

令和 2 年 5 月 7 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00577

研究課題名（和文）母体腸内細菌叢の変化を介した小児期肥満発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Role of maternal gut microbiota during pregnancy in childhood obesity

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） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：出生コホート研究において妊娠中の母体腸内細菌叢が母体および胎児の肥満関連因子および糖代謝関連因子に与える影響を検討した。妊娠中の母体腸内細菌叢は前期と後期の間で顕著な相違を認めなかった。母体腸内細菌叢の多様性あるいは特定の門や属の占有率と妊娠中の母体糖代謝および胎児の発育・血中アディポカイン濃度との間に相関を認めた。母体の腸内細菌叢が自身のみならず胎児の肥満関連因子に影響を与える可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠中の母体腸内細菌叢が胎児の肥満関連因子に与える影響について知見を追加することができた。DOHaD学説では妊娠中の母体栄養状態や環境汚染物質曝露による児への影響が成長後も続くことが示されている。本研究では腸内細菌叢も要因の一つとなりうることを示すことができた。プロバイオティクスなど腸内細菌叢への介入も含めて次世代の健康を守る取り組みへの一助となると思われる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the roles of maternal gut microbiota during pregnancy in maternal and fetal obesity-related factors in a birth cohort study. Maternal gut microbiota did not show significant difference between early and late period during pregnancy. There were correlations between the diversity of maternal gut microbiota or occupancy of specific phyla or genera and maternal glucose metabolism during pregnancy. We also found correlations of the diversity of maternal gut microbiota with fetal development or blood adipokine concentrations. It is suggested that the maternal gut microbiota may affect obesity-related factors in the fetus as well as in the mother itself.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：腸内細菌叢 肥満 小児

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

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

胎児期における子宮内環境が、生後の健康障害に関連していることが示唆されている。これは、Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) 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、肥満など non-communicable diseases (NCDs) のリスクを高めるという報告(1)があり、栄養環境を含む子宮内環境が後の NCDs のリスクと関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 曝露と低体重の関連を示唆する疫学調査も存在する。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。

肥満は、様々な疾患の基礎となることが知られている。日本における肥満者 (BMI 25kg/m²) の割合は男性 28.7%、女性 21.3%とこの 10 年間で減っていない(2)。前述の通り成人の肥満には胎児期環境が関与していることが報告されており、胎児期からの肥満発症メカニズムの解明が必要である。

一方、腸内細菌叢の変化と様々な疾患との関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おり(3)、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関与するとの報告があり(4)、PCB を含めた化学物質の健康影響が腸内細菌叢の変化に関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関連について調べた報告は少ない。我々の予備的な検討(5)では、母親の腸内細菌叢が胎児組織である臍帯の DNA メチル化に影響を与えることが示唆されており、母体腸内細菌叢の胎児影響あるいは成長後の肥満を含めた NCD との関連を検討することは意義深いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、1) 母体環境要因 (特に PCB) と母体の腸内細菌叢の変化の関連、2) 腸内細菌叢の状態と児の出生時アウトカム (出生時体重、臍帯血レプチン・インスリン濃度) との関連を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

対象

千葉大学が実施する千葉出生コホート調査 (C-MACH) (6) の参加者のうち、腸内細菌叢解析に同意を得た参加者 66 名。

質問票および生化学検査

妊娠前期および後期において質問票調査を行った。児の体格は医療機関における出産時記録より抽出した。母体血は妊娠前期および後期に採取し、血清に分離したのち凍結保存とした。母体血の生化学検査 (総コレステロール (TC)、中性脂肪 (TG)、グリコアルブミン (GA)) は株式会社 SRL (東京) に委託し、測定した。血清レプチン濃度およびアディポネクチン濃度の測定はそれぞれ Human Leptin RIA Kit (ミリポア) および Human adiponectin latex kit (LSI メディエンス) を用い SRL にて行った。

腸内細菌叢解析

妊娠前期および後期において採取した便は、採取後直ちに凍凍し、DNA 抽出まで -80 にて保管した。便検体からの DNA 抽出は Kim ら (7) の方法に基づき行った。抽出した DNA により、16S rRNA 遺伝子の V1-V2 領域を次世代シーケンサー (MiSeq) により解析した。得られたシーケンズデータは QIIME を用い、OTU データとした。

血清 PCB 濃度

母体血および臍帯血の PCB 濃度は既報 (8) に従いガスクロマトグラフ-負イオン化学イオン化-四重極質量分析計 (GC-NICI-qMS) を用いて行った。血清 PCB 測定では 16 異性体を合計した値を総 PCB 濃度として解析に供した。

統計解析

腸内細菌叢の多様性および門あるいは属の相対占有率と出生時の体格およびアディポカイン濃度との関連をスピアマンの順位相関係数を用いて検討した。交絡因子の補正には偏相関係数を用いた。同様に血清 PCB 濃度と腸内細菌叢の関連をスピアマンの順位相関係数を用いて検討した。

4. 研究成果

母体の腸内細菌叢を妊娠前期および後期において解析した。PCoA および PERMANOVA にて妊娠の前期と後期を比較したと

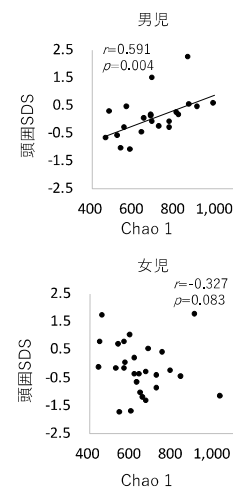


図1 母体腸内細菌叢の多様性と出生時頭圍

ころ、明らかな違いは認められなかった。多様性を示す Shannon 指数は前期と後期において有意な差を認めなかった。門レベルでの比較では、TM7 が妊娠後期において有意に占有率が低下していた。海外からの報告では、妊娠後期に多様性の低下や Proteobacteria と Actinobacteria (9) あるいは Vercomicrobia と Tenericutes (10) が妊娠前期と後期で占有率が変化するという報告があるが、本研究ではこれらの報告とは異なる結果となった。健常日本人を含め複数の民族の腸内細菌を比べた報告(11)では日本人は欧米人あるいは中国人と異なる腸内細菌叢のパターンを持つことが知られており、妊娠に伴う変化にも民族ごとに異なることが示唆された。日本人における様々な状況下での腸内細菌叢の状態を調べる必要があると思われる。

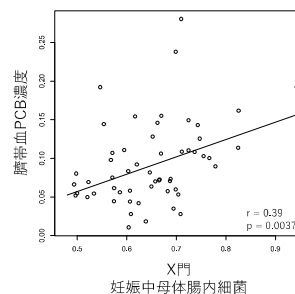


図2 妊娠中母体腸内細菌と臍帯血PCB濃度

妊娠中の腸内細菌叢と生化学検査との関連を検討したところ、妊娠後期の Shannon 指数と血清 GA 値との間に正の相関を認めた。門レベルでの解析では、妊娠前期の TM7 と血清 GA 値に負の相関を認めた。また、後期においては Firmicutes と血清 TG 値に負の相関を認めた。腸内細菌叢が宿主の代謝状態に影響を与えることが報告されており、妊娠中の代謝においても腸内細菌叢が影響を与えている可能性が示された。腸内細菌叢と妊娠中の糖・脂質代謝に関するについては今後さらに検討を進める必要がある。

出生時の体格が成長後の肥満リスクをなすことから、母体の腸内細菌叢と児の出生時体格との関連を検討した。出生体重及び身長は男女とも腸内細菌の多様性との間に相関を認めなかったが、頭囲については男児においてのみ多様性との間に正の相関を認めた。妊娠中の母体腸内細菌叢は児の出生時体格に影響を与える可能性が示された。出生時頭囲は成長後の肥満と関連することが知られている。本研究で対象とした出生コホートは現在の継続中であり、今後のフォローで成長後の体格と母体腸内細菌叢との関連を調べる必要がある。

母体腸内細菌叢と臍帯血アディポカイン濃度との関連を検討した結果、門レベルにおいて臍帯血レプチンあるいはアディポネクチン濃度の間に相関を認める門が存在した。臍帯血のアディポカイン濃度が小児期の肥満と関連することが報告されている。母体腸内細菌叢、臍帯血アディポカイン濃度、小児期の体格との関係について検討していく必要がある。

母体腸内細菌叢と臍帯血 PCB 濃度との関連を検討したところ、腸内細菌叢の多様性と臍帯血 PCB 濃度との間には相関を認めなかったが、門レベルでの解析では有意な相関を示す門が認められた(図2)。母体の腸内細菌叢が胎児の PCB 曝露状況に影響を与える可能性が考えられる。しかし、血中 PCB 濃度は食事内容との関係が深いことが報告されており、食事内容が腸内細菌叢と PCB 曝露状態の双方に影響を与えた可能性も考えられる。この点に関しては今後の検討課題である。

以上の結果より、妊娠中の母体腸内細菌叢は母親自身の代謝状態のみならず児の肥満リスクにも影響を与えることが示唆された。また、PCB を含む環境化学物質との関連も今後明らかにしていく必要がある。

引用文献

1. Barker DJ et al. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet* 2:577-80, 1989
2. 厚生労働省平成 26 年国民健康・栄養調査
(<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyuu/h26-houkoku.html>)
3. Le Chatelier E et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 500(7464):541-6, 2013
4. Choi JJ et al. Exercise attenuates PCB-induced changes in the mouse gut microbiome. *Environ Health Perspect*. 121:725-30, 2013.
5. Tachibana K et al. 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*. 8:550-553, 2017
6. Sakurai K et al. Chiba study of Mother and Children's Health (C-MACH): cohort study with omics analyses. *BMJ Open*. 6:e010531, 2016
7. Kim SW, Suda W, Kim S, et al. Robustness of gut microbiota of healthy adults in response to probiotic intervention revealed by high-throughput pyrosequencing. *DNA Res* 2013;20(3):241-53.
8. Eguchi A et al. Exploration of potential biomarkers and related biological pathways for PCB exposure in maternal and cord serum: a pilot birth cohort study in Chiba, Japan. *Environ Int* 102:157-164
9. Koren O et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*. 2012;150(3):470-480.
10. Liu J et al. Remodeling of the gut microbiota and structural shifts in Preeclampsia patients in South China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(4):713-719
11. Nishijima S et al. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. *DNA Res*. 2016;23(2):125-133

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sato Y, Sakurai K, Tanabe H, Kato T, Nakanishi Y, Ohno H, Mori C.	4. 巻 10
2. 論文標題 Maternal gut microbiota is associated with newborn anthropometrics in a sex-specific manner	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dev Orig Health Dis	6. 最初と最後の頁 59-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sakurai K, Kato T, Tanabe H, Taguchi-Atarashi N, Sato Y, Eguchi A, Watanabe M, Ohno H, Mori C.	4. 巻 -
2. 論文標題 Association between gut microbiota composition and glycoalbumin level during pregnancy in Japanese women: Pilot study from Chiba Study of Mother and Child Health.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1111/jdi.13177	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Sakurai K, Sato Y, Watanabe M, Mori C.
2. 発表標題 Effects of maternal factors on fetal adipokine levels.
3. 学会等名 ISEE/ES AC 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 33.Sato Y, Sakurai K, Tanabe H, Kato T, Ohno H, Mori C.
2. 発表標題 Association between maternal gut microbiota and neonatal growth.
3. 学会等名 ISEE/ES AC 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 由美, 櫻井 健一, 田邊 裕美, 加藤 完, 大野 博司, 森 千里
2. 発表標題 妊娠期の食事摂取と腸内細菌叢の関連性
3. 学会等名 第72回 日本栄養食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田邊裕美、櫻井健一、中野泰至、渡邊応宏、落合伸伍、下条直樹、森千里
2. 発表標題 乳児湿疹と臍帯血TARC値及びアレルギー疾患との関連性
3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 櫻井健一、森千里
2. 発表標題 Omics解析を活用した出生コホート研究の可能性
3. 学会等名 第88回日本衛生学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 櫻井健一、加藤完、田邊裕美、佐藤由美、渡邊応宏、大野博司、森千里
2. 発表標題 母体腸内細菌叢と児の臍帯血アディポカイン濃度の関連
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sato Y, Sakurai K, Tanabe H, Kato T, Nakanishi Y, Ohno H, Mori C.
2. 発表標題 Sex-specific association between maternal gut microbiota and fetal growth.
3. 学会等名 DOHaD 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	江口 哲史 (Eguchi Akifumi) (70595826)	千葉大学・予防医学センター・助教 (12501)	