

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450162

研究課題名(和文) 次世代の生活習慣病予防を目指した妊娠期の糖質栄養状態の制御に関する研究

研究課題名(英文) Research on the regulation of dietary carbohydrate level during pregnancy for improvement of life style diseases in second generation

研究代表者

平井 静 (HIRAI, SHIZUKA)

千葉大学・園芸学研究科・助教

研究者番号：90432343

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：マウスの妊娠期における糖質のみの制限(糖質制限)が、摂取量の制限によるすべてのエネルギー源の制限(総エネルギー制限)とは異なり、出生仔において高脂肪食負荷による糖・脂質代謝不全を増悪化しないメカニズムの検討を行った。その結果、糖質制限は肝臓における脂肪酸合成系遺伝子発現には影響を及ぼさず、また白色脂肪細胞の小型化を促進することでインスリン感受性を亢進している可能性が示唆された。また、胎生期低栄養と出生後の精神疾患発症に関する検討を行ったところ、総エネルギー制限群の仔マウスはストレス感受性が高く不安様行動を示すのに対して、糖質制限群の仔マウスではその傾向が緩和されていることが示された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, I examined the mechanism that carbohydrate restriction during pregnancy does not exacerbate glucose and lipid metabolism induced by high fat diet in mice offspring. Carbohydrate restriction did not promote the expression of fatty acid synthesis-related genes and improved insulin sensitivity via increasing small-sized white adipocytes. I also examined the relationship between intrauterine undernutrition and development of psychiatric disorder. Offspring of total energy restriction group had higher stress sensitivity and showed anxiety-like behavior, but which was alleviated in the offspring of carbohydrate restriction group.

研究分野：栄養生化学

キーワード：妊娠期低栄養 糖質制限 肥満 糖・脂質代謝 インスリン抵抗性 不安様行動 精神疾患

1. 研究開始当初の背景

現在、我が国では、肥満やそれに伴って発症する生活習慣病(メタボリックシンドローム)が社会問題となっている。この要因としては、現代における食習慣の欧米化以外にも、胎児期における低栄養状態の関与が示唆されている(DOHaD; Developmental Origins of Health and Diseases 説)。すなわち、若い女性の「痩せ願望」による妊娠中の栄養制限が低出生体重児を増加させ、このような子供は、出生後に肥満や糖尿病、高血圧などのメタボリックシンドロームを発症しやすいというものである。一方、それまでに行われていた妊娠期低栄養に関する基礎研究は、妊娠期の摂取エネルギーまたは摂取タンパク質量に着目した研究となっており、特に後者の場合には飼料中のタンパク質を制限する代わりに糖質の含量を増加させた飼料設定となっていたため、どのような栄養成分が出生子におけるメタボリックシンドローム発症に関わるのかは不明であった。そこで申請者はこれまでの研究において、摂取エネルギーの主体である糖質に着目し、マウスの妊娠期における糖質のみの制限による摂取エネルギー制限が次世代に及ぼす影響を検討した。

その結果、糖質制限下で出生した仔マウスでは、妊娠期に摂取量の制限によるエネルギー制限やタンパク質制限下で出生したマウスで認められる高脂肪食誘導性の肥満や脂質代謝異常の増悪化が認められず、また糖代謝に関しては通常より改善されることを見出した。この結果は、妊娠期の低栄養環境による肥満・メタボリックシンドロームの発症が単なる摂取エネルギー制限によるものではないことを示しており、これまで提唱されてきた説には一部従わない非常に興味深い結果であった。

また近年、妊娠期低栄養は次世代における精神疾患発症のリスクを高める可能性があること、成人における糖質制限食の摂取はセロトニン分泌の低下を介して気分や認知などの心理機能に悪影響を及ぼすことが報告されていることから、妊娠期糖質制限も同様に次世代における精神疾患発症リスクに関わる可能性も考えられた。

2. 研究の目的

(1) 妊娠期の糖質制限がマウス出生子において高脂肪食誘導性の肥満や糖・脂質代謝異常を増悪化しないメカニズムを解明する。

(2) 妊娠期の糖質制限がマウス出生子に及ぼす悪影響の有無について、特に精神疾患発症との関連性について検討する。

3. 研究の方法

(1) 妊娠期における糖質制限がマウス出生子において高脂肪食誘導性の肥満や糖・脂質代謝異常を増悪化しないメカニズムの検討

雌雄の C57BL/6J マウスを交配し、妊娠 10 日目の雌マウスを、標準食を自由摂取させる

対照群、摂取量を減少させることで摂取エネルギーを対照群の 40%制限した総エネルギー制限群、糖質のみの制限により摂取エネルギーを 40%制限した糖質制限群の 3 群に分けて各飼料を給与し、出産させた。全ての出生子は対照群と同様の栄養環境で出産を経験した雌マウスに 3 週間哺育させ、全ての母マウスに対照食を給与した。6 週齢に達した各群の仔マウスに 60%kcal 高脂肪食を 19 週間摂取させた後に解剖を行い、血液と各種臓器を採取し、各種血液パラメーターの測定、mRNA およびタンパク質発現解析、組織化学的解析に供した。

さらに、新生仔期における血中レプチン濃度の推移について検討を行うため、同様にして出生した仔マウスを出生後経日的に解剖して血液と皮下脂肪組織を採取し、レプチン濃度の測定とレプチンおよびその関連遺伝子発現解析に供した。

(2) 妊娠期における糖質制限とマウス出生子における精神疾患発症との関連性の検討

(1)と同様に出生した仔マウスを、離乳後は対照食を給与して 10 週齢まで飼育し、オープンフィールド試験、高架式十字迷路試験、強制水泳試験を順に実施した。また、拘束ストレス負荷時の血中コルチコステロン濃度の変動を測定した。

4. 研究成果

(1) 妊娠期の糖質制限がマウス出生子において高脂肪食誘導性の肥満や糖・脂質代謝異常を増悪化しないメカニズムの検討

出生後に高脂肪食を摂取した際の脂質代謝に関して検討を行うため、肝臓における脂肪酸合成および分解系遺伝子の発現を検討したところ、分解系遺伝子発現は群間で差が認められなかったが、合成系遺伝子発現は総エネルギー制限群において亢進していたのに対して糖質制限群では変化しないことが見出された。そこで脂肪酸合成の上流因子である LXR α に着目し、出生直前の胎生 18.5 日目の胎子の肝臓における LXR α プロモーター部位のメチル化について検討したが、妊娠期の栄養による影響は認められなかった。

また、出生子におけるインスリン感受性(糖代謝)に関して検討を行うため、インスリン感受性臓器である骨格筋と白色脂肪組織における関連遺伝子の発現解析を行ったところ、骨格筋における糖取り込み関連遺伝子の mRNA およびタンパク質発現に影響は認められなかったものの、白色脂肪組織における糖取り込み関連遺伝子の発現が総エネルギー制限群では低下する傾向が認められた一方で、糖質制限群では変化しないことが示された。さらに糖質制限群の白色脂肪組織においては脂肪細胞分化に重要な転写因子である PPAR γ の発現が亢進していた。そこで白色脂肪組織切片を作成し、脂肪細胞サイズの計測を行ったところ、総エネルギー制限

群では肥大化脂肪細胞が増加していたのに対して、糖質制限群では脂肪細胞の小型化が観察された。

以上のことから、マウスの妊娠後期における糖質制限は、総エネルギー制限群で認められる脂肪酸合成の亢進やインスリン感受性の低下を誘発せず、むしろ白色脂肪細胞の小型化を介してインスリン感受性を亢進させている可能性が示唆された。

げっ歯類では、新生仔期に血中レプチン濃度が一過的に上昇するレプチンサージと呼ばれる現象が認められており、胎生期低栄養状態による肥満体質獲得はこのレプチンサージの早期化に關与している可能性が報告されている。そこで次に、妊娠後期に総エネルギー制限または糖質制限を行った母マウスから出生した仔マウスにおける新生仔期血中レプチン濃度の推移について検討を行った。

その結果、総エネルギー制限および糖質制限下で出生した仔マウスでは、新生児期におけるレプチンサージが早期化しており、皮下脂肪組織におけるレプチン mRNA 発現の結果とも一致していた。このことから、レプチンサージの早期化は、制限する餌中のエネルギー源によらず低エネルギー状態によって生じること、またレプチンサージの早期化のみではその後の肥満形質獲得には繋がらないことが示唆された。

そこで次に、レプチンサージ早期化のメカニズムについて検討を行うため、脂肪組織においてレプチン発現の制御に關わる転写因子の mRNA 発現を測定したが、総エネルギー制限、糖質制限ともに、いずれの遺伝子の発現にも影響は認められなかった。このことから、レプチンサージの早期化は転写因子の発現の亢進ではなく、レプチンプロモーターのエピジェネティック修飾など他の要因によるものである可能性が考えられた。

以上の結果より、妊娠期の糖質制限がマウス出生仔において高脂肪食誘導性の肥満や糖・脂質代謝異常を増悪化しないメカニズムに新生児期におけるレプチンサージの早期化は關与しないこと、糖質制限はタンパク質を含むすべての栄養成分を制限した総エネルギー制限とは異なり、肝臓および脂肪組織における糖・脂質代謝関連遺伝子発現に悪影響を及ぼさず、むしろ白色脂肪組織においては PPAR γ 遺伝子発現の亢進を介して小型の脂肪細胞を増加させることで、インスリン感受性を亢進させている可能性が示唆された。

(2) 妊娠期における糖質制限とマウス出生仔における精神疾患発症との関連性の検討

10 週齢に達した各群の仔マウスを用いて不安様・うつ様行動を評価する各種行動実験を行った。オープンフィールド試験にて、総エネルギー制限群の雄の仔マウスは中央区画滞在時間の低下傾向を示したが、糖質制限群では確認されなかった。一方、強制水泳試

験においても、総エネルギー制限群の雄の仔マウスは無動時間の低下傾向を示したが、糖質制限群では確認されなかった。また、拘束ストレス負荷による血中コルチコステロン濃度の上昇は、雄の糖質制限群では低下、雌の総エネルギー制限群では上昇傾向を示した。

以上の結果から、総エネルギー制限群では、オープンフィールド試験における不安様行動の増加と強制水泳試験におけるうつ様行動の減少といった行動異常を示し、ストレス感受性も高い傾向があるが、このような傾向は糖質制限群では認められないことが示された。

<総括>

以上の研究より、妊娠後期における糖質制限は、総エネルギー制限に比べると、肝臓および脂肪組織を中心とした出生仔の糖・脂質代謝や、不安・うつ様行動、ストレス感受性には悪影響を与えないことが示された。

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0件)

[学会発表](計8件)

越野 由希絵、平井 静、清水佑宇也、田高 梨子、小森 誠、江頭 祐嘉合
妊娠期の糖質制限が出生仔の糖代謝に及ぼす影響とそのメカニズム、第36回日本肥満学会、2015年10月2-3日、名古屋国際競技場(名古屋市)

Hirai S, Tako R, Shimizu Y, Koshino Y, Komori M, Egashira Y

Carbohydrate restriction during pregnancy does not induce the exacerbation of metabolic syndrome in mice offspring, 12th Asian Congress of Nutrition 2015, May 14-18, 2015, Yokohama (Japan)

田高 梨子、平井 静、清水 佑宇也、越野 由希絵、小森 誠、江頭 祐嘉合

胎生期の糖質制限が新生仔期のレプチンサージに及ぼす影響、第35回日本肥満学会、2014年10月24-25日、フェニックスシーガイアリゾート コンベンションセンター(宮崎市)

越野 由希絵、平井 静、清水 佑宇也、田高 梨子、小森 誠、江頭 祐嘉合

妊娠期における糖質制限食の摂取は出生仔においてメタボリックシンドロームの増悪化を誘発しない、第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月30日-6月1日、酪農学園大学(江別市)

清水 佑宇也、平井 静、田高 梨子、越野 由希絵、小森 誠、江頭 祐嘉合

妊娠期の糖質制限食が出生仔の成獣期に

おけるメタボリックシンドローム発症に及ぼす影響、第 34 回日本肥満学会、2013 年 10 月 11 - 12 日、東京国際フォーラム（東京都）

Hirai S, Shimizu Y, Tako R, Koshino Y, Komori M, Egashira Y

Effect of carbohydrate restriction during pregnancy on the glucose and lipid metabolism in offspring, 20th International Congress of Nutrition, September 15-20, 2013, Granada, Spain

平井 静、田高 梨子、越野 由希絵、清水 佑宇也、小森 誠、江頭 祐嘉合

マウス胎生期の糖質栄養制限が出生後のメタボリックシンドローム発症に及ぼす影響、第 2 回日本 DOHaD 研究会学術集会、2013 年 6 月 7 - 8 日、厚生労働省戸山研究庁舎（東京都）

田高 梨子、平井 静、清水 佑宇也、越野 由希絵、小森 誠、江頭 祐嘉合

妊娠期における糖質制限食の摂取は出生子においてメタボリックシンドロームの増悪化を誘発しない、第 67 回日本栄養・食糧学会、2013 年 5 月 24 - 26 日、名古屋大学（名古屋市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

平井 静 (HIRAI SHIZUKA)
千葉大学・園芸学研究科・助教
研究者番号：90432343

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし