

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：33915

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11679

研究課題名（和文）子宮内プログラミングによる肥満発症に対する母親の咀嚼運動の効果に関する多角的研究

研究課題名（英文）Multifaceted study on the effect of maternal chewing on obesity development due to intrauterine programming

研究代表者

山田 久美子（Yamada, Kumiko）

名古屋女子大学・健康科学部・講師

研究者番号：70737189

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠期の子宮内環境は胎児の発達に影響を及ぼすだけでなく、出生後の子の健康障害を発症させる素因を形成することが示唆されている。本研究では、母体へのストレスと咀嚼運動が肥満発症に関連する様々な要因にどのような影響を及ぼすのかを離乳期の仔について多方面から検討した。母体へのストレスと咀嚼運動は、離乳期の仔における腸内細菌叢、骨髄由来間葉系幹細胞の増殖能および脂肪細胞への分化、摂食にかかわるホルモン受容体の発現に影響を及ぼすことが明らかとなった。妊娠中のストレス下での咀嚼運動は、出生後の仔マウスの肥満発症を抑制する効果を示す可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は母体へのストレスと咀嚼運動が離乳期の仔へどのような影響を及ぼすのかについて、腸内細菌叢や間葉系幹細胞、摂食関連ホルモンなど多方面からアプローチし、肥満発症との関連を明らかにしたことに学術的意義がある。また、「噛む」ことは、食べることを通して日常的に行われている非常に簡単な活動であるが、妊娠中に母親が積極的に噛むことを行うことで、子の将来の肥満発症を抑制する効果を示す可能性があること示し、「噛む」ことの有効性を提言することができる。

研究成果の概要（英文）：The intrauterine environment during pregnancy not only affects fetal development but also forms predisposing factors for health disorders in offspring after birth. In this study, we investigated the effects of maternal stress and chewing on the factors related to the obesity development in weaning offspring from various perspectives. Maternal stress and chewing were found to have various effects on weaning offspring, including gut microbiota, the proliferation and differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into adipocytes, and the expression of hormone receptors involved in feeding behaviors. These findings suggested that maternal chewing during stress could attenuate obesity risk in their offspring.

研究分野：解剖生理学

キーワード：咀嚼運動 ストレス 肥満 子宮内プログラミング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国では、ストレスによる健康障害はますます増加しており、厚生労働省により実施されている「国民生活基礎調査」では、2001年以降、約半数の人が日常生活で悩みやストレスを感じていると報告されている。さらに、女性においては、妊娠によって身体が大きく変化することは、肉体的、精神的に様々なストレスとなり、多くの妊娠中の女性が何らかのストレスを感じていることになる。

近年、DOHaD 仮説が注目されており、胎児期の低栄養などのストレスで、生理的、代謝的プロセスが永続的に変化するという子宮内プログラミングにより、妊娠期の子宮内環境は胎児の発達に影響を及ぼすだけでなく、出生後の子の健康障害発症の素因を胎児期に形成することが示唆されている。

咀嚼運動は消化の最初の段階であり、毎日必ず行われる運動である。この働き以外にも咀嚼運動の多様な効果が明らかとなっており、ストレス緩和作用もその一つであり、妊娠期のストレスによる学習障害を咀嚼運動が改善させることが報告されている。

ストレス、肥満および腸内細菌叢の相互の関係について、多くの研究により明らかになりつつあるが、母体へのストレスや咀嚼運動が出生後の仔において、摂食にかかわるホルモンや腸内細菌叢、脂肪細胞へと分化する骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) など肥満発症に関連する様々な要因に及ぼす影響について多方面からアプローチした研究はほとんどみられない。そこで、本研究では妊娠期のストレスおよび咀嚼運動が出生後の仔の離乳期において、肥満発症に関連する諸要因にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とする。

2. 研究の目的

妊娠期のストレスは、出生後に様々な健康障害を起こすリスクが高まることが示唆されている。妊娠期の腸内細菌叢は出産、授乳を通して子へと伝えられ、離乳期には最初の腸内細菌叢が完成すると考えられる。また、腸内細菌叢と肥満発症との関連も明らかになりつつある。本研究では、母体へのストレス負荷や咀嚼運動を行わせた妊娠マウスから出生した仔マウスを用いて、摂食を開始する離乳期において、腸内細菌叢、MSCの増殖能や脂肪細胞への分化能の評価および摂食関連ホルモンなどの定量などを行う。これらの結果より、母体へのストレスや咀嚼運動が離乳期において、肥満発症に関連する様々な要因にどのような影響を及ぼすのかを解明する。

3. 研究の方法

妊娠マウスを拘束ストレスを負荷する群、ストレス負荷と同時に咀嚼運動を行わせる群およびストレス負荷も咀嚼運動も行わせない群に分けた。拘束ストレス負荷と咀嚼運動は Onishi らの方法に従い、妊娠 12 日目から連続 7 日間行った。拘束ストレスを負荷した妊娠マウスから出生した仔マウスを「ストレス群」、ストレス負荷と同時に咀嚼運動を行わせた妊娠マウスから出生した仔マウスを「咀嚼群」およびどちらも行わせない妊娠マウスから出生した仔マウスを「対照群」とした。出生後の仔マウスは、離乳期まで飼育し実験に供した。

(1) 体重と脂肪量の測定

出生後の仔マウスは離乳期である 4 週齢まで 1 週間ごとに体重を測定した。仔マウスの脂肪量については、左右の精巣周囲の脂肪を摘出し、重量を測定した。

(2) 腸内細菌叢の解析

母マウスについては、ストレス負荷開始後 7 日目の拘束ストレスおよび咀嚼運動終了直後に糞便を採取し、仔マウスについては、試料採取前に糞便を採取した。糞便から抽出したゲノム DNA を次世代シーケンサーでメタゲノム解析を行い、菌叢組成および菌叢比較解析を行った。

(3) 血中レプチン濃度およびレプチン受容体発現量の測定

仔マウスについて、麻酔下で心臓より採血し、血清を採取後、血中レプチン濃度の測定を ELISA 法により行った。また、レプチン受容体の発現解析のため、安楽死させた仔マウスの脳より視床下部を摘出した。ウェスタンブロット法によるタンパク質レベルでの発現定量および定量 PCR による mRNA の発現定量を行った。

(4) 骨髄由来間葉系幹細胞の増殖能および脂肪細胞への分化能の測定

仔マウスの骨髄に含まれる MSC をコンフルエントまで培養し、Bromodeoxyuridine (BrdU) を用いた増殖能の定量を行った。さらに、定量 PCR により、MSC の転写因子やホルモン受容体の発現定量を行った。

4. 研究成果

(1) 体重と脂肪量の測定

ストレス群、咀嚼群および対照群の出生後、4週齢までの体重変化に有意な差はみられなかった(図1)。各群の4週齢の子マウスの脂肪量については、ストレス群と咀嚼群でわずかに減少したが有意な差は認められなかった(図2)。

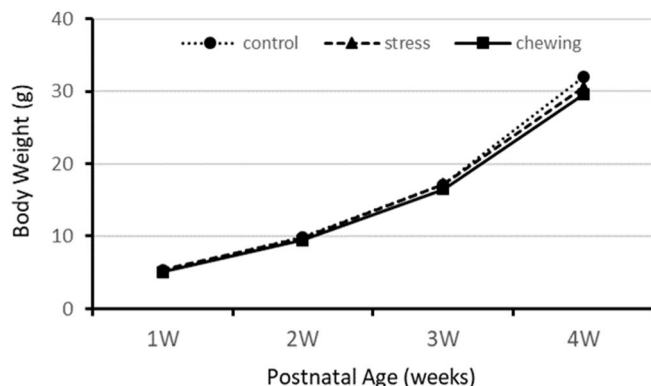


図1. 出生後の体重の変化

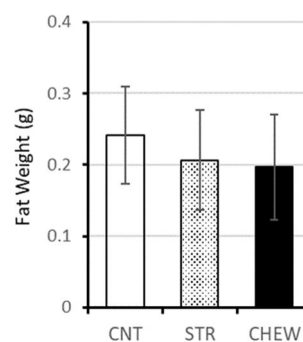


図2. 仔マウスにおける脂肪量

(2) 腸内細菌叢の解析

母体へのストレスおよび咀嚼運動によって、母マウスおよび離乳期の仔マウスで腸内細菌叢の構成に変動が認められた。バクテロイデス門 (Bacteroidetes) は、母マウスと仔マウスともに、対照群と比較してストレス群で減少した。ファーミキューテス門 (Firmicutes) は、バクテロイデス門と逆の傾向を示し、ストレス群で増加した。

ファーミキューテス門とバクテロイデス門との比を表す F/B 比は、母マウスと仔マウスともに、対照群と比較してストレス群で高くなるが、咀嚼運動によって上昇緩和の傾向が認められた(図3)。F/B 比は肥満との関連が報告されており、F/B 比が高い方が肥満になりやすいと報告されている。

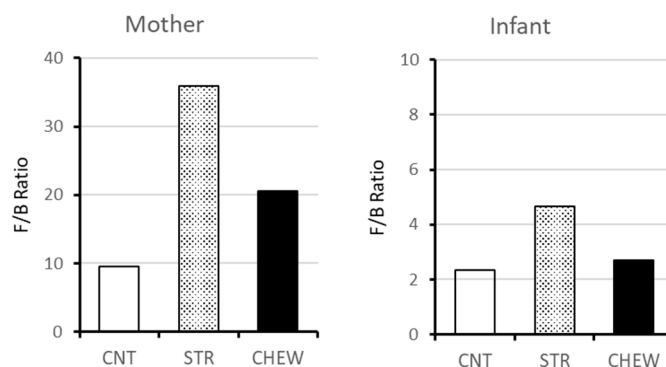


図3. Firmicutes/Bacteroidetes 比

(3) 血中レプチン濃度およびレプチン受容体発現量の測定

4週齢の子マウスにおける血中レプチン濃度は、咀嚼群でわずかに減少する傾向がみられたが、有意な差は認められなかった(図4)。レプチンは脂肪細胞で産生・分泌されるホルモンであるが、離乳期の仔マウスでは、各群で脂肪量に差は認められなかったため、レプチン濃度にも有意な差はなかったと考えられる。

レプチン受容体は多くの組織で発現しているが、摂食調節には特に、視床下部での発現が大きく関与していると言われている。ウェスタンブロット法によるタンパク質レベルでの発現定量では、対照群と比較して

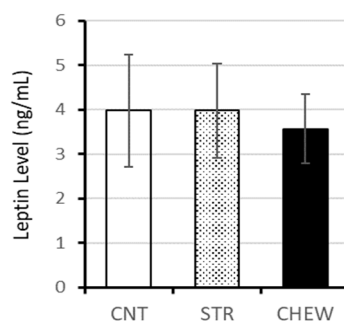


図4. 仔マウスにおける血中レプチン濃度

ストレス群で有意な発現低下が明らかとなったが、咀嚼運動により低下緩和が認められた(図5)。定量PCRによる遺伝子レベルでの発現定量では、ストレス群で有意な発現低下確認された。

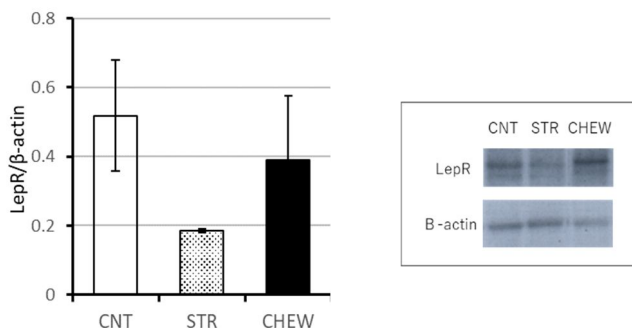


図5. 仔マウスにおけるレプチン受容体の発現

(4) 骨髄由来間葉系幹細胞の増殖能および脂肪細胞への分化能の測定

仔マウスの骨髄から採取したMSCの増殖能は、対照群と比較してストレス群で上昇したが、咀嚼運動によって上昇緩和の傾向が認められた(図6)。

脂肪細胞への分化にかかわる転写因子については、分化促進に関与するPPARは、ストレス群で有意な発現上昇が確認された。また、レプチン受容体についても同様に、有意な発現上昇が認められた。

しかし、本研究結果からは、MSCの脂肪細胞への分化に対する母マウスの咀嚼運動の効果については、明らかになっておらず、さらなる検討が必要である。

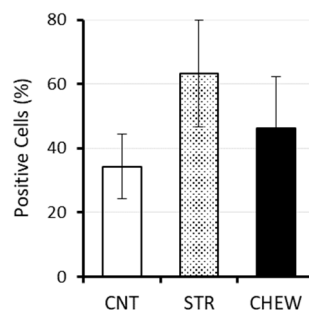


図6. 仔マウスのMCSの増殖能

<引用文献>

Barker DJ, Maternal nutrition, fetal nutrition, and disease in later life. *Nutrition*, 1997, 13, 807-813

Onishi M, et al, Learning deficits and suppression of the cell proliferation in the hippocampal dentate gyrus of offspring are attenuated by maternal chewing during prenatal stress. *Neurosci Lett*, 2014, 560, 77-80

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald Ma, et al, An Obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 2006, 444, 1027-1031

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田久美子、近藤貴子
2. 発表標題 母体ストレスが離乳期仔マウスの間葉系幹細胞の増殖に及ぼす影響について
3. 学会等名 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山田久美子、近藤貴子、飯沼光生
2. 発表標題 母体ストレスが離乳期仔マウスにおける肥満発症関連因子に及ぼす影響
3. 学会等名 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

〔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	近藤 貴子 (Kondo Takako) (60737203)	名古屋女子大学・健康科学部・講師 (33915)	
研究分担者	飯沼 光生 (Iinuma Mitsuo) (70184364)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	

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
---------	---------