

令和元年6月21日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00934

研究課題名(和文)胎内低栄養環境における消化吸収機構のエピゲノム変化に関する分子形態学的研究

研究課題名(英文)Molecular morphological study on epigenomic changes in digestion and absorption mechanisms of the low nutritional environment in the mother's womb

研究代表者

藤田 守(FUJITA, MAMORU)

久留米大学・医学部・客員教授

研究者番号：60037471

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：胎生期の低栄養環境エピゲノム変化に関連する消化吸収機構を分子栄養形態学的に解析し、生活習慣病発症機序とその予防について検討した。胎内低栄養環境群の回腸では対照群と比較し、短い指状の絨毛、少ない吸収上皮細胞および範囲の狭い毛細血管網が認められた。このことから、回腸の消化吸収面積が少なく、タンパクなどの吸収が少ないと考えられる。その結果、相対的に空腸における脂質吸収の割合が高くなることで、生活習慣病を惹起させる要因の一つになることが示唆される。これらを踏まえて、妊婦の適切な栄養管理と胎内低栄養環境に暴露された乳幼児に対して、脂質を考慮した栄養管理を行い、生活習慣病発症の早期予防を行う必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究成果において、胎内低栄養環境群の回腸は対照(胎内正常栄養環境)群と比較して短い絨毛と狭い毛細血管網などの差異が認められたことから、タンパクなど高分子物質の消化吸収の場がかなり少なく、回腸の消化吸収機構に影響を及ぼすことが解った。その結果、相対的に空腸の脂質吸収の割合が高くなることで、生活習慣病を惹起させる要因の一つになることを示唆したことなどに学術的意義があると思われる。また、妊娠前、妊婦(胎児)、新生児および乳幼児の栄養環境改善(栄養指導)を行い、生活習慣病発症の早期予防に役立つこと、同時に次世代の健康保持・増進に寄与することなど、これらの研究成果は社会的にも意義があると思われる。

研究成果の概要(英文)：We have reported the digestion and absorption mechanisms of the small and large intestine in the neonatal, suckling, weaning and adult period. In this study, we investigated the digestion and absorption mechanisms of the small and large intestine in the neonatal, suckling and weaning rats exposed to the low nutritional environment in the mother's womb using light, scanning and transmission electron, fluorescence microscopy. Many short villi were observed in the lumen of ileum in neonatal and suckling rats exposed to the low nutritional environment in the mother's womb. This result seems to be reduced absorption of protein in the ileum. Therefore, lipid absorption of jejunum is relatively high. It is suggested that lipid accumulation lead to lifestyle-related disease. In order to prevent lifestyle-related disease, it is necessary to provide nutritional guidance of lipids to newborns and infants exposed to the low nutritional environment in the womb.

研究分野：解剖学 超微形態学

キーワード：胎内低栄養 新生児期 乳飲期 消化管 小腸 吸収上皮細胞 消化吸収機構 エピゲノム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

妊娠期の食生活は母親だけでなくその子供のライフステージの初期段階での栄養状態を形成するために非常に重要である。胎生期の子宮内および乳幼児期の望ましくない環境がエピゲノム変化を起こし、それが生活習慣病(成人病)の素因となり、出生後の環境要因との相互作用によって生活習慣病が発症すると言われている(生活習慣病胎児期発症起源説: Barker DJ et al., Lancet, 1986)。近年、胎児期の栄養がその子供の成人後の健康状態に及ぼす影響を示唆する報告がなされ、妊娠前および妊娠中の適正な栄養管理が必要であると言われている。これまでに、出生前後の低栄養が低出生体重児の増加や腎臓、心臓、膵臓等の臓器の解剖学的変化(Silver LE et al, Am J Obstet Gynecol, 2003)、その後の生活習慣病の発症に関連するという研究が行われている。

2. 研究の目的

ヒトをはじめとする生物は現在の生命活動と将来の生命活動のために栄養を摂取している。胎児は母体から胎盤を経由して栄養を摂取(経胎盤栄養)しており、妊娠中の栄養は母体だけでなく、胎児の初期段階での栄養状態を形成することで非常に重要である。受精時、胎芽期、胎児期の子宮内および乳幼児期の望ましくない環境がエピゲノム変化を起こし、それが生活習慣病の素因となり、出生後の環境要因との相互作用によって生活習慣病が発症する可能性が示唆されている。しかし、胎内低栄養環境による消化吸収機構の解明と、それに関連する生活習慣病発症と予防に関する研究は殆んどない。本研究では、まず、胎内正常栄養環境による出生後の新生児(仔)期、乳飲期、離乳期および成熟期の消化吸収機構の詳しい解析をおこなう。さらに、胎生期の低栄養環境エピゲノム変化に関連する消化吸収機構、特に栄養補給系の重要な場である腸(小腸および大腸)粘膜上皮、栄養輸送系の小腸絨毛内粘膜固有層の毛細血管網および排泄系の腎臓について分子栄養形態学的に解析し、生活習慣病の発症機序とその予防について検討することが目的である。

3. 研究の方法

Wistar 系妊娠ラットを妊娠初期(妊娠 0~6 日)胎内低栄養環境群、妊娠中期(妊娠 7~13 日)胎内低栄養環境群、妊娠後期(妊娠 14~21 日)胎内低栄養環境群に分け、それぞれ 7 日間食餌制限を行った。対照(胎内正常栄養環境)群は通常飼育を行った。各群の妊娠ラットから出生した新生児(仔)期ラット(生後 0 日齢、出生直後母乳未摂取および母乳摂取)、乳飲期(生後 14 日齢)および離乳期(生後 21 日齢)の小腸(空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸近位部・結腸遠位部)さらに腎臓を採取した。それらの試料を遺伝子解析法・免疫組織化学法・トレーサー法・蛍光顕微鏡・走査型電子顕微鏡・透過型電子顕微鏡・収束イオンビーム搭載型電子顕微鏡(FIB/SEM)による三次元的立体再構築解析などのバイオイメーキング法を駆使して分子栄養形態学的に検索した。

4. 研究成果

胎内正常栄養環境群の新生児(仔)期出生直後母乳未摂取の空腸では長い指状の絨毛と浅い陰窩、粘膜上皮内の吸収上皮細胞はやや円柱状を呈し、細胞頂部に微絨毛が観察され、粘膜上皮下の固有層内には中心乳び管と毛細血管網が観察された。回腸では空腸よりもやや短い指状の絨毛と浅い陰窩が見られた。吸収上皮細胞内の頂部には多数の膜系が観察された。粘膜固有層内には毛細血管網が見られた。大腸では盲腸と結腸近位部に絨毛様構造が観察された。腎臓では腎小体(糸球体とボーマン嚢)や尿細管などが観察された。乳飲期(生後 14 日齢)の空腸吸収上皮細胞では膜に包まれた脂肪滴が細胞質全体および細胞間隙に認められた。さらに、母乳の抗体を管腔側から基底-側部そして細胞間隙に輸送するトランスサイトosis に関与する膜系が観察された。乳飲期の回腸吸収上皮細胞では微絨毛間の頂部細胞膜の陥入、小胞、初期エンドゾーム(リサイクリングエンドゾーム)、後期エンドゾーム、ライソゾーム、巨大ライソゾームなど母乳のタンパクや高分子物質を大量に取り込むエンドサイトosis 機構に関与する膜系と細胞内消化をおこなうライソゾーム系の膜系が認められた。これらの膜系の大部分は離乳期(生後 21 日齢)になると消失した。

胎内低栄養環境群では、多数の新生児が低体重であった。妊娠後期の胎内低栄養環境群では、新生児の体重差がさらに著明になった。胎内低栄養環境群と対照(正常環境)群の空腸では出生後いずれの時期においても指状の絨毛の長さおよび陰窩の深さにはほとんど差異が見られなかった。母乳摂取後の吸収上皮細胞内の小胞内、ゴルジ装置内に脂肪滴が認められた。さらに細胞間隙、粘膜固有層内およびリンパ管内にも観察された。一方、胎内低栄養環境群の回腸では、正常環境群と比較して、短い指状の絨毛、浅い陰窩および範囲が狭い毛細血管網が認められた。日数を経るごとにその差は顕著になった。また、妊娠後期胎内低栄養環境群では出生直後(母乳未摂取)絨毛先端部付近に巨大ライソゾームを持つ吸収上皮細胞が認められた。さらに、離乳期(生後 21 日齢)になっても絨毛先端部付近に乳飲期の巨大ライソゾームを含んだ吸収上皮細胞が認められた。大腸において、結腸近部位では正常環境群と異なり生後 14 日齢まで

絨毛様構造が観察された。胎内低栄養環境群の腎臓では小型の腎小体が多数認められた。

今回の実験において、空腸では両群の絨毛の吸収面積に差がなく脂質の吸収機構に変化はないと考えられる。一方、胎内低栄養環境群の回腸は絨毛が短く、毛細血管網も狭いことで消化吸収面積もかなり少なく、タンパクなどの高分子物質の消化吸収が少ないと考えられる。その結果、相対的に脂質の吸収の割合が高くなることで、生活習慣病を惹起させる要因の一つになることが示唆される。そこで、妊娠前の女性と特に、妊婦の適切な栄養管理が重要である。また、胎内低栄養環境に暴露された乳幼児に対しては脂質を考慮した栄養管理を行い、生活習慣病発症の早期予防を行う必要がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計14件)

1. Kouzaki K, Kobayashi M, Nakamura K, Ohta K, Nakazato K. Repeated bouts of fast eccentric contraction produce sciatic nerve damage in rats. *Muscle Nerve*, 査読有, 2016, 54, 936-942, DOI: 10.1002/mus.25110.
2. Ishimatsu N, Miyamoto T, Ueno H, Hasegawa E, Kuma A, Fujimoto Y, Bando K, Nakamata J, Furuno Y, Serino R, Baba R, Morimoto H, Doi Y, Tamura M, Otsuji Y: High glucose concentration-induced expression of pentraxin-3 in a rat model of continuous peritoneal dialysis. *Histol Histopathol*, 査読有, 2016, 31(11), 1251-8, DOI: 10.14670/HH-11-756.
3. Sakuma Y, Arita K, Baba R, Kumagai N, Fujita M: Morphological study: Application to breastfeeding nursing, influence of supplemental feeding at the early neonatal stage -Application to breastfeeding nursing -. *Keimyung Journal of Nursing Science*, 査読有, 2016, 19(3), 63-69, <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/107481/e79227.pdf?sequence=1...y>
4. Miyagawa K, Oe S, Homma Y, Izumi H, Baba R, Harada M: Lipid-induced endoplasmic reticulum stress impairs selective autophagy at the step of autophagosome-lysosome fusion in hepatocytes. *The American Journal of Pathology*, 査読有, 2016, 186(7), 1867-73, DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.03.003.
5. Teramachi J, Inagaki Y, Shinohara H, Okamura H, Yang D, Ochiai K, Baba R, Morimoto H, Nagata T, Haneji T: PKR regulates LPS-induced osteoclast formation and bone destruction in vitro and in vivo. *Oral Dis*, 査読有, 2017, 23(2), 181-188, doi: 10.1111/odi.12592.
6. 田川辰也、青木るみ子、境田靖子、石本祐子、近江雅代: アルギニンによる血管拡張機能増強効果に対する抗酸化ビタミンの影響に関する研究. *西南女学院大学紀要*, 査読有, 2017, 21, 125-134, <http://id.nii.ac.jp/1536/00000019/>
7. 近江雅代: 栄養に関する基本数値. *小児看護*, 査読有, 2017, 20(2), 146-150, <https://www.herusu-shuppan.co.jp/sn201702/>
8. Takeya M, Hashitani H, Hayashi T, Higashi R, Nakamura K, Takano M: Role of mucosa in generating spontaneous activity in the guinea pig seminal vesicle. *The Journal of Physiology*, 査読有, 2017, 595(14), 4803-4821, DOI: 10.1113/JP273872.
9. 馬場良子, 國分啓司, 森本景之, 藤田守: 回腸吸収上皮細胞の形態および機能の変化. *顕微鏡*, 査読有, 2017, 52(1), 35-39, <http://microscopy.or.jp/jsm/wp-content/uploads/.../52-1-35.pdf>
10. Hirashima S, Ohta K, Hagihara M, Shimizu M, Kanazawa T, Nakamura K: Effect of Surface Texture of a Polyimide Porous Membrane on the Bone Formation Rate. *Journal of Hard Tissue Biology*, 査読有, 2018, 27(1), 95-100, <https://doi.org/10.2485/jhtb.27.95>
11. 近江雅代, 境田靖子, 青木るみ子, 辻澤利行, 秋房住郎, 日高勝美, 田川辰也: 大学連携事業としての地域密着型食育活動の展開～3年間の取組ならびに今後の課題～. *西南女学院大学紀要*, 査読有, 2018年, 22, 91-99, <https://seinan-jo.repo.nii.ac.jp/index.php>
12. Hirashima S, Ohta K, Hagihara M, Shimizu M, Kanazawa T, Nakamura K: Effects of an in vitro Reconstructed Three-dimensional Hematopoietic Microenvironment on Bone Regeneration in a Rat Calvarial Defect Model. *Journal of Hard Tissue Biology*, 査読有, 2018, 27(3), 185-194, <https://doi.org/10.2485/jhtb.27.185>.
13. Hagiwara A, Kitahara Y, Grabner CP, Vogl C, Abe M, Kitta R, Ohta K, Nakamura K, Sakimura K, Moser T, Nishi A, Ohtsuka T: Cytomatrix proteins CAST and ELKS regulate retinal photoreceptor development and maintenance. *Journal of Cell Biology*, 査読有, 2018, 217(11), 3993-4006, DOI: 10.1083/jcb.201704076.
14. Honma Y, Sato-Morita M, Katsuki Y, Mihara H, Baba R, Harada M: Trehalose activates autophagy and decreases proteasome inhibitor-induced endoplasmic reticulum stress and oxidative stress-mediated cytotoxicity in hepatocytes. *Hepatol Res*, 査読有, 2018, 48(1), 94-105, DOI: 10.1111/hepr.12892.

〔学会発表〕(計 30 件)

1. Hayashi T, Hirashima S, Ohta K, Nakamura K, Igawa T: Three-dimensional relationship between the bladder intramuscular interstitial cell and the axon innervated in the detrusor bundle by FIB/SEM tomography. AUA2016, 2016年
2. 手嶋英津子、浅野嘉延、田川辰也、近江雅代: 地域住民の骨粗鬆症の現状ならびに骨密度改善に対する食育推進活動の展開～2015年度パイロット研究～. 日本食育学会第4回学術大会, 2016年
3. Hayashi T, Uemura K, Hirasima S, Kanazawa T, Takeya M, Ohta K, Nakamura K, Igawa T: Three-dimensional observation of suburothelial interstitial cell by FIB/SEM tomography. 46th ICS annual meeting, 2016年
4. 森口里利子、今井克己、岩本昌子、近江雅代、中園栄里、津田博子: 女子学生の月経前症候群に影響を及ぼす食事因子. 第63回日本栄養改善学会学術総会, 2016年
5. 三成由美、熊谷奈々、馬場良子、徳井教孝、藤田守: 栄養補給法の違いが新生児(仔)空腸吸収上皮細胞の吸収機構に及ぼす影響に関する超微形態学的・免疫組織化学的研究. 第4回日本栄養改善学会九州・沖縄支部学術総会, 2016年
6. 中村桂一郎: 線維芽細胞は紡錘形か? 新機軸走査型電子顕微鏡FIB/SEMによる観察. 第68回日本皮膚科学会西部支部学術大会, 2016年
7. 馬場良子、國分啓司、森本景之、藤田守: 乳飲期マウス回腸上皮におけるヒストン修飾解析. 第122回 日本解剖学会 総会・全国学術集会, 2017年
8. 國分啓司、佐藤永洋、馬場良子、森本景之: 小腸上皮細胞における二本鎖RNA誘導性細胞死機構の解明. 第122回 日本解剖学会 総会・全国学術集会, 2017年
9. 太田啓介、吉富宗健、平嶋伸悟、力丸由起子、金澤知之進、中村桂一郎: 生体のポリウムイメージから得られる構造間の空間的距離による分類と解析. 日本顕微鏡学会第73回学術講演会, 2017年
10. 太田啓介、宮園佳宏、岡山聡子、中村桂一郎: メゾスケールが見えてくる. FIB-SEMによるオルガネラ構造の機能解析. 第49回日本臨床分子形態学会総会・学術集会, 2017年
11. 手嶋英津子、浅野嘉延、田川辰也、近江雅代: 地域住民の骨粗鬆症の現状ならびに骨密度改善に対する食育推進活動の取り組み. 日本食育学会第5回学術大会, 2017年
12. 近江雅代、石本祐子、青木るみ子、境田靖子、辻澤利行、天本理恵、坂巻路可、久保由紀子、田川辰也: 北九州市における大学連携事業としての食育活動の展開～第3報: :3年間の取組と今後の課題～. 第64回日本栄養改善学会学術総会, 2017年
13. 石井愛子、田中貴絵、手嶋英津子、山田志麻、境田靖子、田川辰也、近江雅代: 北九州市における大学連携事業としての食育活動の展開～第4報: 参加回数と生活習慣改善との関連性～. 第64回日本栄養改善学会学術総会, 2017年
14. 森口里利子、今井克己、岩本昌子、近江雅代、中園栄里、津田博子: 女子学生の月経前症候群(PMS)と栄養素等摂取量との関連. 第64回日本栄養改善学会学術総会, 2017年
15. 瀬戸瑠璃、増田圭子、安永勝代、手嶋英津子、近江雅代、野原栄: 糖尿病教育入院患者の食品摂取状況と体重、BMI、HbA1cとの関連性について. 第55回日本糖尿病学会九州地方会, 2017年
16. 熊谷奈々、三成由美、藤田守: 妊娠中の低栄養が出生後の児の栄養補給系(小腸)に及ぼす影響に関する三次元的解析. 第64回日本栄養改善学会全国学術総会, 2017年
17. 馬場良子、國分啓司、藤田守、森本景之: マウス小腸陰窩形成におけるメチル化の影響. 第123回 日本解剖学会 総会・全国学術集会, 2018年
18. 瀬戸瑠璃、増田圭子、安永勝代、手嶋英津子、近江雅代、野原栄: 半年で2回の教育入院を経た患者からみえたHbA1cの変化と食行動質問票の有用性. 第21回日本病態栄養学会年次学術集会, 2018年
19. Miyazono Y, Ohta K, Togo A, Nakamura K: New live imaging combined 3D-CLEM revealed a quick response of mitochondrial transformation from tubular to a globular form after loss of membrane potential. 19th International Microscopy Congress, 2018年
20. 近藤照義、金丸孝昭、西健太郎、矢住京、松岡洋平、中村桂一郎、森本景之、磯部信一郎: 腎虚血再灌流障害におけるCX3CL1の発現 - Fluolidを用いたCLEM観察. 日本顕微鏡学会総会第74回学術講演, 2018年
21. 首藤翼、衣笠哲矢、別府仙梨、藤野萌子、太田啓介、東龍平、中村桂一郎: ラット遠位尿管基底線条に観られるミトコンドリアの特異的な形状. 日本顕微鏡学会総会第74回学術講演, 2018年
22. 馬場良子、國分啓司、横山満、森本景之、藤田守: 超薄切片法. 日本顕微鏡学会総会第74回学術講演, 2018年
23. 太田啓介、中村桂一郎: 医学生物学分野におけるFIB-SEMトモグラフィ法の課題. 日本顕微鏡学会第61回シンポジウム in Toyama, 2018年
24. 金丸孝昭、近藤照義、西健太郎、矢住京、中村桂一郎、森本景之、磯部信一郎: 新規蛍光色素Fluolid NSL Orange標識Nanogoldを用いた包埋前免疫染色による光電子相関顕微鏡法. 日本顕微鏡学会第61回シンポジウム in Toyama. 2018年

25. 金丸孝昭、近藤照義、西健太郎、矢住京、中村桂一郎、森本景之、磯部信一郎：破骨細胞形成におけるタンパク質相互作用の可視化解析．第59回 日本組織細胞化学会総会・学術集会，2018年
26. 馬場良子、國分啓司、藤田守、森本景之：生後におけるマウス小腸上皮とメチル化の関連．第37回 分子病理研究会，2018年
27. 馬場良子、國分啓司、藤田守、森本景之：発達過程のマウス小腸上皮におけるライソザイムの局在．第60回 日本顕微鏡学会 九州支部学術集会・学術講演会，2018年
28. 安永勝代、瀬戸瑠璃、山田沙央理、増田圭子、手嶋英津子、近江雅代、井元博文：糖尿病患者における食行動の問題点を探る～食行動質問表から見えたこと～．第56回日本糖尿病学会九州地方会，2018年
29. 山田沙央理、瀬戸瑠璃、増田圭子、安永勝代、手嶋英津子、近江雅代、井元博文：食行動質問表を用いた栄養指導の検討～コントロール悪化を繰り返す症例を通して～．第56回日本糖尿病学会九州地方会，2018年
30. 瀬戸瑠璃、山田沙央理、増田圭子、安永勝代、手嶋英津子、近江雅代、井元博文：1年後HbA1cが悪化した患者のうち食行動質問表に特徴のあった1例．第56回日本糖尿病学会九州地方会，2018年

〔図書〕(計2件)

1. 飯嶋正広、井上久美子、今井克己、近江雅代、恩田理恵、小林三智子：三共出版株式会社，わかりやすい臨床栄養学(第5版)，2017.
2. 馬場良子、國分啓司、横山満、森本景之、藤田守：医・生物分野でのゼロから聞ける、電子顕微鏡試料作成と観察の基礎の基礎！電子顕微鏡 基礎技術チュートリアル．医学生物学電子顕微鏡基礎，2018，32-39.

〔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：
 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：
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者氏名：中村桂一郎
 ローマ字氏名：Nakamura, Kei-Ichiro
 所属研究機関名：久留米大学
 部局名：医学部
 職名：教授
 研究者番号(8桁)：20172398

(2) 研究分担者氏名：馬場 良子
 ローマ字氏名：Baba, Ryoko
 所属研究機関名：産業医科大学
 部局名：医学部
 職名：講師

研究者番号(8桁): 90271436

(3) 研究分担者氏名: 近江 雅代

ローマ字氏名: Oumi, Masayo

所属研究機関名: 西南女学院大学

部局名: 保健福祉学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 20301682

(4) 研究分担者氏名: 熊谷 奈々

ローマ字氏名: Kumagai, Nana

所属研究機関名: 中村学園大学

部局名: 栄養科学部

職名: 助教

研究者番号(8桁): 70552983

(5) 研究分担者氏名: 森本 景之

ローマ字氏名: Morimoto, Hiroyuki

所属研究機関名: 産業医科大学

部局名: 医学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 30335806

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。