

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462548

研究課題名(和文) 妊娠時過剰インスリン抵抗性への治療的戦略：次世代の生活習慣病発症予防も目指して

研究課題名(英文) Maternal high-fat diet causes insulin resistance of offspring via inflammatory change in visceral fat using mice models - for a remedial strategy-

研究代表者

杉山 隆 (Sugiyama, Takashi)

愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10263005

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：わが国の女性の食習慣を反映するモデルを用いて、高脂肪食摂取(HFD)母獣は正常食摂取(CD)マウスに比し、脂肪細胞の肥大化およびM1マクロファージの浸潤増加を認め、炎症様変化を介し、母獣および胎仔におけるインスリン抵抗性を高くする変化を生じた。

また12週齢時の仔では、HFD群、HFD+ニコチン投与群の順に炎症性サイトカインは増加し、アディポネクチン値も増加した。これらの結果より、高脂肪食に喫煙が加わると、炎症助長のエビジェネティクスを介して次世代への悪影響を及ぼす可能性を示した。さらに次世代に多価不飽和脂肪酸を投与すると、その悪循環を断つ可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of maternal obesity with or without nicotine treatment on her offspring using obesity mice model. Female 6-weeks-old mice were fed either normal chow diet (CD: 10 kcal% fat) or high-fat diet (HFD: 45 kcal% fat) for 4 weeks before mating and throughout pregnancy. Nicotine was injected into pregnant litters during mid to late pregnancy. Maternal obesity with nicotine treatment causes glucose intolerance with insulin resistance through macrophage infiltration with increased levels of inflammatory cytokines and decreased levels of adiponectin in her offspring. Also, n-3 PUFA treatment for offspring in HFD fed litter caused amelioration of insulin resistance. Thus, we suggest that this obese mice model is a useful tool to assess mechanisms of metabolic syndrome in the offspring.

研究分野：周産期医学、代謝・内分泌学

キーワード：妊娠 肥満 インスリン抵抗性 炎症 高脂肪食 次世代 子宮内環境

1. 研究開始当初の背景

近年の我が国の食生活は、エネルギー摂取量が70年間に比し、増加していないにもかかわらず脂肪摂取率が高く、高エネルギー・高脂肪摂取を特徴とした所謂欧米化食習慣とは異なる。肥満女性のみならず非肥満女性においても近年の高脂肪食が母体および子宮内に影響し、胎児および児の将来の健康に悪影響を及ぼす可能性が危惧されている。これまで我々は、妊娠中の高脂肪食摂取が母体および胎児、さらに次世代に対して“病的炎症”という形でインスリン抵抗性を含む悪影響を及ぼすことを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、高脂肪食のみならず、喫煙の影響も検討した。これらの研究成果に基づき、母体の高脂肪食摂取による次世代の生活習慣病発症予防の視点から、特に食事による次世代の予防法を探るべく、抗炎症性作用を有するn-3多価不飽和脂肪酸の効果に関する研究を計画した。

3. 研究の方法

施設内動物実験委員会承認の下、高脂肪食(HFD: 45%)を与えた雌性肥満マウスを交配し、妊娠17日目に犠牲解剖を行い、母獣および胎仔、次世代の表現型を検討し、標準食群(CD:10%)と比較した。ニコチンは腹腔内投与とし、出生後の仔はすべてCD里親を用いて育て、次世代の表現型解析は12週齢の雄性仔を用いた。

また、出生後の仔にn-3多価不飽和脂肪酸(n-3 PUFA)を離乳後、4週間投与し、12週齢時の表現型を比較検討した。

4. 研究成果

母獣の妊娠中の総体重増加量および総摂取エネルギー量に差を認めなかったが、脂肪摂取量はHFD群で有意に多かった。糖負荷試験の結果、HFD群において耐糖能の低下を呈したが、ニコチン投与の有無で差を認めなかった。また、仔の体重は両群間に差を認めなかったが、仔が12週齢時のHFD+nicotine群においてのみ、耐糖能が低下することが判明した。一方、CD群では、ニコチンの投与の有無で母獣および仔の耐糖能に差は認められなかった。

次にインスリン負荷試験を施行した結果、CD群では、ニコチンの投与の有無で結果に差を認めなかったが、HFD群では母獣および仔において、ニコチン投与によりインスリン抵抗性が高くなった。母獣の内臓脂肪はHFDにより肥大化した。各群においてニコチン投与により縮小した。

一方、マクロファージの浸潤はニコチン投与により増加した。母獣の血清レプチン値は、HFDにより増加傾向を呈し、CD群ではニコチン投与により低下した。一方、血清アディポネクチン値は、CD群でニコチン投与により上

昇した。一方、次世代である12週齢時の仔における各種血清パラメーターの測定を行った結果、CD群では、ニコチン投与により炎症性サイトカインは増加し、アディポネクチン値も増加した。HFD群では、ニコチン投与により変化を認めなかった。仔における内臓脂肪組織のM1・M2マクロファージ比をFACSにより解析した結果、HFD群では、CD群に比しM1/M2比が高い傾向を呈し、ニコチン投与群では、さらに高くなった。仔の内臓脂肪組織における各種アディポカインの遺伝子発現を検討した結果、TNF- α mRNAの発現はHFD+nicotine群で高く、CD11c遺伝子発現も同様の傾向を認めた。一方、アディポネクチン値はHFD+nicotine群で低値を呈した。

さらに、HFDあるいはCD摂餌させた母獣より出生したそれぞれ仔に対し、離乳後の餌にn-3多価不飽和脂肪酸(PUFA)を与えたところ、HFD仔群においてインスリン抵抗性の軽減傾向を認めた(予備実験)。

妊娠時高脂肪餌負荷は、内臓脂肪の肥大化を介した炎症様変化が仔のインスリン感受性に影響を与える可能性、また喫煙が加わるとさらなる影響が加わることが示唆された。すなわち、妊娠中の母体脂質摂取の増大、脂肪摂取増大と喫煙といった栄養環境の変化が、エピジェネティクスを介して次世代のインスリン抵抗性増大につながる“胎児プログラミング”を引き起こしている可能性が考えられた。

今回、中等度高脂肪食摂餌マウスを用いて検討を行った。本モデルでは、母獣の妊娠中の総体重増加量および総摂取エネルギー量に差を認めなかったが、脂肪摂取量はHFD群で有意に多いことより、現代の日本人の食生活に近いモデルであると考えた。

我々は以前、高脂肪食摂餌母獣では、次世代の仔のインスリン感受性が低いことを報告し、その原因として内臓脂肪細胞の肥大化に伴うアディポカインの発現異常、特にアディポネクチンの低下が関与することを示した²⁾。また、妊娠中の影響に加えて授乳期における母獣の高脂肪食摂餌がさらに次世代への影響に相対的影響を及ぼすことも報告されており、エピジェノムとしてレプチンやアディポネクチンが関与する可能性が示唆されている。

今回の検討より、高脂肪食負荷およびニコチン投与した母獣の次世代にインスリン抵抗性を伴う耐糖能低下を示したことは興味深い。そのメカニズムとして内臓脂肪組織における炎症様変化とアディポネクチンの発現低下が関与する可能性が示唆された。ただし、CD群とHFD群における変化がパラレルではなく、この相違をさらに検討する必要がある。

一般にニコチンは抗炎症性物質として作用することが知られており、今回の検討にお

いても母獣では、脂肪細胞のサイズは縮小し、それに伴うアディポカインの変化が認められた。しかし、マクロファージの浸潤の増加が認められた。この理由として抗炎症性マクロファージの増加が関与する可能性が考えられるが、今後検討する予定である。

さらに次世代のインスリン抵抗性改善効果を認めた n-3 PUFA の研究についても予備実験まで施行することができたので、引き続き検討を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Umekawa T, Sugiyama T, Du Q, Murabayashi N, Zhang L, Kamimoto Y, Yoshida T, Sagawa N, Ikeda T. A maternal mouse diet with moderately high-fat levels does not lead to maternal obesity but causes mesenteric adipose tissue dysfunction in male offspring. **J Nutr Biochem** 26:259-266,2015 (査読有)

2. Sato T, Sugiyama T, Kurakata M, Saito M, Sugawara J, Yaegashi N, Sagawa N, Sanaka M, Akazawa S, Anazawa S, Waguri M, Sameshima H, Hiramatsu Y, Toyoda N, and the Japan Diabetes and Pregnancy Study Group. Pregnancy outcomes in women with type1 and type2 diabetes mellitus in a retrospective multi-institutional study in Japan. **Endocr J** 61:759-764,2014 (査読有)

3. Sugiyama T, Metoki H, Hamada H, Nishigori H, Saito M, Yaegashi N, Kusaka H, Kawano R, Ichihara K, Yasuhi I, Hiramatsu Y, Sagawa N; The Japan Gestational Diabetes Study Group. A retrospective multi-institutional study of treatment for mild gestational diabetes in Japan. **Diabe Res Clin Prac** 103:412-418, 2014 (査読有)

4. Sugiyama T, Nagao K, Metoki H, Nishigori H, Saito M, Tokunaga H, Nagase S, Sugawara J, Watanabe Y, Yaegashi N, Sagawa N, Sanaka M, Akazawa S, Anazawa S, Waguri M, Sameshima H, Hiramatsu Y, and Toyoda N; The Japan Diabetes and Pregnancy Study

Group. Pregnancy outcomes of gestational diabetes mellitus according to pregestational BMI in a retrospective multi-institutional study in Japan. **Endocr J** 61:373-380,2014(査読有)

5. Sugiyama T, Saito M, Nishigori H, Nagase S, Yaegashi N, Sagawa N, Kawano R, Ichihara K, Sanaka M, Akazawa S, Anazawa S, Waguri M, Sameshima H, Hiramatsu Y, Toyoda N; for the Japan Diabetes and Pregnancy Study Group. Comparison of pregnancy outcomes between women with gestational diabetes and overt diabetes in a retrospective multi-institutional study in Japan. **Diabe Res Clin Prac** 103:20-25, 2014 (査読有)

〔学会発表〕(計 3 件)

杉山 隆

標題：子宮内環境と生活習慣病

学会名：第 68 回中国四国産科婦人科学会
学術講演会

発表年月日：2015 年 9 月 5 日

場所：岡山県倉敷市芸文館、岡山県倉敷市

杉山 隆

標題：母体高脂肪食および喫煙は内臓脂肪の炎症性変化を介して次世代のインスリン抵抗性に関与する。高脂肪食摂餌ニコチン投与妊娠マウスモデルを用いた検討 -

学会名：第 67 回日本産科婦人科学会 ワークショップ

発表年月日：2015 年 4 月 11 日

場所：パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

杉山 隆

標題：子宮内環境と肥満

学会名：第 35 回日本肥満学会 教育講演

発表年月日：2014 年 10 月 24 日

場所：シーガイアコンベンションセンター、宮崎県宮崎市

〔図書〕(計 5 件)

1. 杉山 隆

子宮内環境と児の将来の生活習慣病
糖尿病プラクティス. 医歯薬出版.
33:168-171,2016

2. 杉山 隆

糖尿病療養指導の手びき改定第 5 版. 妊娠中の糖代謝異常はどのように治療するのか.
日本糖尿病学会編・著, pp147-152. 南江堂, 2015

3. 杉山 隆

肥満女性について：妊娠に向けて

臨床栄養. 医歯薬出版株式会社

127:532-535,2015

4. 杉山 隆

妊婦の糖代謝異常診療・管理マニュアル.
妊婦の糖代謝の特徴は？妊娠中の糖代謝異常スクリーニング法は？肥満妊婦の管理で注意すべき点は？日本糖尿病・妊娠学会編, pp42-43, 44-45, 108-109. メジカルビュー社,2015

5. 杉山 隆

巨大児と DOHaD. Hormone Frontier in Gynecology. メジカルビュー社.12:73-77,2015

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

杉山 隆 (Sugiyama, Takashi)

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10263005

(2)研究分担者

木村 芳孝 (Kimura, Yoshitaka)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：40261622

井原 基公 (Ihara, Motomasa)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50403506

菅原 準一 (Sugawara, Junichi)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・教授