

令和元年6月4日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11088

研究課題名(和文)胎生期プログラミングによるメタボリック症候群発症ハイリスク群バイオマーカーの検討

研究課題名(英文) Analysis of biomarker for preemptive medicine from perinatal period to prevent the metabolic syndrome

研究代表者

増山 寿 (Masuyama, Hisashi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30314678

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：母体肥満は妊娠糖尿病、妊娠高血圧症候群や胎児過剰発育をもたらすだけでなく、児成長後のメタボリック症候群(MS)発症リスクを増加させる。MS発症抑制には様々な対策が講じられているが不十分であり、一歩進めた胎児・新生児期からのハイリスク群の同定、早期介入などの先制医療が重要と考えられる。本研究では高脂肪食飼育による世代間連鎖マウスモデルを用いて、母体肥満、耐糖能異常下の子宮内環境が出生後成長後のMS発症に関与するメカニズムを糖・脂質関連代謝エピゲノムへの影響から検討した。出生仔はアディポサイトカイン遺伝子のヒストン修飾にエピゲノム変化を認め、孫世代までこの変化は保たれた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

母体肥満・耐糖能異常下の子宮内環境による胎児プログラミングの変化がもたらす肥満・耐糖能関連遺伝素因への影響を示す最適なバイオマーカー候補として、アディポサイトカイン遺伝子のエピゲノム変化を同定した。生活習慣病発症を抑制し健やかな次世代育成に繋がる“先制医療”の実用化を目指すためのヒトでの応用を目指す上での端緒となる基盤研究結果と考える。

研究成果の概要(英文)：The links between obesity in parents and their offspring and the role of genes and a shared environment are not completely understood. In this study, we examined whether the offspring from dams exposed to a high fat diet during pregnancy (OH mice) exhibited hypertension, insulin resistance and hyperlipidemia along with epigenetic changes in the expression of adipocytokine genes. Our data demonstrated that the exposure to an HFD in utero might cause a metabolic syndrome-like phenomenon through epigenetic modifications of adipocytokine, adiponectin and leptin gene expressions.

研究分野：周産期医学

キーワード：バイオマーカー 妊娠糖尿病 妊娠高血圧症候群 メタボリック症候群 プログラミング 胎生期 継代的影響

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

1. 研究開始当初の背景

【子宮内環境は胎児プログラミングを介して世代を超えて MS 発症に関与する】

肥満による内臓脂肪の蓄積は脂肪細胞から分泌される様々なアディポサイトカイン(AC)分泌異常を認め動脈硬化、インスリン抵抗性(IR)などを惹起し MS 病態形成の基盤を成している。本邦でのメタボリック症候群(MS)は予備軍を含めると 2000 万人に上り様々な対策が講じられているが増加の一途をたどっている。母体の肥満は GDM や PIH といった妊娠合併症や胎児過剰発育をもたらすだけでなく、成長した児の肥満や MS 発症リスクを増加させ、更に糖尿病発症増加に関与していることが知られている。即ち母体肥満や高血糖下の子宮内環境では胎児プログラミングに影響し、肥満・耐糖能関連遺伝素因が世代を超えて深く関与している可能性がある。

【MS の病態におけるアディポサイトカイン(AC)の重要性】

近年の研究により脂肪組織は最大の内分泌器官として知られるようになり、脂肪細胞から分泌される AC は様々な病態に関与していることが知られている。肥満による内臓脂肪の蓄積はアディポネクチン、レプチンなどの AC 分泌異常を認め動脈硬化、インスリン抵抗性(IR)などを惹起し MS 病態形成の基盤を成している。我々は、PIH は胎盤由来血管新生因子の不均衡による血管内皮障害が病態の本質であるが、肥満妊婦では AC 異常、IR 亢進が病態に深く関与していることを報告してきた(*BJOG, 2010*)。このことは PIH に子宮内で暴露した児は将来 MS を罹患し易いという疫学結果をある程度説明出来る可能性がある。

【AC 遺伝子のエピゲノムの変化が次世代の MS 発症に関与する】

ゲノムのエピジェネティックな制御(エピゲノム)とは、DNA 塩基配列の変化を伴うことなく DNA のメチル化やヒストンタンパク質の修飾などクロマチンの化学修飾を介した遺伝子発現の制御であるが、近年子宮内環境に適応するためのエピゲノムの変化が、耐糖能異常、肥満、炎症や神経変性などの様々な疾患の病態に関与している可能性が報告されている。我々のこれまでの検討では、高脂肪食飼育肥満妊娠マウスでは肥満、血圧上昇、耐糖能異常、脂質・AC 異常及び胎仔過体重を呈すること(*Mol Cell Endocrinol, 2012*)、出生仔は出生後早期より血中脂質・AC 濃度異常、脂肪組織での AC 遺伝子発現異常を認め、成長に伴い過体重、血圧上昇と耐糖能異常が発現し、AC 遺伝子 promoter 領域のヒストンアセチル化とメチル化エピゲノム変化が児成長後の MS 発症リスクを複数世代にわたり増加させることに深く関与している可能性がある。

【胎児プログラミングによる肥満・耐糖能関連遺伝素因の継承に対する先制医療】

胎児・新生児期はその環境がそれぞれの健康度と疾患感受性を規定することが知られており、各個体の遺伝的形質や成育履歴に基づいた様々な疾病の発症機序に介入することにより、その個体の疾病発症を未然に防ぐことを目指す先制医療(preemptive medicine)が提唱されている。MS 発症抑制には予防医学として生活習慣の改善などが進められているが効果は不十分であり、更に一歩進めた胎児・新生児期からハイリスク群を同定し早期介入する先制医療が重要と考えられる。この先制医療を実践するためには、ハイリスク群の同定と介入効果判定のためのバイオマーカーの開発が大きな鍵を握っていると考えられる。

2. 研究の目的

これまでの研究結果を踏まえて本研究では、

1. すでに確立している動物実験モデル(高脂肪食飼育肥満妊娠マウス)を用いて、内因性機能的催奇形因子と考えられる血糖、脂質、アディポサイトカイン、ホルモンなどの測定、肥満・耐糖能関連遺伝素因に関与する遺伝子の発現や DNA メチル化やヒストン修飾など代謝エピゲノムの変化を調べ、MS 発症リスク群を同定できるバイオマーカー候補を検索する。

- これらのバイオマーカー候補の測定に適した生体試料（母体血，胎児血，新生児血，胎盤など）をヒトの臨床検体への応用を考えた上で検討する。
- バイオマーカー異常を呈したマウスの出生後経過（MS 発症など）を観察し，それぞれのマーカーがハイリスク群抽出に有用か検討する。
- 倫理委員会の承認後，マウスの実験で得られたバイオマーカー候補がヒトの臨床検体（母体血，胎児血，新生児血，胎盤など）で測定可能か検討する。

これらの検討により母体肥満・耐糖能異常下の子宮内環境による胎児プログラミングの変化がもたらす肥満・耐糖能関連遺伝素因への影響を示す最適なバイオマーカーを検索・同定すると共に，人への応用の可能性を検討し先制医療実践に向けたコホート研究への基礎的研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

- 子宮内環境による胎児プログラミングへの影響を介した糖・脂質関連代謝エピゲノムの変化から検討し，バイオマーカー候補を検索・同定した。
- バイオマーカー候補の有用性の検証と臨床検体を用いて応用可能かどうかを検討した。

4. 研究成果

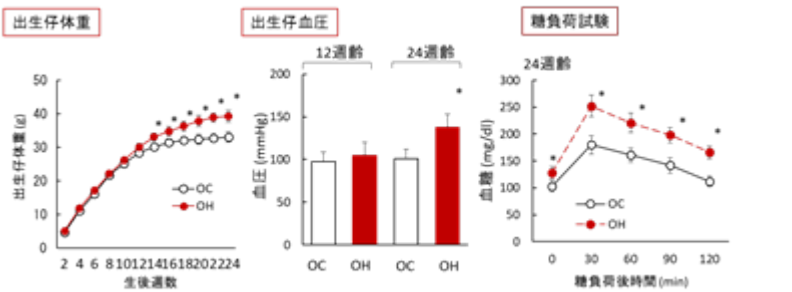
高脂肪食および通常食飼育妊娠マウスを用いて世代間連鎖動物実験モデルを独自に開発した。母体肥満，耐糖能異常下の子宮内環境が胎生期プログラミングを介して出生仔成長後の MS 発症に

関与するメカニズムを糖・脂質関連代謝エピゲノムへの影響という面から解明し，MS 発症ハイリスク群同定に向けたバイオマーカーを検索したところ，アディポサイトカイン、特にアディポネクチンとレプチンのプロモーター領域のヒストン修飾に変化を認め、複数世代にわたりこの変化は保たれ、また生活習慣病を発症しやすかった。出生仔のアディポサイトカイン特にアディポネクチンおよびレプチン遺伝子の発現やエピゲノム変化が成長後の肥満・メタボリック症候群発症に深く関与していることを明らかにした。

さらにヒト臍帯血にて胎児発育異常を伴う妊娠合併症による子宮内環境の悪化によるアディポネクチン遺伝子の発現やエピゲノム変化への影響を認めた。

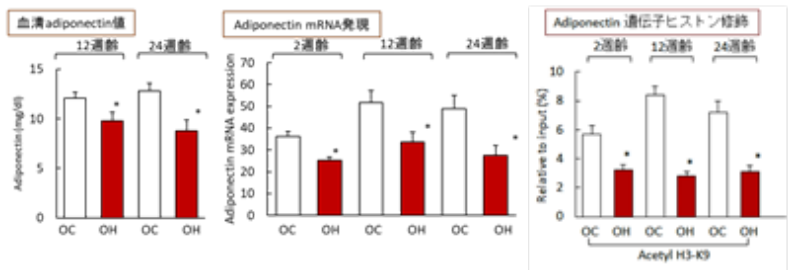
今後は、ヒト検体を用いて母体の体格・栄養状態（肥満・やせ）や妊娠糖尿病（GDM）や妊娠

世代間連鎖モデル（高脂肪食飼育肥満マウス）の開発



世代間連鎖モデルでは、成長に伴い肥満、血圧上昇と耐糖能異常を認めた

世代間連鎖モデルでの子宮内環境のアディポサイトカイン遺伝子エピゲノムへの影響



世代間連鎖モデルでは、アディポネクチン遺伝子の発現とエピゲノム変化を認めた。レプチンでも同様の影響を認めた。

高血圧症候群(HDP)などの妊娠合併症をもたらす子宮内環境の悪化の影響を代謝エピゲノムの視点からアディポネクチン遺伝子に加えて、糖・脂質代謝関連遺伝子全体に拡げて解析し病態の実体に迫るとともに、子宮内環境や周産期経過を反映するバイオマーカーを探索し実用化へ向けての基盤としたい。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 67 件)

Matsuoka H, Nakamura K, Matsubara Y, Ida N, Nishida T, Ogawa C, Katsui K, Kanazawa S, Masuyama H. Sarcopenia Is Not a Prognostic Factor of Outcome in Patients With Cervical Cancer Undergoing Concurrent Chemoradiotherapy or Radiotherapy. *Anticancer Res.* 2019 Feb;39(2):933-939. doi:10.21873/anticancerres.13196. PubMed PMID: 30711978.

査読あり

Suzumori N, Masuyama H, et. al. Classification of factors involved in nonreportable results of noninvasive prenatal testing (NIPT) and prediction of success rate of second NIPT. *Prenat Diagn.* 2019;39(2):100-106. doi: 10.1002/pd.5408. 査読あり

Mitsui T, Tani K, Maki J, Eguchi T, Tamada S, Eto E, Hayata K, Masuyama H. Upregulation of Angiogenic Factors via Protein Kinase C and Hypoxia-induced Factor-1 Pathways under High-glucose Conditions in the Placenta. *Acta Med Okayama.* 2018;72(4):359-367. doi: 10.18926/AMO/56171. 査読あり

Matsuoka H, Nakamura K, Matsubara Y, Ida N, Saijo M, Ogawa C, Masuyama H. The Influence of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy on Quality of Life of Gynecologic Cancer Survivors. *Int J Gynecol Cancer.* 2018;28(7):1394-1402. doi: 10.1097/IGC.0000000000001320. 査読あり

Haruma T, Nagasaka T, Nakamura K, Haraga J, Nyuya A, Nishida T, Goel A, Masuyama H, Hiramatsu Y. Clinical impact of endometrial cancer stratified by genetic mutational profiles, POLE mutation, and microsatellite instability. *PLoS One.* 2018;13(4):e0195655. doi: 10.1371/journal.pone.0195655. 査読あり

Suzumori N, Masuyama H, et. al. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma for the prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018 ;224:165-169. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.03.048. 査読あり

Fujita S, Hasegawa T, Nishiyama Y, Fujisawa S, Nakano Y, Nada T, Iwata N, Kamada Y, Masuyama H, Otsuka F. Interaction between orexin A and bone morphogenetic protein system on progesterone biosynthesis by rat granulosa cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;181:73-79. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.03.004. 査読あり

Eto E, Maki J, Tamada S, Mitsui T, Hayata K, Hiramatsu Y, Masuyama H. Assessment of resting energy expenditure and body composition in Japanese pregnant women with diabetes. *J Diabetes Investig.* 2018;9(4):959-966. doi:10.1111/jdi.12795. 査読あり

Kiyotoki T, Nakamura K, Haraga J, Omichi C, Ida N, Saijo M, Nishida T, Kusumoto T, Masuyama H. Sarcopenia Is an Important Prognostic Factor in Patients With Cervical Cancer Undergoing Concurrent Chemoradiotherapy. *Int J Gynecol Cancer.* 2018; 28(1):168-175. doi: 10.1097/IGC.0000000000001127. 査読あり

Omichi C, Nakamura K, Haraga J, Ida N, Saijo M, Nishida T, Kusumoto T, Masuyama H. The Influence of Adverse Effects on Quality of Life of Survivors of Gynecologic Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(9):2014-2019. doi: 10.1097/IGC.0000000000001125. 査読あり

Samura O, Masuyama H, et. al. Current status of non-invasive prenatal testing in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*. 2017 Aug;43(8):1245-1255. doi: 10.1111/jog.13373. 査読あり

Nobumoto E, Masuyama H, Maki J, Eguchi T, Tamada S, Mitsui T, Eto E, Hayata K, Hiramatsu Y. Comparison of Kidney Function between Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Acta Med Okayama*. 2017 Apr;71(2):161-169. doi:10.18926/AMO/54985. 査読あり

Mitsui T, Masuyama H, Eguchi T, Tamada S, Eto E, Hayata K, Hiramatsu Y. Sex differences in early growth during the first three years of life in offspring from mothers with pregnancy-induced hypertension. *Pregnancy Hypertens*. 2016;6(4):361-366. doi: 10.1016/j.preghy.2016.08.238. 査読あり

Haraga J, Nakamura K, Omichi C, Nishida T, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Masuyama H, Katayama N, Kanazawa S, Hiramatsu Y. Pretreatment prognostic nutritional index is a significant predictor of prognosis in patients with cervical cancer treated with concurrent chemoradiotherapy. *Mol Clin Oncol*. 2016;5(5):567-574. 査読あり

Nakamura K, Masuyama H, Ida N, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. Radical Hysterectomy Plus Concurrent Chemoradiation/Radiation Therapy Is Negatively Associated With Return to Work in Patients With Cervical Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(1):117-122. doi: 10.1097/IGC.0000000000000840. 査読あり

Yotsumoto J, Masuyama H, et. al. Japan NIPT Consortium. A survey on awareness of genetic counseling for non-invasive prenatal testing: the first year experience in Japan. *J Hum Genet*. 2016;61(12):995-1001. doi: 10.1038/jhg.2016.96. 査読あり

Masuyama H, Nakamura K, Nobumoto E, Hiramatsu Y. Inhibition of pregnane X receptor pathway contributes to the cell growth inhibition and apoptosis of anticancer agents in ovarian cancer cells. *Int J Oncol*. 2016;49(3):1211-20. doi: 10.3892/ijo.2016.3611. 査読あり

Nakamura K, Masuyama H, Nishida T, Haraga J, Ida N, Saijo M, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. Return to work after cancer treatment of gynecologic cancer in Japan. *BMC Cancer*. 2016;16:558. doi:10.1186/s12885-016-2627-0. 査読あり

Masuyama H, Mitsui T, Maki J, Tani K, Nakamura K, Hiramatsu Y. Dimethylesculetin ameliorates maternal glucose intolerance and fetal overgrowth in high-fat diet-fed pregnant mice via constitutive androstane receptor. *Mol Cell Biochem*. 2016;419(1-2):185-92. doi: 10.1007/s11010-016-2772-4. 査読あり

Masuyama H, Mitsui T, Eguchi T, Tamada S, Hiramatsu Y. The effects of paternal high-fat diet exposure on offspring metabolism with epigenetic changes in the mouse adiponectin and leptin gene promoters. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2016;311(1):E236-45. doi: 10.1152/ajpendo.00095.2016. 査読あり

〔学会発表〕(計 151 件)

増山 寿：少子高齢化社会における産婦人科のミッション、岡山医学会雑誌、2018 年

増山 寿：周産期疾患と生活習慣病、徳島産科婦人科学会、2018 年

〔図書〕(計 5 件)

増山 寿：-9 産後の管理 妊娠糖尿病があったらどれくらいの割合で将来糖尿病になるのですか？改訂第 2 版 妊婦の糖代謝異常 診療・管理マニュアル，日本糖尿病・妊娠学会編，メジカルビュー社，東京，pp199-200，2018

増山 寿：-10 産後の管理 妊娠糖尿病患者が次回妊娠で妊娠糖尿病を繰り返す頻度は？改訂第 2 版 妊婦の糖代謝異常 診療・管理マニュアル，日本糖尿病・妊娠学会編，メジカルビュー社，東京，pp201-202，2018

6．研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：平松祐司

ローマ字氏名：HIRAMATSU Yuji

所属研究機関名：岡山大学

部局名：医歯薬学総合研究科

職名：特命教授

研究者番号(8桁): 80218817

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：延本悦子，光井 崇，江口武志，玉田祥子

ローマ字氏名：NOBUMOTO Etsuko, MITSUI Takashi, EGUCHI Takeshi, TAMADA Shoko

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。