

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2012～2016

課題番号：24256006

研究課題名(和文)なぜモンゴル人は口唇口蓋裂患者が少ないのか - 乳製品の予防効果判断 -

研究課題名(英文) Investigation of the reasons why Mongolia has few patients with cleft lip and/or palate: the assessment of a preventive effect of dairy products

研究代表者

夏目 長門 (NATSUME, Nagato)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：90183532

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,600,000円

研究成果の概要(和文)：(1)モンゴルにおける食生活習慣と口唇・口蓋裂発生との関連についての疫学調査
乳製品や肉類、卵の摂取について患児の母親と健常者の母親との差が有意にあり、これが本症予防効果である可能性が示唆された。喫煙習慣にも違いがみられ、喫煙が本症発生に何らかの影響を及ぼす可能性も考えられた。
(2)モンゴルチーズの口唇口蓋裂予防効果の確認 A/Jマウス生存胎仔数92.9%で、胎仔死亡率は対照群で20.6%であったのに対し、実験群ではわずか7.1%と有意に成功していた。口唇口蓋裂発現に関しては、チーズを摂取した群の口唇口蓋裂の発生率は6.5%で対照群11.7%より有意に低かった (P=0.041)。

研究成果の概要(英文)：(1)Epidemiological investigation of the relationship between the eating habits and occurrence of cleft lip and/or palate (CL/P) in Mongolia. Significant differences were observed in the intake of dairy products, meat and eggs by mothers of CL/P patients from that by mothers of normal children, suggesting the intake of those food may have the effect of preventing the occurrence of CL/P. Smoking habits of mothers of CL/P patients were also different from mothers of children without CL/P. There could be a possibility that smoking habits affect the occurrence of CL/P.

(2)Confirmation of the effect of Mongolian cheese on occurrence of CL/P in A/J mice. The percentage of dead fetuses was 7.1% in the experimental group of A/J mice fed with Mongolian cheese, which was significantly 20.6% in the control group. As for incidence of CL/P, the incidence of CL/P in the experimental group was 6.5%, which was significantly lower than 11.7% of that in the control group (p=0.041).

研究分野：口腔外科学

キーワード：モンゴル 口唇裂 口蓋裂 乳製品 予防 先天異常の予防 チーズの効果 疫学研究

1. 研究開始当初の背景

口唇口蓋裂の発生には、遺伝的要因の他に母体の環境因子、特に食生活が大きく関わっていることを、旧文部省科学研究費総合研究(A)として全国13大学共同で調査を行い、調査期間に出生した303,738名より、本症の発現率を得るとともに、調査期間に本症を出生した患児の母親946名と健常児を出生した母親のケースコントロールスタディを行い、乳製品と緑黄色野菜の母体の摂取において両群に差があり、日本人では特に乳製品ではチーズ、牛乳などを多くとっている母親は健常児出産群で多く、口唇口蓋裂児を出生した母親では、チーズ、牛乳などの乳製品の摂取が少ないことを明らかにした。(Natsume, N., Kawai, T. and Suzuki T., Preference for dairy products and manifestation of cleft lip and/or palate., *Plastic Reconst. Surg.* 98:900-901, 1996., 河合幹, 夏目長門, 口唇口蓋裂の疫学的研究, 東山書房, 1998.)

一方、我々は1996年よりモンゴル国で医療ボランティアとして年に2回2週間の口唇口蓋裂の無償手術を行っているが、モンゴル人は遺伝的にも日本人と非常に類似した人種と考えられているにもかかわらず、特に遊牧民では日本人と病気の裂型が異なり、また本症の発現率も日本人に比して著しく低いのではないかと仮説を医療援助を通じて得た。我々の予備調査よりモンゴル人、特に遊牧民族は、日本人の10~15倍の乳製品を摂取しており、馬乳酒などの乳製品とこれに関連した酵母菌等が本症発生に抑制的に作用し、日本人の0.2%に比し本症発現率が0.07%と著しく低く、また特定の披裂の発生数が減少し、このため裂型頻度にも影響を与えているのではないかと考え、基盤研究(B)海外学術調査(H17~19年度:課題番号7406028)及び基盤研究(B)海外学術調査(H21~H23:課題番号21406032)を得て調査を行い、これらを確認した。

本調査では、前回の結果に基づいて国立モンゴル医科大学(現国立健康科学大学)、モンゴル国立母子病院とともに、首都ウランバートルならびに地方の遊牧民に対し、同国厚生省と共同で協力事業として、遊牧民族を対象に本症の発現群と健常児出産群で比較を行う。食生活環境の調査を行い、現地特有の乳製品モンゴルチーズを、動物実験により口蓋裂予防効果の有無を目的としたこれらの有効成分を含む機能性食品やサプリメントを作成するための基礎資料を得ることを目的とする。

2. 研究の目的

1996年より毎年行っている口唇口蓋裂の社会奉仕活動を通じてモンゴル国では、同じモンゴロイドでありながら口唇口蓋裂患者の発現率が著しく低いことに気づき、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(B)で実際に発現率が低いことを出産施設での調査で明らかにした。さらに前回調査ではこの原因として乳製品の多量摂取により本症の発現を予防している可能性を示唆した。その上で披裂形態では口蓋裂単独ならびに片側口唇裂が減少していることを明らかにするとともに、本研究では乳製品による本症予防の可能性を検討するとともに日本も含めた先進国において臨床応用できるかどうかを検討する。

口唇・口蓋裂の発生には、遺伝的要因とともに、母体の食生活を始めとした生活習慣等の環境要因が大きく関わっている。この一例として、日本人における口唇・口蓋裂患児の母親と健常児の母親のケースコントロールスタディでは、乳製品と緑黄色野菜の摂取において両群に差があり、特に乳製品ではチーズ、牛乳などを多くとっている母親は健常群で多く、口唇・口蓋裂群ではその摂取が少なかった。一方、モンゴル人は予備調査による本症発現率が0.07%と、日本人の約0.2%に比して発現率が低かった。モンゴル人は日本人と比較し、チーズ等の乳製品を多く摂取していると考えられており、これらの摂取が本症発現率低下の要因となる可能性が考えられた。

本研究では、この仮説に基づき、モンゴル人の口唇・口蓋裂発生に関与する母体環境要因を検討することを目的として、妊娠中の母体の乳製品や緑黄色野菜の摂取、また喫煙などの生活環境と本症発現との関係について疫学的に分析することを目的とした。

3. 研究の方法

モンゴル国における長年の海外医療援助やこれまでの基盤研究(B)海外学術調査(H17~19:課題番号17406028)及び基盤研究(B)海外学術調査(H21~H23:課題番号21406032)の経験をもとに、僻地における口唇口蓋裂発現率と乳製品の摂取状況を調査する。現地で入手したモンゴルチーズを使用し、口唇口蓋裂予防の有効成分を明らかにするために動物実験を行う。

(1)モンゴルに置ける食生活習慣と口唇・口蓋裂発生との関連についての疫学調査

モンゴル国立母子病院、国立モンゴル医科大学とともに、首都ウランバートルならびに地方の遊牧民に対して、生活環境の調査を行った。

対象は、モンゴル人で、口唇・口蓋裂患児の母親 402 名（口唇・口蓋裂群）と健常児の母親 961 名（コントロール群）の合計 1,363 名とした。口唇・口蓋裂群 402 例の裂型は、口唇裂 100 例、口唇口蓋裂 220 例、口蓋裂 50 例、裂型不明 32 例であった。

調査方法は、母親を対象とした質問紙法により行なった。それぞれの質問項目について口唇・口蓋裂群とコントロール群を比較した。モンゴル語で書かれたアンケート用紙に従って、現地の医師がヒアリング形式で調査を行った。

調査項目

子供について

- 性別
- 生年月日
- 出生時の体重
- 対象となる子供は何人目の子供か
- 何週目で出産したか
- 先天性疾患の有無

母親について

- 出産時の年齢
- 妊娠前の体重
- 身長
- 血液型
- 妊娠初期の職業
- 妊娠に気付いた時期
- 医師の診察等で妊娠がわかった時期
- 妊娠後生活習慣を変えたか
- 生活習慣を変えた時期
- 妊娠後の家族や職場の協力度
- 妊娠初期にかかった病気
- 妊娠初期に飲んだ薬
- 飲酒歴
- ⑲, ⑳ コーヒー飲用歴
- ㉑ 生活（食事時間、睡眠時間）が規則的だったか
- ㉒ 緑黄色野菜の摂取頻度
- ㉓ 野菜の嗜好
- ㉔ 油料理の嗜好
- ㉕ 味付けの好み
- ㉖ 週に 5 回以上摂取する食品（乳製品等）
- ㉗, ㉘, ㉙, ㉚ 喫煙歴

父親について

- ㉛, ㉜ 喫煙習慣
- ㉝ 飲酒習慣

その他

- ㉞ 血族結婚の有無
- ㉟, ㊱ 親族内の口唇・口蓋裂の有無

(2) モンゴルチーズの口唇口蓋裂予防効果の確認

8 週齢の A/J 系マウスを雌雄別々のケージに入れ、温度 22-24、湿度約 60%、明時間 12 時間以下/日の条件下で飼育した。飼育と実験手法は愛知学院大学歯学部動物実験センターの「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」に従った。

ピヤスラグと呼ばれるモンゴルチーズと固形飼料 CA-1（日本クレア株式会社）を混合して給餌し、飲料水は水道水を自由摂取させた。2 週間後に 1 晩（午後 6 時より翌朝 9 時まで）交配させ、膣栓を観察し、膣垢検査にて精子が確認されたものを妊娠 1 日目として記録した。妊娠マウスは妊娠 18 日目に頸椎脱臼にて安楽死させた後、帝王切開にて胎仔を取り出した。また各母獣について、着床数、死亡および吸収胎仔数、生存胎仔数を記録した。取り出した胎仔はそれぞれ生理食塩水を満たしたシャーレに入れ、実体顕微鏡にて全身を観察し、口腔顎顔面領域の異常を記録した後、2%グルタルアルデヒド溶液を用いて灌流固定した。

本研究は愛知学院大学の「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」に従って実施した。

4. 研究成果

(1)

子供の性別について

口唇・口蓋裂群は男 56.7%、女 39.8%、コントロール群は、男 47.2%、女 49.9%だった。

子供の平均体重

口唇・口蓋裂群が $3364.8 \pm 554.3g$ 、コントロール群が $3380.6 \pm 490.5g$ で、子供の体重はほぼ同じだった。

緑黄色野菜の摂取頻度について

「ほとんど毎日食べていた」と答えた母親は、口唇・口蓋裂群が 10.7%、コントロール群が 29.6%で、コントロール群が口唇・口蓋裂群より多かった。また、「ほとんど食べなかった」と答えた母親も、口唇・口蓋裂群が 9.0%、コントロール群が 29.2%で、コントロール群が口唇・口蓋裂群より多かった。両群間で有意な差があった。

油料理の嗜好について

油料理の嗜好は、「好き」と答えた母親はコントロール群で 16.9%、口唇・口蓋裂群で 18.2%、「嫌い」と答えた母親はコントロール群で 23.8%、口唇・口蓋裂群で 4.0%であった。コントロールで嫌いと答えた割合が高く、両群間で差があった。

野菜の嗜好について

「好き」と答えた母親はコントロール群で

73.7%、口唇・口蓋裂群で 20.4%、「嫌い」と答えた母親はコントロール群で 2.4%、口唇・口蓋裂群で 2.5%であった。コントロールの方が好きと答えた割合が高かった。

妊娠中に週に 5 回以上食べていた食品について

コントロール群の方が口唇・口蓋裂群より肉類や乳製品（バター、牛乳、チーズ）、卵の摂取頻度が高かった。一方、パン、麺類などの小麦粉製品は、口唇・口蓋裂群の方が摂取頻度が高かった。

母親の喫煙習慣について

「吸わなかった」と答えたコントロール群が 88.1%、口唇・口蓋裂群が 71.9%だった。一方、「吸っていた」と答えたコントロール群が 9.1%、口唇・口蓋裂群が 17.9%だった。妊娠に気付く前の母親の喫煙は、コントロールの方が吸っていなかったと答えた割合が有意に高くなっていた。妊娠に気付いた後の喫煙についてもコントロールの方が吸っていなかった。

配偶者の喫煙習慣について

配偶者の喫煙習慣がなかったコントロール群が 48.9%、口唇・口蓋裂群が 12.7%だった。配偶者の喫煙習慣があったコントロール群が 49.2%、口唇・口蓋裂群が 79.1%だった。配偶者の喫煙習慣についても、コントロールの方が吸っていなかったと回答した割合が有意に高くなった。

生活習慣について

妊娠して生活習慣を変えたかどうかは、両群ともに半数以上の母親が変えていなかった。コントロールの方が口唇・口蓋裂群より変えたと答えた割合が高かった。

家族や職場は協力的であったか

「協力的であった」と答えたコントロール群が 83.5%、口唇・口蓋裂群が 43.0%であった。一方、「協力的でなかった」と答えたコントロール群が 0.5%、口唇・口蓋裂群が 1.2%だった。コントロールの方が協力的だった。

飲酒習慣について

「飲酒習慣がなかった」と答えたコントロール群が 88.8%、口唇・口蓋裂群が 78.9%だった。週に 3 回以上飲酒していた母親は、わずかであった。

コーヒーの摂取について

妊娠初期のコーヒーを飲んでいかにについては、「ほとんど飲まなかった」と答えた母親は、コントロール群で 59.6%、口唇・口蓋裂群で 71.5%であった。両群とも半数以上の母親がコーヒーを飲んでいなかった。

規則的な生活について（食事時間、睡眠時間）

「生活が規則的であった」コントロール群

が 74.9%、口唇・口蓋裂群が 58.2%であった。規則的だったと回答した割合はコントロールの方が高かった。

(2)

表 1 に示したように、今回実験に用いた母獣 36 頭における全着床数は 297、平均同腹着床数は 8.25 ± 2.37 であった。性別では雌 119 頭に対し雄 157 頭と雌が雄より少なかった。吸収および死亡胎仔数 21 を除いた生存胎仔数は 276 頭(92.9%) であった。実験群と対象群の胎仔死亡率の差は有意であり、対照群で 20.6%であったのに対し、実験群ではわずか(7.0%) であった。生存胎仔の平均体重は、実験群 $0.87 \pm 0.21\text{g}$ 、対照群 $0.96 \pm 0.13\text{g}$ であった。

表 1：胎仔死亡率及び平均体重

	母獣数	着床数	平均胎仔数	生存胎仔数	吸収・死亡胎仔数(%)	胎仔平均体重(g)
対象群	35	291	8.3 ± 2.2	231	60 (20.6)	0.96 ± 0.13
実験群	36	297	8.25 ± 2.37	276	21 (7)*	0.87 ± 0.21

口唇口蓋裂(CL/P)に関しては、毎日乳製品を摂取した母獣から見つかった口唇口蓋裂を有する生存胎仔数は 18 頭と、対照群より口唇口蓋裂を有する胎仔の数が少なかった(表 2)。統計的に見ると、口唇口蓋裂(CL/P)の発生率は実験群(6.5%)で対照群(11.7%)より有意に低かった($P=0.041$)。また、実験群の対照群に対する口唇口蓋裂(CL/P)発生についてのオッズ比は、信頼区間 95%で 0.527 (0.284-0.983)であった。詳細を見ると、実験群の生存胎仔 276 頭中に最も多く出現した異常は口蓋裂(CP)(11 頭)であり、その他には片側口唇口蓋裂(UCLP)2 頭、両側口唇口蓋裂(BCLP)5 頭(1.8%)などが見られた。これら口唇口蓋裂(CL/P)中、4 頭と同腹胎仔に口蓋裂(CPO)が見られたことは興味深い。

表 2：口唇口蓋裂発生数

	口唇口蓋裂			口蓋裂	口唇口蓋裂
	右	左	両側		
モンゴルチーズ	7 (2.5%)			11 (4%)	18 (6.5%)
	2 (0.7%)	0 (0%)	5 (1.8%)		
コントロール	14 (6.0%)			13 (5.6%)	27 (11.7%)
	2 (0.8%)	3 (1.3%)	9 (3.9%)		
オッズ比 (95% CI)	0.39 (0.15 - 0.99)			0.67 (0.29-1.52)	0.52 (0.28 - 0.98)
P 値	0.042 *			0.33	0.041*

(*) p <0.05, with chi-square test

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)

THE POSSIBILITY OF COMPLETE PREVENTION OF CLEFT PALATE, Tomiki Kato, Nagato Natsume, Aichi Gakuin Dental Sci, 25:5-8, 2012. (査読あり)

<http://mol.medicalonline.jp/library/journal/download?GoodsID=ch9agdsm/2012/002500/002&name=0005-0008e&UserID=163.214.65.19>

[学会発表](計 11件)

Nagato Natsume: INTERNATIONAL COLLABORATION BETWEEN JAPAN AND ASIAN COUNTRIES, 12th Asian Congress on Oral&Maxillofacial Surgery, Manila Hotel (Manila, Philippines), 2016.11.11.
Hideto Imura, Nagato Natsume, Satoshi Suzuki, Toko Hayakawa, Shonkhuuz Enkhtur, Gongorjav Ayanga: Project of Gene banking for Cleft Lip and/or palate patients in Mongolia, 10th World Cleft Lip Palate & Craniofacial Congress, Hotel Hyatt RegeHotel, (Chennai, India), 2016.10.28.

Natsume N, Yoshida W, Ariuntuul G, Hayakawa T, Imura H, Ikemori Y, Nakahara Sh: Epidemiological Investigation for Cleft Lip/Palate Care in Mongolia. 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

(Moscow, Russia), 2015.8.31-9.4.

Imura H, Natsume N, Hayakawa T, Suzuki S: Gene Approach for Cleft Lip and/or Palate Patients in Mongolia. 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia), 2015.8.31-9.4.

夏目長門, 吉田和加, 永田映里佳, 越路千佳子, 麻野和宏, 土肥豊, 泉さや香, 古川博雄, 鈴木聡, 加藤大貴, 早川統子, 今井裕, 香月武: モンゴル国における医療協力と学術調査報告第3報: モンゴル国名誉領事館設立. 第39回日本口蓋裂学会総会学術集会, 砂防会館(東京都・千代田区), 2015.5.21-22.

夏目長門, 今井裕, 越路千佳子, 麻野和宏, 土肥豊: 小児口腔外科医療協力により設立されたモンゴル国在名古屋名誉領事館. 第26回一般社団法人日本小児口腔外科学会総会・学術大会, ホテルサンシャイン宇都宮(栃木県・宇都宮市), 2014.11.7-8,

Nagato Natsume: International Collaboration between Japan and Developing Countries as an Oral Maxillofacial Surgeon- From Charitable Operation to Patient with Cleft Lip and Palate to Establishing Honorary Consulate -, The 11th ASIAN CONGRESS ON ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY, Qujiang Inter Convention center (Xi'an, China), 2014.8.22-25.

夏目長門, 吉田和加, 永田映里佳, 麻野和宏, 土肥豊, 泉さや香, 古川博雄, 鈴木聡, 加藤大貴, 早川統子, 今井裕, 香月武: モンゴル国における医療協力と学術調査報告第2報: 2013年調査報告. 第38回日本口蓋裂学会総会・学術大会, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市), 2014.5.29-30.

夏目長門, 吉田和加, 永田映里佳, 越路千佳子, 麻野和宏, 土肥豊, 泉さや香, 古川博雄, 鈴木聡, 加藤大貴, 早川統子, 今井裕, 香月武: モンゴル国における医療協力と学術調査報告. 第37回日本口蓋裂学会総会・学術大会, 佐賀市文化会館(佐賀県・佐賀市), 2013.5.30-31.

Nagato Natsume, Waka Yoshida, Kumiko Fujiwara, Erika Nagata, Tomoki Kato, Garidkhuu Ariuntuul: INVESTIGATION AND TECHNICAL TRANSFER FOR CLEFT LIP/PALATE CARE IN MONGOLIA. 12th International Congress on Cleft Lip/Palate and Related Craniofacial Anomalies, Hilton Orlando Lake Buena Vista (Florida, Orlando, USA), 2013.5.6-11.

Nagato Natsume, Epidemiological and

Charitable activity for Cleft Lip/Palate care in Mongolia, 7th Biennial World Congress of ICPF, Le Meridien Barbarons (Mahe, Seychelles), 2012.5.7-11,

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：平成 年 月 日
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：平成 年 月 日
取得年月日：平成 年 月 日
国内外の別：

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

夏目 長門 (NATSUME, Nagato)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号：90183532

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

古川 博雄 (FURUKAWA, Hiroo)
愛知学院大学・心身科学部・教授
研究者番号：70291763
新美 照幸 (NIIMI, Teruyuki)
愛知学院大学・歯学部・准教授
研究者番号：70291763
南 克浩 (MINAMI, Katsuhiro)
愛知学院大学・歯学部・講師
研究者番号：70346162
酒井 映子 (SAKAI, Eiko)
愛知学院大学・心身科学部・教授
研究者番号：80148254
山中 克己 (YAMANAKA, Katsumi)
名古屋学芸大学・栄養学部・教授
研究者番号：40351209

大塚 隆信 (OTSUKA, Takanobu)
名古屋市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：10185316

千田 彰 (SENDA, Akira)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：80097584

服部 正巳 (HATTORI, Masami)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：50113072

前田 初彦 (MAEDA, Hatsuhiko)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：30175591

井上 誠 (INOUE, Makoto)

愛知学院大学・薬学部・教授

研究者番号：50191888

池田 やよい (IKEDA, Yayoi)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：00202903

嶋崎 義浩 (SHIMAZAKI, Yoshihiro)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：10291519

三谷 章雄 (MITANI, Akio)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：50329611

野本 周嗣 (NOMOTO, Shuji)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：40300967

武部 純 (TAKEBE, Jun)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：50295995

富士谷 盛興 (FUJITANI, Morioki)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：60190055

吉田 和加 (YOSHIDA, Waka)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：10513210

早川 統子 (HAYAKAWA, Toko)

愛知学院大学・心身科学部・講師

研究者番号：90609710

井村 英人 (IMURA, Hideto)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：10513187

(4) 研究協力者

山内 楓子 (YAMAUCHI, Fuko)

永田 映里佳 (NAGATA, Erika)

紅 順子 (AKASHI, Junko)

伊東 雅哲 (ITO, Masaaki)

夏目 長奈 (NATSUME, Nagana)