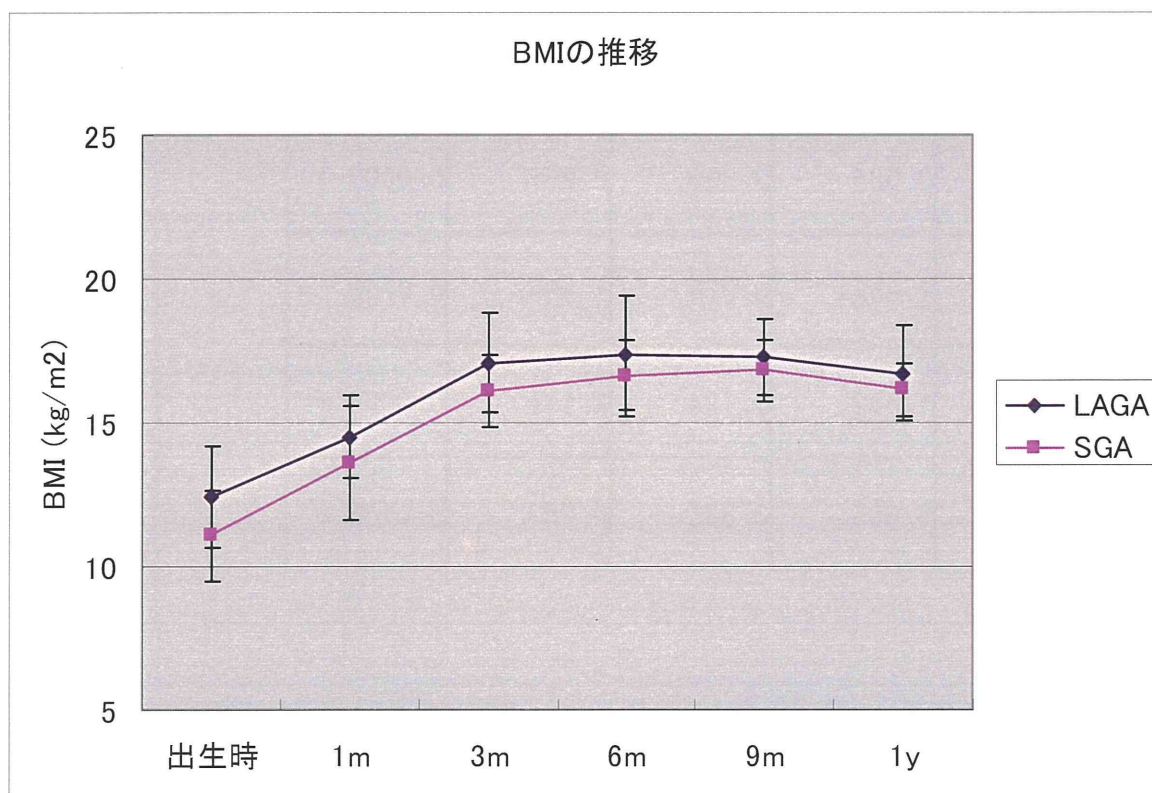
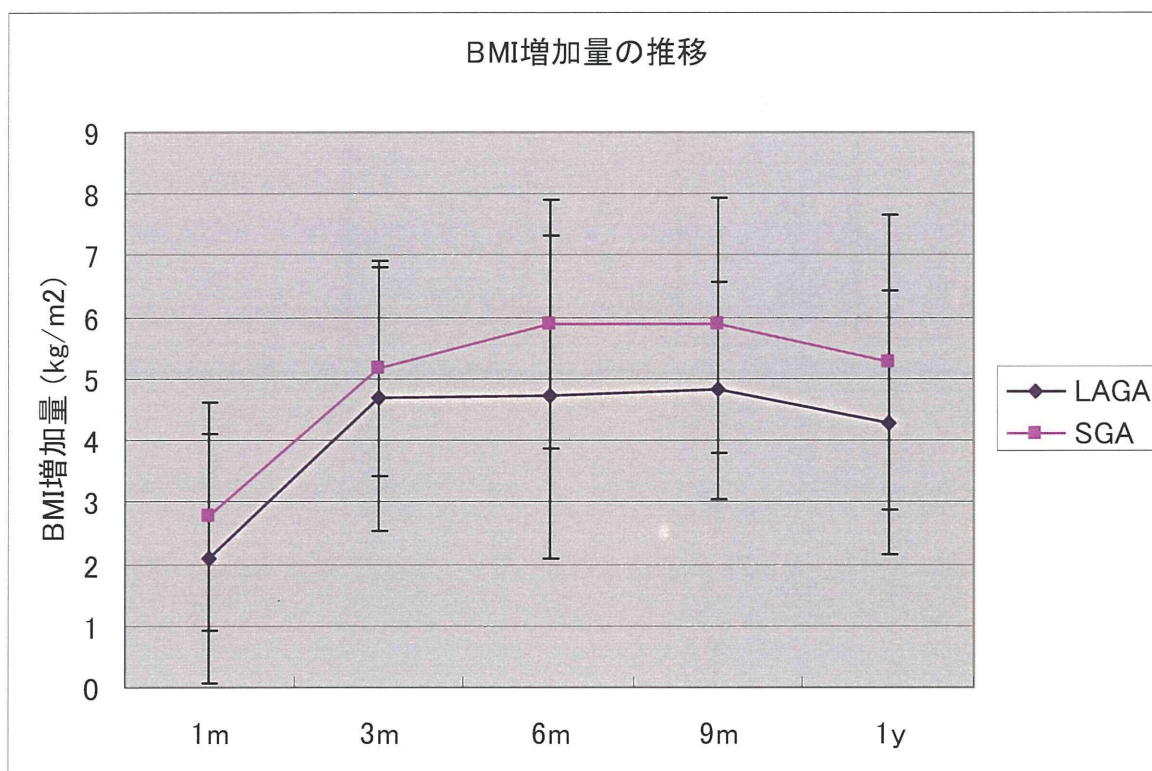


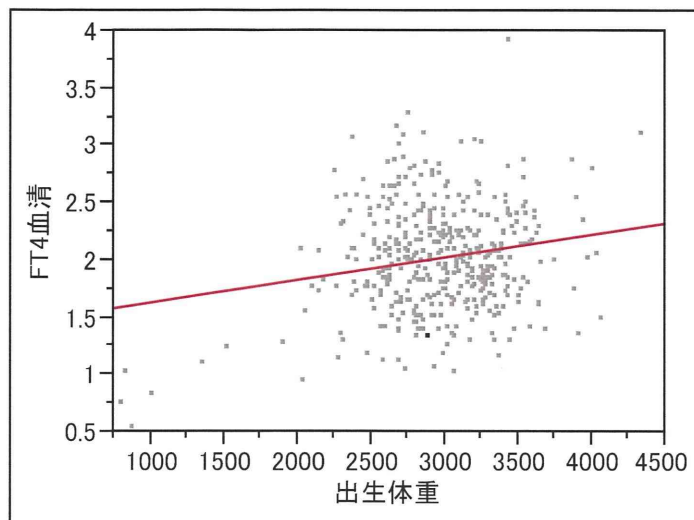
(図 5) 生後 1 歳までの BMI の推移



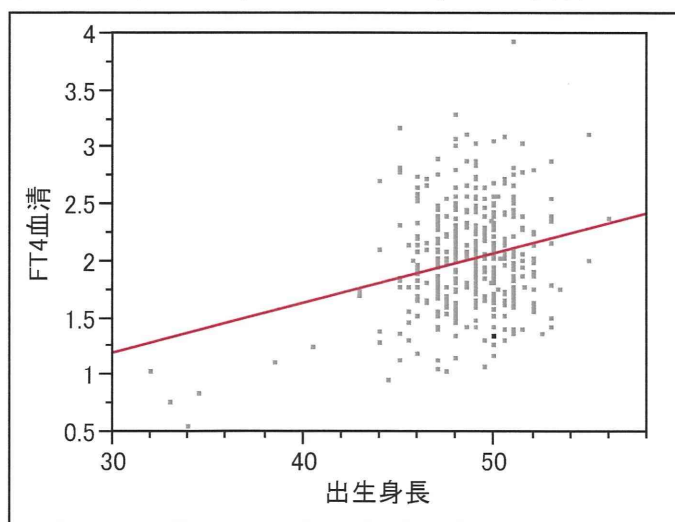
(図 6) 生後 1 歳までの BMI 増加量



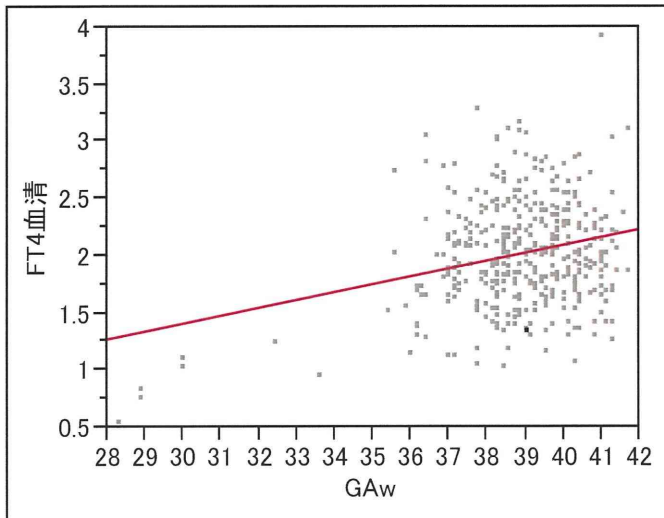
(図 7) 出生体重と free T4 値との関係



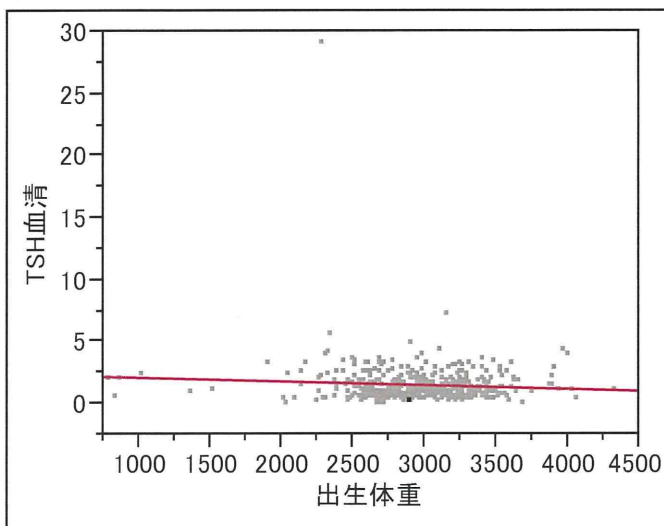
(図 8) 出生時身長と free T4 値との関係



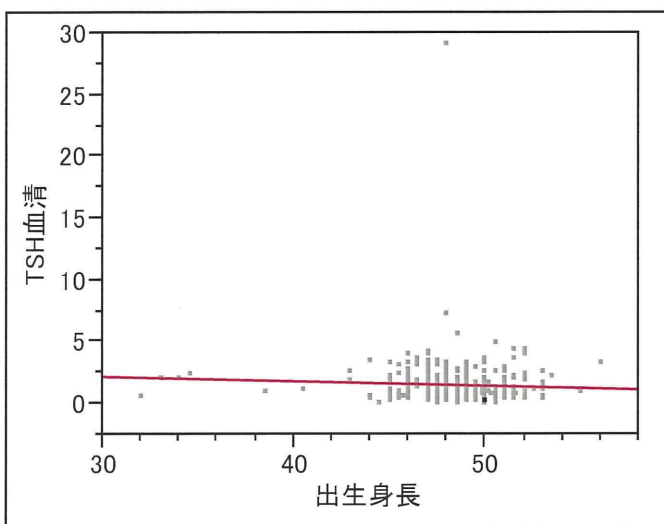
(図 9) 在胎週数と free T4 値との関係



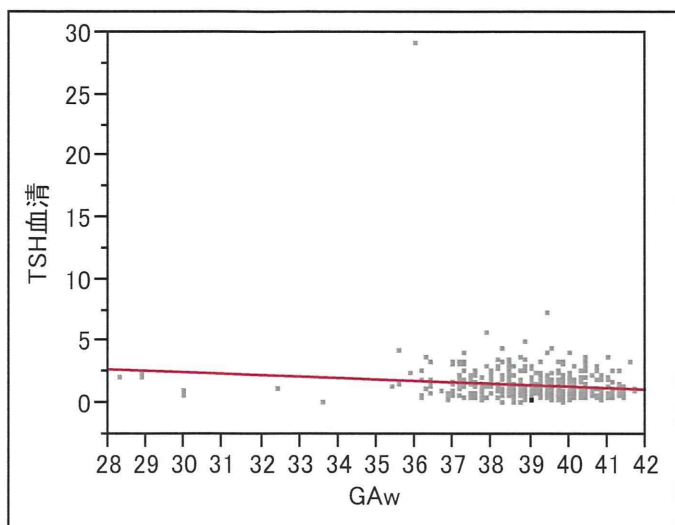
(図 10) 出生体重と TSH 値との関係



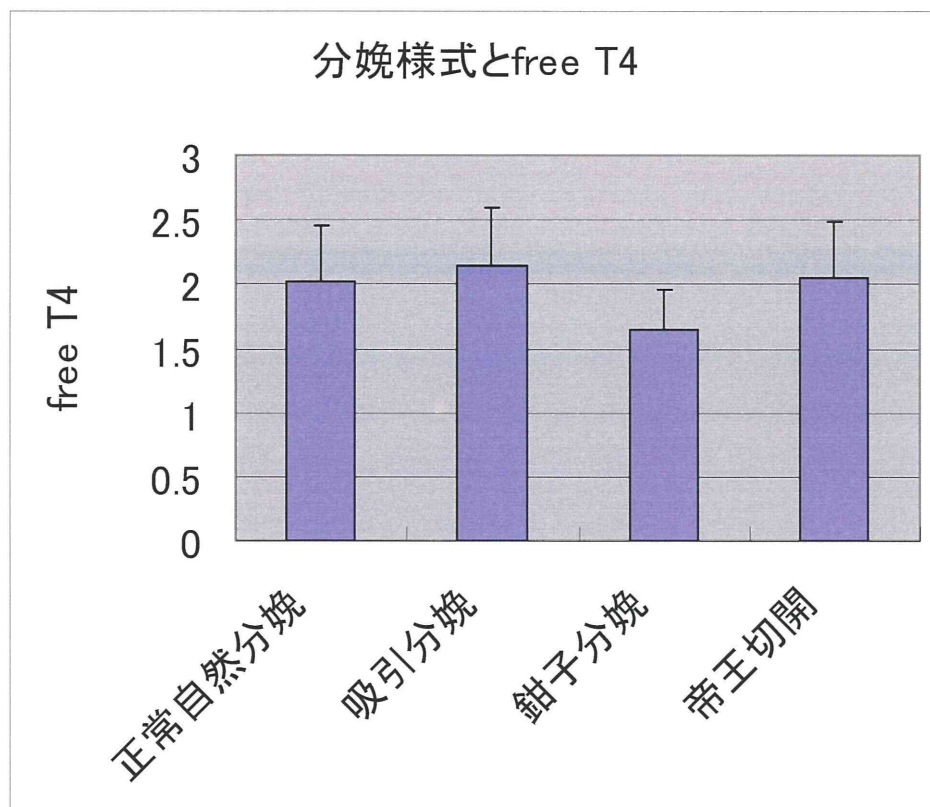
(図 11) 出生時身長と TSH 値との関係



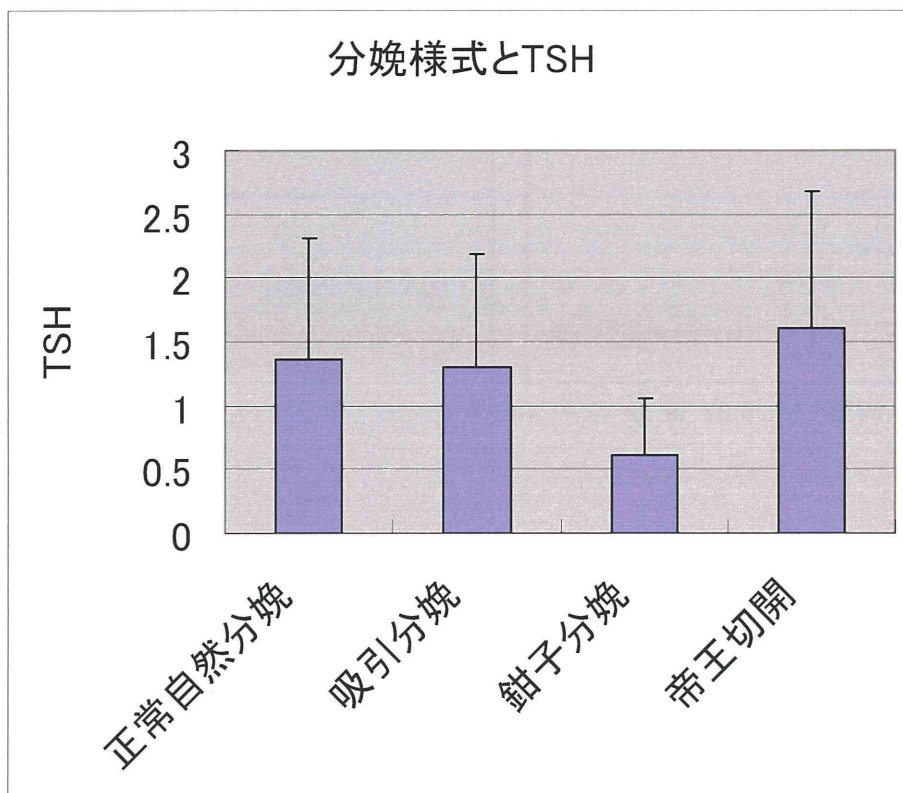
(図 12) 在胎週数と TSH 値との関係



(図 13) 分娩様式と free T4 値



(図 14) 分娩様式と TSH 値



研究課題：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

分担研究報告書

乳児の発達を睡眠一覚醒リズム、ロコモーション、視覚的共同注意からみる
久保田雅也（国立成育医療研究センター神経内科 医長）

研究要旨

出生後1年の発達に関わる神経機構を解明するため睡眠覚醒リズム、ロコモーション、視覚的共同注意の獲得の観察を行った。生後9-12か月で24時間睡眠周期が強化され、はいはいは9-12か月ではほぼ全例が完成し、交互凝視は9,12か月ともに全例通過、後方指さし理解は9か月で約半数、12か月ではほぼ全例が通過した。ロコモーションの発達による運動の自由度増加、昼間の覚醒時間の増加が身体の遠隔への空間的拡張をもたらし視覚的共同注意も遠隔化（三項関係）がなされ発達していくと考えられた。これらはヒトの知性の基礎である「遠隔対象性の獲得」を示し、発達における認知と身体性の関連の重要性を示唆している。

分担研究者

久保田雅也（国立成育医療研究センター神経内科 医長）

A. 研究目的

睡眠覚醒リズム、ロコモーション、視覚的共同注意の獲得の観察から出生後1年の発達に関わる神経機構を解明する。

B. 研究方法

1. 睡眠覚醒リズムの調査（生後1, 3, 6, 9, 12か月の各10日間）、2. ロコモーション（はいはい）観察を中心とした神経学的診察（生後9, 12か月）、3. 視覚的共同注意課題（交互凝視、後方指さし理解）観察（生後9, 12か月）を行った。対象はA/AC:妊娠合併症、生殖補助医療、その他による低出生体重児24名、B:コントロール各23名。

C. 研究結果

生後1か月ではpolyphasicな断続睡眠、3か月で睡眠が夜間にシフトする傾向、6か月以降で夜間睡眠が連続性を有し9-12か月で24時間周期が強化された。（図3）

夜間睡眠割合は月齢毎に増加しているが24時間の総睡眠時間は減少傾向にありそれは午睡の減少のためである。（表1）

はいはいは2足歩行の基礎をなすほぼ無意識の四肢協調運動である。足背を床に着けたはいはいはヒトのみが行うとされる。（図1）またこのロコモーション制御系と睡眠制御系は重複し連動している。（図1）本研究でははいはいは9か月では約半数が未完成だが12か月ではほぼ全例が完成した。交互凝視は他者とモノを交互に見つめる3項関係の端緒である。後方指さし理解は他者の指さす方向をみる視空間、興味の拡大であり他者の意図を推し量る基礎となりJoint attention → shared attention →

theory of mind と発達して行く (図 2)。本研究では交互凝視は 9,12 か月ともに全例通過、後方指さし理解は 9 か月で約半数、12 か月ではほぼ全例が通過した。上記いずれも 2 群に有意差なし。睡眠覚醒リズム、ロコモーションの基礎としてのはいはい、視覚的共同注意 (後方指さしの理解) がいずれも生後 9-12 か月に完成する。

D. 考察

近親との愛着形成 (二項関係) に加えて 9 か月からは姿勢維持やロコモーションの発達による運動の自由度増加、昼間の覚醒時間の増加が身体の遠隔への空間的拡張をもたらした。視覚的共同注意も遠隔化 (三項関係) がなされ発達していくと考えられた。これらはヒトの知性の基礎である「遠隔対象性の獲得」を示している。それぞれの神経系の発達 (脳幹歩行—REM 期制御系や前頭前野) は重複し、認知と身体性は未分化で相互に関連していると考えられる。

E. 結論

生後 9-12 か月で 24 時間睡眠周期が強化され、はいはいは 9-12 か月ではほぼ全例が完成し、交互凝視は 9,12 か月ともに全例通過、後方指さし理解は 12 か月ではほぼ全例が通過した。これらはヒトの知性の基礎である「遠隔対象性の獲得」の初源を示し、発達にお

ける認知と身体性の関連の重要性を示唆している。

文献

- (1) 瀬川昌也 睡眠のメカニズム 小児内科 2008;40:14-17

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
発表予定
2. 学会発表
発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

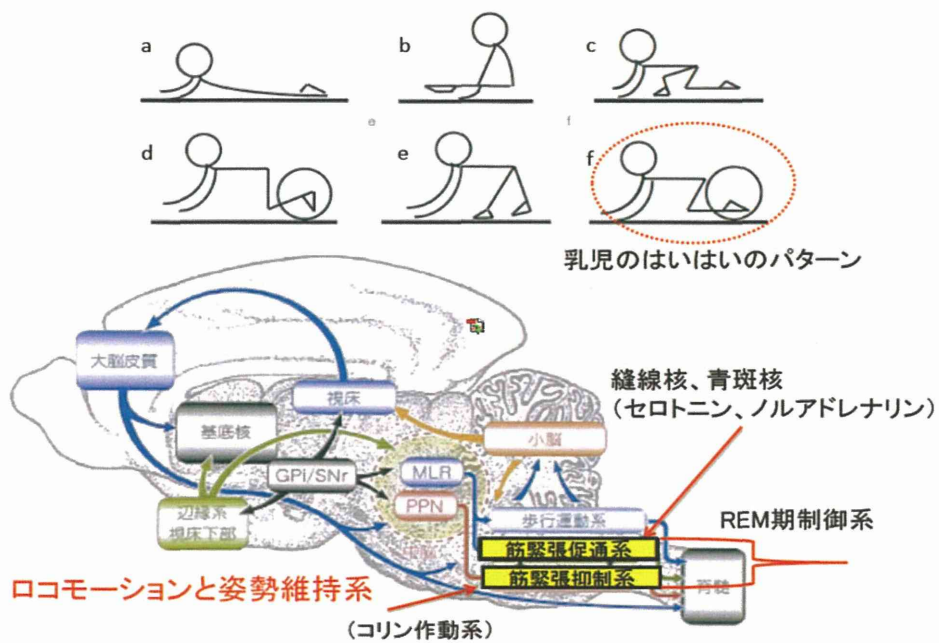


図1 ヒトの乳児期のはいはいのパターン（瀬川）とロコモーションおよび姿勢維持系

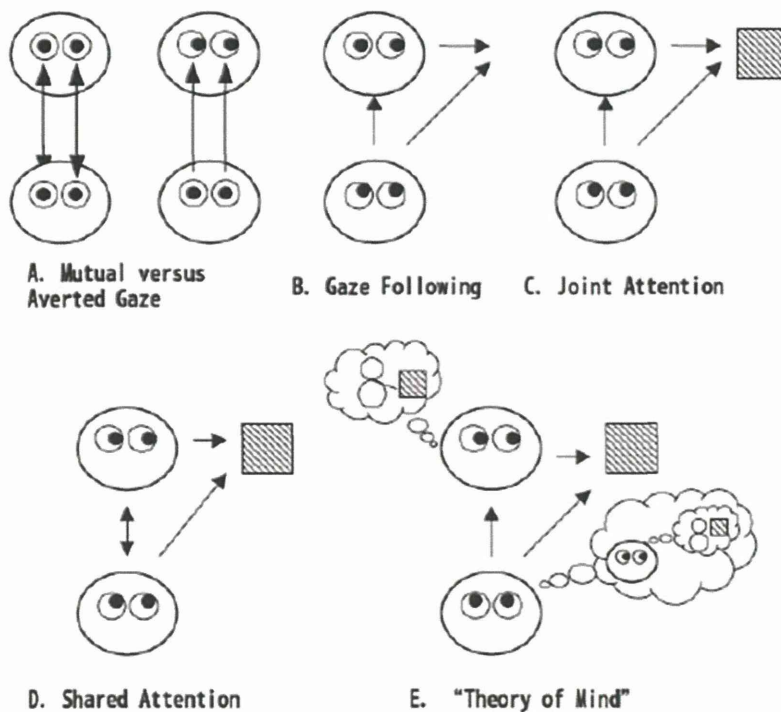


図2 視覚的共同注意の発達 (Emery, N. (2000).)

月齢による睡眠時間の変化 (B群とA/AC群での比較)

Age	Total sleep time		Day sleep		Night sleep		Night sleep/Total sleep(%)	
	B	A/AC	B	A/AC	B	A/AC	B	A/AC
1Mo	14.3±3.1	14.3±2.3	6.5±1.9	6.5±1.5	7.8±1.7	7.8±1.1	55.3±6.6	54.9±5.4
3Mo	15.0±2.6	15.0±3.1	6.0±2.1	6.2±2.0	9.0±1.4	8.8±1.5	60.7±8.3	59.3±6.3
6Mo	14.1±2.4	14.4±2.3	4.8±1.8	5.1±1.1	9.3±1.2	9.2±1.3	67.0±7.9	64.7±3.8
9Mo	13.7±1.6	13.7±1.6	4.3±1.2	4.1±1.2	9.4±1.0	9.6±0.8	68.9±6.1	70.5±6.4
12Mo	13.5±1.0	13.6±1.3	4.2±0.9	4.0±0.9	9.2±0.8	9.5±0.9	68.7±5.6	70.5±5.1

いずれも有意差なし

表1 B群とA/AC群での睡眠時間の変化

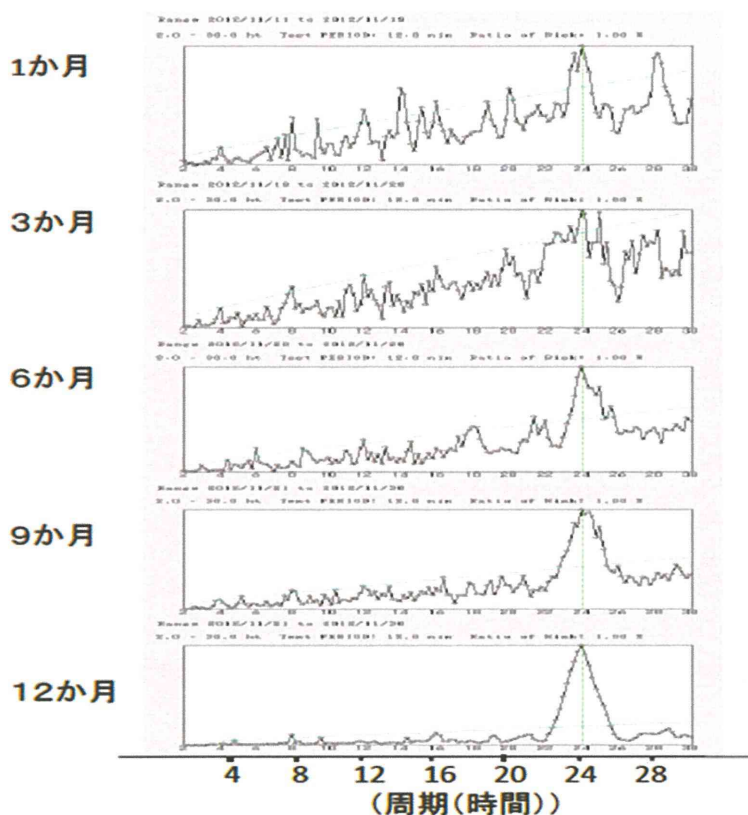


図3 代表的なB群での月齢別の睡眠周期の変化

分担研究報告書

分担研究課題

SGA 児出生要因としての「臍帯付着」の検討-

研究分担者 坂本なほ子 国立成育医療研究センター研究所 成育疫学研究室長

研究要旨

2010 年 12 月よりリクルートが開始された母子コホートの参加者について、2012 年 10 月 31 日時点までに登録された参加者の情報を分析し、SGA 児出生要因としての「臍帯付着」を検討した。ロジスティック回帰分析の結果、統計学的には「臍帯付着」は要因ではなかった。サンプルサイズの小さいことが原因の可能性もあり、本研究を予備研究として十分なサンプルサイズを確保し、再検討する必要があるだろう。

研究協力者

邱冬梅（国立成育医療研究センター 社会医学研究部）

芹澤加奈（国立成育医療研究センター 社会医学研究部）

下記 4 つのデータを集計した。

- ・ 参加者台帳
- ・ 電子カルテ情報
- ・ アトム（分娩時）情報
- ・ 助産録情報

A. 研究目的

本研究班で計画している出生コホート研究では、妊娠・分娩管理を国立成育医療研究センターで行う妊婦を妊娠初期にリクルートし、妊娠中期以降の情報を継続して収集する。児出産のために入院した際に、児についてのコホート参加の同意を取得した参加者には、児の情報も最短 6 歳時点まで継続して収集する。2010 年 12 月よりリクルートされた母子コホートの参加者について、2012 年 10 月 31 日時点までに登録された参加者の情報を分析し、SGA 児出生要因としての「臍帯付着」を検討する。

参加者台帳より、A 群（SGA 児）158 名、B 群（コントロール）464 名を抽出し解析対象とした。使用した変数は、妊娠期体重増加量、非妊娠時 BMI、喫煙、予定帝王切開、緊急帝王切開、GDM、PIH、在胎週数 37 週未満、性別、胎盤重量、臍帯付着である。これらについて、ロジスティック回帰分析を行った。

C. 研究結果

1. 基本統計量

連続変数である妊娠期体重増加量、非妊娠時 BMI、胎盤重量の基本統計量を表 1 にまとめた。

B. 研究方法

表 1 妊娠期体重増加量、非妊娠時 BMI、胎盤重量の基本統計量

	SGA 群 n=156		コントロール群 n=456	
	平均	SD	平均	SD
増加量(kg)	9.0	4.2	10.0	3.4
BMI	19.8	2.5	20.2	2.6
胎盤重量(g)	603	270	545	110

カテゴリカル変数の基本集計を表2にまとめた。

表2 各変数の基本集計

	SGA 群 n=158		コントロール群 n=464	
	n	%	n	%
喫煙	157	100	464	100
なし	151	96.2	464	100
あり	6	3.8	0	0
予定帝王切開	158	100	464	100
なし	108	68.4	396	85.3
あり	50	31.6	68	14.7
緊急帝王切開	158	100	464	100
なし	110	69.6	433	93.3
あり	48	30.4	31	6.7
GDM	158	100	464	100
なし	150	94.9	451	97.2
あり	8	5.1	13	2.8
PIH	158	100	464	100
なし	141	89.2	461	99.4
あり	17	10.8	3	0.6
在胎週数	158	100	464	100
37 週未満	86	54.4	0	0
37 週以上	72	45.6	464	100
性別	156	100	463	100
男児	73	46.8	248	53.6

女児	83	53.2	215	46.4
臍帯付着	157	100	457	100
中 / 側	124	79.0	420	91.9
辺縁 / 卵膜	33	21.0	37	8.1

2. ロジスティック回帰分析結果

表3に全変数を投入したFull Modelの結果とステップワイズ変数増加法での結果をまとめた。有意差がみられる変数は両モデルにおいて同じであり、それぞれのオッズ比は、妊娠期体重増加量 1.11 (95%CI 1.02-1.20)、非妊娠時 BMI 1.23 (95%CI 1.08-1.39)、予定帝王切開 0.30 (95%CI 0.17-0.55)、PIH 0.03 (95%CI 0.00-0.18) であった。在胎週数に関しては、コントロール群の37週未満セルが0のためこのような結果になっている。

D. 考察

本研究の目的である「臍帯付着」に関してはロジスティック回帰分析を行うと影響が消え、統計学的にはSGA 児出生要因ではなかった。サンプルサイズの小さいことが原因の可能性もあり、本研究を予備研究として十分なサンプルサイズを確保し、再検討する必要があるだろう。

参考文献

- ・ 三谷穰, 他: 妊娠高血圧症候群と IUGR. 産婦人科治療 94: 1056-1062: 2007
- ・ 中山雅弘: 目で見ると胎盤病理: 医学書院: 19-33: 2002
- ・ 末原則幸: 出生体重に関連する胎児側要因 胎児環境と出生体重. 周産期医学 33: 742-744: 2003
- ・ 首里英治, 他: 分娩時または産褥期に発

症した妊娠高血圧症候群 (PIH) の患者背景と周産期予後の後方視的検討. 日本妊娠高血圧学会雑誌 19 : 3-6 : 2012

- Muhammad T et al. Maternal factors associated with intrauterine growth restriction. J Ayub Med Coll Abbottabad.22(4);64-9:2010

サンプルサイズの小さいことが原因の可能性もあり、本研究を予備研究として十分なサンプルサイズを確保し、再検討する必要があるだろう。

F. 健康危険情報
特になし

E. 結論

SGA 児出生要因としての「臍帯付着」を検討した。ロジスティック回帰分析の結果、統計学的には「臍帯付着」は要因ではなかった。

G. 研究発表
特になし

表3 ロジスティック回帰分析の結果

	Full Model			変数増加法ステップワイズ(尤度比)			
	Exp(B)	EXP(B) の 95% 信頼区間	P	Exp(B)	EXP(B) の 95% 信頼区間	P	
妊娠期体重増加量 (per kg)	1.12	(1.02 -1.22)	0.02	1.11	(1.02 -1.20)	0.01	
BMI	1.20	(1.05 -1.36)	0.01	1.23	(1.08 -1.39)	0.00	
喫煙							
なし	1.00			1.00			
あり	0.00		1.00	0.00		1.00	
予定帝王切開							
なし	1.00			1.00			
あり	0.25	(0.13 -0.48)	0.00	0.30	(0.17 -0.55)	0.00	
緊急帝王切開							
なし	1.00						
あり	0.41	(0.15 -1.09)	0.07				
GDM							
なし	1.00						
あり	0.64	(0.16 -2.57)	0.53				
PIH							
なし	1.00						
あり	0.03	(0.00 -0.19)	0.00	0.03	(0.00 -0.18)	0.00	
在胎週数							
37週未満	1.00						
37週以上	6927678542.77		1.00	9004699995.49		1.00	
性別							
男児	1.00						
女児	0.95	(0.55 -1.66)	0.87				
胎盤重量 (per g)	1.00	(1.00 -1.00)	0.45				
臍帯付着							
中もしくは側	1.00						
辺縁もしくは卵膜	0.65	(0.27 -1.55)	0.33				

厚生労働科学研究費補助金(次世代研究事業)
(分担) 研究報告書

乳幼児発達スケール(KIDS)の妥当性に関する研究

研究分担者 橋本 圭司 国立成育医療研究センター

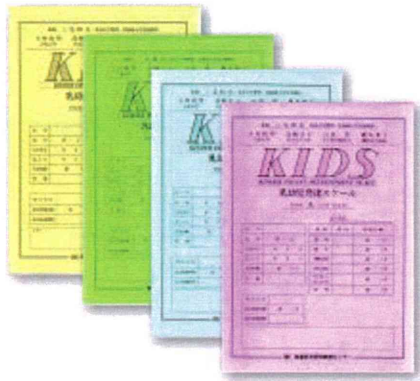
(要約) 本研究の目的は、母子コホート研究の調査質問票で用いた乳幼児発達スケール(KIDS)の妥当性を検討することである。検討の結果、KIDS は他の標準化された発達スケールと有意な相関を認めた。

橋本圭司・国立成育医療研究センター
リハビリテーション科医長

A. 研究目的

研究の目的は、母子コホート研究の調査質問票で用いた乳幼児発達スケール(KIDS) (公益財団法人発達科学研究教育センターより出版) (図1) の妥当性を検討することである。

図1 KIDS



B. 研究方法

対象は317名(健常児151名、障害児166名)、男169名、女148名、年齢中央値20.00か月(2か月~69か月)家族が評価する乳幼児発達スケール(KIDS)に加え、在胎週数、出生体重、月齢、家族によるAges & Stages Questionnaires, Third Edition (ASQ-3)・Ability for Basic Movement Scale for Children (ABMS-C)・Ability for Basic Movement Scale for Children type T (ABMS-CT), そしてスタッフによるFunctional Independence Measure for Children (WeeFIM) を記録した。

C. 研究結果

結果、KIDS による発達年齢及び発達指数は9項目において内的整合性があり(Cronbach's $\alpha = 0.969, 0.942$)、生活年齢と有意に相関していた。KIDSによる発達年齢はABMS-CとABMS-CT、そしてWeeFIM運動、WeeFIM認知、ASQ-3のコミュニケーション、粗大運動、微細運動、問題解決、個人-社会などの項目の合計点と有意に相関していた($r = 0.417-0.894, p < 0.01$)。また、KIDSによる発達指数は、在胎週数や出生体重と有意に相関していた($r = 0.353, 0.299, p < 0.01$)。

表1. KIDS と他の発達検査との相関

Variable	Median	Range	Spearman's rank correlation coefficients ** $p < 0.01, *p < 0.05$											
			with ASQ-3 (n=240)		communication		gross motor		fine motor		problem solving		personal-social	
			r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r
Family-rated KIDS														
total	developmental age, mo	16.50	1-63	0.428**	0.663**	0.417**	0.450**	0.600**						
	developmental quotient	100.00	4.76-200	0.445**	0.318**	0.311**	0.219**	0.216**						
physical motor	developmental age, mo	16.00	1-72	0.363**	0.667**	0.387**	0.381**	0.568**						
	developmental quotient	91.30	1-63	0.361**	0.529**	0.375**	0.303**	0.411**						
manipulation	developmental age, mo	18.00	1-63	0.401**	0.646**	0.416**	0.447**	0.599**						
	developmental quotient	100.00	3.17-25.00	0.445**	0.389**	0.429**	0.320**	0.417**						
expressive language	developmental age, mo	18.00	1-82	0.403**	0.621**	0.365**	0.407**	0.538**						
	developmental quotient	108.33	4.76-400	0.432**	0.211**	0.155**	0.254**	0.214**						
receptive language	developmental age, mo	15.00	2-70	0.478**	0.637**	0.396**	0.467**	0.570**						
	developmental quotient	107.84	8.74-450	0.437**	0.199**	0.183**	0.275**	0.293**						
language concepts	developmental age, mo	16.00	15-78	0.528**	0.251**	0.056	0.149**	0.402**						
	developmental quotient	104.76	13.81-184.6	0.290**	0.371**	0.343	0.247**	0.265**						
social relationships	developmental age, mo	21.00	12-73	0.520**	0.277**	0.134	0.134**	0.408**						
with children	developmental quotient	88.46	19.05-176.9	0.374**	0.409**	0.466**	0.345**	0.334**						
with adults	developmental age, mo	17.00	2-69	0.394**	0.613**	0.374**	0.386**	0.552**						
with adults	developmental age, mo	100.00	3.17-25.00	0.385**	0.304*	0.274**	0.237**	0.290**						
discipline	developmental age, mo	27.00	16-74	0.401**	0.152	0.025	0.226**	0.368**						
	developmental quotient	101.82	25.4-194.44	0.056	0.233**	0.341**	0.049	0.215**						
feeding	developmental age, mo	13.00	1-36	0.417**	0.692**	0.448**	0.463**	0.612**						
	developmental quotient	84.13	1.59-200	0.327**	0.304**	0.313**	0.277**	0.291**						
	Age, mo	20.00	2-69											
	Period of gestation, d	38.00	23-42											
	Birth weight, g	3392.00	476-4170											
				with ABMS		with WeeFIM (n=233)								
				ABMS-C (n=212)	ABMS-CT (n=213)	motor	cognitive	Age, mo (n=207)	Period of gestation, d (n=201)	Birth weight, g (n=207)				
Family-rated KIDS				r	r	r	r	r	r	r				
total	developmental age, mo	0.878**	0.863**	0.891**	0.894**	0.839**	0.126	0.116						
	developmental quotient	0.041	0.062	-0.169**	-0.146*	-0.395**	0.353**	0.299**						
physical motor	developmental age, mo	0.908	0.849**	0.882**	0.845**	0.785**	0.096	0.109						
	developmental quotient	0.305**	0.364**	0.041	0.018	-0.197**	0.246**	0.287**						
manipulation	developmental age, mo	0.857**	0.857**	0.880**	0.887**	0.810**	0.123*	0.109						
	developmental quotient	0.138*	0.206**	-0.039	-0.006	-0.224**	0.315**	0.281**						
expressive language	developmental age, mo	0.846*	0.831**	0.861**	0.877**	0.801**	0.109	0.090						
	developmental quotient	0.033*	0.113	-0.119	-0.084	-0.311**	0.267**	0.240**						
receptive language	developmental age, mo	0.783**	0.817**	0.803**	0.847**	0.749**	0.131*	0.119*						
	developmental quotient	-0.048	0.045	-0.198**	-0.128	-0.361**	0.269**	0.239**						
language concepts	developmental age, mo	0.907**	0.902**	0.806**	0.787**	0.643**	0.178	0.107						
	developmental quotient	0.163*	0.169*	-0.059	0.016	-0.166**	0.214**	0.207**						
social relationships	developmental age, mo	0.540**	0.799**	0.785**	0.803**	0.623**	0.230**	0.118						
with children	developmental age, mo	0.237**	0.267**	0.088	0.199*	-0.262**	0.200*	0.161*						
with adults	developmental age, mo	0.841**	0.836**	0.859**	0.881**	0.788**	0.091	0.082						
discipline	developmental age, mo	0.539**	0.804*	0.846**	0.796**	0.666**	0.156*	0.081						
	developmental quotient	0.162	0.087	-0.027	0.001	-0.477**	0.163*	0.178*						
feeding	developmental age, mo	0.837**	0.819**	0.859**	0.848**	0.729**	0.129*	0.120*						
	developmental quotient	-0.131*	-0.168*	-0.310**	-0.284**	-0.531**	0.223**	0.252**						

D. 考察

小児発達検査のゴールドデンスタンダードとして、デンバーⅡやベイリーⅢ、WISC-Ⅳなどがある。しかしながら、これらの検査は、質問票上で採用することは困難である。今回、我々が検討したKIDSは、いつでもどこでも家族によって評価可能な発達スケールである。KIDSと他の発達スケールが有意な相関を認めたことは、KIDSの妥当性を示唆する結果と考えられた。

E. 結論

KIDSは、質問紙上で簡便に評価することができ、本研究から、発達評価スケールとしての妥当性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

a) Hashimoto K, Sakamoto N, Takekoh M, Ikeda N, Kato K, Honda M, Tamai S, Miyamura K, Horikawa R, Ohya Y. Validity of the Family-Rated Kinder Infant Development Scale (KIDS) for Children. Journal of Pediatric

分担課題: 新生児のエピゲノム多様性の解析

研究分担者 秦健一郎

研究要旨

エピジェネティックな遺伝子発現制御は、ヒトの発生と生存に必須の機構である。その代表例である DNA メチル化によるエピジェネティックな遺伝子発現制御は、環境によって変化し、細胞分裂を経て安定に長期にわたり遺残する。このような現象は、胎内環境が胎児や出生児に長期にわたり与える影響を説明するモデルとなり得る。本研究では、新生児のエピゲノム多様性を解析することで、出生児のエピゲノム状態標準データを整備し、疾患児のエピゲノム異常の診断に利用可能な知見を創出する。

A. 研究目的

胎内環境や養育環境が、出生児の将来の生活習慣病の発症等に関与する可能性が提唱されている。実際に動物では、初期胚の体外培養などの胚操作技術や、母体の食餌が、児の遺伝子発現を変化させる事が知られている。ヒトでも同様の環境要因による影響が、未知の機構により遺残し、出生後も長期に渡り遺伝発現の変化(遺伝子発現異常)を引き起こす可能性が懸念されているが、系統的な解析は未だになされておらず、本研究で得られる基盤的情報の医学的意義は高い。

B. 研究方法

初年度

分娩後に、胎盤の異なる部位 4箇所から胎盤組織片(径 1cm 程度)と、臍帯血を 2ml 以上採血した。EDTA あるいはヘパリン等の抗凝固剤入りの採血管を用い、精製処理まで凍結保存した。母体血は、いずれの時期に採血したものでも利用可能であり、CBC 検査用の EDTA 採血管で 2ml を採取し、同様に凍結保存した。胎盤組織片からは、ゲノム DNA と RNA を回収した。血液からは、ゲノム DNA を精製回収した。

次年度

初年度に続き、検体の収集を継続した。解析対象症例(正常症例)を抽出し、対象症例の

ゲノム DNA をバイサルファイト PCR 法により処理し、非メチル化シトシンをチミンに変換した。バイサルファイト PCR 法によって変換された塩基配列の一塩基多型を利用して、任意の領域の DNA メチル化状態を、一塩基レベルの解像度で、かつ定量的に解析した。これらの解析から、正常例におけるエピゲノム多様性(エピジェネティックな修飾状態の揺らぎ、正常範囲)を検証し、異常症例の検出に必要な基準値を設定した。

本年度

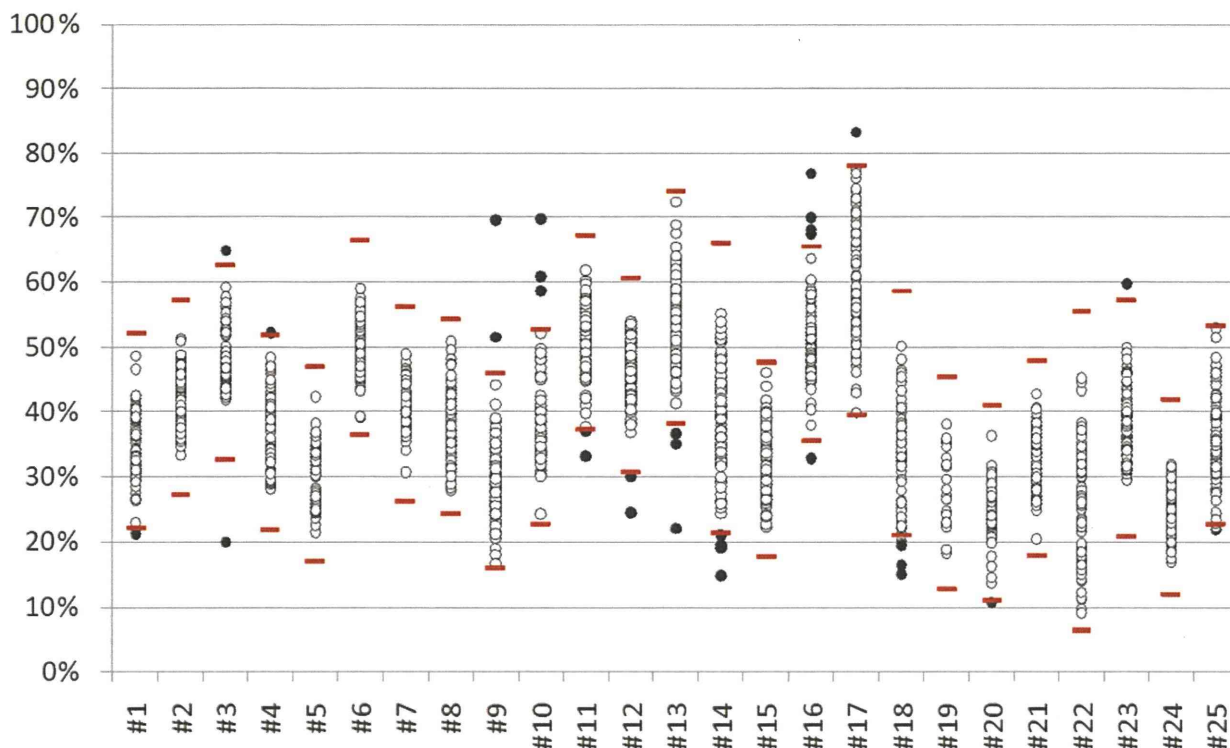
特に、絨毛細胞の分化異常が疑われる症例を抽出し、DNA メチル化状態の定量初解析を行った。次年度までの解析で得られた、正常新生児のエピゲノム多様性の基準値を参考に、逸脱する領域、症例群の有無を検討した。

倫理面への配慮

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針を遵守する。本研究に関わる症例検体収集及び解析の詳細は、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を受けた(承認番号 234、406)

C. 研究結果

初年度(H22年度)は、主に検体収集体制の構築を行った。研究協力機関で、我々の倫理申請を基に、本研究を行うための倫理申請を行った。高品質の血液検体および胎盤組織を、安全



**●(黒丸)が、DNAメチル化異常症例を示す。
27症例、のべ44領域に、未知のDNAメチル化異常を検出。**

かつ効率的に、研究協力機関から収集する体制を整えた。検体数の増加に伴い、血液サンプルからのゲノム DNA 回収は、自動化ロボットを利用し、自動化ロボットを利用する際の検体量、検体の状態（抗凝固剤、凍結の影響）、DNA 濃度、その後の解析実験への影響を検証した。

次年度（H23 年度）は、正常例（特に合併症を認めない正期産の臍帯血）を中心に、網羅的な DNA メチル化解析を試験的に行った。特に、ヒトで特殊な DNA メチル化制御を受けている約 30 領域を、定量的に解析する系を立ち上げた。

最終年度は、これらの解析系を用い、胎盤機能異常が疑われる症例の解析を行った。のべ 44 か所で、我々の取得した正常範囲から外れた DNA メチル化状態（異常 DNA メチル化状態）が同定された（上図）。

D. 考察

エピジェネティックな遺伝子発現制御は、正常なヒトの発生と生存に必須であると同時に、様々な疾患との関連も明らかになりつつあり、エピジェネティックな異常を網羅的に調べる

様々な大規模な国際プロジェクト（エピゲノムプロジェクト）が進行中である。

エピジェネティックな情報は、ジェネティックな情報（遺伝子配列）と異なり、発生時期や臓器によって異なる可能性がある。すなわち、新生児のエピジェネティックな状態を評価するには、新生児の組織を解析することが必須である。また、ジェネティックな情報には一塩基多型のような多様性・個体差があるが、同様にエピジェネティックな情報にも、個体差があると考えられる。そのためにも、健常者のエピジェネティックな状態を標準値として検証取得することで、全てのエピジェネティックな解析に必要な基盤的知見を提供することができる。

本研究では、エピゲノム多様性の指標として、主に DNA メチル化状態を解析している。DNA メチル化状態は、ゲノムインプリンティングなどの主要な制御機構であり、特に胎児と胎盤の発生発育に重要な役割を担う。がん細胞などを中心とした既知の疾患に対し、既知の原因遺伝子プロモーター領域を標的に、局所的解析が盛んに行われているが、正常分娩例における DNA メチル化状態の多様性（個人差、基準値）は明

らかでない。初年度に整備した検体収集体制と、本年度に確立したスクリーニング体制を利用し、新生児のエピゲノム多様性の解析を進めた。これらの解析結果から、図に示すように、胎児発育異常との関連が強く疑われるゲノム領域の DNA メチル化異常に加え、これまで胎児発育異常との関連が報告されていない領域の DNA メチル化異常がのべ 44 か所同定された。

E. 結論

研究計画は当初の予定通り完了し、多数検体の網羅的なエピゲノム解析 (DNA メチル化解析) 体制が整備された。これらの標準データを用い、今後、疾患例のエピゲノム多様性 (異常) の解析を進めていく。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表
 1. Characterization of novel paternal ncRNAs at the Plagl1 locus, including Hymai, predicted to interact with regulators of active chromatin. Iglesias-Platas I, Martin-Trujillo A, Cirillo D, Court F, Guillaumet-Adkins A, Camprubi C, Bourc'his D, Hata K, Feil R, Tartaglia G, Arnaud P, Monk D. PLoS One. 査読有 2012;7(6):e38907.
 2. Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Yoshinaga H, Jozaki K, Okada J, Watanabe Y, Aoki A, Shiozaki A, Saito S, Koide K, Mukai T, Hata K, Soejima H. Am J Med Genet A. 査読有 2012;158A(7):1670-5.
 3. Imprinted DNA methylation reprogramming during early mouse embryogenesis at the Gpr1-Zdbf2 locus is linked to long cis-intergenic transcription. Kobayashi H, Sakurai T, Sato S, Nakabayashi K, Hata K, Kono T. FEBS Lett. 査読有 2012 23;586(6):827-33.
 4. Trophoblast-specific DNA methylation occurs after the segregation of the trophectoderm and inner cell mass in the mouse periimplantation embryo. Nakanishi MO, Hayakawa K, Nakabayashi K, Hata K, Shiota K, Tanaka S. Epigenetics. 査読有 2012 Feb;7(2):173-82.
 5. Contribution of intragenic DNA methylation in mouse gametic DNA methylomes to establish oocyte-specific heritable marks. Kobayashi H, Sakurai T, Imai M, Takahashi N, Fukuda A, Yayoi O, Sato S, Nakabayashi K, Hata K, Sotomaru Y, Suzuki Y, Kono T. PLoS Genet. 査読有 2012 ;8(1):e1002440.
2. 学会発表
 - 1) 教育講演 秦健一郎：「合併症妊娠におけるゲノム解析」第 28 回日本糖尿病・妊娠学会年次学術集会 2012. 11. 17
 - 2) 招待講演 秦健一郎：「次世代遺伝子解析技術を用いた生殖発生異常のゲノム研究」第 30 回日本受精着床学会学術講演会 2012. 8. 31
 - 3) 招待講演 秦健一郎：「最先端テクノロジーを駆使したヒト周産期疾患ゲノム解析への取り組み」第 19 回遺伝子診断学会 2012. 7. 27
 - 4) 招待講演 秦健一郎：「ヒト発生異常のゲノム解析・エピゲノム解析」東京大学大

2012. 7. 20

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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

（研究代表者 堀川玲子）

分担研究報告書

光トポグラフィ装置を用いた親子の分離・再統合時における大脳皮質血流変化
とオキシトシンとの関連に関する研究

分担研究者 藤原武男 （独）国立成育医療研究センター研究所 成育社会医学研究部
研究協力者 伊藤淳 （独）国立成育医療研究センター研究所 成育社会医学研究部

研究要旨

目的：被験者の身体拘束性が低く自然な姿勢・環境下で脳血流を測定できる光トポグラフィ装置を用い、子どもがその場にはいない状況（分離）から、子どもを抱っこした自然な親子のかかわりのある状況（再統合）での親の大脳皮質血流変化と、親の養育行動と密接な関係にある唾液中オキシトシン濃度との関連を調べる。平成 24 年度は実験手順を確立するため、光トポグラフィ装置を使用している文献を参考にして調査手順を考案した。

方法：文献検索は PubMed を用いた。検索には以下の検索式を用いた。

"near infrared spectroscopy"[All Fields] AND "attachment"[All Fields]

結果：検索の結果、22 本の文献がヒットした。そのうち、タイトルと抄録から本研究に参考となる 3 つの文献を抽出した (Minagawa-Kawai, 2009 ; Nagamitsu, 2010 ; Nagamitsu, 2012)。うち 1 本は総説であった (Nagamitsu, 2012)。これらの研究では、NIRS 測定時の刺激を 15~30 秒間、刺激を与えてから次の刺激までの休息は 1 分間としていた。また繰り返し測定を行うと次第に脳血流変化が減少するため 4 回以上は繰り返さないこと、乳児後期は母子分離ができないために検査が行えない脱落例が生じること、表情によりアーチファクトが生じることなどが分かった。

考察：光トポグラフィ装置を用いた検査は外の音が聞こえない部屋で行い、児は人見知りが始まる前の発達段階（生後 6 か月以下）が望ましく、再統合の時間は 30 秒、再分離は 2 分とし、検査は 3 回以上繰り返さないことを踏まえ、実験手順を作成した。

A. 研究目的

親による養育行動は子に対し単に保護や世話を与えるだけでなく、子の認知発達や愛着形成、社会性の発達を促す長期的な影響もあることが知られている (Feldman, 2003 ; Feldman, 2007)。過去の愛着に関する脳科学研究では主に fMRI が用いられており、装置内に横たわった被験者に子どもの画像や動画、音声刺激を与えるもので、実際の状況を反映していない可能性がある。

近年、身体拘束性がなく自然な姿勢・環境下での脳血流測定が可能な近赤外線スペクトロスコピィ (NIRS) が精神科領域、脳科学領域で用いられるようになった。本装置を用いることで、子どもがその場にはいない状況 (分離) から、子どもを抱っこした自然な親子のかかわりのある状況 (再統合) で親の大脳皮質血流変化を測定することができる。さらに、親の養育行動とオキシトシンが密接な関係にあることが報告されており (Feldman, 2007)、分離-再統合時の脳血流の変化が、ベースラインのオキシトシンによって異なる可能性もある。さらに脳血流の変化によって再統合後のオキシトシンの上昇と関連しているかもしれない。これらを明らかにすることによって、親子のインタラクションがオキシトシンと相互に関連しながら親の養育行動ならびに子の愛着行動を高めるメカニズムの解明につながる。

本研究の目的は、子どもを親から分離させた時と再統合させた時で大脳皮質血流がどのように変化するかを明らか

にし、オキシトシンとの関連を明らかにすることが目的である。

平成 24 年度は実験手順を確立するため、NIRS を用いて脳血流と愛着との関連を調べた先行研究をもとに、調査手順を考案した。

B. 研究方法

検索エンジン PubMed を用いて、親子の愛着に関し NIRS を用いている文献を収集した。使用した検索キーワードは以下の通り。

"near infrared spectroscopy"[All Fields] AND "attachment"[All Fields]

C. 研究結果

22 本の文献がヒットした。そのうち、タイトルおよび抄録から明らかに本研究と関連がない 19 本を除外し 3 本を抽出した。うち 1 本は総説であり (Nagamitsu, 2012)、以下の【文献 2】の解説を含んでいた。以下に 2 本の文献について内容をまとめた。

【文献 1】

Minagawa-Kawai et al, Cerebral Cortex 2009, 19:284-292

<対象>

26 組の母子。子は生後 9~13 か月。

<研究方法>

子どもを表情が分かるようにビデオ撮影し、笑顔の状態と、無表情の状態をそれぞれ 30 秒間ずつ編集する。NIRS を装着した母に対して、無表情の状態を見ている時の脳血流に対する笑顔の状態を見ている時の脳血流変化を測定