

令和元年6月21日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11092

研究課題名(和文) 子宮内環境是正への治療的戦略：次世代の生活習慣病発症予防を目指して

研究課題名(英文) Therapeutic strategies to correct utero environment for preventing NCDs in offspring

研究代表者

杉山 隆 (SUGIYAMA, TAKASHI)

愛媛大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10263005

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)：マウスを用いた動物実験の結果、母獣の肥満が子宮内の過栄養状態が脂肪組織の炎症性変化を介して胎児に影響を与え、出生した児が将来、生活習慣病を発症しやすくなることが判明した。一方、抗炎症性作用を有する魚油を妊娠中に投与すると、生活習慣病発症の程度が軽減し、炎症のマーカーである炎症性サイトカイン等の発現が軽度低下することが判明した。これらの結果は、妊娠中のお母さんが魚油を摂取することがお母さんのみならず子どもの将来の健康を守ることに繋がる可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

お母さんの肥満が次世代である子どもの将来の健康に悪影響を及ぼす可能性が明らかとなった。この現象には炎症が関連する可能性があり、まず妊娠前に減量することが必要であるが、妊娠前から妊娠中に魚油を摂取することがお母さんおよび次世代の健康のために有効である可能性が判明した。ただし、これらの結果はマウスにおける検討結果であり、今後、ヒトにおいて検討する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Animal experiments using mice showed that high-fat-diet in pregnant mice affected fetal metabolism through inflammatory changes in adipose tissue, and offspring from their pregnant mice are likely to develop non-communicable diseases (NCDs) in later life. On the other hand, it was found that when fish oil having an anti-inflammatory effect is administered during pregnancy, the degree of NCDs onset is reduced, and the expression of some inflammatory cytokines were slightly reduced. These results suggest that fish oil supplement in pregnant mothers may lead to the health of children as well as mothers in future.

研究分野：周産期医学、代謝・内分泌学

キーワード：子宮内環境 炎症 インスリン抵抗性 DOHaD epigenetics

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

1. 研究開始当初の背景

これまで我々は、妊娠モデルマウスを用いて妊娠時の生理的インスリン抵抗性発生に脂肪組織における炎症様変化が関与する可能性を示した。また高脂肪食摂取の肥満モデルマウスを用いて検討した結果、肥満母獣のインスリン抵抗性が対照群に比し高く、高脂肪食摂取母獣の胎子のインスリン抵抗性も増大することも判明した。さらに次世代の検討において、仔マウスのインスリン抵抗性増大と血圧上昇を来とし、母獣高脂肪食摂取が子宮内のエピジェネティクスに関与する可能性も示した。

2. 研究の目的

本研究では、これまでの研究成果に基づき、母獣の脂肪組織における遺伝子発現を網羅的に検討した。その結果に基づき、母獣の高脂肪食摂取による次世代の生活習慣病発症予防の観点から、特に食事による予防法を探るべく、抗炎症性作用を有する n-3 多価不飽和脂肪酸の効果に関する研究を行った。

3. 研究の方法

内臓脂肪組織における遺伝子発現のプロファイルの相違について比較検討するために、母獣が ND 群と HFD 群の各群から出生した仔の DNA マイクロアレイを解析した。その結果、次世代の 2 群間で 142 個の発現変動遺伝子が同定された。これら 142 個の発現変動遺伝子について Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID)により gene ontology と pathway 解析を行った。

炎症性シグナルの鍵分子であるトール様受容体 4 (TLR-4) ノックアウトマウスを高脂肪食負荷の下、妊娠させることにより、TLR-4 シグナルの関与を検討した。次に、次世代の生活習慣病発症予防法を探るために、抗炎症性作用を有する n-3 PUFA に着眼し、母体への高脂肪食負荷による子宮内過栄養環境が胎児に及ぼすエピジェネティック制御の悪循環を断つ目的で n-3 PUFA を過剰発現するマウス (Fat-1 マウス) を用いた検討を行った。

4. 研究成果

gene ontology 解析の結果、15 の gene ontology を有することが判明した。一番強く関連した pathway は、脂質合成、脂質代謝、脂質代謝過程であった。次にステロイド・コレステロール合成、ステロイド・コレステロール代謝に関する遺伝子群が関連した。さらに酸化還元酵素関係、脂肪酸合成・代謝、AMPK シグナリング経路が関連した (表 1)。次に pathway 解析を行ったところ、表 2 に示すように、主要な代謝系に差を有することが判明した。すなわち、脂質および炭素代謝、ピルビン酸代謝をはじめ、解糖系・糖新生系の代謝、ステロイド・不飽和脂肪酸の生合成に差が認められた (表 2)。

Cluster	Description	Count	p-value	Associated Genes or explanation
1	Lipid biosynthesis	29	4.7E-32	fats, oils, triacylglycerols, fatty acids, glycolipids, steroids
1	Lipid metabolism	38	2.9E-31	fats, oils, triacylglycerols, fatty acids, glycolipids, steroids
1	Endoplasmic reticulum	28	3.3E-10	flattened, single-membrane vesicles whose inner compartments, the cisternae, interconnect to form channels throughout the cytoplasm
2	Oxidoreductase	27	9.8E-14	enzyme that catalyzes the oxidation of one compound with the reduction of another
2	NADP	12	2.1E-8	enzymes which use NADP(H) as an electron acceptor or as a cofactor
3	Steroid biosynthesis	14	1.2E-19	bile acids, sterols, various hormones and saponins
3	Sterol biosynthesis	11	5.5E-16	components of cell membranes in plants, animals and fungi
3	Cholesterol biosynthesis	10	2.9E-15	component of cell membranes, especially of the plasma membrane
3	Sterol metabolism	13	6.9E-15	components of cell membranes in plants, animals and fungi
3	Cholesterol metabolism	12	6.5E-14	major sterol of higher animals and an important component of cell membranes, especially of the plasma membrane
3	Steroid metabolism	13	6.6E-14	bile acids, sterols, various hormones and saponins
4	Fatty acid biosynthesis	11	2.6E-12	constituents of lipids and can be saturated or unsaturated
4	Fatty acid metabolism	13	4.0E-11	constituents of lipids and can be saturated or unsaturated
4	Biosynthesis of unsaturated fatty acid	6	7.1E-6	enzymes which are involved in biosynthesis of n-3 and n-6 families
4	AMPK signaling pathway	9	4.6E-5	Once activated, AMPK leads to a concomitant inhibition of energy-consuming biosynthetic pathways, such as protein, fatty acid and glycogen synthesis, and activation of ATP-producing catabolic pathways, such as fatty acid oxidation and glycolysis.

表 1. The top 5 enriched GO terms with the most low p-value for differentially expressed genes

Pathway	Count	p-value	Associated Genes or explanation
Metabolic pathway	45	3.5E-15	glutamic pyruvic transaminase, liver glycogen phosphorylase, phosphofructokinase(B-type), malic enzyme 1, et al
Steroid biosynthesis	8	4.5E-10	24-dehydrocholesterol reductase, 7-dehydrocholesterol reductase(Dhcr7), NAD(P) dependent steroid dehydrogenase-like, cytochrome P450, et al
Carbon metabolism	12	2.4E-8	acyl-CoA synthetase, aldolase A, enolase 1, glutamic pyruvic transaminase, malic enzyme 1, phosphofructokinase (B-type), pyruvate kinase, et al
Fatty acid metabolism	9	4.1E-8	fatty acid synthase, acetyl-Coenzyme A carboxylase, carnitine palmitoyltransferase 1b, 17-beta dehydrogenase, stearyl-Coenzyme A desaturases, et al
Pyruvate metabolism	7	2.5E-6	acetyl-Coenzyme A carboxylase alpha, acetyl-Coenzyme A carboxylase beta, acyl-CoA synthetase, malic enzyme, pyruvate kinase, et al
Glycolysis/Gluconeogenesis	8	4.7E-6	acyl-CoA synthetase, aldolase A, enolase 1, phosphofructokinase (B-type), pyruvate dehydrogenase, pyruvate kinase, et al
Biosynthesis of unsaturated fatty acid	6	7.1E-6	17-beta dehydrogenase, stearyl-Coenzyme A desaturases, et al

表 2. The pathways enriched for differentially expressed genes

次に、炎症性シグナルの鍵分子であるトール様受容体 4 (TLR-4) ノックアウトマウスを高脂肪食負荷の下、妊娠させることにより、母獣のインスリン抵抗性の改善傾向を認めたが、対照群に比し有意差を認めるには至らなかった。一方、次世代への好影響を予想したが、有意な差は得られなかった。TLR-4 アンタゴニストの投与実験も行ったが、母仔への好影響を認めなかった。これらの結果は、炎症性シグナルは多岐にわたり、主経路を遮断するだけではその効果を発揮するには不十分であることを示唆する結果であった。そこで、抗炎症性作用を有する n-3 多価不飽和脂肪酸 (PUFA) に着眼し、n-3 PUFA が母獣への高脂肪食負荷による子宮内過栄養環境が胎仔に及ぼすエピジェネティック制御の悪循環を断つことを研究仮説として実験を行った。具体的には、n-3 PUFA リッチを摂餌することにより、母獣の脂肪組織の炎症性変化の軽減を介した次世代のインスリン抵抗性を軽減に寄与することを示した。

以上の研究成果を現在投稿中である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

Takagi K, Iwama N, Metoki H, Uchikura Y, Matsubara Y, Matsubara K, Nishigori H, Saito M, Fujiwara I, Sakurai K, Kuriyama S, Arima T, Nakai K, Yaegashi N, Sugiyama T; Japan Environment and Children's Study Group. Paternal height has an impact on birth weight of their offspring in a Japanese population: the Japan Environment and Children's Study. *J Dev Orig Health Dis*. 2019 Feb 11:1-13 (in press) (査読有)

Iwama N, Sugiyama T, Metoki H, Kusaka H, Yaegashi N, Sagawa N, Hiramatsu Y, Toyoda N. Difference in the prevalence of gestational diabetes mellitus according to gestational age at 75-g oral glucose tolerance test, in Japan: The JAGS trial. *J Diabetes Investig* 2019 Mar 21, (in press) (査読有)

Sato T, Sugawara J, Aizawa N, Iwama N, Takahashi F, Nakamura-Kurakata M, Saito M, Sugiyama T, Kunikata H, Nakazawa T, Yaegashi N. Longitudinal changes of ocular blood flow using laser speckle flowgraphy during normal pregnancy. *PLoS One* 12:e0173127,2017 (査読有)

Iwama N, Sugiyama T, Metoki H, Kusaka H, Maki J, Nishigori H, Yaegashi N, Sagawa N, Hiramatsu Y, Toyoda N. Maternal body mass index is a better indicator of large-for-gestational-age infants compared with a 75-g oral glucose tolerance test in early pregnancy: The JAGS trial. *Diabetes Res Clin Pract* 132:10-18,2017 (査読有)

Mizuno S, Nishigori H, Sugiyama T, Takahashi F, Iwama N, Watanabe Z, Sakurai K, Ishikuro M, Obara T, Tatsuta N, Nishijima I, Fujiwara I, Arima T, Kuriyama S, Metoki H, Nakai K, Inadera H, Yaegashi N; Japan Environment & Children's Study Group. Association between social capital and the prevalence of gestational diabetes mellitus: An interim report of the Japan Environment and Children's Study. *Diabetes Res Clin Pract* 120:132-141,2016 (査読有)

Takashi F, Nishigori H, Nishigori T, Mizuno S, Obara T, Metoki H, Sakurai K, Isikuro M, Iwama N, Tasuta N, Nishijima I, Fujiwara I, Arima T, Nakai K, Sugiyama T, Kuriyama S, Yaegashi N, Japan Environment & Children's Study Group. Fermented Food Consumption and Psychological Distress in Pregnant Women: A Nationwide Birth Cohort Study of the Japan Environment and Children's Study. *Tohoku J Exp Med* 240:309-321,2016 (査読有)

杉山 隆. 児からみた妊娠と糖尿病：子宮内環境と児の将来の生活習慣病. *糖尿病プラクティス*. 医歯薬出版 33:168-171,2016 (査読有)

杉山 隆, 上野愛実, 南條眸, 横山真紀. DOHaD の視点からみた妊娠糖尿病の管理

産科と婦人科. 診断と治療社 84:1172-1177,2017 (査読有)

杉山 隆. 子宮内環境と生活習慣病. 日本体質医学会雑誌 80:49-54,2018 (査読無)

〔学会発表〕(計9件)

杉山 隆. DOHaD の概念および妊娠糖尿病の考え方. 第34回日本糖尿病・妊娠学会, 2018

杉山 隆. DOHaD 研究を巡る最近の話題 シンポジウム. 第61回日本糖尿病学会, 2018

Sugiyama T, Hiramatsu, Y, Omori Y. Pre-pregnancy BMI is a better indicator of LGA infants compared with plasma glucose levels of a 75-g OGTT in early pregnancy in Japan: Taking into account changes of 75-g OGTT in pregnancy. The annual Diabetic Pregnancy Study Group Meeting 2018 (国際学会), 2018

内倉友香、松原圭一、藤岡徹、杉山 隆. 母体の高脂肪食が次世代の生活習慣病発症に關与するメカニズムの検討. 第33回日本女性医学会(岐阜市)

杉山 隆. 第24回愛媛NST研究会 特別講演. DOHaD の視点からみた生活習慣病

Sugiyama T, Umekawa T, Tsuiji K, Uchikura Y, Matsubara Y, Matsubara K. 10th World Congress on DOHaD. Symposium: A maternal diet with moderately high-fat modulates adipose gene expression of glucose, lipid metabolism in the offspring

Sugiyama T. Diabetes Management in Women, Education Conference for UN World Diabetes Day 2017 Pregnancy outcomes of gestational diabetes mellitus, type 1, and type 2 diabetes mellitus in Japan Oct.28, 台中市,台湾

杉山 隆. 第40回日本産科婦人科栄養・代謝研究会(札幌市)2016年9月1日 妊娠を通して考えるファミリーヘルスケア

杉山 隆. 第37回日本肥満学会(東京都)2016年10月7日 教育講演「肥満と女性」

〔図書〕(計1件)

杉山 隆. 妊娠時に生じるインスリン抵抗性のメカニズムおよび母体肥満・喫煙が次世代に及ぼす影響. 喫煙科学研究の歩み-2006年から2015年. 三須良實ら(編), p63-166, 公益財団法人喫煙科学研究財団発行, 2017

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 松原 圭一

ローマ字氏名:(Matsubara keiichi)

所属研究機関名: 愛媛大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 80263937

研究分担者氏名: 藤岡 徹

ローマ字氏名:(Fujioka toru)

所属研究機関名: 愛媛大学

部局名: 大学院医学系研究科

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 10253303

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名：

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。