

平成 30 年 9 月 3 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04882

研究課題名(和文) 胎生期低栄養が小胞体ストレス応答を介して成人期の脂肪蓄積リスクとなる機序の解析

研究課題名(英文) Developmental Origins of Hepatic Steatosis; A Possible Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress Response

研究代表者

伊東 宏晃 (Ito, Hiroaki)

浜松医科大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：70263085

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,300,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを用いて、母獣の摂餌制限による体制低栄養環境により、成獣期に肝脂肪変性が著しく増悪する動物モデルを確立した。この動物モデルを用いて、胎生期の低栄養環境は、肝細胞に小胞体ストレスを惹起しておりたまたみ不良タンパク質を蓄積し、肝臓マクロファージ浸潤による慢性炎症ならびに脂肪蓄積の増悪を来すことを明らかにした。さらに、小胞体ストレスを緩和するシャペロンを傾向投与しておりたまたみ不良タンパク質の蓄積を軽減することで、肝臓の慢性炎症ならびに脂肪蓄積は劇的に改善することを示し、新たな先制医療の開発の可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We developed a mice animal model of undernourishment in utero deteriorating hepatic steatosis in adult period. Using this animal model, we demonstrated that undernourishment in utero programs the augmentation of endoplasmic reticulum stress in the liver in response to obesogenic diet in adult period, causatively associated with the deterioration of hepatic steatosis and chronic inflammation. The alleviation of ER stress with the treatment of chemical chaperone, tauroursodeoxycholic acid (TUDCA), markedly improved both hepatic steatosis and chronic inflammation. The alleviation of ER stress would be a promising strategy of preemptive medicine against developmental origins of hepatic steatosis.

研究分野：周産期医学、DOHaD

キーワード：DOHaD 妊娠 栄養 脂肪肝 NAFLD 小胞体ストレス 胎児 先制医療

1. 研究開始当初の背景

先進諸国において平均出生体重は増加傾向にある。一方、我が国では平均出生体重は減少し続け、低出生体重児の出産率は増加の一途をたどり年間約 10 万人にも達している。英国の Barker 博士は後方視的な疫学研究から低出生体重児として生まれた場合、成人期に心血管障害を発症するハイリスク群であることを報告した (*Lancet* 1:1077, 1986)。さらに、欧州の疫学研究から低出生体重は肥満・メタボリックシンドロームなど Noncommunicable Diseases (NCDs) を発症するハイリスク群であることが報告された (*Environ Health Perspect* 108:545, 2000)。これらの研究成果を背景として、近年、Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) という概念が提唱されている (*Science*, 305: 1733, 2004)。しかし、その科学的なメカニズムは未だ十分に解明されておらず、有効な予防戦略は確立されていない。

2. 研究の目的

我が国では低出生体重児の出産率は増加の一途をたどっており年間約 10 万人に達する。欧州の疫学研究から低出生体重児は、成長後に肥満・メタボリックシンドロームを発症するハイリスク群となる可能性が報告されている。近年、肥満の増悪による糖・脂質代謝異常に脂肪組織や肝臓における慢性炎症による臓器リモデリングが重要な役割を果たすことが明らかとなり、さらにその制御メカニズムとして小胞体ストレス応答が注目されている。本研究計画は、「胎生期の低栄養環境は、小胞体ストレス応答性を恒久的にプログラムし、出生後に飽食の環境を生きした場合に肥満・メタボリックシンドロームを発症するハイリスク群となる」胎生期低栄養マウスモデルを用いてその検証を目指す。さらに、胎生期に低栄養に曝された場合に、小胞体ストレスを軽減する食生活の改善やシャペロン作用のあるサプリメントの投与により肥満・メタボリックシンドローム発症リスクの軽減をめざす「先制医療(preemptive medicine)」を指向した基礎的な検討を目指す。

一方、ヒトの胎盤病理は子宮内環境の変化を反映すると考えられている。そこで、ヒト胎盤病理所見が、乳児時の発育の予知マーカーとして有用であるとの仮説を想定し、出生コホート研究 Hamamatsu Birth Cohort for Mothers and Children (HBC Study) との共同研究により、その仮説の検証を行う。

3. 研究の方法

マウス動物実験

研究代表者らは既に、母獣の摂餌制限によって胎生期の低栄養環境に曝すことにより、産生仔において肥満が増悪するマウス動物を確立している (*Cell Metab* 1:371, 2005)。母獣

の摂餌制限の条件を調整し、産生仔が産生仔に肝脂肪変性が特異的に増悪するモデル (Congenit Anom 57; 178, 2017) を用いて解析を行った。産生仔に対して 9 週齢まで通常食を与え、9 週齢から 22 週齢まで高脂肪餌を給餌した。17 週齢から 22 週齢にかけて小胞体ストレスを緩和するシャペロンである tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) を連日経口投与した。個別の実験として、9 週齢、17 週齢、22 週齢に血液と肝臓組織をサンプリングし解析に供した。

ヒトコホート研究

2007 年～2011 年に分娩し HBC Study に参加した 1258 人の妊婦の中で、胎盤全体が保存されていた単胎妊婦 261 人を対象として、Amsterdam Placental Workshop Consensus Statement (*Arch Pathol Lab Med* 140: 698, 2015) に従った胎盤病理所見が、出生時から生後 18 ヶ月までの体重と ponderal index (PI) の推移の予測因子 (predictor) であるか Mixed モデル解析を行った。

4. 研究成果

マウス動物実験

胎生期に低栄養を経験した産生仔は、正常群に比べて肝脂肪変性の著しい増悪ならびに肝臓マクロファージの浸潤による慢性炎症の増悪を認めた。

胎生期に低栄養を経験した産生仔の肝臓では IRE1- α ならびに eIF2 α のリン酸化カスケードが活性化し、CHOP タンパク質発現が亢進し、XBP-1 転写産物のスプライシングが亢進するなど小胞体ストレス応答の活性化が認められ、折りたたみ不良タンパク質の蓄積が示唆された。小胞体ストレスを緩和するシャペロンの経口投与により、著しく改善を認めた (図 1)。

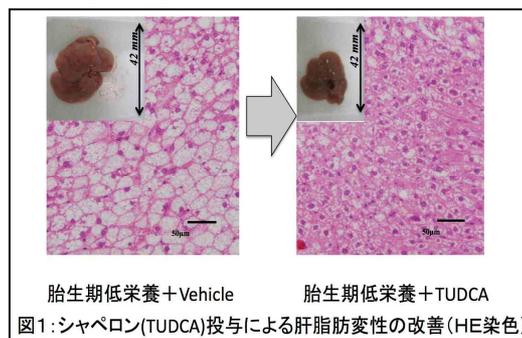


図 1: シャペロン (TUDCA) 投与による肝脂肪変性の改善 (HE 染色)

この動物実験の成績から、シャペロンを含むサプリメントの開発などにより、胎生期の低栄養による非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 発症リスクの軽減を指向した先制医療 (preemptive medicine) 開発の可能性が期待される。この研究は *Scientific Report* 誌 (5, 16867, 2015) に掲載され、日本経済新聞や中日新聞などで報道された (図 2)。



図 2

ヒトコホート研究

Mixed モデル解析により、胎盤病理所見の中で、Accelerated villous maturation ならびに Maternal vascular mal-perfusion は、少なくとも生後 10 ヶ月まで低体重である予測因子 (predictor) であることが明らかとなった。これに対して、胎盤病理所見の Deciduitis は、少なくとも生後 10 ヶ月まで低 ponderal index (PI)、やせ体格、の予測因子 (predictor) であることが明らかとなった (PLoS One13(4):e0194988, 2018) (図 3)。

胎盤病理所見が、乳幼児期における発育のバイオマーカーとして有用である可能性が期待される。現在、胎盤病理所見が児の精神発達の予測因子 (predictor) として有用であるか検討を進めている。

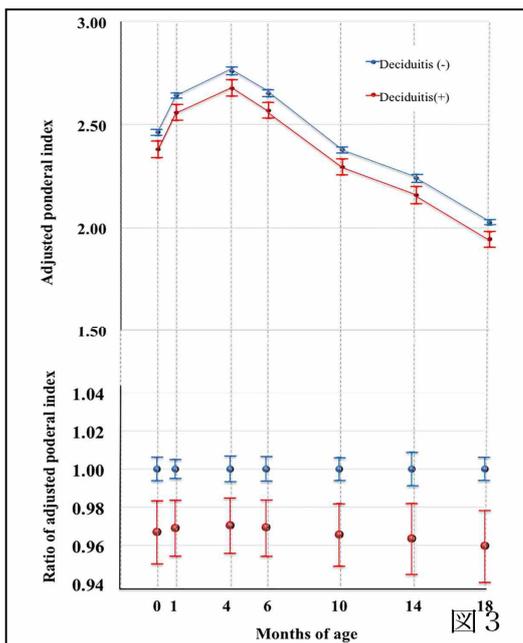


図 3

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 31 件)

1. Yaguchi C, Itoh H, Tsuchiya JK, Furuta-Isomura N, Horikoshi Y, Matsumoto M, Jeenat UF, Muramatsu-Kato K, Kohmura-Kobayashi Y, Tamura N, Sugihara K, Kanayama N. Placental pathology predicts infantile physical development during first 18 months in Japanese population: Hamamatsu Birth Cohort for Mothers and Children (HBC Study). **PLoS One** 13(4):e0194988, 2018. (doi: 10.1371/journal.pone.0194988)(査読有り)
2. Sekii K, Yaguchi C, Itoh H. The correlation of morphological and thrombotic villous arterial lesions with fetal Doppler echocardiographic measurements in the placentas of low-risk term pregnancies. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 223: 39-45, 2018 (doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.02.006)(査読有り)
3. Matsuda Y, Itoh T, Itoh H, Ogawa M, Sasaki K, Kanayama N, Matsubara S. Impact of placental weight and fetal/placental weight ratio Z score on fetal growth and the perinatal outcome. **Int J Med Sci** 15(5): 484-491, 2018. (doi: 10.7150/ijms.23107)(査読有り)
4. Tamura N, Farhana M, Oda T, Itoh H, Kanayama N. Amniotic fluid embolism: Pathophysiology from the perspective of pathology. **J Obstet Gynaecol Res.** 43: pp627-632 2017 (doi: 10.1111/jog.13284) (査読有り)
5. Itoh H, Muramatsu-Kato K, Ferdous UJ, Kohmura-Kobayashi Y, Kanayama N. Undernourishment in utero and hepatic steatosis in later life; A potential issue in Japanese people: A Review. **Congenit Anom.** 57(6):178-183, 2017 (doi: 10.1111/cga.12200) (査読有り)
6. Kawai E, Takagai S, Takei N, Itoh H, Kanayama N, Tsuchiya JK, for HBC Study Team. Maternal postpartum depressive symptoms predict delay in non-verbal communication in 14-month-old infants. **Infant Behav Dev.** 46:33-45, 2017 (doi: 10.1016/j.infbeh.2016.11.006)(査読有り)
7. Harauchi S, Osawa T, Kubono N, Itoh H, Naito T, Kawakami J. Transfer of vaginal chloramphenicol to circulating blood in pregnant women and its relationship with their maternal background and neonatal health. **J Infect Chemother** 23(7): 446-445, 2017 (doi: 10.1016/j.infbeh.2016.11.006)(査読有り)
8. Takeda S, Takeda J, Murakami K, Kubo T, Hamada H, Murakami M, Makino S, Itoh H, Ohba T, Naruse K, Tanaka H, Kanayama N, Matsubara S, Sameshima H, Ikeda T. Annual Report of the Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology 2015:

- Proposal of urgent measures to reduce maternal deaths. **J Obstet Gynaecol Res.** 43(1):5-7, 2017 (doi: 10.1111/jog.13184)(査読有り)
9. Morikawa M, Suzuki H, Obata-Yasuda M, Kassai M, **Itoh H**, Ohkuchi A, Hamada H, Aoki S, Kanayama N, Minakami N. Association of antenatal antithrombin activity with perinatal liver dysfunction: prospective multicenter study. **J Gastroenterol Hepatol** 32(7); 1378-1386, 2017 (doi: 10.1111/jgh.13714)(査読有り)
 10. Iwashima S, Ishikawa T, **Itoh H**. Reproductive technologies and the risk of congenital heart defects. **Hum Fertil.** 20(1); 14-21, 2017 (doi: 10.1080/14647273.2016.1254352)(査読有り)
 11. Mukai M, Uchida T, **Itoh H**, Suzuki H, Niwayama M, Kanayama N. Tissue oxygen saturation levels from fetus to neonate. **J Obstet Gynaecol Res.** 43(5); 855-859, 2017. (doi: 10.1111/jog.13295) (IF;1.072) (査読有り)
 12. Uchida T, Kanayama N, Mukai M, Furuta N, **Itoh H**, Suzuki H, Niwayama M. Examiner's finger-mounted fetal tissue oximetry: a preliminary report on 30 cases. **J Perinat Med** 44(7):745-749, 2016 (doi: 10.1515/jpm-2014-0297)(査読有り)
 13. Takagai S, **Tsuchiya KJ**, **Itoh H**, Kanayama N, Mori N, Takei N on behalf of HBC Study Team. Cohort profile: Hamamatsu Birth Cohort for Mothers and Children (HBC). **Int J Epidemiol.** 45(2):333-342, 2016 (doi: 10.1093/ije/dyv290)(査読有り)
 14. Akinaga C, Uchizaki S, Kurita T, Taniguchi M, Makino H, Suzuki A, Uchida T, **Suzuki K**, **Itoh H**, Tani S, Sato S, Terui K. Randomized double-blind comparison of the effects of intramyometrial and intravenous oxytocin during elective cesarean section. **J Obstet Gynaecol Res.** 42(4):404-409, 2016, (doi: 10.1111/jog.12926)(査読有り)
 15. Sato R, **Tsuchiya KJ**, Matsuzaki H, Takei N, **Itoh H**, Kanayama N, Suda T, Watanabe H, Ohashi T, Tanaka M, Nishimura S, Maekawa M; HBC study group. Fetal environment and glycosylation status in neonatal cord blood: A comprehensive mass spectrometry-based glycosylation analysis. **Medicine (Baltimore).** 95(14):e3219, 2016 (doi: 10.1097/MD.0000000000003219) (査読有り)
 16. Oda T, **Itoh H**, Kawai K, Oda-Kishimoto A, Kobayashi T, Doi T, Uchida T, Kanayama N. Three successful deliveries involving a woman with congenital afibrinogenaemia –conventional fibrinogen concentrate infusion vs. "as required" fibrinogen concentrate infusion based on changes in fibrinogen clearance– **Haemophilia.** 22(5):e478-81, 2016 (doi: 10.1111/hae.13054)(査読有り)
 17. Mukai M, Kashiwagi Y, **Itoh H**, Furuta N, Murakami H, Tamura N, Uchida T, **Suzuki K**, Sugimura M, Kanayama N. Comparison between enoxaparin sodium and unfractionated heparin administered within 24 hours of cesarean section. **Hypertens Res Preg.** 4:16-23, 2016 (doi: 10.14390 / jsshp.HRP2015-010) (査読有り)
 18. **Itoh H**, Kanayama N. Nutritional conditions in early life and risk of non-communicable diseases (NCDs); the perspective of preemptive medicine in perinatal care. **Hypertens Res Preg.** 3; pp1-12, 2015 (IF:0) (doi:10.14390 / jsshp.3.1) (査読有り)
 19. Naito T, Kubono N, Deguchi S, Sugihara M, **Itoh H**, Kanayama N, Kawakami J. Amlodipine passage into breast milk in lactating women with pregnancy-induced hypertension and its estimation of infant risk for breastfeeding. **J Hum Lact** 31:301-306,2015 (doi: 10.1177/0890334414560195)(査読有り)
 20. **Suzuki K**, **Itoh H**, Mukai M, Yamazaki K, Uchida T, Maeda H, Oda M, Yamaki E, Suzuki H, Kanayama N. Measurement of maternal cerebral tissue hemoglobin levels by Near-infrared time-resolved spectroscopy (TRS) in the peripartum period. **J Obstet Gynaecol Res** 41; 876-883, 2015 (doi: org/10.1111/jog.12639)(査読有り)
 21. Todo Y, Tamura N, **Itoh H**, Ikeda T, Kanayama N. Therapeutic application of C1 esterase inhibitor concentrate for clinical amniotic fluid embolism: a case report. **Clin Case Rep** 3; 673-675, 2015 (doi: 10.1002/ccr3.316)(査読有り)
 22. Nakamura Y, **Yaguchi C**, **Itoh H**, Sakamoto R, Kimura T, Furuta N, Uchida T, Tamura N, **Suzuki K**, Sumimoto K, Matsuda Y, Matsuura T, Nishimura M, Kanayama N. Morphological characteristics of the placental basal plate in IVF pregnancies: a possible association with the amount of bleeding in delivery. **Hum Pathol** 46; 1171-1179, 2015 (doi: 10.1016/j.humpath.2015.04.007)(査読有り)
 23. Farhana M, Tamura N, Mukai M, Ikuma K, Koumura Y, Furuta N, **Yaguchi C**, Uchida T, **Suzuki K**, Sugihara K, **Itoh H**, Kanayama N. Histological characteristics of the myometrium in the postpartum hemorrhage of unknown etiology: a possible involvement of local immune reactions. **J Reprod Immunol.** 110 ; 74-80, 2015 (doi: 10.1016/j.jri.2015.04.004)(査読有り)
 24. Yamazaki K, Masaki N, Kohmura-Kobayashi Y, **Yaguchi C**, Hayasaka T, **Itoh H**, Setou M, Kanayama N. Decrease in sphingomyelin (d18:1/16:0) in stem villi and phosphatidylcholine (16:0/20:4) in terminal villi of human term placentas with pathohistological maternal malperfusion. **PLoS One.** 10(11):e0142609, 2015 (doi: 10.1371/journal.pone.0142609) (査読有り)
 25. Muramatsu-Kato K, **Itoh H**, Kohmura-Kobayashi Y, Ferdous JU, Tamura N, **Yaguchi C**, Uchida T, **Suzuki K**, Hashimoto K, Suganami T, Ogawa Y,

- Kanayama N. Undernourishment *in utero* primes hepatic steatosis in adult mice offspring on an obesogenic diet; Involvement of endoplasmic reticulum stress. **Sci Rep.** 5, 16867, 2015 (doi: 10.1038/srep16867)(査読有り)
26. Naito T, Kubono N, Ishida T, Deguchi S, Sugihara M, **Itoh H**, Kanayama N, Kawakami J. CYP3A activity based on plasma 4 β -hydroxycholesterol during the early postpartum period has an effect on the plasma disposition of amlodipine. **Drug Metab Pharmacokin.** 30(6):419-424, 2015 (doi: 10.1016/j.dmpk.2015.08.008)(査読有り)
 27. **伊東宏晃**, 母体の栄養環境と次世代における非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 発症リスク 産婦実 66(8):987-992, 2017 (査読無し)
 28. **伊東宏晃**, 出生後の栄養環境と生活習慣病 Medical Science Direct (MSD) ニューサイエンス社 43(12):609-611, 2017 (査読無し)
 29. **伊東宏晃**, 胎児環境とエピゲノムの変容 臨床産婦人科 医学書院 71(11):1066-1071, 2017 (査読無し)
 30. **伊東宏晃**, DOHaDと視床下部—下垂体—副腎系 / 特集 DOHaD HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY メディカルレビュー社 22(4):37-43, 2015
 31. **伊東宏晃**, 周産期からみたDOHaD研究 — 長期的な臓器リモデリングの視点から - 日本周産期・新生児学会雑誌 51; 55-58, 2015 (査読無し)
- [学会発表](計 17 件)
1. **Itoh H** 10th World Congress on Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). October 16, 2017, at Rotterdam, Nederland **Symposium** “Undernourishment *in utero* as well as endoplasmic reticulum stress alleviation affects lipid profile of the mice fatty liver”
 2. **Itoh H** New Zealand - Japan Joint Seminar for DOHaD Epigenetics & Cohort Research February 2, 2016 at University of Auckland, NZ **Symposium** “Undernourishment *in utero* primes hepatic steatosis in adult mice offspring on an obesogenic diet; Involvement of endoplasmic reticulum stress”
 3. **Itoh H** The 68th Annual Congress of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (JSOG), Tokyo, April 22, 2016 **Lecture in International Session**: “Physiology and pathophysiology of myometrial inflammatory reaction in parturition”
 4. **伊東宏晃** 第91回日本内分泌学会学術総会 宮崎 シンポジウム 平成30年4月28日 「妊婦のエネルギー摂取不足が成長後の児の脂肪肝発症リスクに及ぼす影響の解析: エピゲノムの変容からのアプローチ」
 5. **伊東宏晃** 第91回第94回日本生理学会大会 浜松 シンポジウム 平成29年3月28日 「Undernourishment in utero and hepatic steatosis in later life; a possible involvement of endoplasmic reticulum stress」
 6. **伊東宏晃** 第91回第2回日本産科婦人科遺伝診療学会 京都 教育講演 平成28年12月17日 「胎生期の環境とepigenetics — DOHaD学説の視点から—」
 7. **伊東宏晃** 第91回第27回日本日本成長学会学術集会 米子 ランチョンセミナー平成28年11月7日 「SGAとメタボリックシンドローム発症リスク—胎生期低栄養マウスモデルの検討から—」
 8. **伊東宏晃** 第91回第63回日本栄養改善学会学術集会 青森 シンポジウム平成28年9月8日 「産科医から管理栄養士、栄養士の皆様へお伝えしたいこと」
 9. **伊東宏晃** 第91回第29回静岡県母性衛生学会学術集会 静岡 特別講演 平成28年9月4日 「妊婦の栄養摂取と次世代の健康」
 10. **伊東宏晃** 第91回第56回日本先天異常学会学術集会 姫路 シンポジウム平成28年7月29日 「Undernourishment *in utero* and Hepatic Steatosis in Later Life; A Possible Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress」
 11. **伊東宏晃** 第91回第5回日本DOHaD研究会学術集会 東京 シンポジウム平成28年7月23日 「ニュージーランド、日本2国間のDOHaD研究協力の取り組み—オークランド大学Liggins研究所と連携する重要性—」
 12. **伊東宏晃** 第91回第59回糖尿病学会学術集会 京都 会長特別企画平成28年5月19日 「先制医療: DOHaD学説の視点から」
 13. **伊東宏晃** 第91回第119回日本小児科学会学術集会 札幌 総合シンポジウム平成28年5月14日 「妊婦のエネルギー摂取不足が成長後の児の脂肪肝発症リスクに及ぼす影響の解析」
 14. **伊東宏晃** 第91回第86回日本衛生学会学術総会 旭川 自由集会 招請講演 平成28年5月11日 「妊婦のエネルギー摂取不足と成長後の児の脂肪肝発症リスク」
 15. **伊東宏晃** 第91回 Pfizer Endocrinology Forum 2015 東京 教育講演 平成27年9月12日 「妊婦のエネルギー摂取不足と脂肪肝発症リスク」
 16. **伊東宏晃** 第91回第4回日本DOHaD研究会学術集会 東京 シンポジウム 平成27年8月2日 「産科の視点よりDOHaDに学ぶこととその限界」
 17. **伊東宏晃** 第91回第88回日本内分泌学会学術総会 東京 シンポジウム 平成27年4月24日 「妊婦のエネルギー摂取不足と児が将来脂肪肝を発症するリスクの関わりについて」
- [図書](計 2 件)
1. **Itoh H**, Kanayama N. Developmental Origins of Health and Diseases (DOHaD); Perspective toward Preemptive Medicine. In “Precision Medicine in Gynecology and Obstetrics”, Konishi I eds, pp237-250, Springer Nature, Singapore, ISBN 978-981-10-2488-7. 2017
 2. **伊東宏晃**: 胎生期から出生後早期における栄養環境とNCD発症リスクのかかわり: DOHaD学説の視点から(分担) 「先制医療実現のための医学研究(実験医学増刊号)」, 井村裕夫、稲垣暢也編、

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊東 宏晃 (ITO, Hiroaki)

浜松医科大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：70263085

(2)研究分担者

鈴木 一有 (SUZUKI, Kazunao)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50456571

谷口 千津子 (Yaguchi, Chizuko)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20397425

(3)連携研究者

宮本 恵宏 (MIYAMOTO, Yoshihiro)

独立行政法人国立循環器病研究センター

ー・予防検診部/研究開発基盤センター

予防医学・疫学情報部・部長

研究者番号：10312224

小川 佳宏 (OGAWA, Yoshihiro)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

(現医学部・教授)

研究者番号：70291424

土屋 賢治 (TUCHIYA, Kenji)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究

センター・特任教授

研究者番号：20362189

益崎 裕章 (MASUZAKI, Hiroaki)

現琉球大学・医学部・教授

研究者番号：00291899

宇田川 潤 (UDAGAWA, Jun)

現滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：10284027