

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 31日現在

機関番号：23302

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21390206

研究課題名（和文） 大規模双生児家系縦断データに基づく生活習慣病発症に対する胎内環境仮説の実証的研究

研究課題名（英文） Research on the fetal origin of adult disease hypothesis using large scale longitudinal twin-family data

研究代表者

大木 秀一 (OOKI SYUICHI)

石川県立看護大学・看護学部・教授

研究者番号：00303404

研究成果の概要（和文）：長期縦断双生児データを用いて胎内環境仮説の検証を試みた。まず、周産期から成人期に至るデータベースの構築を行った。次いで、予備的な遺伝疫学的解析を行った。新たな環境マーカーの候補として、生殖補助医療と利き手の検討を行った。双生児では必ずしも単胎児と同じようなプロセスでは胎内環境仮説が成立しない可能性が示唆された。その理由が統計学的な誤差に基づくのか、双生児固有の適応現象なのかは今後の検討課題である。

研究成果の概要（英文）：Fetal Origins of Adult Disease (FOAD) hypothesis was studied using twin sample. Longitudinal twin database from perinatal to adult period was constructed. Next, preliminary genetic epidemiologic analyses were conducted. The influence of assisted reproductive technology and laterality were also analyzed as candidate new marker of perinatal and early life environment. It was suggested that FOAD hypothesis is not necessarily applicable in the same manner as singletons in twins. The reason was not clear whether the problem was based on the weakness of the statistic power or adoption mechanism specific to twins.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2011年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	11,900,000	3,570,000	15,470,000

研究分野：公衆衛生学・遺伝疫学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：双生児、縦断データ、胎内環境仮説、生殖補助医療、生活習慣病、遺伝疫学

1. 研究開始当初の背景

胎内環境仮説（生活習慣病の胎児期栄養要因仮説）では、胎児期に低栄養状態にあると適応メカニズムにより摂取エネルギーを脂肪組織等に蓄積しやすく、後年の生活習慣病に罹患しやすいとしている(Barker, Lancet,

8663:577-580, 1989)。分析疫学研究ではこれを支持する知見が多数得られている。先進諸国での生活習慣病の流行を背景に、胎内環境仮説の検証は近年国際的にも活発である。本仮説の証明が困難な理由は、胎内環境と生活習慣病やその兆候発生の時期に10年から数

十年の隔たりがある点である。

多胎妊娠では、単胎妊娠に比較して妊娠期間が短く出生体重が小さいため、胎児は低栄養状態にある。多胎新生児の55%が早産、70%が低出生体重児であり、単胎児の約10倍のリスクである。しかし、同一の妊娠週数や出生体重では多胎児は明らかに予後良好であり、特に子宮内頭圍発達（神経発達）の遅れが小さい。その説明として、単胎児と異なる子宮内適応メカニズムが想定されているが、これを理論化、実証した研究は見られない。

多胎児（双生児）データによる生活習慣病の遺伝要因・環境要因の解明に向けた研究の取り組みは、双生児における胎内環境仮説の国際的議論に一石を投じるとともに、単胎児と比較した双生児の子宮内適応、即ち不利な胎内環境下での適応メカニズム解明という新たな胎児医学の可能性を切り開く端緒となることが期待される。さらに、胎児期からの遺伝要因と環境要因のライフコースにわたる影響を定量的に評価することで、従来の断片的・横断的な遺伝・環境研究から得られた生活習慣病発症に関する知見を幅広い視野から位置づけることが可能である。

2. 研究の目的

①単胎児と双生児では、生活習慣病罹患のリスクが異なる、②同じ双生児であっても、出生体重（あるいは妊娠期間）によりその後の生活習慣病罹患のリスクが異なる、③その原因として胎児期を含めた環境要因と遺伝要因が複雑に関与している、という可能性が考えられる。この実証が今回の研究目的である。

特に③に関しては単胎児への一般化を試みる場合でも双生児研究以外では実証不可能である。これらを断片的に検証した研究は散見されるが、結果は必ずしも一致しない。その理由は、①双生児データの規模の問題、②仮説証明に用いるマーカーの精度の問題、に大別される。しかし、欧米の多胎データは一部を除き周産期データの精度が高くない。これは、母子健康手帳のように周産期・乳幼児期の詳細な臨床データを系統的に記録するシステムがないためである。こうした欠点を補うものとして、①大規模双生児家系データ（約1300組の卵性確定双生児と近親）、②長期縦断データ（12～66年間の縦断データ）、③精度の高いマーカー（周産期の詳細な記録、生化学マーカー、血圧、生活習慣病既往歴など）を完備したデータベースを新たに構築して、単胎児で定説となっている胎内環境（Fetal Origins of Adult Disease）仮説、あるいはDevelopmental Origins of Health and Disease（DOHaD）仮説が双生児でも成立するか検証する。

3. 研究の方法

胎内環境仮説の検証には、東京大学教育学部附属中等教育学校双生児データベースを用いる。周産期・中学入学時（11～12歳）・在校時（13～18歳）・卒業後（19歳以降の複数時点）の生活習慣病およびそのマーカー、潜在的な交絡因子となる膨大かつ詳細な情報を有する大規模双生児家系データベースを構築し、検証を行う。

また、出生時から小児期・成人期・高齢期というライフコースを通じての生活習慣病に対する遺伝要因と環境要因の関与の様相には、構造方程式モデリング・多変量遺伝解析・潜在成長曲線モデルなどの統計遺伝疫学的手法を用いる。

(1) 双生児長期縦断データベースの構築

①母子健康手帳写し（妊娠時、0-6歳データ、1992年以降）、②入学志願時調査票（妊娠時、0-12歳データ、1950年以降）、③特別検査記録（11,12歳データ、1988年以降）、④在校時記録（13-18歳データ、1981年以降）、⑤追跡調査記録（19-66歳データ）が存在している。今まで東大附属中等教育学校に蓄積された調査票の状況を把握し、データ入力されていない部分の入力を行った。データリンケージにより分析可能な形にする。対象数は、入学志願者コホートでおよそ2200組（4400人）、卒業生コホートでおよそ800組（1600人）となる。また、特別検査のすべて、追跡調査の一部では双生児だけでなくその近親からのデータを入手している。

(2) 双生児研究法の原理をもとに、生活習慣病マーカーおよび発症における遺伝要因と環境要因（胎内環境、生後環境）および両者の交互作用の長期縦断的な影響を、遺伝疫学モデルを用いて解明する。

(3) 人口動態統計・生殖補助医療統計などの既存資料および文献レビューをもとに、胎内環境に影響を与える簡便なマーカーの検討と、基礎的な分析を行う。人口動態統計に関しては、1974年以降の複産に関するデータをすべてデータベース化した。生殖補助医療統計に関しては、日本産科婦人科学会が公表している委員会報告の数値を利用し、1985年以降（平成元年度の報告書以降）の数値をデータベース化した。しかし、年次によって必ずしも調査項目が同じではない。

(4) 新たな胎内環境マーカーの候補として、利き手を検討することにした。双生児研究の文献レビューを行い、現状と課題を洗い出した。

4. 研究成果

(1) 双生児長期縦断データベースの構築

60年間に渡る調査票は、何度か調査票見直しが行われていたため、調査票の記載形式が統一されていない。1980年入学以前の古い調査票データ、在学時データは紙媒体のまま保管されており、特に初期のものは劣化が著しい。出生年（入学年度）により、得られる情報が異なっている。従って、すべてに共通している項目（出生体重、妊娠期間など）を確認し、必要項目を転記、入力した。

調査票は年数が長いだけでなく、産科所見、精神発達、身体発育など様々な項目を含んでいる。また、双生児特有の個人レベル以外にペアレベルでの処理も必要であるため、すべてのデータを一度に合せるのではなく、項目を絞ってデータベース化を進め、統計解析プログラム（SAS）上で理論的に連結して解析する方が現実的であると判断した。

ライフステージごとにデータセットを作成し連結した。周産期、乳幼児期・学童期、中学高校期、成人期を連結するデータベースをほぼ分析可能な形で作成した。

(2) 遺伝・環境モデルの構築

双生児研究法を胎内環境仮説に応用する理論的な方法論を整理した。結果は、総説として報告した（『双生児家系縦断データに基づくライフコース遺伝疫学研究の展望』）。その概要は以下のとおりである。

① 双生児を個人としてみた分析

単胎児の場合と同様に出生体重と成人期疾患の相関を調べ、出生体重の影響を確認する。まず、単胎児と双生児の異同を明らかにする必要がある。

② 双生児ペア内の分析

母親要因は双生児ペアで共有するため、ペア内の差は母親要因の影響を受けない。また、遺伝要因に関しても二人の類似度は非常に高く統制されている。出生時に小さい児が、大きい児と比べて、成人期疾患のリスクが有意に高ければ、母親環境や遺伝要因と独立して胎内環境が寄与していることを意味する。

量的形質であれば、同性双生児を対象にペア内の符号付き出生体重差と符号付き成人期健康指標の差の相関関係を回帰分析で調べることで、児に固有の胎内環境の重要性を評価できる。

遺伝要因の寄与を検証するには、MZ と DZ の回帰係数を比較すればよい。仮に、胎内発育と成人期疾患の両方にリスク因子として働く遺伝子と予防因子として働く遺伝子があったとする。遺伝要因が同一な MZ では成人期疾患の一致率は高くなる（つまり差は少なくなる）と期待される。一方、遺伝要因が完全には統制されていない DZ では、大きい児が予防遺伝子を、小さい児がリスク遺伝子

を持つ可能性がある。この場合、成人期疾患にも差が生じる。つまり、DZ ペアの方が MZ ペアより回帰係数が大きければ、胎児期と成人期の測定値の差の相関が強いということ、遺伝要因の存在が示唆される。

③ 双生児ペア間の分析

双生児ペア間の出生体重差を比較すれば、共有する母親環境の影響を分析することが出来る。この場合、FOAD 仮説が母親環境により引き起こされているのであれば、リスク因子を多く持つ母親から生まれた双生児は、二人とも成人期疾患に罹患する可能性が高くなる。例えば、両児とも低出生体重であるペア、一児のみ低出生体重であるペア、両児とも非低出生体重であるペアの成人期疾患を比較し、この組み合わせの順に疾患発症の割合が高ければ、母親要因の影響を示唆する。以上の原理をもとに、より複雑な分析が可能となる。

断片的な分析ではあるが、以下の諸点が明らかになった。

1. 双生児においても胎内環境仮説が成立すると思われたが、単胎児におけるほど明確ではない。その理由が、サンプルサイズによる統計的な理由なのか、出生体重（妊娠週数で補正した場合でも）そのもので胎内の栄養状態のマーカーとすることの精度の粗さによるものなのか、現時点では不明である。

2. 人生早期の要因として、キャッチアップと栄養方法（母乳栄養とその期間）の影響を分析した。その影響は年齢によって異なり、必ずしも安定しなかった。

3. 胎内環境要因の中長期的な影響を検討する目的で、体重差が 20%以上の一卵性双生児の 12 歳児までの、身体発育・運動発達などの分析を行った。出生体重差とその後の BMI の差は正の相関を持った。この結果は卵性によらなかった。出生体重と小児期の BMI の間に逆相関を見いだせなかった。

4. 生活習慣病の簡便なマーカーとして BMI を用いる場合に、現在の BMI ではなくて、過去の最大値を用いた方が、遺伝要因の影響がクリアに検出されることが示唆された。

5. 胎内・人生早期のマーカーとして後述のように生殖補助医療の影響と利き手の影響を検討した。現在、神経学的発達に対する影響を確認している。

6. 別の胎内環境・人生早期のマーカーとして、胎盤環境（膜性）と頭囲を候補として検討している。

7. 生活習慣病（糖尿病、脂質異常症、高血圧、肥満（BMI25 以上）、およびこれらの疾患の併発数）の発症に関しては、全般的に現在の遺伝要因と環境要因の影響が大きい。それ以前、特に出生時の遺伝要因と環境要因の影響は、微小であった。これは、その後の交

絡因子の影響が大きいと考えられた。分析方法を修正して、引き続き検討している。

8. 低出生体重の基準として一般に用いられている2500g未満を用いると、単胎児では大体10%程度が該当するが、双生児では70%程度になる。従って、双生児における10パーセントイル値を用いる方法と、出生体重を階級わけしてその予後を検討する方法を検討している。

(3) 既存資料の分析

①人口動態統計

人口動態統計を用いて、多胎の出生時体重・妊娠週数の推移を把握した。多胎妊娠では、単胎妊娠に比較して妊娠期間が短く出生体重が小さいため、胎児は低栄養状態にある。多胎新生児の57%が早産、73%が低出生体重児であり、単胎児の約10倍のリスクである。

②生殖補助医療統計

人口動態統計と合わせて分析することで以下の諸点を明らかにした。

1. 多胎出生が倍増した主因は不妊治療であり、高齢女性の自然二卵性妊娠ではない。

2. 不妊治療による多胎出生は2005年以降で激減しているが、これは生殖補助医療による多胎出生の減少による。生殖補助医療以外の排卵誘発などによる多胎出生は減少していない。排卵誘発の長期的影響はこれまでのところ疫学的な検討がほとんどなされていない。

現在、完成したデータベースをもとに自然妊娠、不妊治療（生殖補助医療、排卵誘発）による群別の長期予後を検討している。

(4) 胎内影響についての検討

①先天異常疾患

日本産科婦人科学会が公表している委員会報告のデータをもとに、生殖補助医療による先天異常発生状況の検討を行った。胎内環境の影響をみるために、双生児の一致率と同胞再発危険率の比較を行った。その結果、先天異常全体で見れば両者に差が見られないことが明らかとなった。しかし、いくつかの疾患群において、双生児の一致率が同胞再発危険率の3倍以上大きかった。生殖補助医療による妊娠の大半を二卵性双生児と仮定すると、これは、胎内環境の影響を示唆するものであった。

一方で、単一胚移植の普及率と双生児妊娠の減少傾向を理論的なモデルをもとに解析した。その結果、単一胚移植後の一卵性双生児の発生頻度がおおよそ2%程度に収束すると推定された。従って、現段階では、特定の疾患群における双生児の一致率の高さが一卵性双生児の混在によることは否定できない。

中長期的影響については、引き続き検討中である。

②利き手

胎内・人生早期のマーカーとしての利き手の検討を行った。利き手の形成に関しては遺伝説、出産時ストレス説、ホルモン説などいまだに断定的な結論はない。利き手が確定するのが10歳前後とする報告がある一方、胎内ですでに利き手の原型がみられるとする報告もある。双生児に関する利き手の研究は1920年以降でおよそ50編であった。

双生児に関しては、①単胎児よりも左利きが多いという報告と、特に差がないという報告で一致を見ない。しかし、双生児で左利きが少ないとする報告は見られなかった。②従来、一絨毛膜性一卵性双生児に「鏡像現象（ミラーイメージング）」が存在するという説があり、これを否定する見解が多いものの、胎盤所見のデータが少ないため確定的なものではない。対象数は少ないもの、一卵性双生児の利き手不一致例で、その後の脳発達（画像データ）に左右差を認めるとする報告が存在した。この点をさらに深く探索する必要がある。ペアの相手の性別が利き手に影響するという報告が見られた。この場合、胎内でのテストステロンへの曝露が左利きに関係する（増加または減少）という仮説が用いられていた。

以上を、今回のデータで検証した結果、双生児では左利きが多いことが確認された。しかし、鏡像現象（膜性の影響）とテストステロン曝露の影響は特に見いだせなかった。

近年、利きの左右差よりもむしろ、利きが定まっているか否かがその後の精神発達などに影響することが注目されている。この点について、引き続き分析を継続している。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 6 件）

①Syuichi Ooki. Theoretical Model of the Relationship between Single Embryo Transfer Rate and Multiple Pregnancy Rate in Japan. *Journal of Pregnancy*, 2012, in press, 査読有

②大木秀一, 彦 聖美. ライフコース疫学研究の興隆と展望. *石川看護雑誌*, 9: 1-11, 2012, 査読有
http://www.ishikawa-nu.ac.jp/kenkyu/pdf/09_01.pdf

③Syuichi Ooki. Birth Defects in Singleton versus Multiple ART Births in Japan (2004-2008). *Journal of Pregnancy*, 2011: 2011, 査読有
DOI: 10.1155/2011/285706

④Syuichi Ooki. Effect of Maternal Age and Fertility Treatment on the Increase in

Multiple Births in Japan: Vital Statistics, 1974-2009. Journal of Epidemiology, 21: 507-511, 2011, 査読有

DOI: 10.2188/jea.JE20100189

- ⑤ Syuichi Ooki. Estimation of the Contribution of Assisted and Non-Assisted Reproductive Technology Fertility Treatments to Multiple Births During the Past 30 Years in Japan: 1979-2008. Twin Research and Human Genetics, 14: 476-483, 2011, 査読有
DOI: 10.1375/twin.14.5.476
- ⑥ 大木秀一. 双生児家系縦断データに基づくライフコース遺伝疫学研究の展望. 日本衛生雑誌, 66: 31-38, 2011, 査読有
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjh/66/1/66_1_31/_pdf

[学会発表] (計 3 件)

- ① 大木秀一、彦 聖美. 日本における妊娠の種類別に見た多胎出生の過去 30 年間 (1979-2008 年) の動向. 第 22 回日本疫学会学術総会、2012 年 1 月 27 日、東京都
- ② Syuichi Ooki. Estimation of the contribution of assisted and non-assisted reproductive technology fertility treatments to multiple births during the last thirty years in Japan: 1977-2008. The 19th IEA World Congress of Epidemiology, 2011 年 8 月 7-11 日, Edinburgh Scotland
- ③ 大木秀一. 双生児家系縦断データに基づくライフコース遺伝疫学研究. 第 80 回日本衛生学会 双生児医学連携研究会、2010 年 5 月 9 日、仙台市

[図書] (計 2 件)

- ① Syuichi Ooki. Nova Science Publishers, Human Handedness in Twins: An Overview. (In: Dutta T, Mandal MK, Kumar S (ed) Bias in Human Behavior), 2012, in press
- ② Syuichi Ooki, Kiyomi Hiko. InTech, Strategy and Practice of Support for Families with Multiple Births Children: Combination of Evidence-Based Public Health (EBPH) and Community-Based Participatory Research (CBPR) Approach. (In: Maddock J (ed) Public Health - Social and Behavioral Health), 2012, 405-430

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大木 秀一 (OOKI SYUICHI)
石川県立看護大学・看護学部・教授
研究者番号: 00303404