

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16863

研究課題名（和文）妊娠中の明暗周期攪乱と胎児発育不全との関連メカニズム解明

研究課題名（英文）The mechanism of stunting growth caused by light-dark cycle disturbance from the embryonic period

研究代表者

笹脇 ゆふ（Sasawaki, Yuh）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：60850360

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠期の交代制勤務により低体重児が増加するリスクが指摘されているが、メカニズムは不明である。本研究では胎生期から出生早期の明暗周期攪乱による発育不全のメカニズム解明を目的とした。京都府立医科大学八木田研究室で開発されたリバーストランスレーショナル研究手法であるマウスコホート系を用いて胎生期から生後早期の明暗周期攪乱の影響を検討した。胎生9日齢から生後8週齢の間、明暗周期攪乱条件で飼育したマウスと明暗周期固定条件で飼育したマウスで体重を連続的に追跡した。その結果雌雄とも明暗周期攪乱条件に曝露したマウスで体重が減少している傾向を示した。従って本実験系はメカニズム解明にとって有効な系だと示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疫学的研究で妊娠期の交代制勤務により低体重児が増加するリスクが報告されているが、ヒトを対象とした研究では様々な交絡因子等の影響により、メカニズムを正確に明らかにすることは難しい。このような実社会での課題を解決するため、リバーストランスレーショナル研究手法であるマウスコホート系を用いることにより、交絡因子等を除いた実験を行うことができ、現象やその背景メカニズムを検討することができる。本研究において、明暗周期攪乱条件に曝露したマウスで体重が減少している傾向が見られたことは、マウスコホート系の有用性を示唆しており、実社会で起きている課題の解決方法を検討するにあたって有効な方法であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The risk of low birth weight due to shift work during gestation has been reported, but the mechanism is unknown. The purpose of this study was to reveal the mechanism of stunting growth caused by light-dark cycle disturbance from the embryonic period to early birth. We examined the effects of light-dark cycle disturbance from the embryonic period to the early postnatal period using a mouse cohort system, a reverse translational research method developed in the Dr. Yagita's Laboratory of Kyoto Prefectural University of Medicine. Body weights of mice reared under the light-dark cycle disturbance condition and those reared under the fixed light-dark cycle condition were continuously followed from 9 days of gestation to 8 weeks of age. The results showed that both male and female mice exposed to the light-dark cycle disturbance tended to lose weight. Therefore, it is suggested that this experimental system is effective for elucidating the mechanism.

研究分野：時間生物学

キーワード：シフトワーク 胎児発育 母子同調

### 1. 研究開始当初の背景

近年、我が国では低出生体重児の割合が男児 8.4%、女児 10.6%まで上昇しており、大きな問題となっている[厚生労働省人口動態統計, 2015] (図 1)。低出生体重児と関連する要因はいくつか報告されているが、そのうちの 1 つに妊娠期の母体の交代制勤務労働(シフトワーク)と低出生体重児の関連が報告されており [Xu et al., Occup Environ Med, 1994; Bodin et al., Epidemiology, 1999]、妊娠期のシフトワークによる低出生体重児のリスクが示唆されている。しかし、母親のシフトワークにより子の発育不全が引き起こされるメカニズムは明らかになっていない。

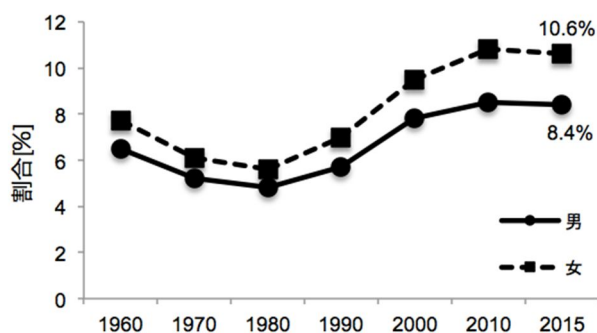


図1. 低出生体重児の年次推移 厚生労働省人口動態統計2015より作成

また、筆者が所属する京都府立医科大学統合生理学教室(八木田研究室)では、発生初期(胎生 10-12 日)のマウスでは体内時計は形成されていないが、発生後期(胎生 17-19 日)の段階では体内時計が形成され、母子同調が形成されることを明らかにした[Umemura et al., PNAS, 2017]。この知見は、母体がシフトワークにより明暗周期攪乱に曝露してしまった場合、母体と胎児の体内時計の不一致が起きる可能性を示唆している。したがって、我々は特に体内時計形成時期を含む胎児期から出生早期における明暗周期攪乱が胎児の発育に影響を与えるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、体内時計形成時期を含む胎児期から出生早期における明暗周期攪乱が胎児の発育に与えるメカニズムを解明することである。そのために、まず 1 つめの目的として、本当に明暗周期攪乱が胎児の発育に影響を与えるかどうか、マウスを用いて検討を行った。1 つめの目的が達成されたのち、2 つめの目的として明暗周期攪乱が胎児発育不全を引き起こすメカニズムについて検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 明暗周期攪乱が胎児の発育に与える影響

まず、メカニズムの解明に先立ち、第 1 の目的として本当に明暗周期攪乱が胎児発育に影響を与えるかどうか検討を行うことにした。これは、疫学的調査でシフトワークと低出生体重時との関連が報告されているものの、ヒトを対象とした疫学的研究では交絡因子の存在が大きいため、因果関係やメカニズムを正確に明らかにすることは難しい。したがって、マウスを用いて飼育環境や餌等を統一した状況において、明暗周期攪乱が胎児発育に影響を与えるかどうかを明らかにする必要がある。この課題については、筆者が所属する京都府立医科大学八木田研究室で独自に開発されたリバーストランスレショナル研究手法の 1 つである「マウスコホート」モデル系を用いることにした。本研究では、C57BL/6J マウスを用いて、胎生 9 日齢から出生したあと生後 8 週齢までの間、マウスを明暗周期攪乱条件(明暗周期が 2 日ごとに反転: Shift 条件)と、コントロールとして明暗周期を固定した通常の飼育条件(12 時間明期:12 時間暗期: LD 条件)に曝露させた。生後 8 週齢を過ぎると、Shift 条件、LD 条件ともに通常の飼育条件(12 時間明期:12 時間暗期)に戻して飼育を続けた。2 週齢から 20 週齢までは週 1 回、20 週齢以降は 2 週間に 1 回の体重測定を実施した。離乳後、マウスは雌雄別のケージでグループハウス(4-6/1 ケージ)条件にして飼育した。マウスの飲料水と餌については Shift 条件と LD 条件で共通させ、マウスが自由に食事・飲水を摂れるようにした。さらに Shift 条件と LD 条件から 4 匹ずつ抽出し、個別ケージで飼育し赤外線センサを用いて行動リズムパターンを記録した。得られた行動リズムパターンを比較し、マウスが明暗周期に同調できているかどうかを評価した。

#### (2) 明暗周期攪乱が胎児発育不全を引き起こす要因の検討

(1)においてマウスの体重変化を確認したのち、明暗周期攪乱が胎児発育不全を引き起こす要因を検討する。筆者が所属する八木田研究室では、主要な概日リズム同調因子の 1 つであるグルココルチコイドが母子同調に重要な役割を果たしている可能性を見出しており[Umemura et al., 未発表データ]、グルココルチコイドの母子同調作用と、明暗周期攪乱による影響について着目し、メカニズム解明を進めている。

#### 4. 研究成果

##### (1) 明暗周期攪乱が胎児の発育に与える影響

胎生 9 日齢から出生したあと生後 8 週齢の間、Shift 条件と LD 条件で飼育したマウスの行動リズムを観察した。マウスは夜行性のため、LD 条件では、ライトが消灯されている時間(暗期)に活発に動き回っており明暗周期に同調していることが確認された。一方、Shift 条件で飼育している間、マウスは暗期だけではなく明期(ライトが点灯している時間)にも動き回っていたり、一定のリズムを示して活動していないことが示された。このことから、Shift 条件のマウスの行動リズムは明暗周期に同調できていないことが示された。したがって、Shift 条件はマウスの同調不全を引き起こす明暗周期攪乱条件であることが確認された。8 週齢を超えた後 Shift 条件マウスを LD 条件に変更して飼育すると、マウスはしばらくして LD 条件に同調して夜間に活動する行動リズムを示し始め、以降その行動リズムが持続した。

続いて、Shift 条件と LD 条件のマウスの体重変化を観察した。雌雄ともに離乳直後から Shift 条件で体重が小さいことが示された。その後雄マウスでは有意差が見られなくなるものの、一貫して Shift 群の方が小さい傾向があり、生後 32 週齢から再び Shift 群で有意に体重が軽いことが示された。雌マウスでは離乳直後から Shift 群の方で体重が有意に軽く、その後も一貫して Shift 群の方が体重が有意に軽い状態が続いていた。さらに 20 週齢頃から、LD 条件では体重の増加幅が大きくなり傾きが急になるが、Shift 条件ではそのような傾向は示されなかった。

これらのことから、胎生 9 日齢から出生したあと生後 8 週齢の間、明暗周期が 2 日ごとに反転する Shift 条件に曝露させることで、マウスの発育不全を引き起こすことが明らかになった。交絡因子を除いたマウスを用いた実験においてもこのような結果が示されたということは、妊娠期の明暗周期攪乱が胎児発育不全を引き起こすことを示唆している。したがって、疫学的調査で示唆されている、妊娠期の明暗周期攪乱と低出生体重児との関連は、交絡因子を完全に除いた実験であっても支持されることが明らかになった。さらに、明暗周期攪乱に曝露した場合、出生時に体重が軽いだけでなく、成長して明暗周期が固定された条件で過ごしたとしても、発育がキャッチアップできず小さいままである可能性を示唆している。これらのことから、本モデル系は明暗周期攪乱が胎児発育不全を引き起こすメカニズム解明をするために適切な系であることが示された。筆者が所属する八木田研究室では、この実験系を用いて、さらにメカニズム解明に取り組んでいる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yuh Sasawaki, Hitoshi Inokawa, Yukiko Obata, Suzune Nagao, Kazuhiro Yagita	4. 巻 32
2. 論文標題 Association of social jetlag and eating patterns with sleep quality and daytime sleepiness in Japanese high school students	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Sleep Res	6. 最初と最後の頁 e13661
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jsr.13661	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 Hiroko Nakai, Yoshiki Tsuchiya, Nobuya Koike, Taiki Asano, Morio Ueno, Yasuhiro Umemura, Yuh Sasawaki, Ryotaro Ono, Jyunji Hamuro, Chie Sotozono, Kazuhiro Yagita	4. 巻 63
2. 論文標題 Comprehensive Analysis Identified the Circadian Clock and Global Circadian Gene Expression in Human Corneal Endothelial Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167/iovs.63.5.16	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 Ono Ryutarō, Abe Makoto, Koike Nobuya, Inokawa Hitoshi, Tsuchiya Yoshiki, Umemura Yasuhiro, Sasawaki Yuh, Yamamoto Toshiro, Wakisaka Satoshi, Kanamura Narisato, Yagita Kazuhiro	4. 巻 63
2. 論文標題 Quantitative morphometric analysis of molar teeth and alveolar bone using micro-computed tomography in aged mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 265 ~ 270
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2021.07.006	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 Koike Nobuya, Umemura Yasuhiro, Inokawa Hitoshi, Tokuda Isao, Tsuchiya Yoshiki, Sasawaki Yuh, Umemura Atsushi, Masuzawa Naoko, Yabumoto Kazuya, Seya Takashi, Sugimoto Akira, Yoo Seung-Hee, Chen Zheng, Yagita Kazuhiro	4. 巻 27
2. 論文標題 Inter-individual variations in circadian misalignment-induced NAFLD pathophysiology in mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 108934 ~ 108934
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2024.108934	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 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 笹脇ゆふ、井之川仁、小畑悠紀子、長尾涼音、八木田和弘
2. 発表標題 social jetlagと食事パターンと睡眠の質及び日中の眠気との関連
3. 学会等名 第47回日本睡眠学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹脇ゆふ、小池宣也、梅村康浩、八木田和弘
2. 発表標題 Dynamics of circadian rhythm from 3-shift rotation to 2-shift rotation in Japanese nurse
3. 学会等名 第28回時間生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹脇ゆふ、小池宣也、梅村康浩、八木田和弘
2. 発表標題 3交代勤務から2交代勤務への変更に伴う生理機能の概日リズム変化.
3. 学会等名 第113回近畿生理学談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹脇ゆふ、小池宣也、梅村康浩、小畑悠紀子、長尾涼音、八木田和弘
2. 発表標題 「3交代」勤務から「2交代」勤務の変更に伴う生理機能の概日リズム変化.
3. 学会等名 第16回環境生理学プレコンgres
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹脇ゆふ
2. 発表標題 看護師における3交代勤務から2交代勤務の変更に伴う概日リズムの生理機能変化
3. 学会等名 札幌睡眠フォーラム 第四回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹脇ゆふ
2. 発表標題 Mouse cohort study as the method of preventive medicine 予防医学としてのマウスコホート研究
3. 学会等名 時間生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹脇ゆふ、井之川仁、小畑悠紀子、長尾涼音、八木田和弘
2. 発表標題 日中の眠気の性差に関連する要因の検討
3. 学会等名 第48回日本睡眠学会学術大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 駒田陽子、三島和夫、岡島義、笹脇ゆふ、八木田和弘、田原優、原口敦嗣、中村孝博、斎藤かおり、鈴木正泰、高橋将記、他	4. 発行年 2023年
2. 出版社 ライフ・サイエンス	5. 総ページ数 118
3. 書名 睡眠医療	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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