

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17688

研究課題名（和文）エネルギー代謝変動による妊娠期潜在性ビオチン欠乏症と胎児奇形の関連解明とその予防

研究課題名（英文）Clarification of the relationship between marginal biotin deficiency and fetal malformation by changing energy metabolism on the pregnancy period and its prevention

研究代表者

湯浅 正洋（Yuasa, Masahiro）

神戸大学・人間発達環境学研究所・助教

研究者番号：00756174

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、妊娠期における潜在性ビオチン欠乏症の発症機序，時期および胎児奇形との関連を明らかにした。妊娠は血漿ビオチン濃度を低下させるファクターであること，メタボローム解析ではビオチンも関わる糖新生やアミノ酸異化代謝が亢進されることが確認された。また，ビオチン欠乏状態のマウス母体に対して妊娠中期ごろからビオチン補給を行うと，口蓋裂の予防が可能であることが確認された。以上より，妊娠はエネルギー代謝を変動させて潜在性ビオチン欠乏症を惹起する可能性があり，胎児奇形予防のために妊娠期のビオチン補給が重要であ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

本研究により，妊娠期の潜在性ビオチン欠乏症の存在が確認され，ビオチン補給試験などの結果から，妊娠期のビオチン補給の必要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the developing mechanism and timing of marginal biotin deficiency during the pregnancy period. In addition, the relationship between biotin deficiency and fetal malformation was studied. Pregnancy was a factor that decreased plasma biotin concentration. Additionally, pregnancy increased gluconeogenesis and amino acids catabolism which is related to biotin, by the metabolomics. On the other hand, biotin administration for biotin-deficient pregnant mice prevented the fetal cleft palate. Therefore, marginal biotin deficiency may be induced because pregnancy changes an energy metabolism, and biotin administration during the pregnancy period is important for preventing fetal malformation.

研究分野：栄養生化学

キーワード：潜在性ビオチン欠乏症 妊娠期 エネルギー代謝 母体栄養 胎児奇形

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ビオチンはカルボキシラーゼの補酵素としてエネルギー代謝に関与している。ビオチン依存性カルボキシラーゼとして、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) 代謝の異化代謝に関与するメチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ (MCC) およびプロピオニル CoA カルボキシラーゼ (PCC)、脂肪酸の合成および酸化に関与するアセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC)、糖新生の律速酵素であるピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) が知られている。一般的に、ビオチンの欠乏症として、皮膚炎、脱毛症、神経障害が知られている。

最近、ヒト妊娠後期の血清・尿中ビオチン濃度の低下や¹⁾、カルボキシラーゼの活性低下により生じる有機酸濃度が上昇することから、妊婦は潜在性ビオチン欠乏状態であることが指摘されている。妊娠期にはたんぱく質や体脂肪の蓄積等に伴ってアミノ酸代謝、脂肪酸代謝、糖新生が亢進することが知られている。見かけ上はビオチン摂取量が十分であっても、妊娠による代謝変動により、その関連酵素の補酵素であるビオチンの要求性が高まることで潜在性の欠乏症が生じていると推察されるが、その機序は明確でない。一方、哺乳動物母体のビオチン欠乏により胎子の 90% 以上に口蓋裂が生じることや、小顎症や短肢症などの胎子奇形が高確率で発症することが報告されており、これを予防するためには妊娠期のビオチン栄養状態を保つことは重要であると考えられる。以上より申請者は、妊娠期のエネルギー代謝変動により潜在性ビオチン欠乏症が発症することで、胎子がビオチン欠乏状態となり、奇形が生じると仮説を立てた。

2. 研究の目的

上述した学術的背景と仮説をもとに、本研究では、妊娠期における潜在性ビオチン欠乏症の発症機序、時期および胎子奇形との関連を明らかにすることで、その予防法の提案を目指す。加えて、本研究では、奇形を予防するために対策を講じるべき時期についても、あわせて明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 潜在性ビオチン欠乏症の確認

ICR 系雌性マウスを交配させ、妊娠 0 日目より AIN-93G をベースとした対照飼料 (妊娠対照群: PC) およびビオチン欠乏飼料 (妊娠ビオチン欠乏群: PBD) を与えた。同様に、非妊娠マウスについても対照群 (C) とビオチン欠乏群 (BD) を設けた (合計 4 群)。すべてのマウスを個別・自由摂食下で 18 日目まで飼育し、母体の血漿、胎盤、肝臓、白色脂肪組織を採取した。母体においては、成長曲線、摂餌量、血漿ビオチン濃度を測定した。胎子においては、体重、胎児数、胎子の口蓋裂の頻度を記録した。

(2) ビオチンが関与するエネルギー代謝への影響の評価

エネルギー代謝の変動を反映する指標として、血漿中のグルコース、中性脂肪、総コレステロール、総タンパク質、アルブミンなどを測定した。また、GC-MS によって血漿中の親水性代謝産物を網羅的に解析し、上記の生化学的指標と血漿ビオチン濃度と合わせてメタボローム解析を実施した。比較したのは非妊娠対照 (C) 群と妊娠対照 (PC) 群で、MetaboAnalyst 6.0 を用いた主成分分析およびエンリッチメント解析を実施し、妊娠によって変動するエネルギー代謝経路を推定した。

(3) ビオチン投与による潜在性ビオチン欠乏症の改善効果の検討

(1) と同様の条件のマウス母体において、妊娠 10 日目以降にビオチン補給を実施して、口蓋裂の発症率を確認した。

4. 研究成果

(1) 潜在性ビオチン欠乏症の確認

母体血漿ビオチンは、総量・遊離型ともに妊娠とビオチン欠乏の両方で低下し、妊娠することで潜在性ビオチン欠乏症が惹起されることが確認された (Fig.1)。また、妊娠とビオチン欠乏の両因子は交互作用を示し、両者が存在することでより顕著な血漿ビオチン低下がもたらされることが示唆された。ヒトにおいて、妊娠後期が潜在性ビオチン欠乏症であることが指摘されており¹⁾、本研究結果と一致した。

母体において、妊娠は体重と摂餌量を増加させたが、ビオチン欠乏はこれらを大きく変動させなかった。妊娠群のみでの比較では、ビオチン欠乏群の胎子口蓋裂の発症率は 69.1% で、対照群 11.1% よりも有意に増加したが、胎盤重量、胎子体重、胎子数に差は認められなかった。以上のビオチン欠乏による母体や胎子発育などに及ぼす影響は、先行研究²⁻⁴⁾などと同等の結果であり、PBD 群で適切にビオチン欠乏状態を生じさせていたと考えられる。

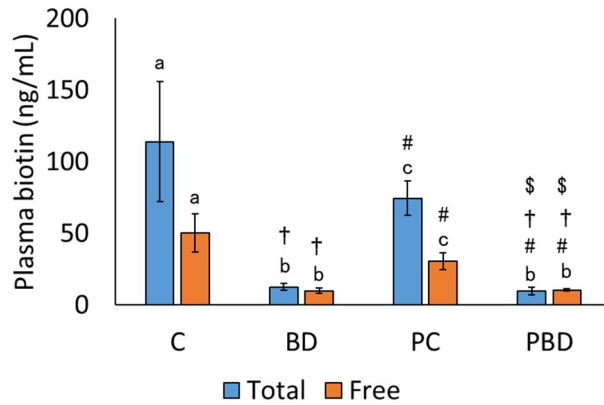


Fig.1 Effect of the pregnancy and biotin-deficiency on plasma biotin concentrations in female mice. Mean \pm SD. # $p < 0.05$ (factor: pregnancy, two-way ANOVA). † $p < 0.05$ (factor: biotin-deficiency, two-way ANOVA). \$ $p < 0.05$ (interaction, two-way ANOVA). ^{a-c} $p < 0.05$ (Tukey-Kramer test). C = Control; BD = Biotin-deficient; PC = Pregnant-control; PBD = Pregnant-biotin-deficient.

(2) ビオチンが関与するエネルギー代謝への影響の評価

妊娠はマウス血漿中のグルコース、総コレステロール、総タンパク質およびアルブミンを低下させ、中性脂肪を上昇させた (Fig.2)。一元配置分散分析後の多重比較検定では、PBD 群でのみ有意に血漿中性脂肪濃度が上昇した。一方、妊娠は体重に比例した肝臓肥大と、卵巣・子宮周辺の白色脂肪組織重量の顕著な低下をきたし、エネルギー代謝が亢進していることがうかがえた。このため、PBD 群の血漿中性脂肪濃度の上昇は、一見脂肪合成を促進させたように見えるが、肝臓におけるケトン体合成によるエネルギー補給のために、末梢組織から肝臓に向けた脂肪の輸送量増加を反映していると予想される。この現象のメカニズムを確認するために、今後は、妊娠期のビオチン欠乏によってケトン体合成が亢進するか否かを検証する必要がある。

以上のように、妊娠中は胎仔発育のために糖・脂質・タンパク質の代謝が変調することが再確認され、特に妊娠中のビオチン欠乏は中性脂肪の増加をきたすことから、妊娠期のビオチン欠乏症予防の重要性が示唆された。

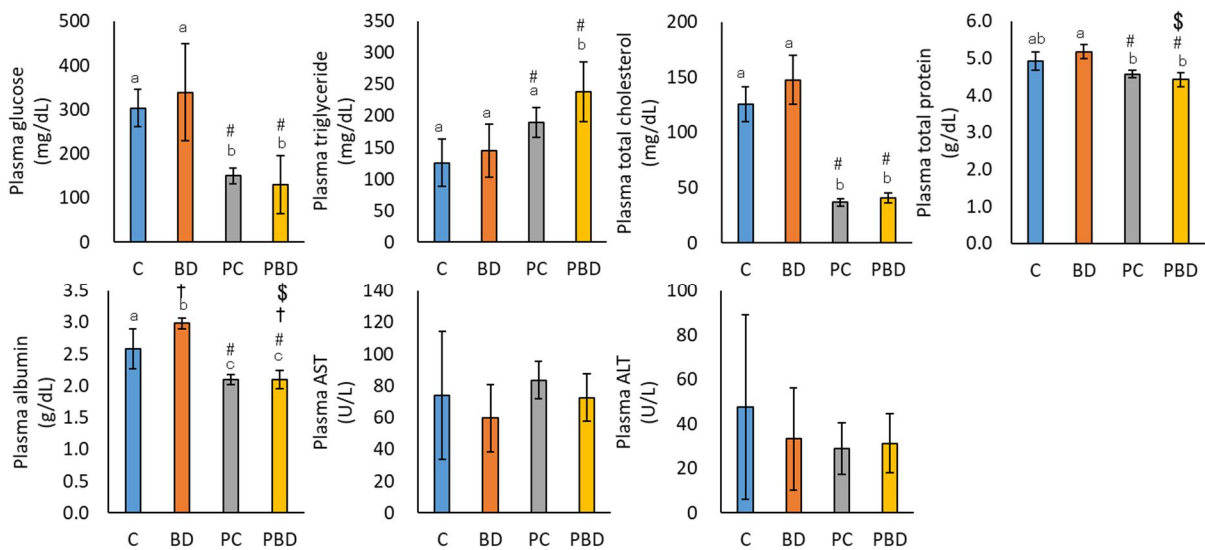


Fig.2 Effect of the pregnancy and biotin-deficiency on biochemical parameters in female mice. Mean \pm SD. # $p < 0.05$ (factor: pregnancy, two-way ANOVA). † $p < 0.05$ (factor: biotin-deficiency, two-way ANOVA). \$ $p < 0.05$ (interaction, two-way ANOVA). ^{a-c} $p < 0.05$ (Tukey-Kramer test). C = Control; BD = Biotin-deficient; PC = Pregnant-control; PBD = Pregnant-biotin-deficient.

C 群と PC 群の母体血漿を用いてメタボローム解析を実施した。主成分分析の結果、第 2 主成分まででデータの 68.4% が説明できること、第 1 主成分により C 群と PC 群を分離することができた (Fig.3)。次に主成分スコアと代謝物の相関係数 (主成分負荷量) を算出し、これが 0.7 以上の代謝物を用いてエンリッチメント解析を実施した結果、尿素サイクルやアミノ酸の異化代謝経路、糖新生やグルコース-アラニン回路などの活性化が確認された。以上より、妊娠は糖・アミノ酸異化代謝を有意に増加させることが、改めて確認された。

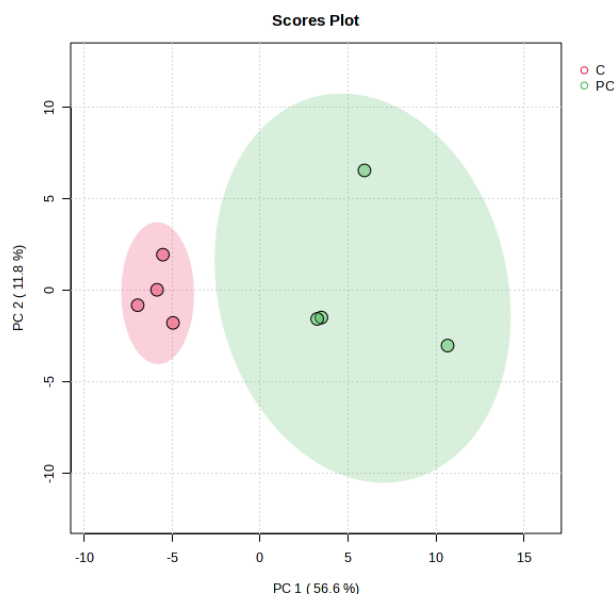


Fig.3 Scores plot of PC1 and PC2.

(3) ビオチン投与による潜在性ビオチン欠乏症の改善効果の検討

妊娠期 10 日目からマウス母体に 5 日間のビオチン補給を行うと，胎仔の口蓋裂の発症が 0 になった．ビオチン欠乏群の胎仔には 6 割以上で口蓋裂が確認され，少なくとも口蓋裂予防という点では，妊娠中期ごろからのビオチン補給が有効である可能性が示唆された．

(4) まとめ・今後の展望

本研究では，妊娠が潜在性ビオチン欠乏症のリスクになり得ること，ビオチンが関わると予想される糖・脂質・タンパク質（アミノ酸）代謝の変動と関連する可能性が示唆された．また，ビオチン欠乏状態のマウス母体に対して妊娠中期ごろからビオチン補給を行うと，口蓋裂の予防が可能であることが確認された．以上より，妊娠はエネルギー代謝を変動させてビオチンの必要量を増加させる可能性があり，胎仔奇形や代謝変動を抑えるために，妊娠中にビオチンを補給する必要があることが示唆された．

今後は肝臓や胎盤など，母体の主要臓器におけるビオチン濃度を測定し，母体のどこでビオチン欠乏の影響が生じているかを確認する予定である．また，肝臓などでビオチン依存性カルボキシラーゼ活性の低下を確認し，潜在性ビオチン欠乏症の程度を明らかにする予定である．一方，メタボローム解析で明らかになった糖やアミノ酸代謝に関わる酵素類の mRNA・タンパク質発現などを確認する必要があると考える．さらに，これらの検討はビオチン補給を実施したマウスでも検証し，ビオチンと妊娠期のエネルギー代謝変動との関連性を明確にしていく予定である．

[引用文献]

- 1) D.M. Mock, J.G. Quirk, N.I. Mock. Marginal biotin deficiency during normal pregnancy. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75, 295-299, 2002.
- 2) T. Watanabe, Y. Nagai, A. Taniguchi, S. Ebara, S. Kimura, T. Fukui. Effects of biotin deficiency on embryonic development in mice. *Nutrition*, 25, 78-84, 2009.
- 3) H. Sawamura, M. Namba, K. Obama, S. Ebara, M. Negoro, T. Watanabe. The effects of biotin administration to pregnant mice with biotin deficiency on fetal development. *Trace Nutrients Research*, 37, 38-43, 2020.
- 4) H. Sawamura, M. Kawase, A. Yano, S. Ebara, M. Negoro, T. Watanabe. Biotin supplementation to pregnant dams prevents cleft palate in biotin-deficient fetal mice. *Trace Nutrients Research*, 38, 44-47, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuasa M, Takashi T, Kawabeta K, Uemura M, Koba K, Sawamura H, Watanabe T
2. 発表標題 Dietary biotin supplementation increases energy expenditure via interscapular brown adipose tissue activation in rats.
3. 学会等名 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------