

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20935

研究課題名（和文）胎児発育不全における腸管機能障害をもたらす分子機構の解明

研究課題名（英文）Mechanisms of intestinal dysfunction in fetal growth restriction

研究代表者

市瀬 茉里（Ichinose, Mari）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60954849

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：胎児発育不全(fetal growth restriction: FGR)は、胎盤機能不全を主たる原因とし、新生児期の消化管機能障害との関連が示唆されている。今回我々は、119例の早産児のうち22例（18.5%）に腸管機能障害を認め、FGRはリスク因子をなることを示した。また、FGR・妊娠高血圧腎症を呈するモデルマウスの胎仔小腸を摘出した。FGRマウスでは、腸管の短縮・上皮分泌細胞の減少を認めた。RNAseqにより、226個の発現が異なる遺伝子が同定された。ラクトトランスフェリンをはじめとする腸管免疫や外部抗原への粘膜免疫に関与する遺伝子発現がFGRマウスでは低下していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早産児のうち、血流異常に長期間さらされたFGR児は、腸管機能障害のハイリスク群であることが同定され、慢性的な子宮内ストレスが出生後の腸管機能の脆弱性を引き起こしている可能性が示唆された。また、マウスモデルを用いてFGRが腸管に与える組織・分子学的変化を検証し、FGRにより、仔の腸管発達は未熟な状態となり、出生後の食餌抗原暴露において脆弱になりやすいことが示された。PEモデルマウス腸管でラクトトランスフェリンなどの外的抗原からの保護に働く因子の発現が低下している傾向にあった。FGRにおける消化管機能障害を来す分子学的機構の一端が解明され、今後の治療戦略に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Fetal growth restriction (FGR), which is primarily caused by placental insufficiency, has been suggested to be associated with gastrointestinal dysfunction in the neonatal period. In the present study, we found that 22 (18.5%) of 119 preterm infants had intestinal dysfunction, indicating that FGR is a risk factor. In addition, the fetal small intestine of a model mouse with FGR and preeclampsia was analyzed. In FGR mice, shortening of the intestinal tract and reduction of epithelial secretory cells were observed. RNAseq identified 226 differentially expressed genes. Gene expression involved in intestinal immunity including lactotransferrin and mucosal immunity to external antigens was found to be decreased in FGR mice.

研究分野：産婦人科

キーワード：腸管機能障害 胎児発育不全 妊娠高血圧腎症

1. 研究開始当初の背景

胎児発育不全(fetal growth restriction: FGR)は、胎盤機能不全を主たる原因とし、新生児期の消化管機能障害や成人期の生活習慣病との関連が知られている。FGRの多くは、妊娠高血圧腎症を母体側因子に含む胎盤機能不全が原因となっている。妊娠女性の高年齢化により、その罹患率は上昇している。特に早産期において、児の健全性評価は、適切な娩出時期決定に欠かせない。臍帯動脈拡張期血流途絶・逆流は、その評価指標として広く用いられ、FGRでの慢性的な低酸素・低栄養状態を示唆する。しかし、FGRの出生後長期予後まで考慮した適切な評価指標及び合併症発症予防の方法は、確立されていない。

腸管は、生後の栄養摂取において中核的機能を担う臓器であるが、FGRにおける腸管の組織・分子学的異常については、十分な説明がされていない。腸管免疫系の過剰反応・腸管蠕動運動低下は、FGRで生じやすい壊死性腸炎の原因とされ、生後早期の腸内細菌叢の乱れは、将来的な生活習慣病との関連が示唆されている。また、臨床的には、最重症型である壊死性腸炎についての疫学的データは蓄積されているものの、より広義の消化管機能障害にFGRが関与するのか、十分明らかにされていない。児の臓器局所での組織・分子学的異常を解析するためには、ヒト検体の収集は困難であり、マウスモデルを用いた基礎的な解析が必要である。

2. 研究の目的

早産児における消化管機能障害において、FGRがリスク因子となるか検証を行う。マウスモデルを用いて、仔の腸管の組織・分子学的異常を検証する。

3. 研究の方法

ヒト早産児における、出生後腸管機能障害のリスク因子の同定

過去10年に当院で出生した在胎週数22週0日から28週6日の、先天異常のない単胎児を対象とした。胎便関連イレウス(MRI)限局性小腸腸穿孔(FIP) NECを包括し腸管機能障害と定義した。出生後に腸管機能障害を発症した群と非発症群の2群間で、母体背景及び合併症・胎児超音波計測推定体重が-1.5SD以下の胎児発育不全(FGR)・絨毛膜羊膜炎・Apgarスコア・臍帯血pHなどの産科的リスク因子の頻度を比較した。

FGRマウスモデルにおける、仔消化管の組織・分子学的解析

妊娠マウスに持続皮下注射可能なポンプを埋め込み、E10.5よりAngiotensinを投与し、母獣の高血圧・蛋白尿といった妊娠高血圧腎症及びFGRを呈するマウスモデルを作成した。同様にしてPBSを投与し、コントロールマウスを作成した。E18.5、生後1週間後、生後3週間後にFGRマウス仔の小腸を回収した。

・仔の小腸の長さ、増殖能、構成細胞(Alucian blue 陽性分泌細胞、Lgr5 陽性幹細胞)について、組織学的比較検討を行った。

・出生3週間後に仔腹腔内にLipopolysaccharide(LPS)とPlatelet activating factor(PAF)の投与を行い、FGRマウスモデルとコントロールで消化管障害の程度に差が出るか検証を行った。

・E18.5胎仔小腸をFGRモデルとコントロールから採取し、RNAを回収し、RNAseqにより網羅的遺伝子発現解析を行った。Pathway解析を行い、FGRが胎仔腸管に与える分子学的影響について検討を行った。その中から、出生後の消化管機能障害、外的食餌抗原からの脆弱性に関与し得る因子を抽出した。

4. 研究成果

ヒト早産児における、出生後腸管機能障害のリスク因子の同定

119例の早産児のうち、22例(18.5%)に腸管機能障害(MRI14例、FIP4例、NEC5例)を認めた。FGRは腸管機能障害群で有意に頻度が高い唯一の因子であった(9/22例 40.9% vs 20/97例 20.6% p=0.045 OR 2.67)。FGR症例の69%に臍帯動脈途絶・逆流や血流再分配といった血流異常を認め、腸管機能障害群で血流異常の発現から分娩に至るまでの時間が長かった(中央値216 vs 60時間)。このことから、早産児のうち、血流異常に長期間さらされたFGR児は、腸管機能障害のハイリスク群であることが同定された。慢性的な子宮内ストレスが出生後の腸管機能の脆弱性を引き起こしている可能性が示唆された。

FGRマウスモデルにおける、仔消化管の組織・分子学的解析

・FGRマウス仔では、コントロールマウス仔に比して、小腸の長さが短縮していた。また、Alucian Blue 陽性の分泌細胞数が減少していた。Ki67陽性の増殖能を有する細胞は、FGRマウスで小腸上皮細胞の陰窩より離れた管腔側まで存在していた。Lgr5陽性幹細胞については、明らかな分布の違いを認めなかった。このことから、FGRにより、仔の腸管発達は未熟な状態となり、出生後の食餌抗原暴露において脆弱になりやすいことが考えられた。

・出生3週間後に仔腹腔内に Lipopolysaccharide(LPS)と Platelet activating factor(PAF)の投与を行い、さらに PE とコントロールで腸管障害の重症度に差が出るか検証を行った。投与3時間後に腸管組織の回収を行い、致死率には差を認めなかったが、FGR マウスモデルでは管腔側の上皮細胞が高度に欠落し、腸炎がコントロールに比して悪化していた。このことより、子宮内での FGR による消化管発達への影響が、出生後の二次的な刺激への脆弱性を来していることが示唆された。

・FGR により胎児期に消化管が受けた分子学的影響を明らかにするため、E18.5 マウスの腸管から RNA を採取し、FGR マウスとコントロールマウス腸管の遺伝子発現を RNAseq を用いて比較した。その結果 226 個の発現が異なる遺伝子が同定された。消化管機能に関与することが報告されている遺伝子群を抽出した。ラクトランスフェリン(Ltf)をはじめとする免疫防御に関する遺伝子発現が FGR でコントロールに比して低下していることが示唆された。Ltf は乳汁にも含まれ、また、分泌細胞にも内因性発現を認め、外的抗原からの保護に関与していることが報告されている。マウス腸管において Ltf は上皮細胞に発現しており、PE モデルマウスでその発現が低下している傾向にあった。FGR における消化管機能障害を来す分子学的機構の一端が解明され、今後の治療戦略に寄与する可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ng Jia Q., Jafarov Toghrul H., Little Christopher B., Wang Tongtong, Ali Abdullah M., Ichinose Mari, Whittle Samuel, Suzuki Nobumi, Wang Timothy C., Haynes David R., Menicanin Danijela, Gronthos Stan, Worthley Daniel L., Woods Susan L., Mukherjee Siddhartha	4. 巻 14
2. 論文標題 Loss of Grem1-lineage chondrogenic progenitor cells causes osteoarthritis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6909
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-023-42199-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yanagisawa Manami, Nagamatsu Takeshi, Kurano Makoto, Misumi Fumi, Taguchi Ayumi, Akiba Naoya, Ichinose Mari, Kumasawa Keiichi, Iriyama Takayuki, Fujii Tomoyuki, Yatomi Yutaka, Osuga Yutaka	4. 巻 160
2. 論文標題 Upregulation of autotaxin by oxidative stress via Nrf2 activation: A novel insight into the compensation mechanism in preeclamptic placenta	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 104153 ~ 104153
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jri.2023.104153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cooper Robert M., Wright Josephine A., Ng Jia Q., Goyne Jarrad M., Suzuki Nobumi, Lee Young K., Ichinose Mari, Radford Georgette, Ryan Feargal J., Kumar Shalni, Thomas Elaine M., Vrbanc Laura, Knight Rob, Woods Susan L., Worthley Daniel L., Hasty Jeff	4. 巻 381
2. 論文標題 Engineered bacteria detect tumor DNA	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 682 ~ 686
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/science.adf3974	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sayama Seisuke, Iriyama Takayuki, Hashimoto Ayako, Suzuki Kensuke, Ariyoshi Yu, Yano Eriko, Toshimitsu Masatake, Ichinose Mari, Seyama Takahiro, Sone Kenbun, Kumasawa Keiichi, Hirota Yasushi, Osuga Yutaka	4. 巻 3
2. 論文標題 Possible risks and benefits of adenomyomectomy on pregnancy outcomes: a retrospective analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 AJOG Global Reports	6. 最初と最後の頁 100265 ~ 100265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xagr.2023.100265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Ayako, Iriyama Takayuki, Sayama Seisuke, Okamura Asuka, Kato Kosuke, Fujii Tatsuya, Kubota Kaori, Ichinose Mari, Sone Kenbun, Kumasawa Keiichi, Nagamatsu Takeshi, Hirota Yasushi, Osuga Yutaka	4. 巻 36
2. 論文標題 Differences in the incidence of obstetric complications depending on the extent and location of adenomyosis lesions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14767058.2023.2226789	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大谷 知廣, 市瀬 茉里, 有吉 悠, 利光 正岳, 佐山 晴亮, 瀬山 貴博, 熊澤 恵一, 入山 高行, 廣田 泰, 大須賀 穰
2. 発表標題 Fetal growth restriction with Doppler abnormality predisposes postnatal intestinal disorder in preterm infants
3. 学会等名 第76回日本産婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2024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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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