

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：32625

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11699

研究課題名(和文) 妊娠期の母親の栄養・遺伝子多型とワンカーボン代謝との関連

研究課題名(英文) The associations with nutritional status and gene polymorphism and one carbon metabolism in pregnant women

研究代表者

川端 輝江 (Kawabata, Terue)

女子栄養大学・栄養学部・教授

研究者番号：80190932

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～出産時までの母親のワンカーボン代謝に関与する血中成分を、遺伝子多型及び葉酸摂取状況を踏まえたうえで解析した。その結果、血清中5-メチルテトラヒドロ葉酸(5-MTHF)及びホモシステインはサプリメント葉酸の摂取と最も強く関連した。また、メチオニン合成酵素還元酵素(MTRR)遺伝子型及びベタイン-ホモシステインメチルトランスフェラーゼ(BHMT)遺伝子型はワンカーボン代謝を構成する成分に影響する可能性が示唆された。ワンカーボン代謝を検討する際、葉酸摂取状況に加え、両遺伝子多型を踏まえたうえでの解析が重要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎生期の望ましくない栄養環境は、成人期の生活習慣病の発症素因を形成する。この素因は遺伝子発現を制御するエピジェネティック修飾と考えられている。エピジェネティック修飾に関与するワンカーボン代謝は、アミノ酸やビタミン等の各種栄養素摂取量の、さらに、この代謝に関わる酵素の遺伝子多型の影響を受ける。本研究では、妊娠中の母親の栄養状態と各種酵素の遺伝子多型、さらには、血中のワンカーボン代謝物質について解析した。ワンカーボン代謝を正常化するための妊娠期の母親の栄養状態、すなわち、胎生期の望ましい栄養環境について、どのようにあるべきかの提言に繋げることが可能と考えている。

研究成果の概要(英文)：Serum components involved in maternal one-carbon metabolism from early pregnancy to delivery were analyzed based on genetic polymorphisms and folic acid intake. The results showed that serum 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) and homocysteine were most strongly associated with supplemental folic acid intake. The methionine synthase reductase (MTRR) genotype and betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT) genotype were also suggested to influence the components of one-carbon metabolism. When examining one-carbon metabolism, it is important to take into account both gene polymorphisms and folic acid intake.

研究分野：基礎栄養学

キーワード：ワンカーボン代謝 葉酸 遺伝子多型 妊娠期 栄養素摂取量

1. 研究開始当初の背景

胎生期の望ましくない栄養環境が、児のその後の生活習慣病発症の素因を形成し、出生後のマイナスインス環境要因が負荷される事で、種々の疾病が発症すると考えられている。この素因はエピジェネティック修飾の変化と想定されている。現在までの多くの疫学研究から、出生体重の低下により発症リスクの高くなる疾患として、虚血性心疾患、2型糖尿病、本態性高血圧、脳梗塞、脂質異常症、神経発達異常が知られている。

エピジェネティック修飾には、DNA やヒストンたんぱく質のメチル化修飾がある。図1に示したとおり、DNA へのメチル基供与体として働く s-アデノシルメチオニン (SAM) を生成するワンカーボン代謝 (1炭素単位の転移反応) では、多くの酵素が働き、また、葉酸、ビタミン B2、B12、メチオニン、グリシン等の栄養素及びその中間代謝物が関与している。そのため、ワンカーボン代謝はアミノ酸、ビタミン・ミネラル等の各種栄養素摂取量に影響を受ける。さらに、この代謝に関わる酵素の遺伝子多型の影響も受ける。従って、遺伝子多型を踏まえた上で、ワンカーボン代謝を正常に機能させるためには、母親の栄養がどのような状態にあるべきなのか、解明すべき課題となっている。

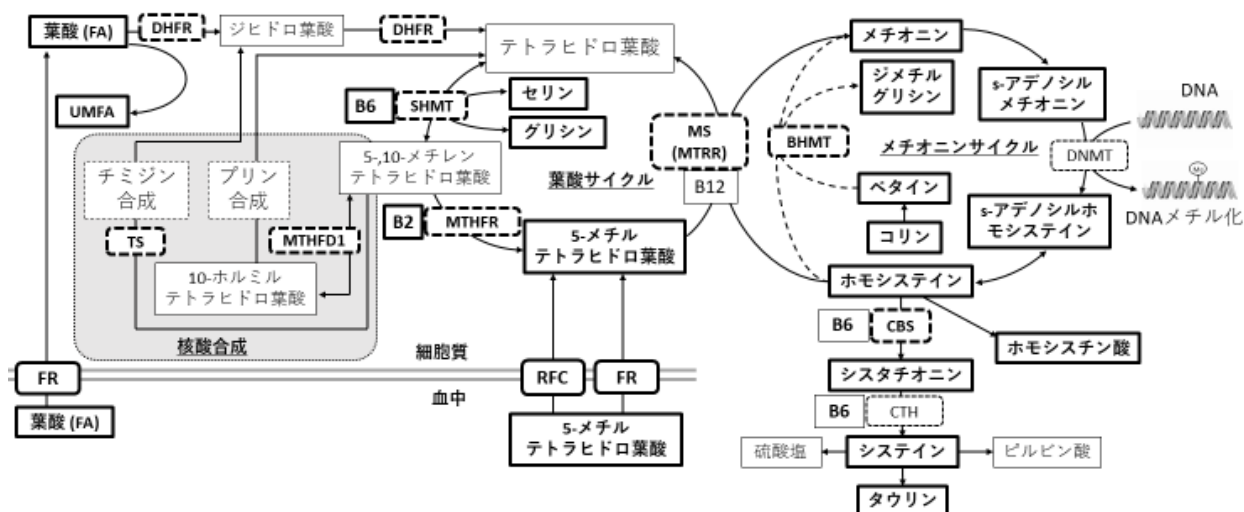


図1 ワンカーボン代謝

2. 研究の目的

我々は妊娠初期～出産時までの母親の末梢血と胎児血（臍帯血）を用いて、ワンカーボン代謝に関与する栄養成分及び中間代謝物を統合的に解析し、ワンカーボン代謝に関与する母親の栄養摂取状態及び遺伝的素因との関連を検討した。

3. 研究の方法

本研究は、出生コホート研究である「胎児期に始まる子どもの健康と発達に関する調査:Chiba study of Mother and Children's Health (C-MACH)」(研究責任者:千葉大学、森千里と早稲田大学、福岡秀興)で得られた母体血(妊娠初期及び後期、分娩時)と臍帯血を利用した。C-MACHは、出生コホート研究の提携病院で出産した母親とその児約500母児ペアを対象としている。また、食事調査はBDHQ(簡易型自記式食事歴法質問票:brief-type self-administered diet history questionnaire)により、採血と同時期に実施している。

本研究では、上記出生コホート研究で得られた血液検体について、ワンカーボン代謝関連物質と酵素遺伝子多型の分析を実施した。

①UPLC-MS/MS 分析

ワンカーボン代謝に関与する以下の代謝物を、UPLC-MS/MS分析によって同時定量した。
 ホモシチン酸、タウリン、セリン、システイン、グリシン、ホモシチン酸、リボフラビン(B2)、メチオニン、ピリドキシン及びピリドキサミン(B6)、シスタチオン、SAM、s-アデノシルホモシチン酸(SAH)、ベタイン、コリン、ジメチルグリシン(DMG)、5-メチルトetrahydrofolate(5-MTHF)、未代謝葉酸等

②遺伝子多型解析

ワンカーボン代謝に関与する以下の酵素タンパク質の遺伝子多型を解析した。
 MTHFR(メチレンtetrahydrofolate還元酵素・rs1801133)、MTR(メチオニン合成酵素・rs1805087)、MTRR(MS還元酵素・rs1801394)、SHMT(セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ・rs1979277)、

BHMT (ベタイン-ホモシステインメチルトランスフェラーゼ・rs3733890)、*DHFR* (ジヒドロ葉酸還元酵素・rs70991108)

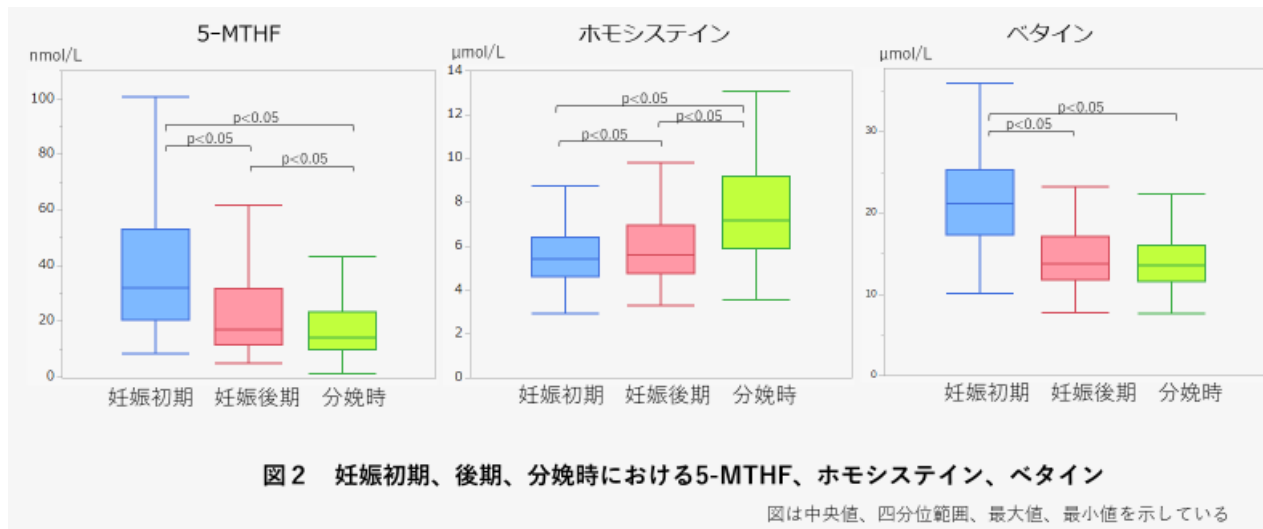
③解析方法

遺伝子多型は DNA 採取を行うことのできた A 及び B 病院についてデータを示す。また、ワンカーボン代謝に関与する成分に関する解析については、データのクリーニングが完了している A 病院に絞って解析を行った。

4. 研究成果

(1) 妊娠期間中の葉酸栄養状態

図 2 に示した通り、妊娠の経過に伴い、血清中 5-MTHF は有意に低値を、ホモシステインは有意に高値となった。ベタインは初期に対して、妊娠後期及び分娩時には有意に低値であった。妊娠の経過に伴って、体内の活性型葉酸は不足し、その結果メチル基供与が不足することで、ホモシステインからメチオニンへの代謝が低下した可能性が示唆された。ベタインから DMG への代謝が亢進し、ベタインの利用が高まった可能性も示唆された。



(2) 母児の遺伝子多型解析結果

MTHFR、*MTR*、*MTRR*、*BHMT*、*SHMT*、*DHFR* の母と児それぞれの遺伝子型の人数分布を表 1 に示した。それぞれの遺伝子型における人数分布について、ハーディ・ワインベルグ平衡検定を行ったところ、法則に適合していることを確認した。変異型の出現頻度が低かった遺伝子については、ヘテロ型と合わせて解析を行った。すなわち、*MTR* 及び *MTRR* は AG 型と GG 型を合計し G アレルとして、*BHMT* は GA 型と AA 型を合計し A アレルとして、*SHMT* は CT 型と TT 型を合計し T アレルとした。

表 1 母児の遺伝子型別人数分布

	遺伝子型	母		児	
		人数	割合	人数	割合
<i>MTHFR</i>	CC	117	(35.8)	102	(100.0)
	CT	164	(50.2)	120	(117.6)
	TT	46	(14.1)	52	(51.0)
<i>MTR</i>	AA	218	(66.9)	173	(63.1)
	AG	96	(29.4)	88	(32.1)
	GG	12	(3.7)	13	(4.7)
<i>MTRR</i>	AA	169	(52.0)	138	(50.4)
	AG	134	(41.2)	108	(39.4)
	GG	22	(6.8)	28	(10.2)
<i>BHMT</i>	GG	197	(60.8)	154	(56.4)
	GA	111	(34.3)	108	(39.6)
	AA	16	(4.9)	11	(4.0)
<i>SHMT</i>	CC	121	(83.4)	101	(84.2)
	CT	24	(16.6)	18	(15.0)
	TT	0	(0.0)	1	(0.8)
<i>DHFR</i> *	DD	69	(47.6)	55	(46.6)
	DI	66	(45.5)	52	(44.1)
	II	10	(6.9)	11	(9.3)

*D: 欠損あり、 I: 欠損なし

①ワンカーボン代謝に関与する代謝物をそれぞれ目的変数、*MTHFR* 遺伝子多型、食事性葉酸摂取量、サプリメント葉酸の有無、母の年齢、BMI、出産回数を説明変数として重回帰分析を実施した。その結果を表 2 に示す。

いずれの妊娠時期においても、サプリメント葉酸なしに対してありでは、5-MTHF が有意に高値、ホモシステインが有意に低値を、妊娠後期及び分娩時において、ベタインは有意に高値を示

した。また、いずれの妊娠時期においても、食事性葉酸摂取量とベタインとの間には有意の正の
 関係あるいは関連傾向が見られた。表には示していないが、*MTR*、*MTRR*、*SHMT*、*BHMT*、*DHFR*をそ
 れぞれ説明変数に加え重回帰分析を行った結果においても、ほぼ同様の傾向を示した。以上より、
 5-MTHF とホモシステインとの関連は、どの遺伝子多型よりもサプリメント葉酸の有無の関連が
 強いことが明らかとなった。すなわち、葉酸サプリメントの摂取により 5-MTHF の供給が増えた
 ことで、ホモシステインからメチオニンへの代謝が亢進し、それによって、ホモシステインが低
 値を示したと考えられた。また、体内葉酸が不足することで、ホモシステインがメチオニンにな
 る際のメチル基供与に、ベタインがメチル基供与体として利用されている可能性が示唆された。

妊娠初期と分娩時において、*MTHFR* の TT 型に対して CT 型では有意にホモシステインが低値で
 あった。

表2 ワンカーボン代謝物と *MTHFR* 遺伝子多型及び葉酸摂取量との関連

	n	CC型*		CT型*		食事性葉酸摂取量		サプリメント葉酸あり**		
		Std β	p	Std β	p	Std β	p	Std β	p	
5-MTHF	妊娠初期	114	0.006	0.930	0.042	0.535	0.024	0.733	0.707	<.0001
	妊娠後期	109	0.100	0.164	-0.116	0.099	0.139	0.056	0.638	<.0001
	分娩時	101	0.048	0.532	0.096	0.205	0.070	0.369	0.586	<.0001
ホモシステ イン	妊娠初期	114	-0.028	0.756	-0.189	0.037	-0.209	0.026	-0.255	0.007
	妊娠後期	109	-0.148	0.118	-0.102	0.269	-0.155	0.105	-0.240	0.014
	分娩時	101	-0.145	0.125	-0.186	0.046	-0.147	0.124	-0.291	0.003
ベタイン	妊娠初期	114	-0.076	0.415	0.064	0.490	0.222	0.023	-0.050	0.608
	妊娠後期	109	0.067	0.488	-0.020	0.835	0.187	0.056	0.211	0.033
	分娩時	101	0.177	0.069	-0.001	0.993	0.306	0.002	0.204	0.039

*TT型を基準として **サプリメント葉酸摂取なしを基準として

共変量：母の年齢・BMI、出産回数

②妊娠初期において、*MTRR* の変異型 G アレルに対して AA 型では SAM が有意に低値を示した。さ
 らに、葉酸サプ
 リメントを摂取
 しない条件下に
 おいて、*MTRR* の
 変異型 G アレル
 に対して AA 型で
 は、SAM (妊娠初
 期、分娩時) が低
 く SAH (分娩時)
 が高かった (表
 3)。妊娠期間を
 通して一貫した
 結果が得られて
 いないものの、
 分娩時において
 は、野生型であ
 る AA 型では、前
 駆体 SAM が低値
 を、生成物 SAH が
 高値であり、SAM
 から SAH への変
 換が上昇してい
 る可能性が示さ
 れた。

表3 葉酸サプリメントなし群におけるワンカーボン代謝物と
MTRR 遺伝子多型及び葉酸摂取量との関連

	n	AA型*		食事性葉酸摂取量		
		Std β	p	Std β	p	
5-MTHF	妊娠初期	50	0.107	0.472	0.182	0.230
	妊娠後期	75	0.049	0.672	0.238	0.044
	分娩時	69	0.011	0.935	0.122	0.341
ホモシステイン	妊娠初期	50	-0.228	0.094	-0.458	0.002
	妊娠後期	75	-0.075	0.543	-0.255	0.042
	分娩時	69	0.004	0.977	-0.178	0.168
ベタイン	妊娠初期	50	0.130	0.364	0.438	0.004
	妊娠後期	75	-0.100	0.416	0.167	0.174
	分娩時	69	-0.151	0.233	0.214	0.086
SAM	妊娠初期	50	-0.299	0.050	0.147	0.336
	妊娠後期	75	-0.079	0.513	0.311	0.011
	分娩時	69	-0.262	0.046	-0.044	0.731
SAH	妊娠初期	50	0.030	0.842	0.159	0.296
	妊娠後期	75	-0.108	0.401	-0.070	0.582
	分娩時	69	0.313	0.015	0.191	0.122

*Gアレルを基準として

共変量：母の年齢・BMI、出産回数

③葉酸サプリメントを摂取しない条件下において、妊娠初期と後期では、*BHMT* の GG 型に対して、
 A アレルでは 5-MTHF が有意に低値を、また分娩時には低値傾向を示した。妊娠後期では、コリン
 とベタインが有意に低値を示した (表 4)。妊娠後期のこれらの結果より、ベタインを DMG へ
 変換する *BHMT* 酵素活性は、A アレルにおいて高い可能性が示された。*BHMT* 酵素活性が高ければ、
 5-MTHF からのメチル基供与反応は節約され、その結果、5-MTHF は高値となる可能性が考えられ
 る。しかしながら、本研究結果における 5-MTHF は低値であった。*BHMT* 遺伝子多型と葉酸代謝と

の関係について、さらなる調査が必要と考えられた。

表4 葉酸サプリメントなし群におけるワンカーボン代謝物とBHMT遺伝子多型及び葉酸摂取量との関連

		n	Aアレル		食事性葉酸摂取量	
			Std β	p	Std β	p
④SHMTのTアレルに対して、CC型では未代謝葉酸（妊娠後期）が有意に高値であった。また、葉酸サプリメントを摂取しない条件下においては、SHMTのTアレルに対してCC型ではベタイン及びシステインが有意に低値を示した（分娩時）。いずれの妊娠時期においても、DHFRの変異型II型に対してDI型ではホモシステインが有意に低値であった。しかしながら野生型ホモDD型ではこのような傾向はみられなかった。葉酸サプリメントを摂取しない条件下においては、妊娠初期において、DHFRがII型に対して、DD型ではSAMが有意に低値を、また、ホモシステインが低値傾向を示した。なお、ホモシステインとシステインはDI型では有意に低値であった。葉酸サプリメントを摂取しない条件下の分娩時において、MTRの変異型Gアレルに対してAA型では、FAが有意に高値を、メチオニンが有意に低値であった。これらの結果は、妊娠時期や遺伝子多型間で一貫していなかったことから、今後さらなる検討が必要と考えている。	妊娠初期	51	-0.300	0.033	0.114	0.419
	妊娠後期	75	-0.242	0.030	0.284	0.012
	分娩時	69	-0.231	0.065	0.165	0.181
ホモシステイン	妊娠初期	51	-0.101	0.449	-0.423	0.003
	妊娠後期	75	0.088	0.465	-0.254	0.039
	分娩時	69	-0.183	0.148	-0.143	0.252
ベタイン	妊娠初期	51	-0.042	0.761	0.404	0.007
	妊娠後期	75	-0.362	0.002	0.289	0.012
	分娩時	69	-0.006	0.963	0.254	0.042
コリン	妊娠初期	51	0.101	0.483	0.381	0.012
	妊娠後期	75	-0.357	0.003	0.243	0.041
	分娩時	69	-0.239	0.061	0.219	0.084

*GG型を基準として

共変量：母の年齢・BMI、出産回数

以上、妊娠初期～出産時までの母親の体内ワンカーボン代謝に関与する栄養成分及び中間代謝物を、遺伝子多型及び葉酸摂取状況を踏まえたうえで統合的に解析した。その結果、遺伝子多型を説明変数に加えたいずれの解析においても、5-MTHF及びホモシステインはサプリメント葉酸の有無が大きく関連していた。また、葉酸サプリメントなし群に対象者を絞込んだところ、MTRR遺伝子型はSAM及びSAHと、BHMT遺伝子型は5-MTHF及びベタイン、コリンとそれぞれ関係が見られた。

ホモシステインがメチオニンに代謝される際、MTRRによって葉酸からメチル基が供与される。この経路はこれまでも注目されてきたが、葉酸供給が低下している環境下では、BHMTによってベタインからメチル基が供与される副経路も重要であると考えられる。本研究では、MTRR及びBHMTの遺伝子多型がワンカーボン代謝に影響を及ぼしている可能性が明らかとなった。今後、ホモシステインへのメチル基供与を検討する際、両遺伝子多型を踏まえたうえでの解析が重要と考えられた。

今後、ホモシステインへのメチル基供与を検討する際、両遺伝子多型を踏まえたうえでの解析が重要と考えられた。

<引用文献>

① Kubo Y, Fukuoka H, Kawabata T, Shoji K, Mori C, Sakurai K, Nishikawa M, Ohkubo T, Oshida K, Yanagisawa N, Yamashiro Y: Nutrients. 2020; 12(6): 1633.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kubo Yoshinori, Fukuoka Hideoki, Kawabata Terue, Shoji Kumiko, Mori Chisato, Sakurai Kenichi, Nishikawa Masazumi, Ohkubo Takeshi, Oshida Kyoichi, Yanagisawa Naotake, Yamashiro Yuichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Distribution of 5-Methyltetrahydrofolate and Folic Acid Levels in Maternal and Cord Blood Serum: Longitudinal Evaluation of Japanese Pregnant Women	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1633 ~ 1633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12061633	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Azusa, Kawabata Terue, Kagawa Yasuo, Shoji Kumiko, Kimura Fumiko, Miyazawa Teruo, Tatsuta Nozomi, Arima Takahiro, Yaegashi Nobuo, Nakai Kunihiro	4. 巻 165
2. 論文標題 Associations of umbilical cord fatty acid profiles and desaturase enzyme indices with birth weight for gestational age in Japanese infants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids	6. 最初と最後の頁 102233 ~ 102233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plefa.2020.102233	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 久保 佳範、福岡 秀興、川端 輝江、庄司 久美子、森 千里、櫻井 健一、西川 正純、大久保 剛、押田 恭一、柳澤 尚武、山城 雄一郎
2. 発表標題 血中ワンカーボン代謝関連物質濃度と児の出生時及び1か月時の体格との関連
3. 学会等名 第10回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 庄司久美子、久保 佳範、川端 輝江、福岡 秀興、森 千里、櫻井 健一、西川 正純、大久保 剛、押田 恭一、柳澤 尚武、山城 雄一郎
2. 発表標題 妊娠女性における葉酸代謝関連酵素遺伝子多型とワンカーボン代謝関連物質との関連
3. 学会等名 第10回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kumiko Shoji, Yoshinori Kubo, Hideoki Fukuoka, Terue Kawabata, Chisato Mori, Kenichi Sakurai, Masazumi Nishikawa, Kyoichi Oshida, and Yuichiro Yamashiro
2. 発表標題 One-carbon metabolism during pregnancy and the fetal period
3. 学会等名 22nd International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 庄司久美子、久保佳範、田島亜紀子、西川正純、香川靖雄、川端輝江
2. 発表標題 体内活性型5-MTHFを含むワンカーボン代謝物質のMTHFR C677T多型による分布
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会（オンライン開催）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原田みちる、福岡秀興、川端輝江、庄司久美子、櫻井健一、森千里、押田恭一、山城雄一郎
2. 発表標題 妊娠中の母体及び臍帯血清中脂肪酸組成と母体重増加量に対する不飽和化酵素活性
3. 学会等名 日本脂質栄養学会 第29回大会（オンライン開催）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久保佳範、福岡秀興、川端輝江、庄司久美子、森千里、櫻井健一、西川正純、大久保剛、押田恭一、柳沢尚武、山城雄一郎
2. 発表標題 妊娠中の葉酸サプリメント摂取がワンカーボン代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第8回日本DOHaD学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kubo Y, Fukuoka H, Kawabata T, Shoji K, Mori C, Sakurai K, Nishikawaa M, Ohkubo T, Oshida K, Yamashiro Y
2. 発表標題 Comprehensive evaluation of one carbon metabolism in maternal and cord blood and relationship to fetal and infant growth.
3. 学会等名 11th World Congress on DOHaD (国際学会)
4. 発表年 2019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	庄司 久美子(加藤久美子) (Shoji Kumiko) (50721825)	女子栄養大学・栄養学部・助教 (32625)	
研究分担者	福岡 秀興 (Fukuoka Hideoki) (80111540)	福島県立医科大学・医学部・特別研究員 (21601)	
研究分担者	櫻井 健一 (Sakurai Kenichi) (80323434)	千葉大学・予防医学センター・教授 (12501)	
研究分担者	森 千里 (Mori Chisato) (90174375)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	
研究分担者	西川 正純 (Nishikawa Masazumi) (90404839)	宮城大学・食産業学群・教授 (21301)	

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