

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461644

研究課題名(和文)胎児発育における母体のインスリン抵抗性とリパーゼ活性の役割の解明

研究課題名(英文)The role of maternal insulin resistance and lipase activity on fetal growth

研究代表者

平山 哲 (HIRAYAMA, Satoshi)

順天堂大学・医学部・先任准教授

研究者番号：10345506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠はインスリン抵抗性を増悪させる。その結果、トリグリセライドリッチリポ蛋白(TGRL)が増加する。粒子サイズが大きいTGRLは、胎盤を通過できず、母体と胎盤由来のリポ蛋白リパーゼ(LPL)がTGRLを水解し、生じた遊離脂肪酸が胎盤を通過して胎児発育を促進する。妊娠中、母体血LPL濃度は、妊娠初期よりも中期から後期に約28～35%低下した。一方、臍帯血LPL濃度は、 $84 \pm 31$  ng/mLと妊娠各期の母体血LPL濃度より1.2倍から2倍高かった。在胎期間で調整した児の出生時体重は、臍帯血LPL濃度と正相関した。胎盤に由来する臍帯血LPLは、脂質異化を介する胎児発育に促進的に働くことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Triglyceride-rich lipoprotein (TGRL) is catabolized to glycerol and free fatty acid (FFA) by the action of lipoprotein lipase (LPL). During pregnancy, FFA passes through the placenta and is used for fetal growth and development. Because insulin resistance inhibits maternal LPL activity, catabolism of TGRL is suppressed. Therefore, it is uncertain whether fetus can efficiently obtain FFA from maternal TGRL in gestational period. This study indicates that 1) insulin resistance affects glucose and lipid metabolism during pregnancy, 2) maternal LPL concentration decreases by about 28～35% because of insufficient insulin action, 3) mean LPL concentration in cord blood is about two folds higher than that in maternal blood during the second trimester and positively correlated with birthweight. These results suggest that LPL from placenta may compensate decrease of maternal LPL action, and promote fetus growth during pregnancy.

研究分野：医歯薬学

キーワード：リポ蛋白リパーゼ インスリン抵抗性 妊娠 臍帯血 胎児発育 脂質異常症

## 1. 研究開始当初の背景

妊娠は、糖尿病発症の危険因子の一つである。正常妊娠でも妊娠後期にインスリン抵抗性が増大し、約 10% に耐糖能異常を合併する。妊娠糖尿病は、巨大児を生じやすいが、逆に子宮内発育不全をきたす場合もある。

妊娠の進行に伴うインスリン抵抗性の増悪は、肝臓でのトリグリセライド(TG)合成を促進し、TG リッチ-リポ蛋白(TGRL)の産生が亢進する。正常妊婦は、妊娠前期にエネルギーを TG として脂肪組織に蓄積するが、妊娠後期には脂肪組織での脂肪分解が亢進し、胎児へ栄養を供給する。母体血中の TGRL に由来する TG は、リポ蛋白リパーゼ(LPL)や肝性リパーゼにより、遊離脂肪酸(FFA)とグリセロールに分解される。FFA は、ブドウ糖やケトン体と同様に胎盤を通過して胎児へ供給される。しかし、粒子サイズの大きいリポ蛋白やアルブミンと結合した FFA は胎盤を通過できない。胎児の肝におけるリポ蛋白の産生も未熟であり、TGRL は胎盤に取り込まれて再分泌されると考えられている。

妊娠中にインスリン抵抗性が増大するため、妊婦の血中 LPL 濃度は、非妊娠時の約 1/3 に抑制される。よって妊娠時の母体のリパーゼ活性がどの程度に TG の分解亢進に寄与するかは不明である。逆に、胎盤で産生される LPL は、インスリン抵抗性で上昇し、母体由来の血中 TGRL を分解する可能性もある。局所で TG の分解が亢進して生じる FFA は、効率よく胎盤や胎児の細胞に取り込まれるため、胎児発育を促進させるのに有利と考えられる。

以上より、本研究にて、日本人の妊娠女性におけるインスリン抵抗性の変化を経時的に解析することにより、妊娠時のインスリン抵抗性の増悪とリパーゼ活性の変動による脂質異化の作用機序、および両者を介する胎児発育の促進機序を明らかにできる可能性を考えた。

## 2. 研究の目的

日本人の妊娠女性におけるインスリン抵抗性の生理的意義を明らかにするため、正常妊婦を経時的に追跡し、(1)血清脂質・糖代謝および生化学検査マーカーの変動とインスリン抵抗性の関連、(2)インスリン抵抗性の増悪とリパーゼ活性の変動の関連、(3)母体血と臍帯血のリパーゼ活性の差異と胎児発育の関連、を検討する。

上記の検討により、妊娠時のインスリン抵抗性の増悪とリポ蛋白リパーゼ活性の変動を介する TGRL の代謝動態(異化)および胎児への脂質供給メカニズムを明らかにし、胎児発育における母体のインスリン抵抗性とリパーゼ活性の役割を解明する。

(1)血清脂質・糖代謝および生化学検査マーカーの変動とインスリン抵抗性の関連

妊娠初期(12週)、中期(25週)、後期(36週)、分娩3日後における糖代謝・脂質代謝関連指標、生化学検査マーカー、インスリン関連指標を測定する。経時的变化を観察し、健常人(非妊娠状態)との比較を行う。

(2)インスリン抵抗性の増悪とリパーゼ活性の変動の関連

妊娠週数別にインスリン抵抗性マーカーと母体血中 LPL 濃度を測定し、インスリン抵抗性の指標である HOMA 係数(HOMA-IR)を算出する。LPL を含めた脂質関連酵素を測定し、出生時体重や発育状況との関連を検討する。

(3)母体血と臍帯血のリパーゼ活性の差異と胎児発育の関連

母体血中では、インスリン抵抗性が増悪し、LPL 活性は抑制されている。しかし、脂質異化のため、胎盤で産生されるリパーゼ活性は、むしろ上昇している可能性がある。そこで、臍帯血中のインスリン

関連指標および脂質関連指標を測定することで、リパーゼ活性の差異と胎児発育（出生時体重）の関連を検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 対象

糖尿病や妊娠合併症のない妊娠女性 90 名（平均年齢  $34 \pm 4$  歳、平均 BMI  $21 \pm 2$  Kg/m<sup>2</sup>）および健常対照としてボランティア女性 30 名（平均年齢  $34 \pm 6$  歳、平均 BMI  $20 \pm 2$  Kg/m<sup>2</sup>）を対象とした。

#### (2) 方法

経時的に妊娠初期(12 週)、中期(25 週)、後期(36 週)、分娩 3 日後の早朝空腹時に採血した。血清脂質および脂質関連酵素、糖代謝関連検査および生化学関連検査値を評価し、各パラメーターの妊娠中の経時的变化、インスリン抵抗性の変動および胎児発育との関連を検討した。一部の妊娠女性では臍帯血も採取した。

TC, TG は酵素法、LDL-C, HDL-C はホモジニアス法、アポ蛋白は TIA 法、ヘパリン静注前 LPL 濃度 (Pr-LPL) は ELISA 法にて測定した。Blood glucose (BG) は HK 法、インスリン濃度 (IRI: immunoreactive insulin) は電気化学発光免疫法、HbA1c は HPLC 法で測定した。HOMA 係数 (HOMA-IR) は、BG x IRI/405 の計算式により算出した。ALP 活性は酵素法 (JSCC 標準化対応法) で測定した。

統計学的処理は、Statcel 4 (OMS, Tokorozawa, Japan) を用い、Student's t-test、Mann-Whitney U-test、Welch's t-test、Paired t-test、repeated measures ANOVA、Pearson's correlation coefficient による解析を行った。

### 4. 研究成果

(1) 妊娠時の血清脂質・糖代謝および生化学検査マーカーの変動とインスリン抵抗性の関連

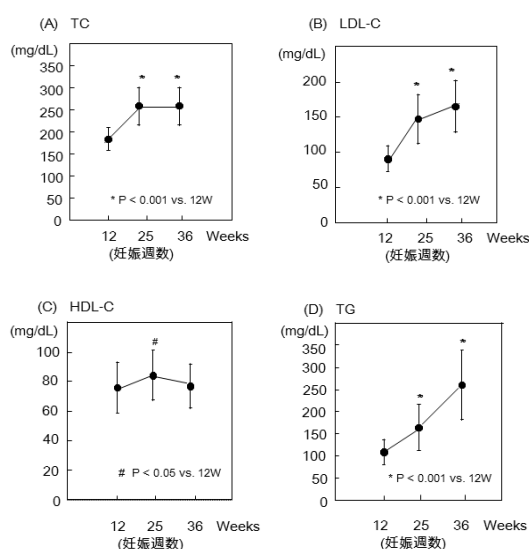
### 血清脂質検査

妊娠初期の TC および LDL-C 濃度は健常女性よりやや低く、HDL-C 濃度はやや高かった。(TC  $182 \pm 29$  vs.  $186 \pm 28$  mg/dL; LDL-C  $91 \pm 22$  vs.  $96 \pm 20$  mg/dL; HDL-C  $76 \pm 13$  vs.  $73 \pm 14$  mg/dL)。TG 濃度は有意に高かった (TG<sup>\*\*</sup>  $101 \pm 48$  vs.  $68 \pm 24$  mg/dL, \*\* p < 0.001)

これらの血清脂質値は、特に中期以降に大きく変動し、HDL-C を除き、TC, LDL-C, TG 濃度は、妊娠初期に比して約 1.5 から 2.7 倍に増加していた (図 1 A-D)。

妊娠初期のアポ蛋白 A- , B, C- 濃度は、健常群に比して差がなく、アポ蛋白 A- , C- , E 濃度は有意に低かった (A-  $28 \pm 5$  vs.  $31 \pm 4$  mg/dL ; C-  $1.8 \pm 1.4$  vs.  $2.8 \pm 1.0$  mg/dL ; E  $2.9 \pm 1.0$  vs.  $3.8 \pm 1.1$  mg/dL、全て P < 0.01)。妊娠中、アポ蛋白 A- 濃度は変化しなかったが、A- , B, C- , C- , E 濃度はいずれも初期に比し、中期から後期にかけて約 1.2 倍から 3.6 倍に上昇した。

図 1 妊娠時の血清脂質の変動



(第 58-59 回日本臨床検査医学会学術集会にて報告)

### 糖代謝およびインスリン抵抗性関連検査

妊娠初期の空腹時血糖値 (FBG) は、健常女性に比較して有意に低かったが (図 2 A)、HbA1c に差はなかった (妊娠初期群 vs. 健常群: FBG<sup>\*</sup>  $78 \pm 14$  vs.  $84 \pm 7$  mg/dL, \* p < 0.05;

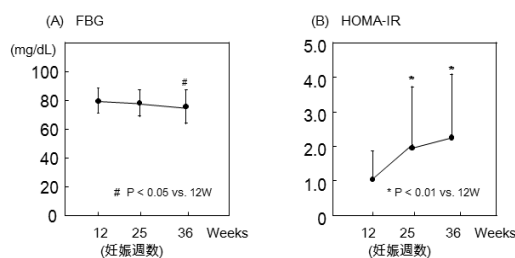
HbA1c  $5.2 \pm 0.2$  vs.  $5.2 \pm 0.3\%$ )。インスリン値およびHOMA 係数には差はなかった。

(妊娠初期群 vs. 健常群: IRI  $5.5 \pm 4.4$  vs.  $4.6 \pm 2.0$   $\mu\text{U}/\text{mL}$ ; HOMA-IR  $1.02 \pm 0.88$  vs.  $0.96 \pm 0.44$ )

一方、妊娠経過中のインスリン抵抗性は、妊娠週数とともに増大し、中期以降は、初期および健常女性の約2倍まで増大した。

(HOMA-IR:  $1.0 \pm 0.9$  [12W],  $2.0 \pm 1.9$  [25W],  $2.2 \pm 1.9$  [36W]) (図2B)

図2 空腹時血糖とインスリン抵抗性の変動



(第58-59回日本臨床検査医学会学術集會にて報告)

#### 生化学検査

妊娠時には、エストロゲンの分泌が亢進し、胎盤においてALP4が産生される。よって、母体のALP活性は、胎児の栄養状態や胎盤の形成・機能を反映する可能性があると考えられた。

血清ALP活性は、妊娠初期は健常群より有意に低かったが、中期および後期では健常群より有意に高かった。妊娠中の血清ALP活性は、妊娠初期に比し、中期から後期にかけて約1.4から3倍に有意に上昇した(学会発表4-第62回日本臨床検査医学会学術集會報告)。

以上の結果より、妊娠中にインスリン抵抗性は生理的に大きく変動し、種々の生化学的な代謝動態を調節して、特に脂質代謝動態に大きな影響を及ぼしたと考えられる。

#### (2) 妊娠時のインスリン抵抗性の増悪とリパーゼ活性の変動の関連

妊娠中、中期以降にインスリン抵抗性が増悪し、糖および脂質代謝は大きく変動した。

しかし、出産後に血中インスリン濃度は低下し、インスリン抵抗性は改善した。

妊娠初期のPr-LPL濃度は、健常女性に比し、約21%低かった( $68 \pm 21$  vs.  $86 \pm 19$  ng/mL,  $p < 0.001$ )。さらに、妊娠中期以降、Pr-LPL濃度は、約28%(中期)~35%(後期)ほど経時的に低下した。一方、出産後にPr-LPL濃度は、妊娠初期と同程度(妊娠初期時の約93%)まで回復した。

上記の結果より、妊娠中の生理的なインスリン抵抗性の変動は、母体の血中LPL濃度を低下させ、糖・脂質代謝に影響した可能性が考えられた。

#### (3) 母体血と臍帯血のリパーゼ活性の差異と胎児発育の関連

妊娠中のPr-LPL濃度を3分位として血清脂質値を比較したところ、妊娠初期から後期のいずれの時期もPr-LPL低位群では高位群に比し、TG濃度が高く、HDL-C濃度が低かった。(Pr-LPL低位群 vs. 高位群: 初期-TG<sup>\*</sup>  $108 \pm 86$  vs.  $76 \pm 27$  mg/dL; 中期-TG<sup>\*\*\*</sup>  $206 \pm 55$  vs.  $123 \pm 33$  mg/dL; 後期-TG<sup>\*</sup>  $278 \pm 92$  vs.  $213 \pm 54$  mg/dL; 初期-HDL-C  $69 \pm 10$  vs.  $78 \pm 12$  mg/dL; 中期-HDL-C<sup>\*\*</sup>  $74 \pm 13$  vs.  $91 \pm 13$  mg/dL; 後期-HDL-C<sup>\*</sup>  $70 \pm 14$  vs.  $84 \pm 14$  mg/dL, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ )

臍帯血中のPr-LPL濃度は、 $84 \pm 31$  ng/mLであり、妊娠各期の母体Pr-LPL濃度に比し、1.2倍から2倍の高値を呈した。

在胎週数が38週から40週の妊娠例で検討したところ( $n=39$ )、妊娠中期の母体血清Pr-LPL濃度に比し、臍帯血LPL濃度は有意に高かった(中期群 vs. 臍帯血群:  $48 \pm 15$  vs.  $88 \pm 30$  ng/mL,  $p < 0.001$ )。さらに、児の出生時体重は、妊娠中期の母体血清Pr-LPL濃度と負相関し、臍帯血LPL濃度とは正相関を認めた。

以上の結果(1)~(3)より、妊娠中のインスリン抵抗性の生理的変動にともなって、

母体血中LPL濃度は低下し、血清脂質値は大きく変動したと考えられた。

一方、臍帯血LPL濃度は、母体血中Pr-LPL濃度よりも高く、母体のLPL作用の低下を代償し、脂質異化を介する胎児発育に促進的に働くことが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 22 件)

1. Nishioka E, Yokoyama K, Matsukawa T, Vigeh M, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Makino S, Takeda S. Evidence that birth weight is decreased by maternal lead levels below 5 µg/dl in male newborns. (査読有) *Reprod Toxicol* 47: 21-26, 2014. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.05.007.
2. Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui SP, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, Ohtake A, Miida T. Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children during the first year of life. (査読有) *Clin Chim Acta* 433: 1-4, 2014. doi: 10.1016/j.cca.2014.02.020.
3. Nishioka E, Hirayama S, Ueno T, Matsukawa T, Vigeh M, Yokoyama K, Makino S, Takeda S, Miida T. Relationship between maternal thyroid-stimulating hormone (TSH) elevation during pregnancy and low birth weight: a longitudinal study of apparently healthy urban Japanese women at very low risk. (査読有) *Early Human Development* 91:181-185, 2015. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2014.12.014.
4. Miida T, Nishimura K, Hirayama S, Miyamoto Y, Nakamura M, Masuda D, Yamashita S, Ushiyama M, Komori T, Fujita N, Yokoyama S, Teramoto T. Homogeneous Assays for LDL-C and HDL-C are Reliable in Both the Postprandial and Fasting State. (査読有) *J Atheroscler Thromb* 24: 583-599, 2017. doi: 10.5551/jat.40006.
5. Hirayama S, Nagasaka H, Nakagawa S, Takawa M, Nakacho M, Yorifuji T, Kondou H, Tsukahara H, Morioka I, Ishida A, Yamato S, Miida T. Growth hormone activates hepatic and cerebral cholesterol metabolism in small-for-gestational age children without catch-up growth. (査読有) *J Clin Lipidol* 11: 1032-1042, 2017. doi: 10.1016/j.jacl.2017.05.010. (他 17 件)

〔学会発表〕(計 22 件)

- 1) 上野 剛, 平山 哲, 小野塚 麻里, 糟谷 優, 杉原 匡美, 安部 勝美, 三井 田孝. 妊娠時の血中および尿中カルニチン濃度の変動. 第 61 回日本臨床検査医学会学術集会, 福岡(平成 26 年 11 月 22 日 ~ 11 月 25 日), *臨床病理* 第 62 巻補, 211, 2014
- 2) 上野 剛, 平山 哲, 小野塚 麻里, 昆 美香, 杉原 匡美, 糟谷 優, 安部 勝美, 三井 田孝. 妊娠時の血中微量金属濃度の経時的変化と胎児発育の関連. 第 54 回日本臨床化学会年次学術集会, 東京(平成 26 年 9 月 5 日 ~ 9 月 7 日), *臨床化学* 第 43 巻 Suppl 1: 260, 2014
- 3) 平山 哲, 上野 剛, 笹本 健太, 長尾 侑紀, 田村 昌大, 平山 安希子, 小野塚 麻里, 杉原 匡美, 三井 田孝. 妊娠時の糖代謝指標に及ぼす貧血および甲状腺機能の影響. 第 62 回日本臨床検査医学会学術集会, 岐阜(平成 27 年 11 月 19 日 ~ 11 月 22 日), *臨床病理* 63 巻捕冊, p183, 2015
- 4) 上野 剛, 平山 哲, 田村 昌大, 笹本 健

太, 長尾 侑紀, 小野塚 麻里, 杉原 匡美, 西岡 笑子, 牧野真 太郎, 安部 勝美, 竹田 省, 三井田 孝. 妊娠時の血中 ALP アイソザイム (胎盤由来 ALP 4 型) 活性の変動. 第 62 回日本臨床検査医学会 学術集会, 岐阜(平成 27 年 11 月 19 日 ~ 11 月 22 日), 臨床病理 63 巻捕冊, p198, 2015

- 5) 平山 哲, 三井田 孝: 「リポ蛋白関連指標」HDL 機能評価に関連する HDL-C 測定 の標準化と今後の課題. 第 57 回日本臨床化学会学術総会, 札幌(平成 29 年 10 月 6 日 ~ 10 月 8 日), 第 57 回日本臨床化学会年次学術総会・抄録集 Vol. 46 Suppl 1: 222, 2017  
(他 17 件)

〔図書〕(計 6 件)

- 1) 平山 哲, ほか: 第 109 回医師国家試験 問題解説書 第 1 版, 医学評論社, 東京, p74, 75, 91, 92, 369, 370; 2015
- 2) 平山 哲, ほか: 第 110 回医師国家試験 問題解説書 第 1 版. 医師国家試験問題 解説書編集委員会編, 医学評論社, 東京, p96, 337, 346, 348, 349, 2016
- 3) 平山 哲, 三井田 孝: そうだったんだ脂 質異常症. 酸化 LDL の計測と問題点. 文 光堂, 東京, 84-86, 2016
- 4) 平山 哲, 三井田 孝: そうだったんだ脂 質異常症. small dense LDL, レムナント の存在を通常の血液検査からどう推定す る?. 文光堂, 東京, 124-125, 2016
- 5) 平山 哲, ほか: 第 111 回医師国家試験 問題解説書 第 1 版, 医師国家試験問題 解説書編集委員会編, 医学評論社, 東京, p158, 159, 244, 245, 487, 543, 544, 2017  
(他 1 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平山 哲 (HIRAYAMA, Satoshi)  
順天堂大学・医学部・前任准教授  
研究者番号: 10345506

### (2) 研究分担者

横山 和仁 (YOKOYAMA, Kazuhito)  
順天堂大学・医学部・教授  
研究者番号: 00158370

竹田 省 (TAKEDA, Satoru)  
順天堂大学・医学部・特任教授  
研究者番号: 20143456

北村 文彦 (KITAMURA, Fumihiko)  
順天堂大学・医学部・准教授  
研究者番号: 20301145

松川 岳久 (MASTUKAWA, Takehisa)  
順天堂大学・医学部・助教  
研究者番号: 60453586

西岡 笑子 (NISHIOKA, Emiko)  
順天堂大学・医学部・非常勤講師  
研究者番号: 70550797

牧野 真太郎 (MAKINO, Shintaro)  
順天堂大学・医学部・准教授  
研究者番号: 70570894

三井田 孝 (MIIDA, Takashi)  
順天堂大学・医学(系)研究科・教授  
研究者番号: 80260545

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

上野 剛 (UENO Tsuyoshi)  
順天堂大学・医学部・協力研究員

昆 美香 (KON Mika)  
順天堂大学・医学部・大学院生