

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：24201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26560063

研究課題名(和文) 出生前の胎児が置かれている栄養環境を評価するための「新規羊水検査」の有効性の検討

研究課題名(英文) Investigating the effectiveness of a new amniotic fluid test for evaluating the prenatal nutritional environment

研究代表者

佐野 光枝 (Sano, Mitsue)

滋賀県立大学・人間文化学部・助教

研究者番号：20524911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、妊娠中の母体の栄養状態が胎児の栄養環境にどの程度影響するのかを明らかにすることを目的としている。そして羊水に着目し、母体から胎児への栄養素の分配を解明する手掛かりとして(1)低炭水化物・高脂肪食飼料(KD)を与えた妊娠ラット及び(2)妊婦さんの血中、尿中(1のみ)及び羊水中のグルコース、ケトン体、遊離アミノ酸(2のみ)、トリプトファン(1のみ)、NAD、葉酸、ビタミンB12を測定した。妊婦さんには食事調査を行った。(1)ではKD飼料摂取によって母体と胎児のケトン体、母体のトリプトファンからナイアシンの転換率が増加した。(2)はまだ解析中であり、終了したい結論を出したいと考えている。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to reveal the extent to which the nutritional environment of the mother during pregnancy influences that of the fetus. Focusing on amniotic fluid, two experiments were performed to obtain insight into the effects of maternal nutritional status on nutrient transport to the fetus: Experiment (1), involving pregnant rats fed a low-carbohydrate, high-fat diet (KD), and Experiment (2), involving an analysis of nutrient-derived components in the blood, urine ((1) only) and amniotic fluid of pregnant women (rats). Sample concentrations of glucose, ketone bodies, free amino acids ((2) only), Tryptophan ((1) only), NAD, folic acid, and vitamin B12 were measured. Pregnant women were administered a food survey in addition. In Experiment (1), ketone body levels in mother and fetuses and conversion ratio of Tryptophan to Niacin in mothers rose in KD group. This finding demonstrated that maternal ketotic state affects the fetus. Experiment (2) is still under investigation.

研究分野：代謝栄養学

キーワード：羊水 胎児 母体栄養 DOHad

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究によって母親が摂取した栄養成分がそのまま受動輸送されるもの(ビタミン B₁₂)、能動輸送されるもの(グルコース)、積極的に輸送されないもの(ビタミン K)があることが明らかになっているが、調べられているのはごく一部の栄養成分のみである。近年胎児期の低栄養によって出生後の生活習慣病の発症リスクが高まるとの報告があり、妊娠期の栄養が胎児の生涯にわたる健康に重要であることが明らかになってきている。しかし胎児の栄養評価は、母体の栄養評価と胎児~出生時の体重、体長、目立った異常の有無で間接的に行われているのが現状である。

2. 研究の目的

本研究は母体~胎児間の栄養素の移行が母体の栄養状態の影響をどの程度受けるのかどうかを明らかにし、同時に胎児の栄養状態を評価する手法として「羊水の成分分析」が有効であるかどうかについてラットだけでなくヒトにおいても検討した。

3. 研究の方法

本研究はラットを用いた研究(研究)とヒトを対象とした研究(研究)の二つの実験を実施した。

研究

7週齢のWistar系雌ラットを交配し、妊娠初日から20日までの間、コントロール飼料(CTRL群)または低炭水化物・高脂肪飼料(KD群)を与えて飼育した。妊娠初日と18日~19日目は採尿を行った。その後妊娠20日目に安楽死の後解剖し、母体の血液、胎児の血液、羊水を採取した。また母ラットの体重、飼料摂取量、肝臓重量、胎児の体重も測定した。採取したサンプルは、グルコース、ケトン体、水溶性ビタミン(ビタミン B₁, B₂, B₆, B₁₂、葉酸、ナイアシン、ビオチン、パントテン酸)、トリプトファンを測定した。

サンプル測定方法: 血液中グルコースとケトン体濃度の測定は血糖値測定器プレジジョンエクシード H(アボットジャパン)で測定した。水溶性ビタミンは HPLC またはバイオアッセイ法により測定した。トリプトファンは HPLC 法で測定した。

研究

滋賀県彦根市内にある産婦人科クリニックにて、研究参加に同意の得られた周産期の健康かつ帝王切開で出産予定の妊婦さん(双子以上を妊娠している人は除く)39名を対象に以下のことを行った。帝王切開時に羊水と臍帯動脈血を採取。出産翌日の早朝に母親の採血。その後2~4日後に食事調査(簡易型自記式食事歴法質問票: BDHQ)にて出産前1か月の栄養摂取状況を調査した。採取したサンプルは、グルコース、ケトン体、遊離アミノ酸、葉酸、ビタミン B₁₂、NAD を測定した。サンプル測定方法: 血液中グルコースとケ

トン体濃度の測定は血糖値測定器プレジジョンエクシード H(アボットジャパン)で測定した。羊水中グルコースはポータブルグルコース計 GF-501(TANITA)で測定した。葉酸及びビタミン B₁₂ 濃度はバイオアッセイ法で測定した。NAD 濃度は酵素サイクリング法で測定した。遊離アミノ酸は全自動アミノ酸分析機を用いたニンヒドリンによるポストラム発色法で測定した。

4. 研究成果

研究 では、母体の体重、胎児の体重、肝臓重量に摂取飼料組成の違いによる影響は無かった。しかし総エネルギー摂取量は KD 群の方が多かった。サンプルの分析は母体の血液、胎児の血液、羊水中の各分析結果を飼料組成の違う2群間で比較した。グルコース濃度には2群間に差は認められなかったが、ケトン体は母仔共にKD群で高値を示し(図1)、糖新生が亢進していることが確認できた。水溶性ビタミンは、母体血中のビオチンと NAD 含量が KD 群で有意に高く、トリプトファンからナイアシンへの転換率(%)は KD 群で有意に高かった(図2)。その他のビタミンは両群間で差は認められなかった。

図1: 胎児の血中ケトン体濃度

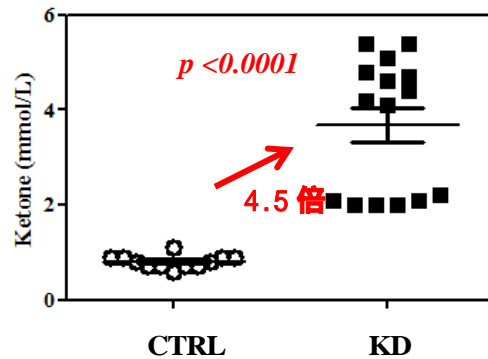
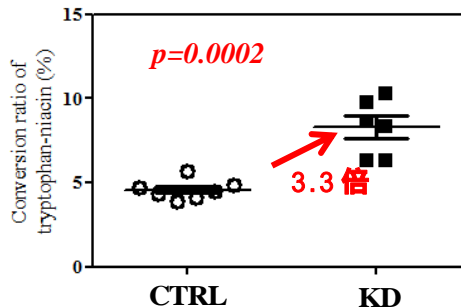


図2: 母体のトリプトファン ナイアシン転換率(%)



本研究結果から KD 群の母体でトリプトファンからナイアシンを合成する代謝経路が亢進し、ナイアシンから作られる NAD の合成が増加していることが明らかになった。糖新生に関わるパントテン酸は両群間で差が認められなかったが、ビオチンもカルボキシラーゼの補酵素として糖新生に関わるビタミン

ンであり、母体の血液でその含量が増加したことは、糖新生の亢進によって必要量が増加した結果であると考えている。

母体の糖新生亢進によって母体では血中ケトン体、ビオチン、NAD 濃度とトリプトファン ナイアシン転換率が増加することが明らかになった。しかし胎仔では血中のケトン体は増加するが、水溶性ビタミン濃度は影響を受けないことが明らかになった。また羊水が栄養状態を評価する鋭敏なサンプルになりうるかどうかはさらなる研究が必要である。

研究 では、39 人の妊婦さんのうち、食事調査、母親の血液、臍帯血、羊水のすべてのサンプルを採取できた 35 名を用いて解析を行った。食事調査の結果は摂取エネルギー 1000kcal あたりに計算した値で各栄養素摂取量を解析した。たんぱく質 15 ± 2.1 (%エネルギー)、脂質 27.7 ± 4.8 (%エネルギー)、炭水化物 57.3 ± 5.9 (%エネルギー) で食事摂取基準を満たしていた。その他栄養素も含め国内の複数の研究グループによって行われてきた妊婦さんを対象に調査・報告されている内容と同様の栄養摂取状況であり、本研究の対象者は一般的な食事をしている妊婦さんであることが示された。

対象者さんの基礎データは、年齢 32.4 ± 4.6 歳、身長 157.1 ± 6.4 cm、体重 63.0 ± 12.2 kg、BMI 25.5 ± 4.3 、出産時の妊娠週数 38.1 ± 0.6 週、赤ちゃんの出生体重 2967 ± 275 g、出産回数 2.2 ± 0.7 回であり、年齢や出産回数が高めであるが、これは帝王切開予定の妊婦さんを対象にリクルートしたため、1 回以上の帝王切開経験者がほとんど（全体の 83%）を占めたためである。

グルコース濃度は羊水中では極めて少なく (4.2 ± 5.9 mg/dL)、臍帯血 (63.6 ± 11.0 mg/dL) よりも母血 (104.9 ± 21.4 mg/dL) の濃度が高かった (図 3)。文献では母血の方が高いというデータも低いというデータも存在する。本研究では、臍帯血は麻酔下で帝王切開した直後、母血は翌朝採取しているため、麻酔と出産直後の母親からの血液の供給が断たれた直後のストレスの影響により低かったのではないかと考えている。ケトン体濃度は測定器が血液だけに対応していたため、羊水は測定していない。母血と臍帯血中の濃度は、母血が 0.1 ± 0.1 mmol/L、臍帯血が 0.6 ± 0.2 mmol/L で臍帯血の方が高かった (図 4)。グルコースの濃度と反対に、臍帯血中の濃度の方が母血よりも高かったことは、出産時にグルコース利用が低下羊水サンプル採取は 2 月末まで行っていたため、サンプルの分析は現時点ですべてが終了していない (未測定：葉酸、ビタミン B₁₂、NAD：6 名分)。未測定サンプルのある葉酸とビタミン B₁₂ と NAD については現在測定中であるため、結果や総合的な考察について本報告書で述べる事が出来ないが、後日論文にて発表することを予定

している。

図 3 羊水・臍帯血・母血のグルコース濃度

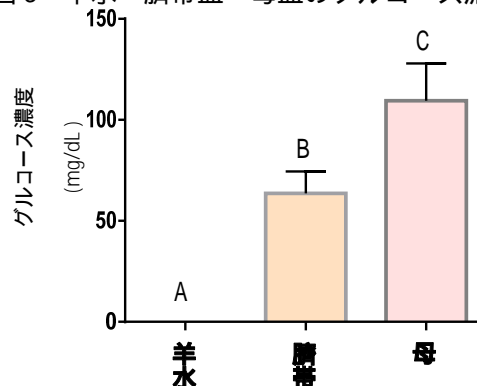
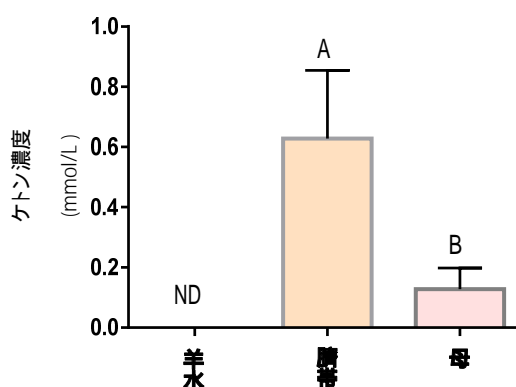


図 4 臍帯血・母血のケトン体濃度



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 2 件)

第 62 回日本栄養改善学会総会「高脂肪低炭水化物食摂取による糖新生亢進が妊娠母体とその胎児へ及ぼす栄養学的影響」
口頭発表 (平成 27 年 9 月)

第 6 回日本 DOHad 学会学術集会「妊娠中に低炭水化物高脂肪飼料を摂取したラット胎仔のトリプトファン・葉酸・ビタミン B₁₂ 栄養状態への影響」ポスター発表
(平成 29 年 8 月発表予定)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐野光枝 (SANO Mitsue)
滋賀県立大学・人間文化学部・助教
研究者番号：20524911

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()