

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06087

研究課題名（和文）母体腸内細菌叢の変化を介した環境要因の次世代健康影響の解明

研究課題名（英文）The effects of maternal gut microbiota on the fetal health

研究代表者

櫻井 健一（Sakurai, Kenichi）

千葉大学・予防医学センター・准教授

研究者番号：80323434

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：胎児期における子宮内環境が、生後の健康障害に関与していることが示唆されている。子宮内環境としては母親の栄養状態あるいは環境化学物質暴露などがあげられる。一方、母親の体の状態自体も胎児にとっては子宮内環境となりうる。本研究では母体腸内細菌叢が胎児に及ぼす影響を検討した。今回の検討では母体の体重等と腸内細菌叢の構成比には明らかな関連は認められなかったが、母体腸内細菌のグループ（F門）と臍帯のDNAメチル化に関連が認められた。母体腸内細菌が胎児に長期的な影響を与える可能性があるDNAメチル化に影響を与える可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：It is reported that the fetal environment is involved in postnatal health disorders. There are many environmental factors, such as maternal nutritional status and exposure to environmental chemicals. Additionally, maternal health status is one of those factors. In this study, we investigated the relationship between maternal gut microbiota and umbilical cord DNA methylation. The body mass index or other maternal factors were not associated with the composition of their gut microbiota. The DNA methylation of three regions neighboring two genes were associated with Firmicutes phylum of maternal gut microbiota. The data suggest that maternal gut microbiota can affect DNA methylation status of fetal tissues.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：腸内細菌叢 DNAメチル化 胎児環境因子

1. 研究開始当初の背景

胎児期における子宮内環境が、生後の健康障害に關与していることが示唆されている。これは、the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 仮説として知られている。胎児期の栄養環境が成人期の冠動脈疾患、耐糖能異常、高血圧など non-communicable diseases (NCD) のリスクを高めるという報告 (Barker DJ et al. *Lancet* 1989) があり、栄養環境を含む子宮内環境が後の NCD のリスクと關連していることが示唆される。胎児期は栄養以外の環境要因に対しても感受性が高く、胎児期の PCB 曝露と低体重の關連を示唆する疫学調査 (Govarts E et al. *Environ Health Perspect* 2012) も存在する。低栄養のみならず化学物質曝露も含めた子宮内環境が次世代の健康に影響を与えることが示唆される。このメカニズムの一つとして、子宮内環境の変化が胎児の DNA にエピジェネティックな変化を起こすことが推測されている。しかしながら、これらの子宮内環境の変化がどのようなメカニズムを介して胎児に影響を与えているかは十分に明らかではない。

一方、腸内細菌叢の変化と様々な疾患との關連が注目を集めている。肥満者では腸内細菌叢の変化に加え、その多様性の減少が認められることが報告されている (Le Chatelier E et al. *Nature* 2013)。さらに、2 型糖尿病や動脈硬化症においても腸内細菌叢の変化が認められる (Peterson CT et al. *Clin Exp Immunol* 2015)。腸内細菌叢の変化自体が表現型の形成に寄与することも示唆されている。腸内細菌叢の変化には、食事の影響のみならず、PCB などの環境化学物質も關与するとの報告もあり、PCB を含めた化学物質の健康影響が腸内細菌叢の変化に關連して起こってくる可能性が存在する。しかしながら、化学物質曝露を含めた環境因子と妊娠中の腸内細菌叢、児の健康アウトカムの關連について調べた報告は少ない。

本研究は、「環境化学物質を含む母体環境因子が母体腸内細菌叢の変化を介して次世代の健康に影響を与える」ことを仮説としている。本仮説が明らかとなった場合、図 1 のようなそれぞれの段階において予防的な介入をすることも可能となる。母体環境因子への介入としては、栄養学的なアドバイス、環境化学物質を含む食品の摂取制限などが考えられる。また、腸内細菌叢のレベルにおいてはプロバイオティクスあるいはプレバイオティクス的なアプローチが考えられる。

しかしながら腸内細菌叢の変化とは別のメカニズムを介して環境因子が児の健康に影響を与える可能性もある。そこで、本研究は上記仮説を検証するためのパイロット研究として位置づける。

2. 研究の目的

本研究では、次世代への影響として、耐糖能

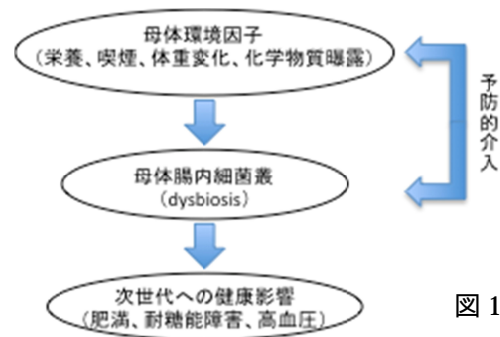


図 1

異常およびインスリン抵抗性に着目する。本研究において母体環境因子、母体腸内細菌叢変化、次世代健康影響の可能性が得られた場合、さらにサンプル数を拡大したコホート研究についても検討していく。

上記の学術背景をもとに、本研究では千葉大学が実施する千葉出生コホート調査として採取したサンプルおよびデータを用いて、(1) 母体環境要因 (特に PCB) と母体の腸内細菌叢の変化の關連、(2) 腸内細菌叢の状態と児の出生児アウトカム (出生時体重、臍帯血インスリン濃度) および臍帯 DNA メチル化との關連を明らかにすることを目的とする。母体環境要因が児のアウトカムに影響を与える場合、腸内細菌叢の変化を介している場合とそれ以外の経路を介している場合が考えられる。これらを区別して解析するためには、より多くの例数が必要と考えられるため、本研究はパイロット研究として位置づける。上記コホートより得られたヒト血清・糞便サンプル及び参加者 (母親) に対して行ったアンケート調査、妊娠経過データを用いて、これらと児の出生時アウトカムが關連する可能性を検出する。

3. 研究の方法

研究目的を達成するため、(1) コホート調査からのサンプル採取および基礎データの解析、(2) 生体試料を用いた解析 (腸内細菌叢、血液ホルモン濃度、胎児組織 DNA メチル化)、(3) 得られたデータを用い母体環境要因と腸内細菌叢あるいは腸内細菌叢と児の出生時アウトカム (主として出生時体重、臍帯血インスリン濃度、臍帯 DNA メチル化) の解析を行う。

具体的には、参加者 (母親) の臨床データ、血液生化学データ、腸内細菌叢解析、血液中の PCB 測定を行う。また、出産により臍帯が得られた場合は、臍帯血インスリン濃度、臍帯 DNA のメチル化解析も行う。

メチル化の解析は DNA メチル化アレイを用いた網羅的な解析を行う。得られたデータを元に統計学的手法を用いて結果の解析・解釈を行い、今後の研究あるいは介入法開発への指針を得たい。

4. 研究成果

本研究は千葉大学大学院医学研究院生命倫理審査委員会の承認のもと行われた。Chiba study of Mother and Children's Health (C-MACH) は千葉県 (A 産婦人科、B 病院) および埼玉県 (A 病院) の 3 つの産科医療機関を基盤としたコホート調査であり、質問票による調査に加えて、母体血液・尿、臍帯血、臍帯、唾液などの生体試料を採取し、それらを解析し、母体および新生児期環境要因と出生時および生後の子供の健康との関連を明らかにすることを目的としてリクルートを行った。リクルート終了時点までに 400 名弱の参加がえられた。母体血および臍帯に関しても 400 弱のサンプルが収集できた。母親の背景因子を表 1 に示す。母親の平均年齢は 32.5 歳であり、第一子を妊娠した参加者の平均年齢は 31.8 歳であった。これは日本人の平均と比べ高い傾向にあった。また、妊娠中も喫煙を継続した割合は 5.0% であった。(Sakurai K et al. *BMJ Open* 2016)

参加者データ

	%
年齢 (歳)	
平均 (標準偏差)	32.5 (4.4)
<25	5.05
25-29	19.41
30-34	41.76
≥35	33.78
体格指数 (BMI), kg/m ²	21.14
<18.5	14.67
18.5-24.9	72.53
≥25	10.13
出産回数	
0	45.21
1	38.03
2	14.63
≥3	2.13

今回の腸内細菌叢解析は、A 産婦人科コホートの 10 例を対象として行った。母体の BMI、年齢などと腸内細菌叢の構成には一定の傾向は認められなかった。また、妊娠初期と後期では腸内細菌叢に変化する傾向がみられた。ただし、この解析では例数が少なかったため、統計学的に有意な差としては検出できなかった。母体腸内細菌叢と臍帯 DNA メチル化との関連については、本研究では糖尿病関連遺伝子領域との関連について検討した。成人において腸内細菌叢は肥満や 2 型糖尿病といった代謝疾患に関連することが報告されており、今回はこれらに関連する領域に絞った検討を行った。これらの領域で DNA メチル化の変動が大きい領域を抽出し、腸内細菌叢との関連を検討したところ、母体腸内細菌叢の Firmicutes 門と KCNQ1 および UBE2E2 遺伝子領域における DNA メチル化に有意な相関が認められた (図 2)。

また、腸内細菌叢と糖代謝に関連するホルモンである臍帯血中インスリンとの関連を検討したところ、今回の検討では明らかな相関は認められなかった。今回サンプル数が少ないため、統計学的な検出力が十分ではなかった可能性もあり、今後さらに検討を行う必要

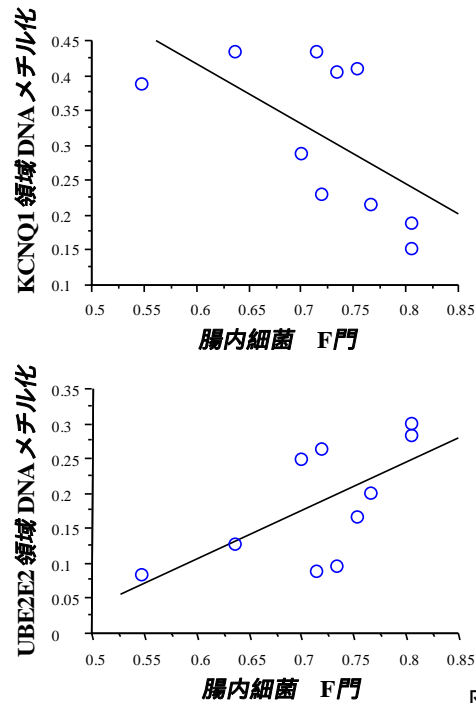


図 2

があると考えられた。母体腸内細菌叢と胎児組織の糖尿病関連遺伝子のメチル化が関連するという報告はなく子宮内環境因子が肥満や糖尿病といった non-communicable diseases (NCD) の発症に關与するメカニズムの解明の寄与するものと考えられる。今後、腸管内メタボローム解析などと合わせて、より詳細な検討を行う必要がある。

引用文献

1. Barker DJ, et al. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet* 2: 577-80, 1989
2. Govarts E, et al. Birth weight and prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichloro-diphenyldichloroethylene (DDE): a meta-analysis within 12 European Birth Cohorts. *Environ Health Perspect* 120: 162-70, 2012
3. Le Chatelier E, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500: 541-6, 2013
4. Peterson CT, et al. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin Exp Immunol* 179: 363-77, 2015
5. Sakurai K, et al. Cohort profile: Chiba study of Mother and Children's

Health (C-MACH): cohort study with omics analyses. BMJ Open 6: e010531, 2016

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 2 件)

1. Sakurai K, Miyaso H, Eguchi A, Matsuno Y, Yamamoto M, Todaka E, Fukuoka H, Hata A, Mori C. Cohort profile: Chiba study of Mother and Children's Health (C-MACH): cohort study with omics analyses. BMJ Open 査読有, 6: e010531; doi: 10.1136/bmjopen-2015-010531, 2016
2. Tachibana K, Sakurai K, Watanabe M, Miyaso H, Mori C. Associations between changes in the maternal gut microbiome and differentially methylated regions of diabetes-associated genes in fetuses: A pilot study from a birth cohort study. J Diabetes Investig. 査読有, doi: 10.1111/jdi.12598, 2016

[学会発表](計 4 件)

1. Sato Y, Sakurai K, Watanabe M, Tachibana K, Mori C. Association between maternal gut microbiome and neonatal anthropometric data. pptox V (2016/11/14 北九州国際会議場、福岡県北九州市)
2. Sakurai K, Tachibana K, Watanabe M, Miyaso H, Mori C. Association between maternal gut microbiome and epigenetic alterations of fetal tissue. pptox V (2016/11/14 北九州国際会議場、福岡県北九州市)
3. Mori C, Eguchi A, Sakurai K, Tachibana K, Todaka E. Risk analysis of fetal exposure of PCBs with omics analysis, using maternal blood, umbilical cord and cord blood in birth cohort study in Japan. SOT 56th Annual Meeting (2017/3/14 Baltimore, U.S.A.)
4. 森 千里, 江口 哲史, 宮宗 秀伸, 山本 緑, 渡邊 応宏, 鈴木 規道, 戸高恵美子, 櫻井 健一 マルチオミックス解析を用いた千葉出生コホートでの小児環境保健分野での新知見 環境ホルモン学会第19回研究発表会(2016/12/8 文部科学省研究交流センター、茨城県つくば市)

[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:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
櫻井 健一 (SAKURAI, Kenichi)
千葉大学・予防医学センター・准教授
研究者番号: 80323434

(2)研究分担者 ()

研究者番号:

(3)連携研究者 ()

研究者番号:

(4)研究協力者 ()