

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：32625

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23617025

研究課題名(和文) 不飽和脂肪酸の母児間移行と児の成長・発達に与える影響

研究課題名(英文) The transport of polyunsaturated fatty acids across the placenta to the fetus and the subsequent growth and development of the infant

研究代表者

川端 輝江 (Kawabata, Terue)

女子栄養大学・栄養学部・教授

研究者番号：80190932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：宮城県沿岸部に在住する妊娠女性523名の母体血と臍帯血赤血球中脂肪酸分析を行い、n-6系多価不飽和脂肪酸(PUFA)であるアラキドン酸(ARA)とn-3系PUFAであるドコサヘキサエン酸(DHA)の、母から児への移行について検討を行った。その結果、臍帯血PUFAは母体血PUFAを反映し、臍帯血赤血球中PUFAレベルの決定要因として、胎盤を介した母から児への移行が重要であることが示された。さらに、妊娠期間中の経時的な観察から、母体血ARAは妊娠末期に低下したが、DHAの変化はほとんどみられず、母の体内DHAは、妊娠末期に高まる児のDHAの需要を満たしていた可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the polyunsaturated fatty acid (PUFA) compositions in maternal and cord blood erythrocytes of 523 pregnant women living along the shore of the Miyagi prefecture and determined the transport of arachidonic acid (ARA) and docosahexaenoic acid (DHA) across the placenta to the fetus. The PUFA levels of infants reflected those of their mothers, indicating that PUFA transport across the placenta to the fetus determined the PUFA compositions in cord blood erythrocytes. In the third trimester, the ARA level in maternal erythrocytes decreased compared with that in the second trimester, but no change in maternal DHA was observed. This finding suggested that the DHA in maternal blood satisfied the increasing demand of the fetus in the third trimester.

研究分野：時限

科研費の分科・細目：統合栄養科学

キーワード：n-3系多価不飽和脂肪酸 母児間移行 n-6系多価不飽和脂肪酸 臍帯血 母体血

1. 研究開始当初の背景

胎児および新生児の成長と発達に、n-3 系および n-6 系多価不飽和脂肪酸(PUFA)が貢献することが期待されているが、わが国にはその疫学的なデータはほとんどない。

そこで、母親の PUFA 摂取が児の成長と発達に寄与するという作業仮説について、あらためて着目し、出生コホート調査の手法により実証的な検証を目指す。

2. 研究の目的

胎児および新生児の成長と発達に、n-3 および n-6PUFA が貢献するのであれば、胎盤を介した PUFA の母から児への移行は、胎児や新生児体内の PUFA 量をも高める上で重要な要因の一つになると考えられる。そこで、我々は、サンプルサイズ 500 程度の母児の協力を得て、母体血と臍帯血赤血球中脂肪酸組成を分析し、胎盤を介した母から児への PUFA の移行について、交絡要因を考慮しつつ検討を行った。特に、n-3PUFA であるドコサヘキサエン酸(DHA)、n-6PUFA であるアラキドン酸(ARA)は、児の成長・発達に必須と考えられていることから、本研究では、この2種類の脂肪酸に着目した。

本研究は、環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」と連携し、コホートを確立し疫学調査を展開した。将来的には、コホート調査の進捗に伴い、児の発育および発達検査等のデータが蓄積していくこととなるが、これらのデータと本研究で得られたデータとの突合せを行うことで、胎児や新生児にとっての PUFA の重要性について、検証していくことが可能になると考えられる。

3. 研究の方法

(1)対象者

本研究対象者は、エコチル調査の宮城ユニットセンターに登録し、さらに本研究に同意した者である。対象者のリクルートは、魚摂取量が多いと考えられる宮城県南三陸沿岸部地域で行った。

本調査に登録した母親のうち、平成 26 年 3 月末までに母体血および臍帯血の脂肪酸分析が完了した 523 ペア分の母児脂肪酸データについて報告する。なお、対象者の基本属性や出産に関する情報などエコチル調査から得られるデータについては、本研究の PUFA データとの突合せが一部完了していないため、基本属性の解析は 445 人分、出産に関するデータとの多変量解析は 381 人分で行った。

(2)データの収集

採血 母親からの血液採取は妊娠中期(28 週頃)で 1 回(5ml 以下)、分娩時には臍帯血(エコチル全体調査を優先し、残試料がある場合のみ)を採取し、赤血球中脂肪酸

組成分析を実施した。一部の対象者については、妊娠中の経日的変化を見る目的で、妊娠 27 週、30 週、36 週、分娩後 2 日、分娩後 4 週について、貧血検査の残試料を用いて、赤血球中脂肪酸組成分析を実施した。

対象母児の基本属性 母親の年齢、妊娠前 BMI、妊娠期間中の体重増、出産順位、喫煙および飲酒習慣、教育歴、家庭の総収入等について、コホート調査からデータを収集した。

(3)脂肪酸組成の分析

対象者から採取した血液は、直ちに女子栄養大学に移送し、脂肪酸分析のための前処理(脂質抽出およびメチル化)を 4 日以内を実施した。前処理後のサンプルは窒素充填下で冷凍保存し、ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸組成分析を 1 ヶ月以内に実施した。詳細について、以下に示す。

脂質の抽出

血液は、1600g、10 分間遠心分離を行い、血漿と赤血球に分離した。得られた赤血球は、Rose and Oklander ら(J Lipid Res. 6, 428-31, 1965)の方法に従い脂質抽出を行った。赤血球は生食で 3 回洗浄し、パフイーコート除去した。パックドセル 0.25ml を採取し、0.1mM EDTA-2Na 水溶液 0.25ml を加え混和後、15 分間水中で放置した。0.002%BHT イソプロピルアルコール 2.75ml を混和しながらゆっくり加え、1 時間水中で放置後、さらに、クロロホルム 1.75ml を添加し、1 時間水中で放置した。ろ過後、窒素乾固し、クロロホルム-メタノール 2:1 混合液 2ml で溶媒交換を行い、0.9%KCl 0.5ml で洗浄後、1600g、5 分間遠心分離を行い、下層を採取し脂質画分を得た。

脂肪酸組成分析

脂質画分は 3%塩酸メタノール 0.5ml で 100℃、1 時間メチルエステル化を行った。メチルエステル化された脂肪酸はヘキサンで抽出後、ガスクロマトグラフィー(GC-4000、GL-サイエンス)で、Ohta ら(Lipids 25, 742-747, 1990)の方法に従い分析した。キャピラリーカラムは DB-225 (ID 0.25mm 30m、J&W Scientific Co., Inc.) を用いた。キャリアガスはヘリウムガス 1ml/分、注入口温度は 250℃、検出器(FID)は 250℃とした。得られたクロマトグラムは、EZChrom Elite ver.3.1.7J(GL-サイエンス)によって解析した。赤血球中脂肪酸組成は、総脂肪酸量に対する百分率(%)を求めて解析に用いた。

4. 研究成果

(1)対象者の基本属性

表 1 に対象者の基本属性を示す。出産時の母親の年齢は 30.0 歳、児の在胎日数は 276.5

日、出生時体重は3,101gであった。

表1 対象者の基本属性

基本属性	平均 ± 標準偏差
出産時母親の年齢 (歳)	30.0 ± 5.3
非妊娠時BMI (kg/m ²)	22.1 ± 3.7
妊娠中体重増加量 (kg)	10.4 ± 4.7
出産歴 (経産 : 初産)	294 : 151 [*]
妊娠初期の喫煙 (有 : 無)	50 : 420 [*]
在胎日数 (日)	276.5 ± 9.3
児性別 (男 : 女)	212 : 190 [*]
出生時体重 (g)	3101 ± 423
出生時身長 (cm)	49.0 ± 2.1

*は人数比

喫煙無は、「妊娠に気づいてから吸うのを止めた」と回答した者を含む

(2)母体血および臍帯血赤血球中脂肪酸組成

図1に母体血と臍帯血赤血球中脂肪酸組成の差を示す。図は、臍帯血赤血球中脂肪酸から母体血赤血球中脂肪酸を差し引いた数値を平均したものであり、棒グラフが上を向いている場合は、母体血より臍帯血が高いことを示し、下を向いている場合は逆であることを示す。

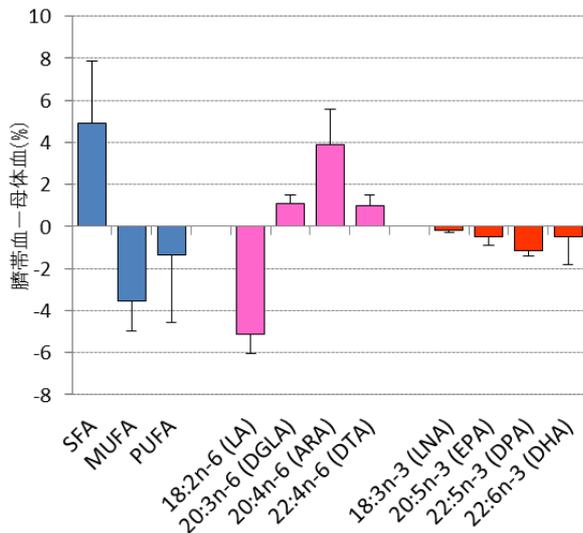


図1 母体血と臍帯血赤血球中脂肪酸間の比較

略語 SFA; 飽和脂肪酸、MUFA; 一価不飽和脂肪酸、PUFA; 多価不飽和脂肪酸、LA; リノール酸、DGLA; ジホモ リノレン酸、ARA; アラキドン酸、DTA; ドコサテトラエン酸、LNA; -リノレン酸、EPA; エイコサペンタエン酸、DPA; ドコサペンタエン酸、DHA; ドコサヘキサエン酸

炭素数 20 以上かつ二重結合 3 個以上の PUFA は生体膜を主に構成することから、長鎖 PUFA (LCPUFA) と呼び分けることが多い。ジホモ リノレン酸(DGLA, 20:3n-6)、アラキドン酸(ARA, 20:4n-6)、ドコサテトラエン酸(DTA, 22:4n-6)等の n-6LCPUFA では、母体血より臍帯血の組成が高く、細胞膜構築に必要な n-6LCPUFA が胎盤経路で積極的に児へ移行している可能性が示唆された。一方、リノ

ール酸(LA, 18:2n-6)は母体血が9.2%であるのに対して、臍帯血では4.1%と約1/2に減少していた。リノレン酸(LNA, 18:3n-3)、エイコサペンタエン酸(EPA, 20:5n-3)、ドコサペンタエン酸(DPA, 22:5n-3)、ドコサヘキサエン酸(DHA, 22:6n-3)等の n-3PUFA は、LCPUFA であるか否かに関わらず、いずれの脂肪酸においても、母体血に比べて臍帯血で低値を示した。海外の報告では、母体血に比べて臍帯血の DHA は高いケースが散見される(Nutr Res. 29, 151-5, 2009: Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 71, 363-74, 2004)が、本研究は逆の結果であり、これは魚を高頻度に摂取する集団を対象としたためと考えられた。なお、母体血に比較して、飽和脂肪酸(SFA)は、臍帯血で高い数値が観察された。

(3)母体血赤血球と臍帯血赤血球の脂肪酸成分間の関連

同一の脂肪酸に着目した場合、n-6LCPUFA および n-3LCPUFA を構成する脂肪酸のいずれにおいても、母体血と臍帯血間に有意な正の関連性が観察された。そのうち、ARA と DHA について、その散布図を図2に示す。母体血(妊娠28週前後)と臍帯血(分娩時)では

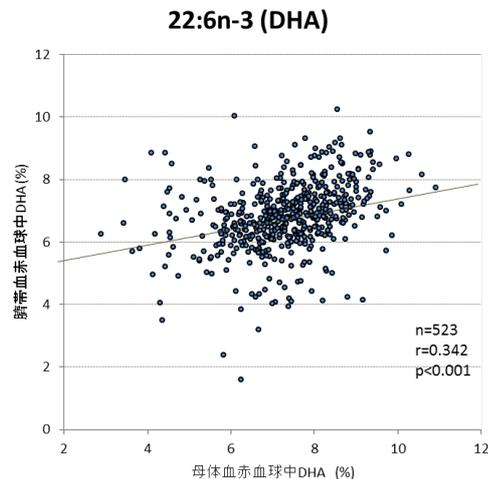
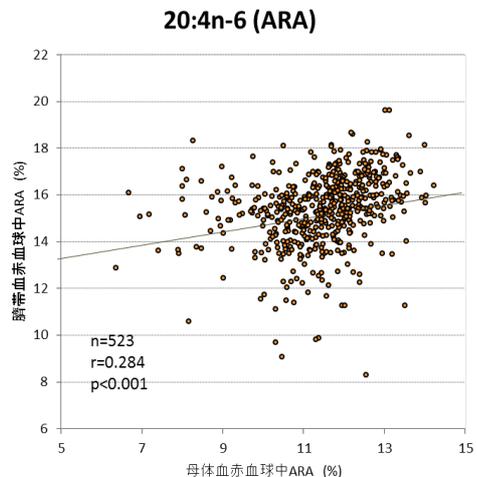


図2 ARA および DHA における母体血と臍帯血赤血球間の関係

採取時期に時間的に差があるものの、両者間に有意の正相関が認められた。

赤血球中脂肪酸組成では、ARA において母体血と臍帯血との間に量的な違いがみられたものの(図 1 参照) 母親の血液中の脂肪酸レベルは児の臍帯血脂肪酸レベルに反映することが示された。このように ARA および DHA 共に有意な相関関係は認められたが、相関係数は $r=0.3$ 前後と低かった。従って、児の脂肪酸レベルを決定する上で、母親からの胎盤を介した移行は重要ではあるものの、他にもいくつかの要因が存在する可能性が示唆された。

(4) 妊娠期間中の母体血赤血球中 ARA および DHA の変動

妊娠中期から後期にかけての母体血赤血球中 ARA および DHA の変動を図 3 に示す。母体血赤血球中 ARA 組成は妊娠期間が経過するに従い有意に減少し、分娩直後には最も低下した。しかしながら、分娩後 4 週には妊娠中期の値に回復することが示された。一方、DHA では、妊娠期間中の変動はほとんど見られなかったが、分娩後 4 週では有意に低値を示した。

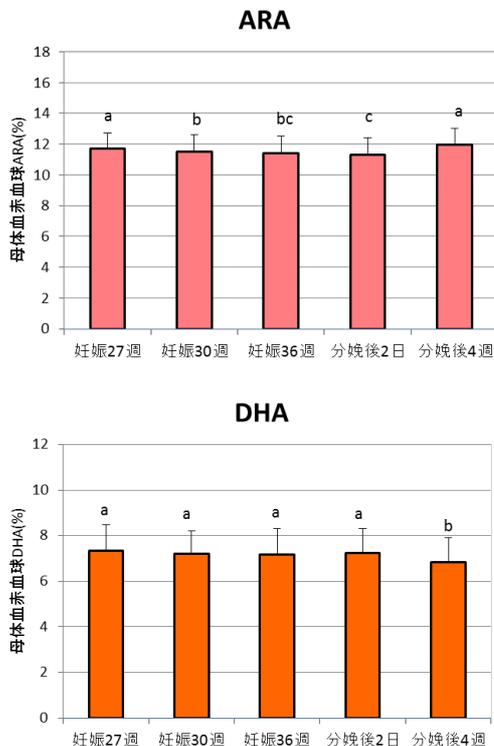


図 3 妊娠期間中の母体血赤血球中 ARA および DHA の変動

異なるアルファベット間に有意差($p<0.05$)有り

海外の先行研究では、妊娠が進み分娩が近づくに従い ARA および DHA 共に低下することが示されている (Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 71, 363-74, 2004)。

これは、母から児への LCPUFA の移行が盛んになるためと考えられている。本研究では、ARA は海外の先行研究と同様の結果を示したが、DHA では妊娠末期の低下は認められず、先行研究とは異なる結果であった。すでに述べたとおり、本研究対象者は魚を高頻度に摂取する集団であることから、妊娠末期の需要に供給が追いついていない可能性が考えられた。しかしながら、分娩後 4 週での DHA 組成は、本来であれば、出産が終了回復すべきところ、むしろ低下した点についての理由は現段階では不明である。出産に続く授乳の影響も含めて、今後更なる検討が必要と考えられた。

(5) 臍帯血赤血球中 ARA および DHA と児の性別、母親の身体状況、生活環境等との関係

臍帯血赤血球中 ARA および DHA 組成を決定する要因について、重回帰分析による手法を用いて検討を行った(表 2-1、2-2)。

臍帯血赤血球 ARA に対しては、母体血 ARA 組成が最も大きく影響し、次いで児の性が関連していた。一方、臍帯血赤血球中 DHA に対しては、ARA 同様、母体血 DHA 組成が最も大きく影響していた。次いで、母親の分娩直前の体重との関連がみられた。

女兒では男児より、臍帯血赤血球 ARA が高く、DHA は低値となる傾向があったが、この理由については現段階では不明である。ARA は LA から代謝されて合成されるが、その合成量は男性より女性で高いとの報告がある (Br J Nutr. 88, 411-20, 2002)。胎児における ARA 合成に関する性差の研究はないが、胎児期には LA から ARA 合成が盛んに行われているとの報告もあることから、臍帯血の ARA 組成は胎児内での合成量が大きく影響しているのかもしれない。あくまでも推察の域であることから、今後は LA から ARA 代謝に関する研究も必要と考える。

表 2-1 臍帯血赤血球中 ARA と児の性別、母親の身体状況、生活環境等との関係

項	n	自由度調整 R ² 値	標準	推定値	標準誤差	p 値
母体血 ARA (%)	379	0.164	0.329	0.419	0.061	<0.0001
児の性 [女兒]			0.183	0.254	0.066	0.0001
母親の体重増加量 (kg)			-0.078	-0.023	0.014	0.1089
妊娠中期における父親の喫煙 [非喫煙者]			-0.072	-0.104	0.069	0.133
胎盤重量 (g)			0.059	0.001	0.001	0.222

重回帰分析 (ステップワイス、変数増減法)

非喫煙者には、「妊娠に気づいてから吸うのを止めた」と回答した者を含む

表 2-2 臍帯血赤血球中 DHA と児の性別、母親の身体状況、生活環境等との関係

項	n	自由度調整 R ² 値	標準	推定値	標準誤差	p 値
母体血 DHA (%)	381	0.202	0.396	0.365	0.043	<0.0001
母親の分娩直前の体重 (kg)			0.149	0.015	0.005	0.002
新生児合併症 [あり]			-0.087	-0.191	0.103	0.064
児の性 [女兒]			-0.084	-0.080	0.045	0.072
母親の学歴 [13年以上]			0.072	0.070	0.045	0.125
母親の n-3 サプリメント摂取頻度			-0.058	-0.090	0.073	0.216

重回帰分析 (ステップワイス、変数増減法)

(6)結論

宮城県沿岸部に在住する妊娠女性 523 名の母体血と、その児の臍帯血を採取し、赤血球中 PUFA 分析を行った。その結果、母体血に比べて、臍帯血の n-6PUFA の ARA 組成は高値を、n-3PUFA の DHA 組成は低値を示した。しかし、同一の脂肪酸に着目した場合、母親の血液中の PUFA 組成と児の臍帯血 PUFA 組成との間には正相関が見られた、妊娠期間中の母親の赤血球中 ARA は妊娠末期に低下したが、DHA の変化はほとんどみられなかった、
女兒では男児より、臍帯血 ARA が高く、DHA は低値となる傾向がみられた。

以上より、臍帯血赤血球中 PUFA 組成の決定要因としては、母から児への移行が重要であることが示された。一方、本研究対象者である母親の体内 DHA は、末期に高まる児の需要をほぼ満たしていた可能性が示唆された。

現在、このコホートについては、発達検査が並行して行われていることから、これらの結果も含めて、母親の PUFA 摂取が児の成長と発達にどのように寄与しているか、今後さらに検討する予定である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kawabata T, Shimoda K, Horiguchi S, Domon M, Hagiwara C, Takiyama M, Kagawa Y., Influences of stearidonic acid-enriched soybean oil on the blood and organ biochemical parameters in rats., Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 査読有、Vol 88, 2013、179-84、
DOI : 10.1016/j.plefa.2012.11.004.

〔学会発表〕(計 3 件)

下田和美、川端輝江、香川靖雄、木村ふみ子、宮澤陽夫、仲井邦彦、有馬隆博、水野聖士、八重樫伸生、母体血および臍帯血赤血球中脂肪酸組成と非妊娠時 BMI との関連、第 68 回日本栄養・食糧学会大会、2014.5.30~6.1 (北海道)

下田和美、川端輝江、香川靖雄、木村ふみ子、宮澤陽夫、仲井邦彦、有馬隆博、八重樫伸生、母体および臍帯赤血球中脂肪酸組成と出産に関わる各種指標との関連、日本脂質栄養学会第 22 回大会、2013.9.6~7 (高知県)

川端輝江、香川靖雄、木村ふみ子、宮澤陽夫、仲井邦彦、有馬隆博、八重樫伸生、妊娠期の脂肪酸栄養に関する研究、母体および臍帯赤血球中 n-3 系・n-6 系長鎖多価不飽和脂肪酸組成の比較、第 67 回日本栄養・食糧学会大会、2013.5.24~26 (名古屋)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川端 輝江 (KAWABATA, Terue)
女子栄養大学・栄養学部・教授
研究者番号 : 8 0 1 9 0 9 3 2

(2)研究分担者

仲井 邦彦 (NAKAI, Kunihiko)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号 : 0 0 2 9 1 3 3 6