

201018022A

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

**母子コホート研究による成育疾患等の
病態解明に関する研究**

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 加藤達夫

平成 23 (2011) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

母子コホート研究による成育疾患等の
病態解明に関する研究

平成 22 年度 総括・研究報告書

研究代表者 加藤達夫

平成 23 (2011) 年 3 月

目次

I 総括研究報告

- 母子コホート研究による成育疾患等の病態解明に関する研究 1
（独）国立成育医療研究センター総長・理事長 加藤達夫
〔資料〕 研究発表会プログラム

II 分担研究報告

1. 母子コホート研究における児の成長成熟予後・代謝栄養調査の確立に
関する研究 25
国立成育医療研究センター内分泌代謝科 堀川玲子
2. 神経芽腫スクリーニングの成果からみた本症の病態解明に関する研究 116
広島大学自然科学研究支援開発センター 檜山英三
3. 周産期異常の統計解析 135
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 田嶋 敦
4. 胎児炎症反応症候群の解析 137
大阪府立母子保健総合医療センター研究所 柳原 格
5. 周産期異常のコホート研究体制の確立 141
富山大学大学院医学薬学研究部産婦人科学 齊藤 滋
6. 周産期異常症例の大規模検体収集体制の確立 146
九州大学大学院生殖病態生理学 和氣徳夫
慶應義塾大学医学部産婦人科 田中 守
7. 新生児のエピゲノム多様性の解析 149
国立成育医療研究センター研究所周産期病態研究部 秦健一郎
8. SGA の免疫学的機序に基づく病型分類と、アレルギー疾患の発症に関わる
胎内因子の検索 151
国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部 松本健治

9.	マウス肝臓における遺伝子発現と DNA メチル化の網羅的解析 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野	154 小川佳宏
10.	睡眠・覚醒リズムおよびロコモーション、共同注意の獲得からみる 小児期の発達 国立成育医療研究センター神経内科	157 久保田雅也
11.	超低出生体重児における帝王切開術式および Rapid Tocolysis としてのニトログ リセリン投与効果についての後方視的検討 国立成育医療研究センター周産期診療部	159 渡邊典芳
12.	母子健康手帳を用いた妊娠とその後の女性の生活習慣病発症に関する研究 国立成育医療研究センター代謝内分泌内科	161 荒田尚子
13.	子どもの健康と発達に関連する養育者の心理社会的要因に関する研究 国立成育医療研究センター育児心理科	179 笠原麻里
14.	母子コホート研究における胎児・新生児期の因子と成長発達に関する研究 国立成育医療研究センター新生児科	181 伊藤裕司
15.	小児基本動作スケールの信頼性と妥当性に関する研究 国立成育医療研究センターリハビリテーション科	191 橋本圭司
16.	出生コホートにおける医療情報収集に関する検討 国立成育医療研究センター研究所成育疫学研究室	193 坂本なほ子
III	研究成果の刊行に関する一覧表	203
IV	研究成果の刊行物・別刷	219
V	平成 22 年度研究者名簿	313

母子コホート研究による成育疾患等の
病態解明に関する研究

平成 22 年度

I 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)

総括研究報告書

母子コホート研究による成育疾患等の病態解明に関する研究

研究代表者 加藤達夫 (独) 国立成育医療研究センター 総長・理事長

研究要旨 本研究は、母と子の両方を対象とした大規模コホート研究と基礎研究を併せて実施することによって、母子の心身両面の健康や関係性に影響を与える要因とそのメカニズムを明らかにし、以て成育医療に寄与することを目的とする。

我が国は、急激な少子化のなかで、女性の栄養障害、妊婦の高齢化、医療の進歩による合併症妊娠増加、生殖補助医療の発達等からハイリスク妊娠が増加し、早産・胎盤機能不全といった、胎内環境の悪化が原因となる低出生体重児(SGA児)が増加している。これらの低出生体重児は、成長発達障害や成人期における冠動脈疾患等のハイリスク群となりうる。また、妊娠を起点とした女性のリプロダクション・サイクルの環境整備は、女性の健康支援と次世代の健全育成とを効率よく行うために非常に重要である。今年度は、以下の総合的研究の基盤整備を行った。

1) 母子コホート研究・早産・SGA母児等に関するネステッド・ケースコントロール研究の基盤整備
妊婦を対象とした、妊娠期から(胎児期から)の母児の追跡調査(質問紙調査・身体測定・面接等)。

3) 妊婦とその母親の養育歴・生活習慣・疾病背景等に関する後方視的調査研究

妊婦とその母親の背景調査により胎生環境因子と児の予後の関連解析の研究計画書作成。

4) 環境(胎内・新生児期)によるDNAメチル化とエピゲノム因子に関する基礎研究の基盤整備

母子コホートに関連する研究として、併せて神経芽腫スクリーニングについて、6ヶ月スクリーニング休止後の動向の解析と18ヶ月スクリーニングの有効性の検証を行った。、新たな検査法としてタンデムマスを用いた予後不良例特異的診断法の確立、を行う。

分担研究者

堀川玲子 国立成育医療研究センター
久保田雅也 国立成育医療研究センター
渡辺典芳 国立成育医療研究センター
荒田尚子 国立成育医療研究センター
伊藤裕司 国立成育医療研究センター
笠原麻里 国立成育医療研究センター
橋本圭司 国立成育医療研究センター
松本健治 国立成育医療研究センター
坂本なほ子 国立成育医療研究センター
秦健一郎 国立成育医療研究センター
田中守 慶応大学
田嶋敦 東海大学
柳原格 大阪府立母子保健総合医療センター
斉藤滋 富山大学
和気徳夫 九州大学
小川佳宏 東京医科歯科大学
檜山英三 広島大学

A 研究目的

本研究は、母と子の両方を対象と両方を対象としたコホート研究により、児の成長成熟予後・代謝予後に関連する因子を胎生期から、また世代間の要素も含め明らかにすることである。

生活習慣病をはじめとする成人期慢性疾患の発症基盤が、受胎時から胎児期、出生後の環境と関連することが疫学研究や動物実験から推測されている(DOHaD; Developmental Origin of Health and Disease, Gluckmanら)。近年、本邦ではハイリスク・合併症を有する妊娠の増加がみられ、超低出生体重児の救命率も上昇している。このような背景をもった児は、成長障害・性成熟・代謝、神経運動発達やアレルギー疾患など、様々な異常を有する率が高い。さらに成人期疾患や次世代への影響も懸念される。また、母児間の愛着形成など、心理的要因も成長発達に影響を及ぼすとされている。これら、短期および長期の母児の転帰を明らかにすることは、小児の成長発達障害の成因解明、将来の胎児期から

の健全な成育環境の確立のためにも必須である。

また、妊娠を起点とした女性のリプロダクション・サイクルの環境と、その後の妊娠中から成人期・老年期の健康問題との関連性を明らかにすることは、女性の健康支援と次世代の健全育成とを効率よく行うために非常に重要である。

B 研究方法

1. 母子コホート研究

以下の4研究からなる総合的研究の基盤整備を行った。また、これに関連した先行研究を各分担研究者において継続して行った。

1) 母子コホート研究

妊婦を対象として、妊娠期から(胎児期から)の母児の追跡調査(質問紙調査・身体測定・面接等)を実施する基盤整備とリクルート開始。

2) 早産・SGA母児等に関するネステッド・ケースコントロール研究

コホート内で、早産・SGAやハイリスク妊娠等の母と児をケースとしたネステッド・ケースコントロール研究及びケースコホート研究を実施する基盤整備とリクルート開始。

3) 妊婦とその母親の養育歴・生活習慣・疾病背景等に関する後方視的調査研究

妊婦とその母親の背景調査により胎生環境因子と児の予後の関連解析を実施するため、研究計画書作成。

4) 環境(胎内・新生児期)によるDNAメチル化とエピゲノム因子に関する基礎研究

出生時のエピゲノム異常を解析する基盤を整備し、特異症例のエピゲノム異常検出を試みる。また、実験動物を用いてエピゲノム異常との関連性を解明。

【研究対象・目標症例数】

当センターで妊娠・分娩管理を行う妊婦(年間約1600例)のうち、同意を得た者(リクルート期間は平成22年度より3年間)を対象とする。対象にはハイリスク妊娠(基礎疾患、妊娠中薬剤曝露、生殖補助医療妊娠等)を含む。目標症例数は4000例とし、上記登録体制を、倫理委員会の承認を経て院内に確立する。登録開始後は以下に記す0~1歳の調査を開始、パイロット研究期間として1~2ヶ月間を考慮する。

【調査項目】

児の追跡調査・・・出生時、生後1, 3, 6, 9ヶ月、1, 2, 3歳時に実施。

成長代謝追跡調査【堀川・伊藤】:

身体所見、質問紙調査(栄養)、唾液中ステロイド・IGF-I、血中総蛋白、アルブミン、ヨード、25VD、葉酸、アミノ酸分析、脂質、アディポサイトカイン測定(臍帯血, 1, 3歳時)

神経生理学的調査【久保田】:

神経学的診察、睡眠覚醒リズムおよびその構造、locomotion・共同注意発達過程

運動・認知発達調査【橋本】:

運動機能評価:粗大運動能力、KIDS 乳幼児発達スケール、基本動作能力

認知機能評価:PCやタッチパネル機による評価

精神発達調査【笠原】:

親子関係および子どもの行動調査

親子関係の観察による子どものアタッチメント行動の評価(1, 2, 3歳時)

愛着チェックリスト(1, 2, 3歳時)

M-CHAT(自閉症)(2歳時)、CBCL(子どもの行動)(3歳時)、PARS(自閉症)(3歳時)

アレルギー調査【松本】

アレルギー疾患質問紙調査

アレルギー感作の有無(血中抗原特異的IgE抗体価測定)(1, 3歳時)

母の追跡調査【渡辺、荒田、笠原】

妊娠中の状態、エコーによる胎児臓器発育、妊娠結果、1, 3年後の計測と母・その母親の健康状態質問紙調査。抑うつや不安についてメンタルヘルス質問紙調査。

長期追跡調査【統括:加藤】

:登録例について、長期追跡調査体制の確立を図る。

児は3歳以降6歳まで1年ごと、その後は3年ごとに成人(20~21歳)まで、母は3年ごとの定期調査を設定。

2. 神経芽細胞腫スクリーニング検査

母子コホートに関連する研究として、併せて神経芽腫スクリーニングについて、6ヶ月スクリーニング休止後の動向の解析と18ヶ月スクリーニングの有効性の検証、新たな検査法としてタンデムマスをを用いた予後不良例特異的診断法の確立、を行った。

(倫理面への配慮)

本研究においては、すでに健康保険法上で承認されている医療行為や実施するすべてにおいて、保護

者に対するインフォームドコンセントを行い、同意を得て行うものとする。詳細な疫学統計上の個人情報取り扱いに関して、個々の症例の情報を集積する場合は「疫学研究に関する倫理指針」に準じて研究遂行する。

機関内倫理委員会にて審査を受け、承認を得た。遺伝情報解析については、倫理指針に則り機関内倫理委員会にて審査・承認を得た。新たな手術法、検査法を開発した場合は、その試用前にいずれも倫理委員会の審査を得る予定である。

C 研究結果

母子コホート研究 (分担研究者：堀川玲子)

成育母子コホート研究計画基盤整備を行った。

《研究対象者及び研究協力者》

独立行政法人国立成育医療研究センター（以下、「センター」）で出産する全ての妊婦、その妊婦（母親）が出産した子ども（ならびにその父親）のうち同意を得られた者を対象とする。

《研究期ごとの調査内容》

① 第Ⅰ期調査

時期：妊娠期～出産（児が生後1ヶ月になるまで（1ヶ月未満））

対象：妊婦（母親）及び父親

自記式質問紙調査、面接、医療情報の収集及び試料（血液、胎盤等）の収集を行う。質問紙調査では、既往歴、運動・睡眠、食事、喫煙・飲酒歴、食生活、家族歴、分娩歴などについて調べ、面接では精神症状などについて調べる。

② 第Ⅱ期（子どもが生後1ヶ月から6歳に達する（6歳時の健診）まで）

対象：子ども及び母親並びに父親

質問紙調査（子ども及び母親並びに父親）、身体測定（子ども及び母親）、血液検体収集（子ども及び母親）、心理検査（母親）、面接（母親及び父親）を行う。質問紙調査では罹患や予防接種歴等について調べ、面接では親子関係や夫婦関係などについて調べる。

《進捗状況》

- 1) 倫理委員会 研究計画承認 (2010年8月)
- 2) パンフレット作成・HP作成
- 3) リクルートブース設置
- 4) リクルート開始 (2010年12月1日)

睡眠・覚醒リズムおよびロコモーション、共同注意

の獲得からみる小児期の発達

(分担研究者：久保田雅也)

ヒトの乳児は、生後1ヶ月は、短い覚醒と睡眠が交互に出現するウルトラディアンリズム（超日リズム）を示す。生後1ヶ月頃から、覚醒している時間帯と睡眠の時間帯が分かれるようになるが、まだ25時間サイクルで、フリー・ランニングを呈する。このリズムが昼夜の周期に同調するのは生後2ヶ月からであり、その後生後4ヶ月にかけて、24時間のサーカディアンリズムが形成される（第1エポック）。この時期は予定が可能になり、atoniaがREM期に局限する時期でもあり、抗重力筋を制御する脳幹アミン系、特にセロトニン系が活性化される。昼間の睡眠は、生後8ヶ月頃から午前、午後各1回、また、1歳6ヶ月頃からは午後1回となり、この時期ははいはいから二足歩行へと発達する時期である（第2エポック）。4-5歳で生理的昼間睡眠は消失し、直立二足歩行となる（第3エポック）。それぞれのエポックの睡眠・覚醒リズムの異常が特定の神経疾患の発生（自閉症、レット症候群、トゥレット症候群）と対応する（瀬川）。このように睡眠構造とlocomotionの発達は密接に関連する。

（視覚的）共同注意とは他者の視線をモニターしながら、同一の事物に視線を向けあう現象をいう。これは自己と他者の区別や「こころ」の共有をはかる活動の原初的形態とされる。視線追従や後方の指さし理解が9-10か月で可能であることから1才以下で既に共同注意の基礎は出来上がっている。

以上のような背景のもと、1,3,6,9か月、1,2,6才の睡眠・覚醒リズムの調査およびはいはいから歩行への運動発達過程を対比させ、それぞれのエポックでの完成度を解析する。また9か月、1,3,6才で神経学的診察を行う。特に9か月、1才では母子関係、ものへの反応、視線共有など共同注意の獲得を解析する場面を設定する。睡眠・覚醒リズム、運動発達、「こころ」の発達の動的関係を前方視的に解析する試みはこれまでにないものである。

母子コホート研究 (分担研究者 渡辺典芳)

本年度は後方視的検討として、「妊娠中に自己血貯血を行った母児転帰の検討」のテーマで検討を行い、2011年日本輸血学会ワークショップで発表予定である。検討はまれな血液型のため緊急輸血時の血液確保が困難な症例、分娩時に多量出血が予測される症例を対象とし、314症例322出生児に対し806

貯血で行った。今回の検討では、妊娠中の自己血貯血は母児に有意な副作用なく施行できることが確認され、出血多量となる前置胎盤症例においても自己血のみで管理された症例が多く有用性も示唆された、という結論を得た。今後母子コホートの開始とともに、妊娠・分娩管理において行われた介入が長期的に母児にどのような影響があるか確認していくことができると期待される。

また、妊娠中検査として行われている不規則抗体検査と出生児黄疸・貧血所見との関連性の検討を行うための研究計画の策定を行い、倫理審査まで終了している。

この2点の目的としては、前者は妊娠中に行われた介入における母児転帰の追跡、後者は妊娠中にルーティンで行われる検査と母児転帰の関連の追跡のモデルとして行った。今後母子コホート研究の開始とともに、妊娠中に行われるさまざまな検査・治療の転帰の検討も同様の方法で行うことができると確認できたと考えられる。

「母子健康手帳を用いた妊娠とその後の女性の生活習慣病発症に関する研究」研究計画書作成

(分担研究者 荒田尚子)

妊娠は女性にとっては人生の負荷試験の時期と考えられており、妊娠中に妊娠高血圧症候群や子癇前症、妊娠糖尿病、早産、胎盤機能不全を合併すると将来女性自身が高血圧、糖尿病を合併しやすく、しいては心血管疾患を引き起こしやすいことが海外では明らかにされつつある。一方、我が国では、これらを合併した女性の多くが産後放置され、加齢に伴い高血圧症、糖尿病、脂質代謝異常症を発症し、さらには心疾患や脳血管障害に発展していることが日常診療で経験されているが、実態は明らかにされていない。妊娠を起点とした女性のリプロダクション・サイクルの環境と、その後の妊娠中から成人期・老年期の健康問題との関連性を明らかにすることは、女性の健康支援と次世代の健全育成を効率よく行うために非常に重要と考えられる。そこで、当センターで妊娠・分娩管理される、または管理された妊婦の母親を対象に、妊婦出生時の母子健康手帳のデータと現在の健康状態に関する問診調査を用いて、妊娠中の血圧や糖代謝、蛋白尿、分娩週数、出生時児の体格、授乳状況、体重変化などの妊娠時に明らかとなった生活習慣病の指標と約20～45年後の女性の長期健康予後との関連を明らかにする。

同時に、妊娠高血圧症候群や子癇前症、妊娠糖尿病、早産、胎盤機能不全の母娘の世代間での関連性も明らかにする。

母子コホート研究における胎児・新生児期の因子と成長発達に関する研究 (分担研究者 伊藤裕司)

SGA児の病態に関しては、母児の遺伝的背景に加え、胎児・新生児期の栄養状態に絡む因子が、その後の児の発育・発達に関与しているとされる。今回の本SGAコホート研究に於いて、これらの関連性を検討することが目的であるが、本年度のコホート開始前に当センターに於けるSGA児について後方視的に検討を行い、このコホートでの電子診療録からのデータ収集方法、およびデータの解析方法について検討した。更に、出生体重が1500gの極低出生体重児に関して、SGA/AGAの児の成長(体重)に関して検討した。

[方法]開院以来、現在3歳に達している極低出生体重児(2007年12月1日以前に出生した児)を、新生児科データベースより抽出し、AGA、SGAの分類を行い、その2010年11月31日現在で電子診療録か確認できる発育データについて、可能な限り転記操作せずに、電子媒体を用いてデータ収集を行った。

[結果]2003年から2007年12月31日までに当センターで出生した児は、12,837例あり、うち、出生体重1500g未満の極低出生体重児は、415例であった。うち、AGA254例、SGA161例であった。今回は、在胎28週出生の極低出生体重児41例(AGA26例、SGA16例)について、体重がCatch upできていない児は、AGA児では3例(12%)、SAG児では4例(25%)であった。体重のCatch upができていない児は全て、修正在胎週数40週での体重が、-3SD未満(2000g未満)のEUGRであった。

[考察]まだ、解析が終了していないが、体重のみの発育に関しては、修正在胎週数40週での体重が2000g未満(-3SD未満)の児は、その後のcatch upが不良となるリスクが高いと思われた。また、当センターの電子診療録システムを使用しての成長に関するデータ収集は比較的容易に可能であることがわかった。

ABMS-C 及び GMFCS の評価

(分担研究者 橋本圭司)

2010年3月から6月の4か月間の入院患者45名(男児29名、女児16名。年齢1カ月～8歳8か月)

を対象に初診時、2週間時に Ability for Basic Movement Scale for Children (ABMS-C) 及び GMFCS の評価を行った。結果、R 値 = -0.628 ~ -0.784 (P 値 < 0.001) で GMFCS スコアと ABMS-C は高い相関関係を示し、ABMS-C の各5項目は Cronbach α 値 = 0.944 と極めて高い内的整合性を認め、再検査法においても k 値 = 0.865 - 1.00 とほぼ完ぺきな信頼性を認めた。この結果から ABMS-C の信頼性と妥当性が明らかとなった。

SGA の免疫学的機序に基づく病型分類と、アレルギー疾患の発症に関わる胎内因子の検索

(分担研究者 松本健治)

研究目的:

small-for-gestational-age (SGA) には明らかな基礎疾患や栄養障害などに起因する症例と、原因不明な症例が存在する。近年、原因不明の SGA の一部に、胎盤に対する母胎の免疫学的な反応の異常が原因と考えられる症例が存在する事が報告され注目されている。本研究では SGA 症例の胎盤の病理学的及び免疫学的検索を行い、実際にどの程度の頻度でどのような変化が生じているのかを検討する。また、アレルギー疾患の発症は遺伝的要因と環境要因が複雑に相互作用して制御されていると考えられているが、乳幼児期早期に発症するアレルギー疾患児の子宮内環境や子宮内感作に関しては不明な点が多く残されている。

本研究では①SGA の発症要因としての免疫学的異常の関与の検討

②子宮内環境が子宮内感作や乳幼児期早期のアレルギー疾患発症に与える永年について検討する。

方法:

①SGA 症例および正常産の胎盤の病理学的解析、特に免疫学的抑制機構に関与する分子群の発現状況

(免疫組織染色、mRNA 発現解析) を比較検討し、SGA 症例における免疫異常の有無について件とする
②妊娠中の各種要因、特に食事やつわり、不正出血などの因子と臍帯血の好酸球数、児のアレルギー疾患の発症の相関について疫学的に検討する

結果: 研究計画が完成した

長期コホート研究における疫学調査の継続性と情報提供の在り方についての検討

(分担研究者 坂本なほ子)

プロスペクティブなコホート研究から質の高いエビデンスを得るために不可欠なことの一つは、追跡率の維持である。当然のことながら、研究が長期に渡るほど維持は困難であり、対象者の年齢層や属性によっては非常に困難となる。法的強制力のないコホート研究の場合、ニュースレターの送付やコールセンターの設置による努力が重ねられてきた。近年、米国では WEB による双方向コミュニケーションが成果を上げているという。そこで、今回、ソーシャルメディアの利用可能性について情報収集した。

ソーシャルメディアは、電子掲示板や、ブログ、ウィキ、ポッドキャスト、ソーシャルブックマーク、アマゾンなどの通販サイトのカスタマーレビューなど多彩な形態を取る。保健・医療活動に利用できるソーシャルメディアを分類すると、保護・援護に **Micro-blogging**、予防に **Mobile application**、促進に **User generated content** が有効と考えられる。米国の市場調査では、2009 年には MySpace が最も使用されていたが、2010 年には断然 Facebook が使用されるようになっていた。米国の保健・医療関係者では、この Facebook の利用が注目されているようである。

ソーシャルメディアは、メディアなのではなく、ソーシャル(一つの社会である)ともいわれており、本研究班においても「社会」を形成できれば追跡率維持に貢献できるのではないと思われる。

新生児のエピゲノム多様性の解析

(分担研究者 秦健一郎)

周産期異常のコホート研究体制の確立

(分担研究者 齋藤滋)

周産期異常症例の大規模検体収集体制の確立

(分担研究者 和氣徳夫)

(分担研究者 田中守)

周産期異常の統計解析

(分担研究者 田嶋敦)

胎児炎症反応症候群の解析

(分担研究者 柳原格)

子宮内胎児発育不全などの周産期疾患は、多くの症例で原因が同定できない。本分担研究は、多数の周産期異常症例を収集し、分子生物学・分子遺伝学的観点から得られたデータを統計学的に解釈し、新たな予防・診断法の開発に資する研究を目指す。班会議では、以下の様な各研究の進捗状況および具

体例を報告する。

周産期異常のコホート研究およびケースコントロール研究を並行して進め、症例の収集と解析を進めている。研究計画の立案には、田嶋が統計的な観点から必要症例数の推定、スクリーニング手法等について厳密な検討を行った。コホート研究では、従来から炎症性マーカーと早産との関連研究に先鞭をつけていた齋藤らが中心となり、現在計 15 施設と共同で、炎症性マーカー計測・血液と胎盤の採取を行っている。一方、和氣と田中らは、コホート研究から漏れる母体搬送例等を収集する為に、ケースコントロール研究体制の構築を進めている。柳原らは、胎盤の病理組織学的解析を含め、新たな病態概念の提唱につながる研究を行っている。秦は、これらの分担研究者らの収集した症例を用い、分子遺伝学的な解析を進める。特に、胎児発育不全症例のエピゲノム異常の解析を先行して行っており、実際にエピゲノム異常症例を同定している

離乳前後における脂肪合成遺伝子のエピジェネティクス制御 (分担研究者 小川佳宏)

本研究では、離乳前後において雄性 C57BL6 マウスの肝臓における脂肪合成遺伝子の DNA メチル化の変化を検討した。離乳前後において肝脂肪合成の律速酵素であるグリセロール 3 リン酸アシル基転移酵素 (GPAT) 遺伝子発現の増加とプロモーター領域における DNA メチル化の程度は逆相関していた。DNA メチル化の変化は GPAT 遺伝子プロモーターに特異的であり、他の脂肪合成遺伝子には認められなかった。培養細胞を用いた検討により、DNA メチル化により GPAT 遺伝子プロモーター転写活性が抑制されることが明らかになった。以上より、離乳前後において GPAT 遺伝子発現は DNA メチル化によるエピジェネティクス制御を受けることが示唆された。

神経芽腫スクリーニングの成果からみた本症の病態解明に関する研究 (分担研究者 檜山英三)

本邦で 1984 年から 2003 年に施行された生後 6 月児の神経芽細胞腫検査事業を再評価するために休止後のコホート (n = 334 万) および国際神経芽腫リスクグループデータ (約 11,000 例) と比較検討した結果、本事業は予後不良な神経芽腫を早期発見していた。休止後に生後 18 ヶ月で検査を施行してきた大阪、京都、札幌のデータは、124, 102 例中 20

例発見され、明らかな過剰診断例はなく、全例生存であった。新規中マーカー探索として、血清の LC-MS 探索で得られた予後不良腫瘍特異的蛋白 MH は、不良例での感度 96%、特異度は 100% で、尿中マーカー候補についても 4 個に絞った。以上から、18 ヶ月での検査は過剰診断が少なく、新規マーカーの導入でより効果的な予後不良例の早期発見につながると考えられた。

D 考察

我が国は、急激な少子化のなかで、女性の栄養障害、妊婦の高齢化、医療の進歩による合併症妊娠増加、生殖補助医療の発達等からハイリスク妊娠が増加し、早産・胎盤機能不全といった、胎内環境の悪化が原因となる低出生体重児 (SGA 児) が増加している。これらの低出生体重児は、成長発達障害や成人期における冠動脈疾患等のハイリスク群となることから、胎内環境改善対策の社会的緊急性は高い。

本邦では胎児期からの児の予後について、包括的に大規模に追跡していったコホート研究はない。コホート研究では検体やアウトカムの評価が均質であることや高い追跡率が求められる。本コホート研究は、単一施設での各分野の専門医と基礎研究者が連携をとった、質が高くきめ細かい総合的研究である。基礎研究では、胎盤・臍帯血を用いたエピゲノム・ゲノム解析、動物実験によるエピジェネティクス制御の解析を行い、大規模コホートとの連携により、短期的成果が期待できるだけでなく長期にわたるコホート体制の構築と高度な科学性に基づいた成果が期待でき、成育医療への貢献度は極めて高いと言える。

E 結論

大規模母子コホート研究のための基盤を確立した。基礎研究の基盤整備、先行研究に引き続いた研究の進展も見られ、連携が確立した。本研究により、小児生活習慣病や成長・成熟の異常 (低身長症や思春期早発など) の、疾患形成メカニズムの解明が進むことが期待される。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

別紙

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

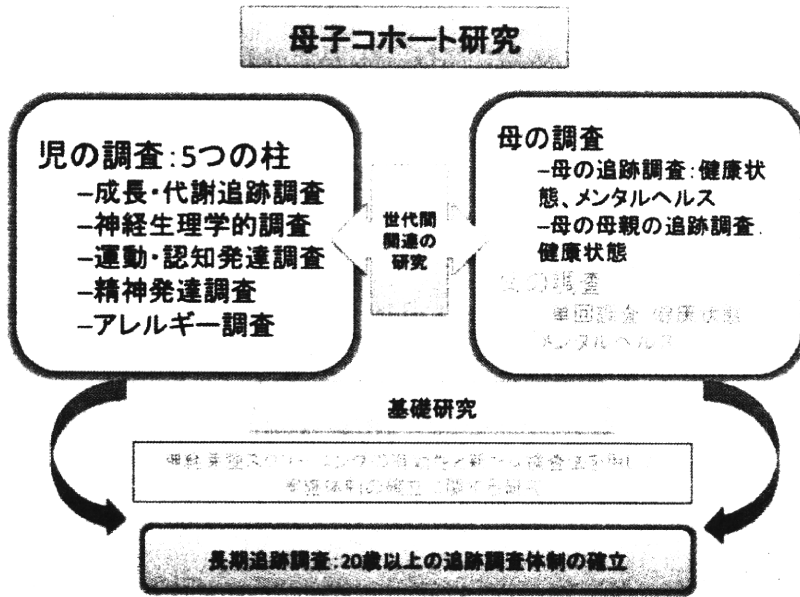
2. 実用新案登録

なし。

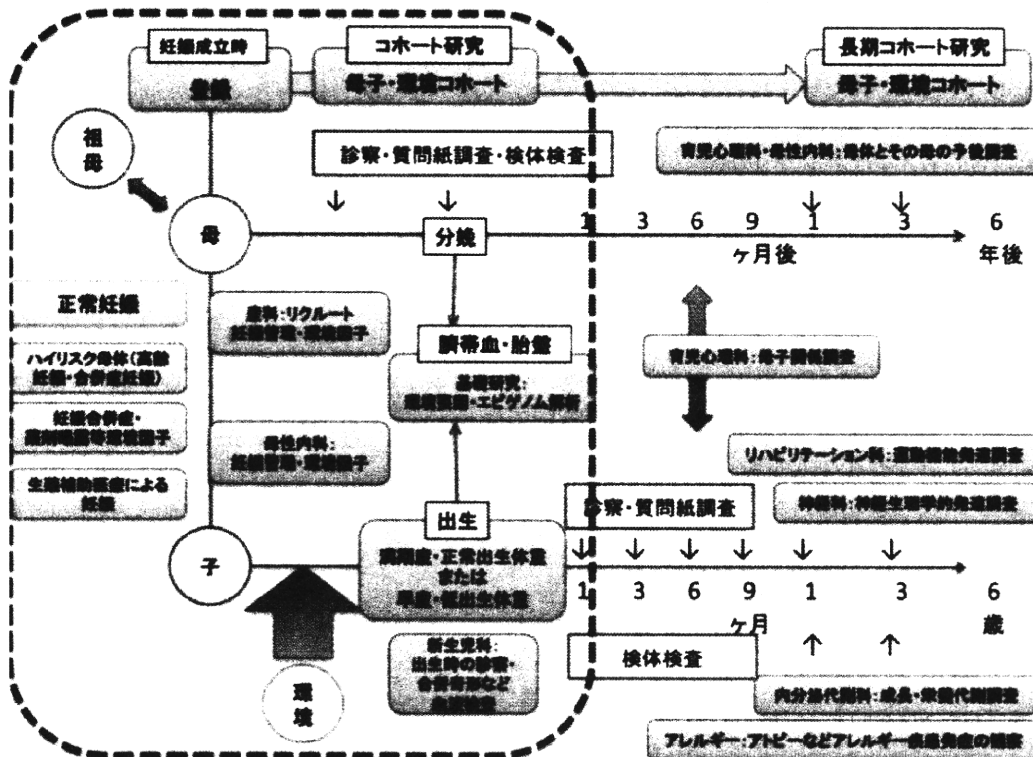
3. その他

なし。

母子コホート研究概要



母子コホートの全体像



氏名	研究課題	著書・誌上発表・学会発表名	発表西暦年次 (年月)	巻・号・頁
高山 直秀 外川 玲子 三輪 操子 伊藤 隆一 高橋 菜穂子 細部 千晴 松永 貞一 森 麗子 齊加 志津子 一戸 真人 加藤 達夫	中学1年生への麻疹・風疹混合(MR)ワクチン追加接種の 効果と安全性 —2008年度の調査結果—	小児科臨床 別刷	2010.6	Vol.63 No.6 1135~1141
山口 晃史 久野 道 坂谷 まどか 渡邊 典芳 久保 隆彦 加藤 達夫 村島 温子	妊娠中のインフルエンザワクチン接種の 安全性	感染症学雑誌	2010.7	第84巻 第4号 449~453
加藤 達夫 山口 晃史 菅原 美絵 石井 由美子 栗山 猛 中村 秀文 齋藤 昭彦	新型インフルエンザワクチン10mlバイアル使用時におけ る死腔の少ない新しいシリンジの有用性	日本医師会雑誌	2010.12	第139巻 第9号 1904~1906
齋藤 昭彦 田村 忍 永井 章 土田 尚 佐古 まゆみ 前川 貴伸 矢作 尚久 Ping Li David W Vaughn Francois Roman 加藤 達夫	小児を対象としたAS03アジュバント添加パンデミックイン フルエンザ(H1N1)2009ワクチンの臨床評価(速報)	日本小児科学会	in press	
中島 夏樹 勝田 友博 鶴岡 純一郎 中村 幸嗣 立山 悟志 徳竹 忠臣 加藤 達夫	全国の保育園における水痘発生の実態と職員の水痘およ び水痘ワクチンに対する意識	小児保健研究	2011.1	第70巻 第1号 14~19
中村 幸嗣 宮地 悠輔 鶴岡 純一郎 勝田 友博 立山 悟志 徳竹 忠臣 中島 夏樹 五島 敏郎 大楠 清文 加藤 達夫	遺伝子解析によって診断された <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i> による髄膜炎・脳膿瘍の1新生児例	小児感染免疫	2011.2	第22巻 第4号 357~361
Nachide TAKAYAMA Hiroshi SAKIYAMA Tatsuo KATO Satoshi UMEMOTO	Cumulative Vaccination Coverage of the Second Dose of Measles-Rubella Vaccine in Preschool Children: Results of the 2008 Nationwide Survey in Japan	JMAJ	2010.4	Vol.53 No.2 101~105
Y.Nakamura K.Kamachi H.Toyoizumi-Ajisaka N.Otsuka R.Saito J.Tsuruoka T.Katsuta N.Nakajima K.Okada T.Kato Y.Arakawa	Marked difference between adults and children in <i>Bordetella pertussis</i> DNA load in nasopharyngeal swabs	Clinical Microbiology and Infection	in press	
加藤 達夫	ナースのための小児感染症 予防と対策 4章 予防接種の基礎知識	中山書店	2010.7	152~154
勝田 友博 加藤 達夫	猩紅熱	家庭医学大全科 六訂版 (法研)	2010.10	2484~2485
加藤 達夫	予防接種	母子保健マニュアル 改訂7版 (南山堂)	2010.12	169~176
加藤 達夫	よぼうせつしめのはなし	社団法人 細菌製剤協会	2010.9	1~21
TATSUO KATO	Vaccination 2010	Association of Biological Manufacturers of Japan	2010.9	1~21
加藤 達夫 岡田 賢司	インフルエンザ 予防接種ガイドライン 2010年度版	財団法人 予防接種リサーチセンター	2010	2~13
加藤 達夫	予防接種ガイドライン 2010年度版	財団法人 予防接種リサーチセンター	2010	1~85
加藤 達夫	予防接種と子どもの健康	財団法人 予防接種リサーチセンター	2010	2~31
加藤 達夫	予防接種用薬	今日の治療薬 2011 (南江堂)	2011.2	139~154
加藤 達夫	ワクチン 1.予防接種について 2.ポリオワクチン 3.DPT3種混合ワクチン —ジフテリア(D)・百日せき(P)・破傷風(T)— 4.麻しん風しん(MR)混合ワクチン 5.おたふくかぜワクチン 6.水痘ワクチン 7.日本脳炎ワクチン 8.インフルエンザHAワクチン 9.肝炎ワクチン 10.肺炎球菌ワクチン(小児用) 11.インフルエンザ菌(b型)ワクチン 12.BCG(結核に対する予防接種)	メディックブック第1部 患者さんによくわかる薬の説明 2011年版	2011.1	861~875
加藤 達夫	成人の麻疹予防接種	ドクターサロン	2010.5	第54巻 第5号 27~31

厚生労働省成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

**母子コホート研究による成育疾患等の
病態解明に関する研究**

平成 22 年度 研究発表会

平成 22 年 12 月 6 日（月） 13：30～17：00

場所：国立成育医療研究センター 1階 会議室 12
東京都世田谷区大蔵 2-10-1

研究代表者 加藤達夫

（独立行政法人国立成育医療研究センター理事長）

母子コホート研究による成育疾患等の病態解明に関する研究
(課題番号 H22-次世代—一般-008)

研究発表会プログラム

13時30分～ 開会の辞

主任研究者 加藤達夫

研究者紹介

13時40分～ 基礎研究

- 1 SGAの免疫学的機序に基づく病型分類と、アレルギー疾患の発症に関わる胎内因子の検索
国立成育医療研究センター研究所 免疫アレルギー研究部 松本健治
- 2 新生児のエピゲノム多様性の解析
国立成育医療センター研究所 周産期病態研究部 秦健一郎
- 3 周産期異常のコホート研究体制の確立
富山大学医学部 産婦人科 齋藤滋
- 4 周産期異常症例の大規模検体収集体制の確立
九州大学医学部 産婦人科 和氣徳夫
慶應義塾大学医学部 産婦人科 田中守
- 5 周産期異常の統計解析
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 田嶋敦
- 6 胎児炎症反応症候群の解析
府立母子保健総合医療センター研究所 柳原格
- 7 離乳前後における脂肪合成遺伝子のエピジェネティクス制御
¹東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野
²東京医科歯科大学グローバルCOEプログラム 小川佳宏^{1,2}

14時30分～ 神経芽細胞腫マスキリーニング

神経芽腫スクリーニングの成果からみた本症の病態解明に関する研究

広島大学自然科学研究支援開発センター／広島大学病院小児外科 檜山英三

14時45分～14時55分 休憩

14 時 55 分～ 成育母子コホート研究

- 1 成育母子コホート研究計画 ① 総合的進捗状況 ② 成長成熟と代謝に関する仮説
内科系専門診療部内分泌代謝科 堀川玲子
- 2 **Validity and Reliability of Ability for Basic Movement Scale for Children (ABMS -C) in Disabled Pediatric Patients**
外科系専門診療部リハビリテーション科 橋本圭司
- 3 「母子健康手帳を用いた妊娠とその後の女性の生活習慣病発症に関する研究」研究計画書作成
母性医療診療部代謝内分泌内科 荒田尚子
- 4 母子コホート研究における胎児・新生児期の因子と成長発達に関する研究 S
周産期診療部新生児科 伊藤裕司
- 5 母子コホート研究 初年度のまとめ
周産期診療部産科 渡辺 典芳
- 6 成育母子コホート研究 中間報告
研究所 成育社会医学研究部成育疫学研究室 坂本なほこ
- 7 睡眠・覚醒リズムおよびロコモーション、共同注意の獲得からみる小児期の発達
内科系専門診療部神経内科 久保田雅也
- 8
こころの診療部育児心理科 笠原麻里

16 時 50 分～ 事務連絡

閉会の辞

主任研究者 加藤達夫

SGA の免疫学的機序に基づく病型分類と、アレルギー疾患の発症に関わる胎内因子の検索

国立成育医療研究センター 研究所 免疫アレルギー研究部 室長 松本健治

A. 研究目的

small-for-gestational-age (SGA)には明らかな基礎疾患や栄養障害などに起因する症例と、原因不明な症例が存在する。近年、原因不明のSGAの一部に、胎盤に対する母胎の免疫学的な反応の異常が原因と考えられる症例が存在する事が報告され注目されている。本研究ではSGA症例の胎盤の病理学的及び免疫学的検索を行い、実際にどの程度の頻度でどのような変化が生じているのかを検討する

また、アレルギー疾患の発症は遺伝的要因と環境要因が複雑に相互作用して制御されていると考えられているが、乳幼児期早期に発症するアレルギー疾患児の子宮内環境や子宮内感作に関しては不明な点が多く残されている。

本研究では①SGAの発症要因としての免疫学的異常の関与の検討

②子宮内環境が子宮内感作や乳幼児期早期のアレルギー疾患発症に与える永享について検討する。

B. 方法

①SGA症例および正常産の胎盤の病理学的解析、特に免疫学的抑制機構に関与する分子群の発現状況（免疫組織染色、mRNA発現解析）を比較検討し、SGA症例における免疫異常の有無について件とする

②妊娠中の各種要因、特に食事やつわり、不正出血などの因子と臍帯血の好酸球数、児のアレルギー疾患の発症の相関について疫学的に検討する

C. 結果

研究計画が完成した

新生児のエピゲノム多様性の解析

国立成育医療センター研究所 周産期病態研究部 秦健一郎

周産期異常のコホート研究体制の確立

富山大学医学部 産婦人科 教授 齋藤滋

周産期異常症例の大規模検体収集体制の確立

九州大学医学部 産婦人科 教授 和氣徳夫

慶應義塾大学医学部 産婦人科 講師 田中守

周産期異常の統計解析

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 准教授 田嶋敦

胎児炎症反応症候群の解析

府立母子保健総合医療センター研究所 部長 柳原格

要旨

子宮内胎児発育不全などの周産期疾患は、多くの症例で原因が同定できない。本分担研究は、多数の周産期異常症例を収集し、分子生物学・分子遺伝学的観点から得られたデータを統計学的に解釈し、新たな予防・診断法の開発に資する研究を目指す。班会議では、以下の様な各研究の進捗状況および具体例を報告する。

周産期異常のコホート研究およびケースコントロール研究を並行して進め、症例の収集と解析を進めている。研究計画の立案には、田嶋が統計的な観点から必要症例数の推定、スクリーニング手法等について厳密な検討を行った。コホート研究では、従来から炎症性マーカーと早産との関連研究に先鞭をつけていた齋藤らが中心となり、現在計15施設と共同で、炎症性マーカー計測・血液と胎盤の採取を行っている。一方、和氣と田中らは、コホート研究から漏れる母体搬送例等を収集する為に、ケースコントロール研究体制の構築を進めている。柳原らは、胎盤の病理組織学的解析を含め、新たな病態概念の提唱につながる研究を行っている。秦は、これらの分担研究者らの収集した症例を用い、分子遺伝学的な解析を進める。特に、胎児発育不全症例のエピゲノム異常の解析を先行して行っており、実際にエピゲノム異常症例を同定している。

離乳前後における脂肪合成遺伝子のエピジェネティクス制御

¹東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野

²東京医科歯科大学グローバル COE プログラム

小川佳宏^{1,2}

胎生期あるいは個体の成長が著しい新生児期は全身臓器の可塑性が高い時期であり、この時期の栄養環境の変化がエピゲノムに記憶され（メタボリックメモリー）、成人期に発症する生活習慣病に対する疾患感受性が決定されると考えられている。我々は既に、子宮内胎仔発育遅延マウスを用いて、新生仔期のレプチンサージの早期化が成獣期の肥満・インスリン抵抗性の発症に関連することを報告してきた（*Cell Metabolism* 1:371-378, 2005）。一方、生活習慣病の発症には塩基配列の変化を伴う遺伝素因のみならず栄養環境を含む環境因子が関与することが知られており、遺伝素因と環境因子の相互作用の分子基盤の一つとしてエピジェネティクスによる遺伝子発現制御が指摘されている。しかしながら、栄養環境によりエピジェネティクス制御を受ける標的遺伝子は同定されていない。本研究では、バイサルファイト法により、離乳前後において雄性 C57BL6 マウスの肝臓における脂肪合成遺伝子の DNA メチル化の変化を検討した。離乳前後において肝脂肪合成の律速酵素であるグリセロール 3 リン酸アシル基転移酵素（GPAT）遺伝子発現の増加とともにプロモーター領域における DNA メチル化の程度が減少しており、遺伝子発現とプロモーター領域における DNA メチル化の程度は逆相関していた。DNA メチル化の変化は GPAT 遺伝子プロモーターに特異的であり、他の脂肪合成遺伝子には認められなかった。培養細胞を用いた検討により、DNA メチル化により GPAT 遺伝子プロモーター転写活性が抑制されることが明らかになった。以上より、離乳前後において GPAT 遺伝子発現は DNA メチル化によるエピジェネティクス制御を受けることが示唆された。

神経芽腫スクリーニングの成果からみた本症の病態解明に関する研究

広島大学自然科学研究支援開発センター／広島大学病院小児外科 檜山英三

【目的】わが国で1984年頃から全国的に展開された尿中VMA, HVAをマーカーとする生後6ヶ月児を対象とした神経芽細胞腫検査事業（以下、神経芽スク）は過剰診療が指摘され平成15年度から休止したが、その後の後向き研究の結果（*Lancet*, 2008）から死亡率の低下が明らかになった。そこで、神経芽腫の発生形態と有効かつ適切な早期発見法について以下の方法で検討した。

【方法】

1. 生後6ヶ月児神経芽スクの再評価：休止後の2003-2005年出生（ $n = 334$ 万）および国際神経芽腫リスクグループ（INRG）データ（約11,000例）と比較検討。
2. 生後18カ月での神経芽スクの検討
3. 新規血中、尿中マーカーの検討：神経芽スクの特異的マーカーのLC-MS探索

【結果】

1. 神経芽スク施行群の生後72ヶ月まで累積罹患率とそれらの累積死亡率は、29.80, 2.83となり、乳児の罹患率の有意な上昇（ $P < 0.0001$ ）と24-72ヶ月の病期4の罹患率が有意に低下して（ $P < 0.0001$ ）累積死亡率も有意に低下し1/2以下となった（ $P < 0.0001$ ）。乳児例で予後不良例の早期発見例は判別できず、INRG、休止後例との比較から、2才以上のMYCN増幅例の有意な低下が示された。
2. 大阪、京都、札幌でのデータを集計すると、18カ月受診124,102例中20例発見：6,205人に1例の発見率で、明らかな過剰診断症例がなく、全例生存であった。
3. 血清の予後不良例に特異的なMH2について予後不良例の感度96%、特異度は100%であり、尿中マーカーについて候補分子を4個に絞り、その解析を継続している。

【総括】6ヶ月施行神経芽スク前後の2500万以上のコホート解析で、神経芽腫の発症形式とその経過への大きな知見を得た。罹患率（2500例に1例）が2倍以上に上昇したが、死亡率は半減していた。故に、乳児例は相当数が退縮・分化する一方、その中から悪性度を増して進行する腫瘍が存在することが示された。18か月神経芽スクは前者の腫瘍の発見は少なく、また、新規マーカーを用いることによる効果的な神経芽マス確立に向けてさらに検討を継続する。