、田高梨子、清水佑宇也、越野由希絵、小森誠、江頭祐嘉合  
胎生期低栄養とメタボリックシンドローム発症との関連性～糖質制限の影響  
第37回日本肥満学会、2016年
9. 小森誠、平井静、越野由希絵、西野光里、石井彩香、戸田絢子、江頭祐嘉合  
妊娠後期における糖質制限と出生仔の行動異常との関連性  
第5回日本DOHaD研究会学術集会、2016年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし