

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09825

研究課題名(和文)臓器間ネットワークの視点よりみた妊娠時インスリン抵抗性の病態生理学的検討

研究課題名(英文) Pathophysiology of insulin resistance in pregnancy in terms of the inter-organ networks

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：肥満合併妊娠母体に対する妊娠中の食事介入が次世代に好影響を及ぼすかに関するメカニズムは明らかではない。

今回、高脂肪食摂取妊娠モデルマウスを用いて妊娠中の食餌介入が母獣のみならず次世代である仔の表現型と肝臓における網羅的遺伝子発現の検討を行った。その結果、食餌介入は母獣のみならず仔の糖質及び脂質代謝を改善するとともに、肝臓の脂質代謝等の遺伝子発現のプロファイルも改善することが判明した。本研究により肥満女性に対する妊娠中の食事介入が母児にとって有益であるのみならずエピジェネティクスが関与する可能性を示した。本モデルマウスは、今後のさらなる予防戦略の検討につながることを期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満女性に対する妊娠中の食事介入が母体のみならず次世代に好影響を及ぼすことをマウスモデルを用いてエピジェネティックなメカニズムとともに明らかにすることができた。今後、本モデルマウスを用いて予防や治療に関するさらなる方策を探ることができる点で学術的および社会的意義を有すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The long-term effect of changes in maternal dietary composition during pregnancy on the offspring's metabolic homeostasis is uncertain. We aimed to investigate the long-term effects of maternal balanced low-fat interventions on metabolic homeostasis of the offspring using a mouse model of gestational obesity induced by a high-fat diet (HFD). Changes in the intervention diet improved glucose tolerance in pups at 3 and 12 weeks of age. We also performed transcriptomic analysis of the liver in neonatal and 3-week-old pups. Genes in the peroxisome proliferator-activated receptor signaling pathway were significantly down-regulated in neonates in the intervention group compared with the HFD group. The interventio diet compensated for the detrimental effects of a maternal HFD on glucose and lipid metabolism in male offspring by changing the gene expression profile. These data suggest that maternal balanced low-fat intervention is critical for improving the metabolic health of offsprings.

研究分野：DOHaD、周産期医学、栄養・代謝・内分泌学

キーワード：妊娠 子宮内環境 マウス DOHaD 食餌介入 肥満 高脂肪食

## 1. 研究開始当初の背景

わが国におけるメタボリック症候群の人口は激増しているが、その原因の根幹をなすものが、高脂肪食の食習慣と運動不足といった生活習慣の変化を介した肥満である。肥満は遺伝素因以外に、高飽和脂肪酸摂取という栄養環境を含めた環境因子が影響を与え、遺伝子異常ではなく遺伝子の発現調節異常を生じるという、いわゆる“エピジェネティクス制御 (epigenetics)”がその発症機序に関与することが疫学研究より想定されている。一方、子宮内環境における epigenetics を考えた場合、これまでは子宮内の低栄養環境に焦点が当てられてきた。しかし近年のような飽食の時代では、母体の過栄養を介した子宮内過栄養が次世代の生活習慣病発症に関与する可能性を我々は報告している。

肥満合併妊娠は低出生体重児・巨大児の両方のリスクを上昇させるのみならず、母体の妊娠糖尿病や妊娠高血圧症候群の発症、帝王切開率の上昇に関与することが報告されている。さらに、母体過栄養状態は子宮内環境の変化による DNA メチル化や遺伝子発現の変化を介して、次世代である子どもの将来の肥満症、高血圧症、耐糖能異常、脂質代謝異常等の生活習慣病を含む疾患発症リスクの増加と関連することも知られている。一般に、程度の強い肥満妊婦に対しては、食事療法がおこなわれるが、肥満妊娠女性に対する妊娠中の食事介入が子どもの将来の生活習慣病に与える長期的な影響に関する疫学研究は存在せず、動物を用いた基礎的研究においても不明瞭な点が多い。

## 2. 研究の目的

本研究では、治療・予防戦略の視点より、妊娠中の母獣への食餌介入が次世代の疾患発症予防につながる可能性を表現型のみならずメカニズム解明のための遺伝子発現変化について網羅的解析を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

母獣の解析：5週齢の C57BL6/N マウスを、6週間高脂肪食（脂肪エネルギー比率 45%）を摂取させる高脂肪食群（HF）と、6週間コントロール食（同 10%）を摂取させる対照群（CD）に群別し、1週毎に食餌摂取量、体重を測定し、11週齢より交配を行った。膣栓確認日を妊娠 0 日とし、高脂肪食群（HF）を妊娠 10 日目より脂肪エネルギー比率 14% に食餌組成を変更する食餌介入群（HFSD）と、高脂肪食を継続する群（HF-HF）とに群別し、分娩までの母体体重、食餌摂取量、血中トリグリセリド、総コレステロール値を測定し、妊娠 17 日目、18 日目にそれぞれ経腹的ブドウ糖負荷試験、経腹的インスリン負荷試験を施行した。

仔の解析：対照群（CD）、高脂肪食継続群（HF-HF）、食餌介入群（HFSD）の母体より出生した新生仔の肝臓、膵臓、脂肪組織をサンプリングし、HE 染色や抗インスリン抗体を用いた免疫染色を施行した。血清のインスリン、TNF- $\alpha$ 、アディポネクチン、レプチン値を測定した。また、新生仔・3週齢の各ポイントにおいて仔の肝臓から total RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を施行した。授乳期の母体の食餌により更に群別し、同様の解析を行った。さらに 12 週齢の仔では、血清トリグリセリド、総コレステロール値の測定に加え、糖負荷試験、インスリン負荷試験を施行した。

## 4. 研究成果

食餌介入群では、母獣の体重増加量は高脂肪食群と比較し妊娠 11 日目から減少を認め、妊娠 17・18 日目における糖・インスリン負荷試験においても高脂肪食群と比較し有意に血糖値の低下、インスリン抵抗性の改善を認めた。血清トリグリセリド、総コレステロール値の低下も認められた。

新生仔の解析では、出生体重は高脂肪食群において軽く、対照群・食餌介入群間の差は認められなかった。食餌介入群の仔は高脂肪食群に比し、有意に肝臓における脂肪細胞の減少、膵島の細胞面積の狭小化、血清インスリン値の低下、膵島細胞の減少およびアディポネクチン値の上昇を認め、インスリン抵抗性の改善が認められた。さらに、マイクロアレイ解析を施行し、食餌介入群と高脂肪食群、コントロール群間で発現変動遺伝子を特定してパスウェイ解析を施行した結果、上位に変動した steroid hormone biosynthesis, retinol metabolism, PPAR signaling, chemical carcinogenesis の経路が仔の糖・脂質代謝の変化に関与している可能性が示唆された。3 週齢での解析では、妊娠中に食餌介入を行った群において、有意に総コレステロール値の低下を認めた。また、授乳期の食餌方法にかかわらず、母獣の高脂肪食群が有意に細胞面積の増大を認めた。血清レプチン値は食餌介入群において高脂肪食群に比し有意に低下していた。パスウェイ解析では、linoleic acid metabolism, metabolic pathways, steroid hormone biosynthesis, retinol metabolism に関する代謝経路が仔の糖・脂質代謝の変化に関与している可能性が示唆された。

12 週齢での解析では、授乳期・離乳後の食餌に関わらず、母獣の高脂肪食群で有意に血清トリグリセリド、総コレステロール値の上昇を認めた。ブドウ糖・インスリン負荷試験では食餌介入

群において、高脂肪食群と比較し耐糖能・インスリン抵抗性の改善を認めた。高脂肪食継続群では、食餌介入群と比較して、膵細胞面積の肥大化が認められた。さらに70週齢での解析を行った結果、妊娠中の食餌介入に加えて授乳期も食餌介入することが長期的な表現型改善を呈することが判明した。

まとめ：

これらの動物実験の結果より、肥満妊娠女性への食事介入は母体の体重増加量を減少させ、耐糖能を改善するとともに、子宮内過栄養状態が次世代に生じる耐糖能異常やインスリン抵抗性の増悪、脂質代謝異常や体重増加などの生活習慣病の発症リスクを、遺伝子発現の変化を通して減少させる可能性があることを示唆した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Ueno M, Liu S, Kiyoi T, Sugiyama T, Mogi M	4. 巻 22
2. 論文標題 Perinatal low-fat dietary intervention affects glucose metabolism in female adult and aging offspring	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Geriatr Gerontol Int	6. 最初と最後の頁 441-448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.14378	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ueno M, Liu S, Kiyoi T, Mogi M, Sugiyama T	4. 巻 104
2. 論文標題 Long-term impact of maternal dietary intervention on metabolic homeostasis in male offspring in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Nutr Biochem	6. 最初と最後の頁 108971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2022.108971	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chu LCH, Sugiyama T, Ma RCW	4. 巻 12
2. 論文標題 Recent updates and future perspectives on gestational diabetes mellitus: An important public health challenge	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Diabetes Inves	6. 最初と最後の頁 1944
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13670	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 該当する
1. 著者名 Kawasaki M, Mito A, Waguri M, Sato Y, Abe E, Shimada M, Fukuda S, Sasaki Y, Fujikawa K, Sugiyama T, Ota E, Nakazawa J, Okoshi T, Takimoto H, Honda Y, Inoue E, Hiramatsu Y, Arata N	4. 巻 21
2. 論文標題 Protocol for an interventional study to reduce postpartum weight retention in obese mothers using the internet of things and a mobile application: a randomized controlled trial (SpringMom)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Pregnancy Childbirth	6. 最初と最後の頁 582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12884-021-03998-w	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 Usami T, Yokoyama M, Iwama N, Sagawa N, Hiramatsu Y, Sugiyama T	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparison of pregnancy outcomes between women with early-onset and late-onset gestational diabetes: A retrospective multi-institutional study in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 216-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13101	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 Yokoyama M; Saito I; Ueno M, Maruyama K, Osawa H, Tanigawa T, Sugiyama T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Low birth weight is associated with type 2 diabetes mellitus in Japanese adults: The Toon Health Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1643-1650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13274	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 Yokoyama M, Tanaka K, Sugiyama T, Arakawa M, Miyake Y	4. 巻 278
2. 論文標題 Cesarean section is associated with increased risk of postpartum depressive symptoms in Japan: the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Affect Disord	6. 最初と最後の頁 497-501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jad.2020.09.106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsubara K, Matsubara Y, Uchikura Y, Sugiyama T	4. 巻 22
2. 論文標題 Pathophysiology of Preeclampsia: The Role of Exosomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 2572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052572	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 Matsubara K , Matsubara Y, Uchikura Y, Takagi K, Yano A , Sugiyama T	4. 巻 11
2. 論文標題 HMGA1 Is a Potential Driver of Preeclampsia Pathogenesis by Interference with Extravillous Trophoblasts Invasion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11060822	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 Iwama N, Sugiyama T, Metoki H, Saito M, Hoshiai T, Watanabe Z, Tanaka K, Sasaki S, Sakurai K, Ishikuro M, Obara T, Tatsuta N, Nishigori H, Kuriyama S, Arima T, Nakai K, Yaegashi N, and JECS Group	4. 巻 169
2. 論文標題 Associations between glycosylated hemoglobin level at less than 24 weeks of gestation and adverse pregnancy outcomes in Japan: The Japan Environment and Children 's Study (JECS)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes Research and Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 108377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diabres.2020.108377	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 Kotani H, Koshizuka T, Matsubara K, Nishiyama K, Sugiyama T, Suzutani T	4. 巻 73
2. 論文標題 Relationship between Human -defensin 2 and the vaginal environment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis	6. 最初と最後の頁 214-220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2019.190	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 Usami T, Yokoyama M, Iwama N, Sagawa N, Hiramatsu Y, Sugiyama T	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparison of pregnancy outcomes between women with early-onset and late-onset gestational diabetes: A retrospective multi-institutional study in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 216-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13101	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 Yokoyama M; Saito I; Ueno M, Maruyama K, Osawa H, Tanigawa T, Sugiyama T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Low birth weight is associated with type 2 diabetes mellitus in Japanese adults: The Toon Health Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13274	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 Iwama N, Sugiyama T, Sagawa N, Hiramatsu Y, Toyoda N	4. 巻 10
2. 論文標題 Difference in the prevalence of gestational diabetes mellitus according to gestational age at 75-g oral glucose tolerance test, in Japan: The JAGS trial.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1576-1585
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13044	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 Takagi K, Iwama N, Metoki H, Kuriyama S, Arima T, Nakai K, Yaegashi N, Sugiyama T	4. 巻 10
2. 論文標題 Paternal height has an impact on fetal growth in a Japanese population: the Japan Environment and Children's Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dev Orig Health Dis	6. 最初と最後の頁 542-554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S2040174418001162	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4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Takashi Sugiyama
2. 発表標題 Pregnancy outcomes of GDM and pre-existing diabetes mellitus in Japan
3. 学会等名 International Diabetes Federation 2019 in Busan シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Sugiyama
2. 発表標題 Comparison of pregnancy outcomes between women with early-onset and late-onset gestational diabetes
3. 学会等名 The 10th International Symposium on Diabetes, Hypertension, Metabolic Syndrome and Pregnancy (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山 隆
2. 発表標題 DOHaDの検証：DOHaDのOverviewとUpdate
3. 学会等名 第8回日本DOHaD学会学術集会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山 隆
2. 発表標題 産婦人科的視点からみた肥満症
3. 学会等名 第17回日本肥満学会肥満症サマーセミナー
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	内倉 友香  (UCHIKURA YUKA)  (50648623)	愛媛大学・医学系研究科・助教    (16301)	



6. 研究組織（つづき）

	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	松原 裕子  (MATSUBARA YUKO)  (60403820)	愛媛大学・医学部附属病院・講師    (16301)	
研究分担者	高木 香津子  (TAKAGI KAZUKO)  (80648626)	愛媛大学・医学部附属病院・助教    (16301)	

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