

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09761

研究課題名(和文)日本人妊娠糖尿病における母児糖代謝異常に関わるゲノム・エピゲノム解析

研究課題名(英文) Epigenetic changes in neonates born to Japanese mothers with gestational diabetes

研究代表者

宮越 敬 (Miyakoshi, Kei)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師(非常勤)

研究者番号：70265883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠糖尿病(GDM)合併妊婦からの出生児は将来的に2型糖尿病・肥満をはじめとしたメタボリックシンドローム発症リスクが高い。生活環境・遺伝要因に加えエピゲノム変化がその発症機序に関与すると推測されるが日本人を対象とした検討はなされていない。日本人GDM例を対象とした検討により、血糖管理良好なGDM例の臍帯血DNAメチル化は健常例と同等であること、GDM母体からの新生児血糖値は胎児期のメチル化変化に関連することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本検討により、血糖管理良好なGDM例の臍帯血DNAメチル化は健常例と同等であること、GDM母体からの新生児血糖値は胎児期のメチル化変化に関連することが示唆された。今後、同様のDNAメチル化解析データは児のエピゲノム変化に関する新たな情報となり、Developmental Origin of Health and Disease仮説の解明にも繋がるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Neonates born to mothers with gestational diabetes mellitus (GDM) are at risk of metabolic syndrome in the future. Epigenetic modifications as well as environmental and genetic factors are thought to predispose offspring to develop metabolic disorders, however, data on Japanese subjects are not reported. Our genome-wide methylation analysis demonstrated that neonates in well-controlled GDM may not differ in DNA methylation compared with those born to mothers without GDM. Additionally, changes in DNA methylation might be associated with neonatal plasma glucose 1 hour after birth.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠糖尿病 臍帯血メチル化 エピゲノム変化 新生児低血糖 DOHaD仮説

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

妊娠糖尿病 (GDM) 合併母体からの出生児は将来的にメタボリックシンドローム発症リスクが高い。母体の栄養・精神的ストレスなどの環境因子は、胎児発育のみならず“初期プログラミング”に影響し、生後の健康や疾病罹患を規定する (Developmental Origin of Health and Disease [DOHaD] 仮説)。これまで実験動物により“初期プログラミング”の主要な分子機構はエピゲノム変化であることが示されてきた。糖代謝異常例においても“初期プログラミング”異常が予想され、胎児期のエピゲノム解析によりその検討が可能と推測されるが知見は限られている。また、新生児低血糖は糖代謝異常合併母体からの出生児に認められる合併症の一つである。近年、諸家により母体高血糖に伴う胎児エピゲノム変化が出生児の metabolic function に影響を与えることも指摘されている。したがって、胎児エピゲノム変化が新生児低血糖の発症に関与することが推測されるが、これまで十分な情報は得られていない。

#### 2. 研究の目的

本研究の目的は母体糖代謝異常における胎児エピゲノム変化を解析することおよび臍帯血 DNA メチル化と新生児血糖値との関連性について検討することである。

#### 3. 研究の方法

検討 1: 母体糖代謝異常における胎児エピゲノム変化解析

対象は正常産単胎分娩例 (GDM 群: n=162; 非 GDM 群: n=60) である。臍帯血 DNA を試料とし Illumina EPIC array (Illumina 社) により GDM および非 GDM 群の臍帯血 DNA メチル化 (754,255 箇所) を網羅的に比較検討した。

検討 2: GDM 母体からの新生児血糖値に関連する臍帯血 DNA メチル化の検討

対象は GDM 合併正常産単胎分娩 128 例である。Infinium Human Methylation EPIC BeadChip (Illumina 社) を用いて臍帯血における 850,000 箇所を超えるメチル化部位を解析し、出生後 1 時間における新生児血糖値 (1hr-PG) との関連を検討した。

なお、対象は研究参加施設で周産期管理を行った症例である。GDM は日本糖尿病学会・日本産科婦人科学会の診断基準により判定した。GDM 全例に食事療法および血糖自己測定を行い、血糖管理不良例ではインスリン療法を導入した。全例において血糖管理が良好であった。また、DNA メチル化解析にあたっては血球分画補正を行った。本研究は施設倫理委員会の承認を得て実施された。

#### 4. 研究成果

検討 1: 母体糖代謝異常における胎児エピゲノム変化解析

GDM および非 GDM 間で臍帯血 DNA メチル化に有意差を認めなかった。また、GDM 例のうち 84 例は妊娠 24 週以前の診断例 (early\_GDM) であった。early\_GDM と妊娠 24 週以降の診断例 (n=78, late\_GDM) において臍帯血 DNA メチル化を比較したところ、両群間に有意差を認めなかった。

GDM において母体高血糖に伴う胎児エピゲノム変化が児のメタボリックシンドロームに関与することが指摘されている。この変化は妊娠後半期よりも妊娠前半期に検出される GDM 例の方が顕著であることも推測される。しかしながら、本検討では、診断時期に関係なく、GDM と非 GDM 例において臍帯血 DNA メチル化に有意差を認めなかった。諸家により GDM における臍帯血 DNA メチル化異常が示されており、我々の検討結果は既報と異なる。この要因としては GDM 診断基準や血糖管理状況の差異が考えられる。したがって、あくまでも血糖管理良好である GDM の臍帯血 DNA メチル化は健常例と同等であることが示唆された。

検討 2: GDM 母体からの新生児血糖値に関連する臍帯血 DNA メチル化の検討

分娩週数、分娩様式、性別による調整の結果、12 CpG サイトのメチル化が 1hr-PG と有意に関連した。特に 2 CpG サイトは GDM との関連が報告されている遺伝因子である ZNF696

の選択的転写開始部位の近傍に位置しており，同 CpG サイトのメチル化と 1hr-PG に負の相関を認めた．

今回の検討に際して，我々は「新生児血糖値は胎児期に暴露をうける（母体）血糖に影響を受け，この過程にエピゲノム変化が関与する」との仮説を立てた．対象症例の血糖コントロールは概ね良好であり，新生児低血糖を呈する症例は 35%であったが，ZNF696 遺伝子近傍の 2CpG サイトのメチル化と 1hr-PG に負の相関を認めた．分娩中の高血糖のみが新生児低血糖の要因ではないことも報告されている．ZNF696 の機能は不明であるが，胎児期のメチル化変化が新生児期の血糖値に影響を与える可能性が示唆された．

本検討により，血糖管理良好な GDM 例の臍帯血 DNA メチル化は健常例と同等であること，GDM 母体からの新生児血糖値は胎児期のメチル化変化に関連することが示唆された．今後，同様の DNA メチル化解析データは児のエピゲノム変化に関する新たな情報となり，DOHaD 仮説の解明にも繋がるものと期待される．

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 Kasuga Yoshifumi, Kawai Tomoko, Miyakoshi Kei, Saisho Yoshifumi, Tamagawa Masumi, Hasegawa Keita, Ikenoue Satoru, Ochiai Daigo, Hida Mariko, Tanaka Mamoru, Hata Kenichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Epigenetic Changes in Neonates Born to Mothers With Gestational Diabetes Mellitus May Be Associated With Neonatal Hypoglycaemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	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） 10.3389/fendo.2021.690648	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 Kasuga Yoshifumi, Kawai Tomoko, Miyakoshi Kei, Horii Asuka, Tamagawa Masumi, Hasegawa Keita, Ikenoue Satoru, Ochiai Daigo, Saisho Yoshifumi, Hida Mariko, Tanaka Mamoru, Hata Kenichiro	4. 巻 10
2. 論文標題 DNA methylation analysis of cord blood samples in neonates born to gestational diabetes mothers diagnosed before 24 gestational weeks	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Research and Care	6. 最初と最後の頁 e002539 ~ e002539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjdr-2021-002539	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 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kasuga Y, Kawai T, Miyakoshi K, Hata K, Tanaka M
2. 発表標題 The correlation between epigenetic change and neonatal plasma glucose level in maternal gestational diabetes offspring
3. 学会等名 RCOG World Congress 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kasuga Y, Kawai T, Miyakoshi K, Tanaka M, Hata K
2. 発表標題 Well-controlled gestational diabetes eliminates DNA methylation changes in cord blood cells associated with hyperglycemia and metabolic disorders in neonates.
3. 学会等名 DOHaD 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮越敬
2. 発表標題 合併症妊娠の管理：糖尿病合併妊娠・妊娠糖尿病
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮越敬
2. 発表標題 妊娠糖尿病はなぜ問題か？ 産婦人科医の立場から
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮越敬
2. 発表標題 糖代謝異常合併妊娠における妊娠合併症と管理
3. 学会等名 第36回日本糖尿病・妊娠学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 春日義史、宮越敬、税所芳史、池ノ上学、田中守
2. 発表標題 日本人妊娠糖尿病における臍帯血DNAメチル化解析
3. 学会等名 第37回日本糖尿病妊娠学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮越敬
2. 発表標題 妊娠糖尿病の遺伝的要因について
3. 学会等名 第57回日本周産期・新生児医学会総会・学術集会
4. 発表年 2021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	秦 健一郎  (Hata Kenichiro)  (60360335)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・周産期病態研究部・部長   (82612)	
研究分担者	河合 智子  (Kawai Tomoko)  (40423404)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・周産期病態研究部・室長   (82612)	
研究分担者	田嶋 敦  (Tajima Atsushi)  (10396864)	金沢大学・医学系・教授   (13301)	
研究分担者	荒田 尚子  (Arata Naoko)  (70214723)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・周産期・母性診療センター・診療部長   (82612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------