

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：44523

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22700774

研究課題名(和文) 妊娠期のトランス脂肪酸摂取が児の発育・発達に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effect of placental trans fatty acid on fetal growth and development

## 研究代表者

山本 周美 (YAMAMOTO, Shumi)

武庫川女子大学短期大学部・食生活学科・講師

研究者番号：60441234

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：トランス脂肪酸(TFA)は、不飽和脂肪酸のうち二重結合の立体配置がトランス型になっているものの総称である。工業由来TFAは、子宮内胎児発育遅延や発達障害のリスクとなることが欧州の研究で示唆されている。そこで、本研究では日本人妊婦を対象に、胎児の発育に及ぼすTFAの影響について検討した。胎盤組織から脂質抽出を行い、GC-MSにて脂肪酸分析を行い、児の発育指標との関連を検討した。結果、早産児の場合、胎盤中のTFAの存在比率と出生体重SDスコアが負に相関した。この結果から、TFAが児の発育を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Trans fatty acids (TFA) are unsaturated fatty acid which contain a trans double bond between carbon atoms. The potential impairment of fetal growth and development by industrial TFA is reported mainly in Europe. The aim of this study was to clarify the effect of placental trans fatty acid on fetal growth and development in Japanese pregnant women. Fatty acids were extracted from placental tissues and then analysed with a Gas Chromatograph mass spectrometer. In premature infants, placental TFA were negatively related to standard deviation score of birth weight. This result suggested that maternal ingested TFA probably inhibits fetal growth.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：食生活学

キーワード：トランス脂肪酸 母子栄養 低出生体重児 脂質栄養 胎盤

## 1. 研究開始当初の背景

トランス脂肪酸(以下 TFA)はトランス型二重結合という構造をもつ不飽和脂肪酸の総称である。植物性油脂の水素添加の工程で生成する工業由来の TFA は、私たちが日常的に摂取する食品に含まれている。工業由来 TFA は、過剰に摂取すると冠動脈性疾患のリスクを高める要因となることが明らかとなっている。欧米の一部の国では TFA の摂取量を制限し、アジア圏においては韓国と台湾が TFA 含有量の表示を義務付けている。日本では「摂取量が少ない」との理由から規制がなされていない。しかし、「摂取量が少ない」という推測は成人の冠動脈性心疾患のみが論点となっており、妊娠期の TFA 摂取、すなわち胎児への影響が考慮されていないのは盲点である。欧米の研究報告によると、妊娠期の過剰摂取は児の出生体重を低下させることや、発達障害にも関与しているとの報告もあり、TFA は胎児・新生児にまで影響すると推察されている。日本では妊娠期の TFA 摂取による胎児への影響に関する研究報告はまだなく、エビデンスの蓄積が必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、妊娠期の TFA 摂取が胎児の発育に及ぼす影響、妊娠期の TFA 摂取が新生児の発達に及ぼす影響、胎盤に含まれる TFA 量と児への影響を明らかにすることを目的とした。～により、妊娠期における TFA 摂取のリスクを評価する。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象者および検体採取

対象は研究に同意の得られた、大阪府立母子保健総合医療センターに入院された母児 60 名とした。多胎、先天奇形児は除外した。対象者の母体血、臍帯血および胎盤組織を採取した。母体血および臍帯血は抗凝固剤添加容器に採取した後、解析するまで 80 にて凍結保存した。胎盤組織は生理食塩水で洗浄後、解析するまで 80 にて凍結保存した。

### (2) 血液および胎盤の GC-MS による脂肪酸分析

母体血および臍帯血は等量以上の水を添加し、溶血させた後に遠心分離し沈殿物を赤血球膜として採取した。内部標準物質を添加後、超音波破碎し、Folch 法にて脂質抽出を行った。その後、メタノール塩酸によりメチルエステル化し、GC-MS に供した。胎盤組織は、内部標準物質を添加しホモジナイズした後、超音波破碎し、Folch 法にて脂質抽出を行った。血液と同様、メチルエステル化後、GC-MS に供した。血液、胎盤のいずれも内部標準物質には、<sup>13</sup>C<sub>7</sub>-オレイン酸を用い、C18:1,9c オレイン酸と TFA を定量した。ここでいう TFA は C18:1,9t エライジン酸と C18:1,11t パクセン酸の合計量を指す。両者はクロマトグラム上での分離が困難であったため

合計での算出となった。得られた TFA 量を用いて、シス型であるオレイン酸に対する TFA の存在比(以下 t/c 比)を求めた。これは絶対量に左右されず存在比率として評価する指標として用いた。さらに、早産児の検体には、C21:0 ヘンエイコサン酸を添加し、TFA 以外の 16 種類の脂肪酸についても定量した。

### (3) 母児に関するデータの取得

児の出生時の発育指標(体重、身長、頭囲)と母体に関するその他の情報はカルテより入手した。これらの情報は測定した胎盤中 TFA 量や他の脂肪酸量との関連、および下記に示す食生活情報との関連について検討するのに用いた。なお、発達指標についてはカルテから十分な情報が得られなかったため解析の対象としなかった。

### (4) BDHQ を用いた妊娠中の食事調査

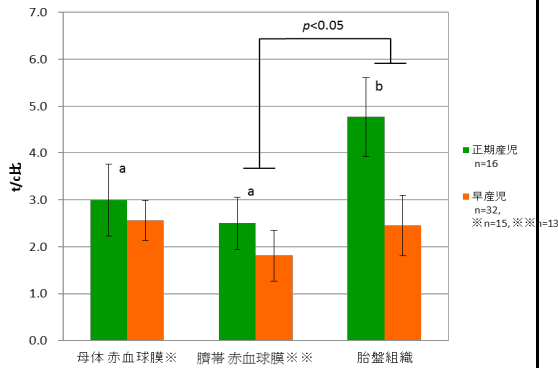
妊娠中のエネルギーおよび栄養素等摂取量を調査するため、BDHQ (Brief dietary history questionnaire、簡易型食事歴法質問票)を用いて調査した。BDHQ は大規模な栄養疫学研究や、栄養が従である(他の要因が主である)研究に用いることを目的として開発され、他の類似の質問票や食事アセスメント法に比べると優れたものであることが示されている。BDHQ は専用の栄養価計算プログラムによっておよそ 30 種類の栄養素とおよそ 50 種類の食品の摂取量を算出できる。しかし、TFA は算出されないため、食品安全委員会作成の「新食品開発評価書 TFA」に掲載されている食品群別 TFA 含有量に基づき、積み上げ法により「推定 TFA 量」として算出した。

## 4. 研究成果

### (1) TFA の胎盤通過性

血液及び胎盤組織での TFA の存在量に違いがあるのかを調べるため、母体血、臍帯血、胎盤の t/c 比を比較した(図 1)。TFA は体内で合成されないことから、検出された TFA はすべて摂取した食品に由来する。臍帯血でも TFA が検出されたことから、TFA は胎盤を通過して児へ移行することが確認された。

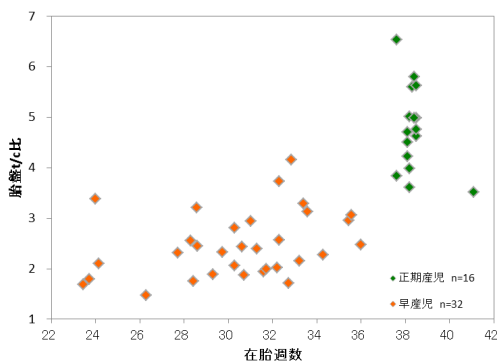
正期産群では、母体・臍帯の両赤血球膜に比べ胎盤組織の t/c 比は有意に高く、早産群では有意な差は認められなかったものの、正期産と同様に胎盤組織中で高くなる傾向が見られた。この結果から、胎盤組織中の TFA は胎児に対する影響をより強く反映する指標となり得ると考え、胎盤を中心に解析を進めていくことにした。



<図1 母体血および臍帯。血の赤血球膜 t/c 比と胎盤組織 t/c 比の比較>

(2)胎盤 t/c 比と在胎週数の関連

図1の結果より、胎盤組織の t/c 比は正期産児の方が早産児の方が高いという予想に反する結果となった。正期産児は在胎週数 37 週以上、早産児は 37 週未満と在胎週数が大きく異なるため、これによる違いが関与している可能性を考えた。そこで、在胎週数と胎盤組織 t/c 比との関連を検討した。結果を図2に示す。両者は有意な正の相関(R=0.74, p<0.001)を示したことから、在胎週数に比例して胎盤組織中の TFA 存在比率は増加することが示された。これに基づき、以降の解析では、正期産児と早産児を分けて行い、在胎週数による影響が少なくなるよう配慮した。



<図2 在胎週数と胎盤 t/c 比の相関>

(3)児の体格との単相関・偏相関分析

次に、TFA が児の発育に影響するのかを明らかにするため、発育指標と TFA との相関分析を行った。発育指標には、出生体重、出生時身長、出生時頭囲の各 SD スコアを用いた。これは在胎週数別出生時基準体格に対する標準偏差 (SD) で示すものである。SD スコアは児の性別と在胎週数で補正した値で、これを用いることで児の性別と在胎週数による体格の差異を排除できる。相関分析は単相関および偏相関を用いた。偏相関においては、胎児発育に関わる他の因子の影響を取り除いた評価を行うため、「胎盤重量」、「母親の

非妊時 BMI」、「喫煙の有無」の計 3 変数を制御変数として投入した。「母親の非妊時 BMI」、「喫煙の有無」は児の発育に影響すると一般的に考えられている因子である。「胎盤重量」は事前の検討で因子間の関連をみた相関行列表において児の体格指標と相関することを見出していたため加えたものである。

正期産群における単相関および偏相関分析の結果を表1に示す。有意な相関がみられた箇所を緑で表示した。単相関では胎盤 t/c 比と児の出生時身長および頭囲 SD スコアに有意な負の相関が見られたが、偏相関では消失し、児の体格との関連は認められなかった。次に、早産群の結果を表2に示す。有意な相関がみられた箇所をオレンジで表示する。早産群では単相関においても偏相関においても t/c 比と出生体重 SD スコアに有意な負の相関がみられた。また、オレイン酸量は全ての発育指標と正の相関を認めた。以上の結果から、早産の場合、胎盤組織中の TFA 存在比率が高くなると児の発育が制限される可能性が示唆された。

		単相関	胎盤 TFA	胎盤 オレイン酸	胎盤 t/c 比	出生体重 SD	出生時身長 SD	出生時頭囲 SD
偏相関	制御変数 ・胎盤重量 ・非妊時BMI ・妊娠中の喫煙	胎盤 TFA	相関 有意確率 (両側)	0.83 0.00 n=16	0.66 0.00 n=16	-0.41 0.12 n=16	-0.58 0.02 n=16	-0.52 0.04 n=16
		胎盤 オレイン酸	相関 有意確率 (両側)	0.81 0.00 n=16	0.45 0.08 n=16	-0.41 0.12 n=16	-0.58 0.02 n=16	-0.52 0.04 n=16
	胎盤 t/c 比	相関 有意確率 (両側)	0.84 0.00 df=11	0.38 0.20 df=11	-0.38 0.14 n=16	-0.48 0.06 n=16	-0.49 0.05 n=16	
	出生体重 SD	相関 有意確率 (両側)	-0.19 0.54 df=11	-0.03 0.92 df=11	-0.23 0.46 df=11	0.73 0.00 n=16	0.63 0.01 n=16	
	出生時身長 SD	相関 有意確率 (両側)	-0.50 0.08 df=11	-0.35 0.24 df=11	-0.42 0.15 df=11	0.63 0.02 df=11	0.52 0.04 n=16	
	出生時頭囲 SD	相関 有意確率 (両側)	-0.44 0.13 df=11	-0.24 0.43 df=11	-0.43 0.14 df=11	0.25 0.41 df=11	0.50 0.08 df=11	

<表1 正期産群における胎盤 TFA、オレイン酸、t/c 比と児の発育指標との単相関および偏相関>

		単相関	胎盤 TFA	胎盤 オレイン酸	胎盤 t/c 比	出生体重 SD	出生時身長 SD	出生時頭囲 SD
偏相関	制御変数 ・胎盤重量 ・非妊時BMI ・妊娠中の喫煙	胎盤 TFA	相関 有意確率 (両側)	0.78 0.00 n=32	0.51 0.00 n=32	0.13 0.48 n=32	0.23 0.20 n=31	0.26 0.15 n=32
		胎盤 オレイン酸	相関 有意確率 (両側)	0.78 0.00 df=22	-0.09 0.62 n=32	0.45 0.01 n=32	0.51 0.00 n=31	0.43 0.02 n=32
	胎盤 t/c 比	相関 有意確率 (両側)	0.43 0.04 df=22	-0.18 0.41 df=22	-0.54 0.02 n=32	-0.27 0.14 n=31	-0.20 0.26 n=32	
	出生体重 SD	相関 有意確率 (両側)	0.17 0.42 df=22	0.59 0.00 df=22	-0.54 0.01 df=22	0.88 0.00 n=31	0.57 0.00 n=32	
	出生時身長 SD	相関 有意確率 (両側)	0.25 0.24 df=22	0.58 0.00 df=22	-0.35 0.09 df=22	0.66 0.00 df=22	0.64 0.00 n=31	
	出生時頭囲 SD	相関 有意確率 (両側)	0.23 0.29 df=22	0.46 0.02 df=22	-0.30 0.15 df=22	0.57 0.00 df=22	0.58 0.00 df=22	

<表2 正期産群における胎盤 TFA、オレイン酸、t/c 比と児の発育指標との単相関および偏相関>

#### (4) 総脂肪酸分析

早産群において、胎盤 TFA と児の発育に関連性を見いだせたことから、他の脂肪酸についても関連があるのではないかと考え、早産群を対象を絞り、胎盤の総脂肪酸分析を行った。事前の分析で、胎盤に存在する脂肪酸はその約 78% がパルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸といった飽和脂肪酸が占め、残りの約 22% を不飽和脂肪酸が占め、計 16 種類の脂肪酸が存在することを確かめていた。そこで、検出された 16 種類の脂肪酸について、児の発育指標との関連を見出すことを目的に、偏相関分析を行った。制御変数は前述の胎盤重量、母親の非妊時 BMI、喫煙の有無とした。結果を表 3 に示す。

出生時頭圍 SD スコアとパルミチン酸、ステアリン酸、 $\alpha$ -リノレン酸、アラキドン酸、DHA は負の相関を示したものの、有意ではなかった。ただし、 $\alpha$ -リノレン酸については 31 検体中未検出であった 25 検体を "0" で解析しており、明確に相関があるとは言えなかった。

		在胎週数	出生体重SD	出生時身長SD	出生時頭圍SD
パルミチン酸 16:0	相関	0.15	-0.18	-0.40	-0.58**
	有意確率(両側)	0.42	0.40	0.06	0.00
	df	31	21	21	21
パルミトレイン酸 16:1(9)n-7	相関	-0.09	0.10	0.00	0.31
	有意確率(両側)	0.65	0.65	0.99	0.15
	df	31	21.00	21.00	21.00
ステアリン酸 18:0	相関	0.19	-0.19	-0.34	-0.53**
	有意確率(両側)	0.34	0.42	0.11	0.01
	df	31	21	21	21
リノールエイジン酸 18:2(9,12)n-6	相関	-0.10	-0.03	0.06	0.06
	有意確率(両側)	0.60	0.90	0.79	0.80
	df	31	21	21	21
リノール酸 18:2(9,12)n-6	相関	-0.18	0.03	-0.06	-0.13
	有意確率(両側)	0.33	0.88	0.79	0.56
	df	31	21	21	21
アラキジン酸 20:0	相関	0.09	-0.11	-0.21	-0.04
	有意確率(両側)	0.62	0.61	0.35	0.85
	df	31	21	21	21
$\gamma$ -リノレン酸 18:3(6,9,12)n-6	相関	-0.09	-0.11	-0.04	0.57**
	有意確率(両側)	0.62	0.63	0.87	0.00
	df	31	21	21	21
ゴンドレン酸 20:1(9)n-11	相関	-0.18	0.18	0.18	0.32
	有意確率(両側)	0.33	0.42	0.41	0.14
	df	31	21	21	21
$\alpha$ -リノレン酸 18:3(9,12,15)n-3	相関	-0.03	0.03	-0.03	-0.06
	有意確率(両側)	0.88	0.87	0.91	0.78
	df	31	21	21	21
エイコサジエン酸 20:2(11,14)n-6	相関	-0.33	0.22	0.25	0.35
	有意確率(両側)	0.07	0.31	0.24	0.10
	df	31	21	21	21
ベヘン酸 22:0	相関	-0.11	0.12	0.05	-0.09
	有意確率(両側)	0.57	0.58	0.81	0.67
	df	31	21	21	21
エルカ酸 22:1(13)n-9	相関	-0.25	0.30	0.45	0.40
	有意確率(両側)	0.17	0.06	0.03	0.06
	df	31	21	21	21
アラキドン酸 20:4(5,8,11,14)n-6	相関	0.01	-0.23	-0.37	-0.52**
	有意確率(両側)	0.95	0.30	0.08	0.01
	df	31	21	21	21
EPA 20:5(5,8,11,14,17)n-3	相関	-0.15	0.30	0.32	0.17
	有意確率(両側)	0.41	0.17	0.13	0.43
	df	31	21	21	21
イワシ酸 22:5(7,10,13,16,19)n-3	相関	-0.03	0.08	0.05	-0.31
	有意確率(両側)	0.86	0.72	0.80	0.15
	df	31	21	21	21
DHA 22:6(4,7,10,13,16,19)n-3	相関	0.01	-0.15	-0.25	-0.51**
	有意確率(両側)	0.98	0.49	0.25	0.01
	df	31	21	21	21

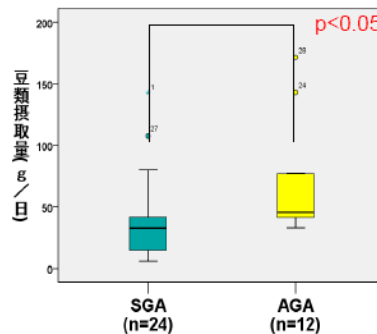
<表 3 16 種類の脂肪酸と児の発育の偏相関>

#### (5) BDHQ の結果(SGA 群と AGA 群の比較)

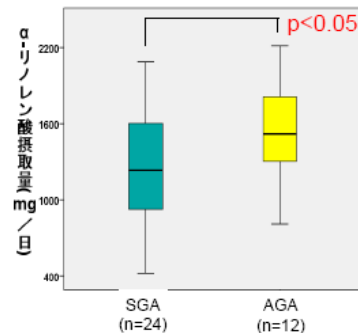
TFA は体内で合成されないことから、胎盤組織中に存在していた TFA はすべて母体が摂取した食品に由来する。そこで母親に食事調査を行い、TFA 摂取状況および栄養素等摂取量が胎児発育の良否に影響するのか検証した。食事調査には BDHQ を用いた。BDHQ は正期産群からは回答が得られなかったため、早産群のみを解析の対象とした。したがって、正期産と早産の比較が不可能となった

ことから、早産群を在胎週数に対し体重が小さい群(以下 SGA 群)と適正な群(以下 AGA 群)とに分けて比較検討した。日本小児科学会の提示する在胎期間別出産時標準値に基づき、SGA 群 22 名、AGA 群 12 名に分けた。

推定 TFA 摂取量について、SGA 群の中央値は 0.90g、AGA 群の中央値は 0.96g と両者に有意な差を認めなかった。また、他の栄養素に摂取量の差はないのか検討したところ、SGA 群の  $\alpha$ -リノレン酸の摂取量が AGA 群より有意に少なかった(図 3)。しかし、エネルギー密度法による調整を行うと差は消失した。 $\alpha$ -リノレン酸は豆類に多く含まれることから、次に両群で豆類の摂取量を比較した(図 4)。 $\alpha$ -リノレン酸と同様に豆類の摂取量は SGA 群の方が AGA 群よりも有意に少なかった。しかし、エネルギー密度法による調整を行うと差は消失した。他に穀類、いも類など 11 種類の食品群についても同様に比較したが、有意差を見いだせたのは豆類のみであった。



<図 3 SGA 群、AGA 群における豆類の摂取量の比較>



<図 4 SGA 群、AGA 群における豆類の摂取量の比較>

#### (6) BDHQ の結果(食事摂取基準の比較)

次に、対象のエネルギーおよび栄養素等摂取量を「日本人の食事摂取基準(2010 年版)」で示される妊娠期の摂取必要量と比較し、摂取量評価を行った。

エネルギー摂取量は妊娠中期の基準値 2250kcal に対し、 $1,687 \pm 474$ kcal と不足し



ていた。妊娠末期は胎児発育が促される時期であり、必要エネルギー量も 2,450kcal と高まるにも関わらず、摂取エネルギー量は 1,608± 438kcal と中期とほとんど変わらなかった。従って、エネルギーは不足傾向であることが明らかとなった。正期産の摂取量の調査ができず、比較できなかったため、栄養不良が早産の原因となったかは不明である。

全体のバランスを評価する PFC 比率は、P 比 15.5± 3.0、F 比 29.0± 6.3、C 比 55.4± 8.2 であった。P 比および C 比は適正の範囲内であったが、F 比は目標量の上限值である 30%に近い値であった。このことから、エネルギーが不足しているにも関わらず脂質過剰の傾向であることが明らかとなった。

F 比が高かったことから、どのような脂肪酸が多いのか脂肪酸バランスを評価した(表 4)。EPA と DHA は合わせて 1 日あたり 1g が推奨されているが、不足している状況であった。しかし、脂肪酸全体のバランスを評価する指標である SMP 比や n-6/n-3 比は基準値に近い値を示していた。生活習慣病のリスクを高める飽和脂肪酸は摂取量の上限を超えている一方で(表 5)、必須脂肪酸である α-リノレン酸の摂取量は不足傾向にあった。

上記の結果から、豆類と α-リノレン酸が胎児発育に関与する可能性が示唆された。また早産妊婦は摂取エネルギーが不足しているにも関わらず、脂質、特に飽和脂肪酸の摂取量が多く、アンバランスな食事を摂取していることが明らかとなった。

	基準値	平均値±標準偏差
EPA+DHA (g/日)	1	0.70 ± 0.39
SMP比	3:4:3	3.3±0.5 : 4.1±0.2 : 2.6±0.4
n-6/n-3	4	4.1 ± 0.92

<表 4 早産群の摂取脂肪酸バランス>

	指標*1	摂取量	
		基準値	平均±標準偏差
飽和脂肪酸 (%E)	DG	4.5以上7.0未満	8.1 ± 2.2
リノール酸 (%E)	RDA	3~4	5.1 ± 1.2
α-リノレン酸 (%E)	RDA	1	0.8 ± 0.3
n-6系脂肪酸 (%E)	DG	10未満	5.2 ± 1.6
n-3系脂肪酸 (g/日)	DG	1.9	2.2 ± 0.8

<表 5 早産群の摂取脂肪酸量>

#### (7)総括

以上の結果より、TFA は胎盤を通過して胎児側へ移行し、早産児の発育を抑制する可能性を示した。過去の研究では臍帯血あるいは児血中の TFA を測定していたが、胎盤組織を用いた TFA 量測定は本研究が初めてである。

これまで、日本人の TFA 摂取量は欧米に比較すると少なく、問題とされてこなかったが、今回の食事調査では WHO の基準値内の摂取量であった場合でも児への影響が示唆された。TFA 摂取による影響は主として成人の心疾患

発症のリスクを高めることに焦点があてられてきたが、今後は妊娠期、すなわち胎児への影響にも注目すべきである。

現在、日本人が摂取すべき脂質の量および脂肪酸の種類や量については、厚生労働省が「日本人の食事摂取基準(2010年版)」として提示しているが、TFA は摂取量が少なく提示するには科学的根拠不十分として摂取基準などに関する記載がない。今後は胎児への影響も考慮した上で TFA に関する注意喚起が必要であると考えられる。本研究の限界は症例数が少ないことである。今後、更なるエビデンスの収集・蓄積が期待される。

#### 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 1 件)

山本周美、次世代の健康に配慮した妊婦の脂質栄養管理、脂質栄養学、査読有、23 巻、63-69、2014

〔学会発表〕(計 4 件)

山本周美、和田芳郎、北島博之他、次世代の健康に配慮した妊婦の脂質栄養管理、日本脂質栄養学会、2013 年 9 月 6 日、高知会館

和田芳郎、山本周美、北島博之他、原因不明(母体合併症を認めない) IUGR とトランス脂肪酸、新生児栄養フォーラム、2011 年 6 月 26 日、千里ライフサイエンスセンター

山本周美、胎盤組織中のトランス脂肪酸量と児の発育の関連、日本脂質栄養学会、2011 年 9 月 2 日、日本脂質栄養学会、女子栄養大学

山本周美、日本人妊婦におけるトランス脂肪酸摂取が胎児の発育に及ぼす影響、日本脂質栄養学会、2010 年 9 月 3 日、名鉄犬山ホテル

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

山本 周美(YAMAMOTO, Shumi)

武庫川女子大学短期大学部・食生活学科・講師

研究者番号：60441234