

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：32625

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26500016

研究課題名(和文)n-3系脂肪酸の摂取は乳幼児の成長と発達に寄与するか？ -疫学による検証-

研究課題名(英文) Does the intake of n-3 fatty acids contribute to infant growth and development
-Verification by epidemiology-

研究代表者

川端 輝江 (Kawabata, Terue)

女子栄養大学・栄養学部・教授

研究者番号：80190932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：授乳期間中の母親の魚介類摂取及びn-3系脂肪酸代謝と、出生児の成長と発達との関連性を検証した。その結果、n-3系脂肪酸であるドコサヘキサエン酸(DHA)の母乳組成及び濃度は、魚介類摂取量と正相関した。5不飽和化酵素遺伝子型(rs174547)C/C群(対象者の約15%)では、T/T群に対して母乳中DHA組成が有意に低値であった。出生から7か月までに児が摂取したDHA濃度を推測し、その濃度別に児の発育について検討したところ、児の体重増加との間には関連はみられなかった。今後、DHA摂取と発達との関連においてさらなる検討が必要と考えている。

研究成果の概要(英文)：We examined the relationship between mothers' fish intakes and n-3 fatty acid metabolism during the lactation period and the growth and development of their infants. The compositions and concentrations of the n-3 fatty acid docosahexaenoic acid (DHA) in maternal milk were significantly positively correlated with the mothers' fish intakes. The C/C type of the rs174547 SNP in the delta-5 fatty acid desaturase gene was found in 15% of mothers, the DHA composition (wt%) of maternal milk of mothers with the C/C type was significantly lower than that of mothers with the T/T type. When the growth of infants was analyzed according to the DHA concentration ingested from birth to 7 months, no association was found between DHA concentration and the weight gain of infants. We believe that further analysis is required to clarify the relationship between DHA ingestion and growth in infants.

研究分野：脂質栄養学

キーワード：n-3系脂肪酸 出生コホート 母乳 血液 脂肪酸不飽和化酵素 スニップ トランス脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

n-3 多価不飽和脂肪酸 (PUFA、特にドコサヘキサエン酸; DHA) は胎児期から乳幼児期の児の脳に蓄積される。そのため、妊娠中または授乳中の母親からの胎盤や母乳を介した n-3PUFA の供給が、児の神経・視覚発達に重要であることが示唆されている。さらに、n-3PUFA 摂取が、児のアレルギー予防、児の肥満予防に効果を有する等の報告もある。現在、我が国では一般用粉ミルクへのアラキドン酸と DHA 添加が行われている。

日本人は魚を多食する食習慣があるため、血中 DHA レベルは海外の妊娠女性と大きく異なる。また、DHA は ω -リノレン酸からヒトの体内で合成可能であるが、その代謝に関わる酵素の遺伝子多型も報告され、DHA 合成能にも個人差があることが知られてきた。これらのことから、胎児期から乳児期における DHA の栄養学的な意義を早急に検証する必要があると考えられた。特に、DHA の栄養学的な意義について、日本人を対象とした疫学的な調査結果はほとんどない。

2. 研究の目的

本研究では、授乳期間中の母親の魚介類摂取や遺伝子多型と母乳中脂肪酸組成、及び出生児の成長と発達の関連性を検証した。魚介類摂取量は食物摂取頻度調査によって把握すると共に、母体・臍帯血や母乳中の脂肪酸組成結果を生体指標として用いた。

本研究は、環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査 (JECS)」の追加調査として、コホートを確立し疫学調査を展開した。コホート調査の進捗に伴い、児の発育および発達検査等のデータが蓄積していくこととなるが、これらのデータと本研究で得られたデータとの突合せを行うことで、乳児期の児にとっての PUFA の重要性について、検証していくことが可能になると考えられる。

3. 研究の方法

(1) 対象者

本調査の対象地域となる宮城県南三陸沿岸部地域の JECS 参加者は 3,029 人であり、さらに、追加調査への参加者は 1,878 人であった。このうち、本研究で用いたデータは、追加調査に登録した母親のうち、出産後 1 ヶ月あるいは 7 ヶ月において母乳を採取した 518 人とした。

(2) データの収集

母乳の採取

上記対象者のうち、出産後 1 ヶ月目の母乳は 162 人について、7 ヶ月目の母乳は 434 人について採取できた。さらに、同一の母親 24 名から 1 か月、4 か月、7 か月、10 か月に繰り返し母乳を採取した。

対象母児の基本属性

母親の年齢や体格、妊娠期間中の体重増加

量、胎盤重量、児の性別及び身長、体重、授乳形態等の基本属性は、JECS の全体調査からデータを収集した。追加調査では、7 か月の母乳採取時に自記式の食事歴調査法 (BDHQ) を実施し、母親の日常の食物摂取頻度および量を把握した。さらに、利用した調製粉乳の種類等についても聞き取りを行った。

(3) 脂肪酸組成の分析

対象者から採取した母乳は、直ちに女子栄養大学に移送した。

母乳中脂肪酸分析

母乳の総脂質中脂肪酸分析は Johansson ら (Crin Exp Allergy, 41, 505-515, 2011) の方法に従った。すなわち、100 μ l の母乳を採取し、トルエン 2ml、内部標準液 (Henicosanoic acid; 21:0, 1mg/ml) 100 μ l を加え混和した。その後、3%塩酸メタノール 0.5ml で 100、1 時間メチルエステル化を行った。メチルエステル化された脂肪酸はヘキサンで抽出後、ガスクロマトグラフィー (GC-4000、GL-サイエンス) で、Ohta ら (Lipids 25, 742-747, 1990) の方法に従い分析した。キャピラリーカラムは DB-225 (ID 0.25mm 30m, J&W Scientific Co., Inc.) を用いた。キャリアガスはヘリウムガス 1ml/分、注入口温度は 250、検出器 (FID) は 250 とした。得られたクロマトグラムは、EZChrom Elite ver.3.1.7J (GL-サイエンス) によって解析した。母乳中脂肪酸組成は、総脂肪酸量に対する百分率 (%) 及び濃度 (mg/dL) を求めて解析に用いた。

血漿中脂肪酸分析

母体血 (妊娠 24~30 週の間) に 1 回採取、臍帯血 (分娩時) については、採取の段階で血漿分離を行い、血漿は -80 で保管した。血漿は解凍後、Glaser ら (J Lipid Res, 51, 216-221, 2010) の脂肪酸分析法を基にナトリウムメトキシド法によりグリセロリン脂質画分において特異的にメチルエステルの選択的合成を行った。その後ガスクロマトグラフィーにより脂肪酸の分析を行った (母乳中脂肪酸分析手順参照)。

(4) DNA の抽出、精製および遺伝子多型解析

遺伝子多型解析は、すでに採取し冷凍保管してあった血液を用いて行った。全血中に含まれる白血球から、プレジジョン・システム・サイエンス (株) の全自動核酸抽出装置 Magtration System 6GC および専用試薬 MagDEA DNA 200 (GC) を用い、DNA を抽出した。FADS の SNP (FADS1; rs174547, T/C) は、上記の抽出試料を用い、TaqMan 法にて解析された。

(5) 倫理的配慮

研究プロトコールは、東北大学大学院医学倫理委員会および女子栄養大学医学倫理委員会によって承認された。研究に関する情報

はすべての参加者に説明され、インフォームドコンセントを書面で得た。

4. 研究成果

(1) 対象者の基本属性及び児の身長・体重

出産時の母親の年齢は 31.6 ± 4.7 歳、身長は 158.0 ± 5.3 cm、体重は 53.8 ± 8.8 kg であり、また、妊娠期間中の体重増加量は 10.6 ± 4.1 kg、胎盤重量は 558 ± 135 g であった。出生児の性別は男 274、女 244 人であった。出生時及び7か月時における児の身長及び体重は図1及び図2に示した。

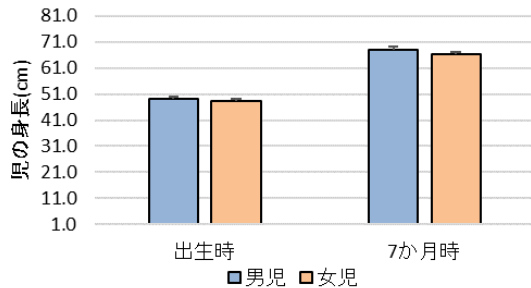


図1 出生時と7か月時における児の身長の変化

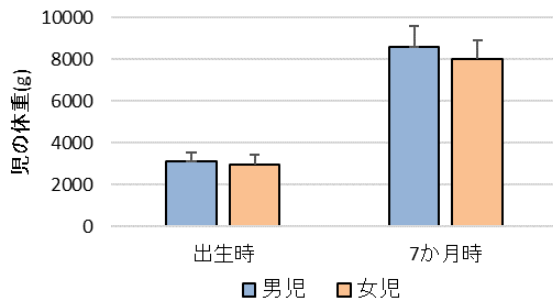


図2 出生時と7か月時における児の体重の変化

7か月時の体重は着衣を含む

(2) 食事と母乳中脂肪酸濃度及び組成との関係

自記式の食事歴調査法 (BDHQ) から得られた魚介類摂取量と7か月時の母乳中脂肪酸濃度 (図3) 及び組成 (図4) との関連を示す。母乳中 DHA 組成 (重量%) 及び濃度 (mg/dl) 共に、BDHQ から得られた魚介類摂取量と有意の正相関を示した。

図には示していないが、BDHQ から算出された EPA+DHA 摂取量と7か月時の母乳中 DHA 組成及び濃度間にも、それぞれ有意の正相関がみられた (相関係数 $r=0.411$ (組成), $r=0.361$ (濃度), いずれも $p<0.001$)。

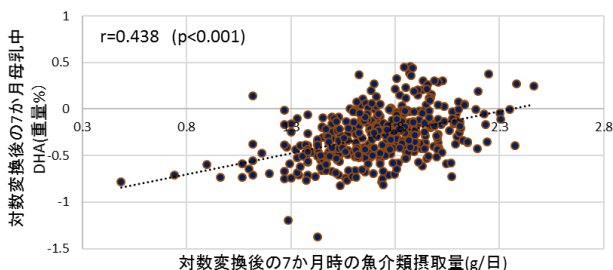


図3 魚介類摂取量と母乳中DHA組成(重量%)との関係

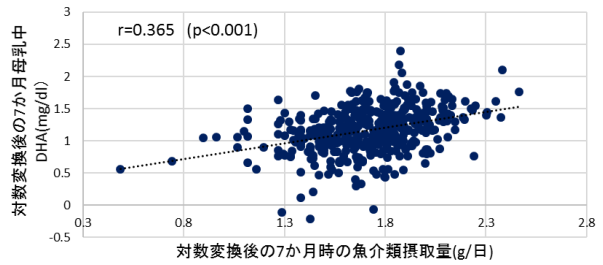


図4 魚介類摂取量と母乳中DHA濃度(mg/dl)との関係

(3) 遺伝子多型と母乳中脂肪酸組成

体内では、リノール酸はアラキドン酸に、-リノレン酸は EPA、DHA に変換される。その途中の代謝を触媒する 5 不飽和化酵素について遺伝子多型を調べたところ、C/C 群は 14.6%、C/T 群は 48.6%、T/T 群は 36.8% の出現割合であった。7 か月の母乳中アラキドン酸組成には、これら3つの群間で互いに有意差が認められ、野生型 T/T 群に対して変異型 C/C 群では有意に低値であることが示された。また、DHA も同様に、野生型 T/T 群に対して変異型 C/C 群では有意に低値であった。一方、1 か月母乳では、7 か月と同様の傾向は見られたが、統計的な有意差は認められなかった。サンプルサイズが小さかったためと考えられた。

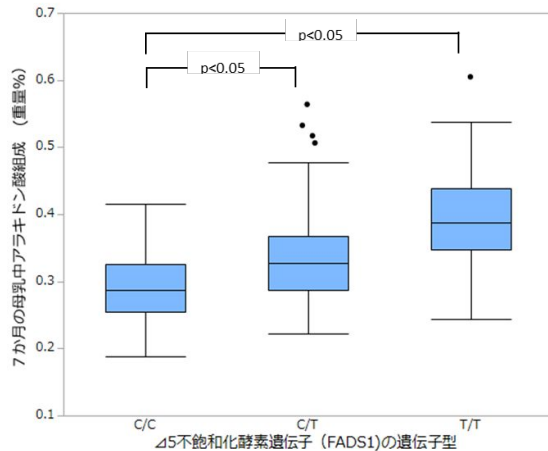


図5 遺伝子多型と母乳中アラキドン酸組成

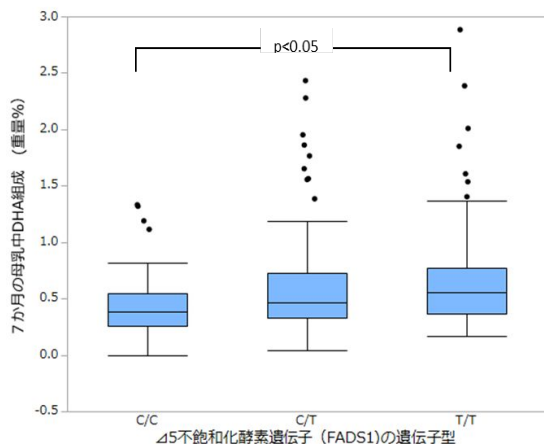


図6 遺伝子多型と母乳中 DHA 組成

以上のことから、変異型 C/C 群においては、遺伝的に母体内の 5 不飽和化酵素の働きが悪く、代謝の下流にあるアラキドン酸および DHA 生成量が少なく、その結果母乳組成にも影響を及ぼしていることが認められた。

(4)授乳形態

出産後、1 か月から 6 か月までの授乳形態を調べたところ、図 7 のとおりとなった。月齢が進むにしたがって、混合、ないしは人工栄養の比率が上昇することが示された。

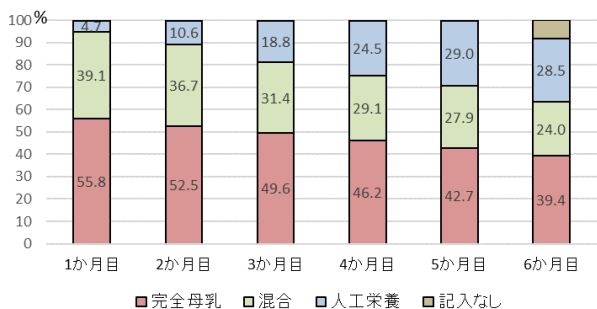


図7 出産後1か月から6か月までの授乳形態の変化

粉乳の脂肪酸組成について、各メーカーによる公表値を表 1 にまとめた。アレルギー及び乳糖不耐症用以外の粉乳にはいずれも DHA が 100g 当たり、70~100mg 含有されている。

本研究では、7 か月の母乳中アラキドン酸濃度の中央値は 10.2mg/dL、DHA 濃度の中央値は 14.7mg/dl であり、粉乳をメーカーの指示通りに溶解すると、アラキドン酸濃度は 3~5mg/dl、DHA 濃度は約 9~13mg/dl となり、DHA は母乳に近い組成であることがわかった。本研究対象者が利用していた粉乳のうち、アレルギー用は 2 名、乳糖不耐症用は 2 名での使用が認められた。しかしながら、この 4 名についても、継続的な使用ではなく、一時期の使用にとどまっていた。従って、粉乳の利用者の児において、極端なアラキドン酸および DHA 欠乏はなかったと推測している。

表 1 粉乳成分比較表 (100gあたり)

	DHA (mg)	アラキドン酸 (mg)
一般育児用ミルク		
明治乳業ほほえみ	100	26
和光堂はいはい	80	-
森永はぐくみ	70	35
森永E赤ちゃん	70	35
アイクレオベプチド	70	35
雪印びゅあ	70	-
ピーンスターク・スノーすこやか	70	-
アイクレオバランスミルク	-	-
ミルクアレルギー用		
和光堂ボンラクト	-	-
明治ミルフィーHP	-	-
森永MA・mi	-	-
森永ニューMA・1	-	-
ピーンスターク・ベプディエット	-	-
明治エレメンタルフォーミュラー	-	-
乳糖不耐症用		
明治ラクトレス	-	-
森永ノンラクト	-	-

(5)児が摂取した DHA 濃度と発育との関係

個別の授乳形態を考慮し、母乳中 DHA 濃度と粉乳の DHA 含有量から、対象児の摂取した DHA 濃度を推定した。その結果、DHA 濃度の中央値は 11.8mg/dL (25%~75%タイル値は 9.8~20.3mg/dL) となった。さらに、DHA 濃度を三分位に分けたところ、第 1 三分位の中央値は 7.9 mg/dL (25%~75%タイル値は 5.8~9.3mg/dL)、第 2 三分位は 11.5 mg/dL (10.7~13.7mg/dL)、第 3 三分位は 24.1 mg/dL (20.3~34.1mg/dL) であった。図 8 は、児が摂取した DHA 濃度の三分位別に児の発育 (体重増加量) をみた。その結果、3 群間の間に有意差はみられなかった (図 8)。今後、母乳の脂肪酸組成に影響を及ぼす可能性のある因子を共変量として、解析を詳細に行う必要があると考えている。

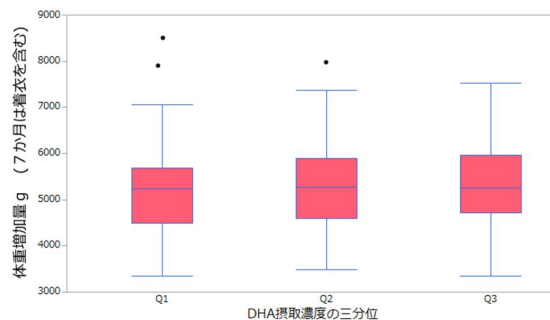


図 8 DHA 摂取濃度別三分位間の体重増加量

(6)臍帯血中トランス脂肪酸と出生体重

本研究では胎児発育に関連する要因として、母体血及び臍帯血漿のグリセロリン脂質中トランス脂肪酸について測定を行った。母体血・臍帯血中のトランス脂肪酸組成は少なく、胎児発育との関連性を検討できなかった。しかし、子宮内正常発育児においては、臍帯血中トランスパルミトレイン酸は、在胎週数に対して増加傾向を示した。トランスパルミトレイン酸は乳製品由来の可能性があり、子宮内の正常な児の発育に関する指標になるものと考えられた。今後、母乳中のトランス脂肪酸についても分析を実施して、乳児期の発育との関連性を検討する予定である。

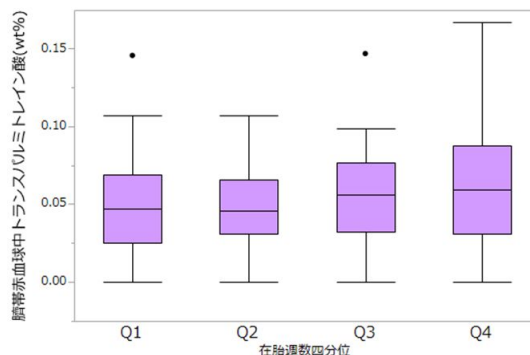


図 9 在胎日数四分位別の臍帯血中トランスパルミトレイン酸 (傾向性の検定; $p < 0.05$)

以上より、母乳中 DHA 組成は魚介類摂取量と正相関した。また、5 不飽和化酵素遺伝子型 C/C 群 (対象者の約 15%) では、T/T 群に対して母乳中 DHA 組成が有意に低値であった。従って、母乳中 DHA 組成は摂取と合成の両方の影響を受けることが示された。

授乳が進むにつれ混合栄養での保育割合が高まったが、ほとんどの乳児は DHA を含む人工乳を摂取していた。人工栄養の場合の DHA 組成も考慮し、出生から 7 か月までの児が摂取した DHA 濃度を推測し、その濃度別に児の発育を検討した。しかしながら、児の体重増加と児が摂取した DHA 濃度間に関連はみられなかった。今後、母乳の脂肪酸組成に影響を及ぼす可能性のある要因をさらに調査し、児の発育との関連について検討する予定である。

現在、このコホートについては、発達検査が並行して行われていることから、これらの結果も含めて、母乳を介した PUFA 摂取が児の成長と発達にどのように寄与しているか、今後さらに検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Kawabata T, Kagawa Y, Kimura F, Miyazawa T, Saito S, Arima T, Nakai K, Yaegashi N., Polyunsaturated Fatty Acid Levels in Maternal Erythrocytes of Japanese Women during Pregnancy and after Childbirth. 査読有、Nutrients 2017, 9(3), 245; doi:10.3390/nu9030245

Saito S, Kawabata T, Tatsuta N, Kimura F, Miyazawa T, Mizuno S, Nishigori H, Arima T, Kagawa Y, Yoshimasu K, Tsuno K, Ito Y, Kamijima M, Nakai K, Yaegashi N, Miyagi Study Group of Japan Environment & Children's Study., Determinants of polyunsaturated fatty acid concentrations in erythrocytes of pregnant Japanese women from a birth cohort study: study protocol and baseline findings of an adjunct study of the Japan environment & Children's study. 査読有、Environmental Health and Preventive Medicine 2017, 22, 22; doi: 10.1186/s12199-017-0636-5

〔学会発表〕(計 10 件)

川端輝江、香川靖雄、鈴木美記子、長田昌士、瀧田希、仲井邦彦、母乳の成分分析を通じた児の栄養摂取状況に関する考察 - エコチル調査の追加調査より - , 日本脂質栄養学会第 25 回大会, 2016.9.16 ~ 17 (秋田市)

仁田玲子、川端輝江、香川靖雄、中山一大、岩本禎彦、木村ふみ子、宮澤陽夫、仲井邦彦、鈴木朋恵、瀧田希、有馬隆博、八重樫伸生、母の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子多型と母体及

び臍帯血中赤血球脂肪酸組成との関係 - エコチル調査の追加調査における検討 - , 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 2016.5.13 ~ 15 (兵庫県)

川端輝江、香川靖雄、木村ふみ子、宮澤陽夫、仲井邦彦、有馬隆博、八重樫伸生、臍帯血と妊娠期間中及び出産後の母体血間との赤血球脂肪酸組成における関連, 日本脂質栄養学会第 24 回大会, 2015.8.28 ~ 29 (佐賀県)

Nakai K, Saitoh S, Kawabata T, Kimura F, Tatsuta N, Nakagawa K, Miyazawa, T, Arima T, Kagawa Y, Mizuno S, Nishigori H, Yaegashi. Polyunsaturated fatty acids profile of maternal erythrocytes and its determinants in Japanese pregnant women from an adjunct J ECS cohort. 12th Asian Congress of Nutrition, 2015.5.14 ~ 18 (Yokohama, Japan)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川端輝江 (KAWABATA, Terue)
女子栄養大学・栄養学部・教授
研究者番号: 8 0 1 9 0 9 3 2

(2) 研究分担者

仲井邦彦 (NAKAI, Kunihiko)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 0 0 2 9 1 3 3 6