

201219008B

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 22～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 加藤達夫・堀川玲子

平成 25 (2013) 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 22～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 加藤達夫・堀川玲子

平成 25 (2013) 年 3 月

# 目 次

## I 総合研究報告書

### 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 1

国立成育医療研究センター内分泌代謝科	堀川玲子
国立成育医療研究センター代謝・内分泌内科	荒田尚子
国立成育医療研究センター周産期センター新生児科	伊藤裕司
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	小川佳宏
国立成育医療研究センター神経内科	久保田雅也
富山大学大学院医学薬学研究部産婦人科学	齋藤 滋
国立成育医療研究センター研究所成育疫学研究室	坂本なほ子
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	田嶋 敦
聖マリアナ医科大学産婦人科	田中 守
国立成育医療研究センターリハビリテーション科	橋本圭司
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
広島大学自然科学研究支援開発センター／小児外科	檜山英三
国立成育医療研究センター研究所成育社会医学研究部	藤原武男
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
大阪府立母子保健総合医療センター研究所	柳原 格
九州大学大学院生殖病態生理学	和氣徳夫
国立成育医療研究センター周産期センター産科	渡辺典芳

## II 研究成果の刊行に関する一覧表 113

## III 平成 22 年度～24 年度研究者名簿 155

# 総合研究報告書

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)

平成 22-24 年度 総合研究報告書

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 堀川玲子 (独) 国立成育医療研究センター内分泌代謝科 医長

**研究要旨** 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。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、出生児に占める低出生体重児の割合は、10%と高率である。このような背景をもった児は、成長障害・性成熟・代謝の異常を有する率が高く、さらに前述のように成人期疾患や次世代への影響も懸念される。

本研究では、児の胎生期及び生後の成長に関与する因子を明らかにし、母体の妊娠リスクの低減と産後の健康、児の健全な成長発育を維持するために必要な要素を解明することを目的とし、以下の研究を行った。

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・検体検査等）を実施。

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・ケースコホート研究を実施。

2) 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として、データを収集、関連解析を行った。

3) 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施行。胎盤収集と保存の基盤を確立し、胎盤から mRNA 抽出を行った。また、実験動物を用いて肝臓におけるエピゲノム異常との関連性を解明。

4) 神経芽細胞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用いた予後不良例特異的診断法を確立した。

収集データより、低出生体重児にエピゲノム異常を認める症例を発見した他、胎児成長と母体体格、成長因子やアディポサイトカインが正の相関を示すこと、父母の心理要因と胎児成長との有意な関連を見いだした。児の神経学的発達予後評価方を確立し、子宮内発育状態との関連を検討している。生後早期の成長と甲状腺ホルモンとの関連、母体ヨード曝露の母児への影響にデータ収集中。これらより、健全な妊娠と出産、児の成長発達障害の予防につながると考える。

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だけでなく、生後早期の代謝も影響を受けることから、胎内環境改善対策は重要である。

**研究分担者**

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  
藤原武男 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 聖マリアンナ医科大学  
田嶋敦 徳島大学  
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

国立成育医療研究センターにおける母子コホート研究を、倫理委員会の承認を得て推進した。

#### 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、リクルートを行った。

#### 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、リクルートを行った。

#### 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データを収集、関連解析を実施した。

## 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行った。胎盤収集と保存の基盤を確立し、胎盤から mRNA 抽出を行った。また、実験動物を用いて肝臓におけるエピゲノム異常との関連性を解明した。

## A. 成育母子コホート研究

### 【対象・目標症例数】

国立成育医療研究センターで妊娠・分娩管理を行う妊婦 (年間約 1600 例) に対し、平成 22 年度に倫理委員会申請を行い、コホート事務局の整備・リクルートとフォローアップ体制を確立、約 2 年間の計画でリクルートを行った。対象を早産・低出生体重児群 (A 群)、ペアドコントロール群 (B 群)、ハイリスク妊娠群 (基礎疾患、妊娠中薬剤曝露、生殖補助医療妊娠、高齢出産等: C 群)、それ以外の正常コントロール群 (D 群) に分類した。

### 【調査項目】

以下の調査を計画した。

**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、25OHVD、葉酸、アミノ酸分析、脂質、アディオサイトカイン測定 (臍帯血, 1, 3 歳時)、生後 5 日目濾紙血甲状腺機能検査

### 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【藤原】:

親子関係および子どもの行動調査

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：堀川】

：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。

## B. 早産児の原因究明における網羅的遺伝子解析とデータベース作成

【秦、田嶋、斉藤、和気、田中、柳原】

### 【対象症例】

- 1) 妊娠37週未満で分娩に至った症例
- 2) その他の異常を伴う周産期症例
- 3) 正常産例(対照群)

### 【対象予定人数】

- 1) 早産症例：年間500症例、本研究終了までに計2,000例以上。
- 2) 正常産例(対照群)年間500例、本研究終了までに計2,000例。
- 3) その他の症例  
症例数の根拠  
オッズ比1.4、頻度5%の関連多型を検出力80%で同定するのに1,000例必要。

### 【データ収集】

母子の身体計測データ、既往歴、妊娠合併症、児の合併症と転帰

### 【解析対象遺伝子・ゲノム領域】

- 1) 約100万箇所の大規模なゲノム網羅的一塩基多型解析
- 2) 網羅的DNAメチル化解析(計約2万6千箇所の遺伝子プロモーター領域、インプリンティング遺伝子調節領域を中心としたDNAメチル化解析)

## 3. 神経芽細胞腫スクリーニング検査【檜山】

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)

本研究では、すべての研究は機関内倫理委員会にて審査を受け、承認を得た。コホート参加者には文書同意を得た。詳細な疫学統計上の個人情報の取り扱いに関して、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」に準じて研究遂行した。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。

成育医療研究センターにおける倫理承認及び診療情報二次利用承認：

受付番号 417 課題名「成育母子コホート研究」(代表者 堀川玲子 平成22年8月2日承認)

受付番号 234 課題名 (代表者 秦健一郎)

受付番号 640 課題名「成育母子コホート」(利用責任者 堀川玲子 平成22年12月22日承認)

実験動物を用いる基礎研究は、東京医科歯科大学の動物実験に関する委員会の承認を受けており、実験動物飼育及び保管に関する基準に従って動物愛護上の観点より最小の苦痛と犠牲にとどめるよう配慮した。

神経芽腫のデータベースの後向き研究、疫学調査は、疫学研究の倫理指針、個人情報保護法に従い、学会、広島大学の研究審査委員会で承認を得ており、前向き研究は、受診例の代諾者に十分なインフォームドコンセントを行い、承諾のもとに施行した。

## C 研究結果

母子コホート研究 (分担研究者：堀川玲子)

- 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：

国立成育医療研究センターにおいて、倫理委員会承認後、妊娠期から(胎児期から)の母児の追跡調査体制を確立した。24ヶ月間に1949名の妊婦の参加同意を得た。出産数1518例、一歳時追跡率86%。18歳までの追跡調査基盤整備中。

また、コホート内での、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、ケースコホート研究を実施中である。

### ① 妊娠母体調査・児の出生時アウトカム

妊娠環境として、受精条件、妊婦栄養/代謝状態、心理状態を、身体計測・検体検査・FFQ等質問紙調査にて検討、児の出生時アウトカムとの関連を研究した。児の臍帯血/胎盤を参加者ほぼ全例より採取、バンクを作成した。

体外受精妊娠の妊娠高血圧発症リスクが有意に高

値であること、妊娠時母体体格が児の出生体重とも関連することを認め、成長因子・アディポサイトカイン・ビタミンD等の因子と胎児成長の関連が明らかとなった。さらに、今回の研究対象妊婦及び臍帯血中の25OHビタミンD濃度が、一般小児・成人で推奨されている血中濃度よりも低いことが明らかとなった。この結果の病的意義については検討中である。

SGAの要因と考えられるものは、母親の喫煙、PIH、妊娠中の体重増加、BMI、在胎週数であった。

## ② 児の生後成長発達

児は1, 3, 6, 9, 12, 24ヶ月健診にて成長発達データ、睡眠データを収集。1歳では採血を実施。

SGA児は生後早期のBMI上昇率が有意に高く、成長因子は低いことが明らかとなった。

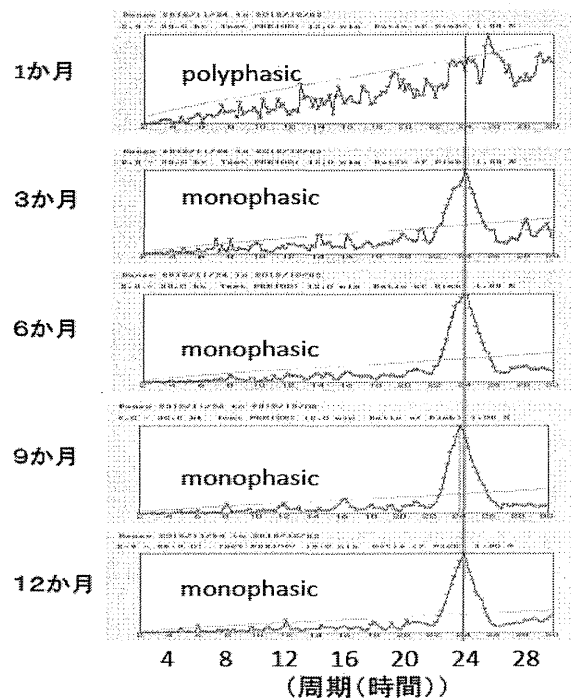
以上より、母児の良好な短期的予後のために、妊娠中の栄養等環境に加え、妊娠成立時の条件を整えること、新生児期・乳児期の栄養を出生体重に応じ適正化する必要性が、本研究により示された。さらにデータを集積し、中・長期予後と関連因子の検討を行っていく。

## 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)

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。1か月の睡眠は1-3時間の分断された睡眠で昼夜の変化は乏しい(polyphasic)。3か月になると夜間睡眠割合が増加しサーカディアンリズムの基礎が出現する(mono-, bi-phasic)。3か月では持続の長い睡眠時間帯は夜間に集中し、最長睡眠時間帯の開始時刻が、ほぼ一定の時刻になる。このことは昼間の睡眠が夜の入眠時刻に影響を与えなくなったことを意味する。1か月と3か月では昼間の睡眠の意味が異なってくる。6か月以降で夜間睡眠が連続性をもち、割合が増加する。9-12か月で夜間睡眠がさらに強化され、2回の午睡リズムも確立され周期は24時間となる。

(図) 生後12か月は昼夜の違い、特に昼間に覚醒することを覚える過程といえる。



9か月ではロコモーションの基礎としてのはいはいは約半数は未完成であるが12か月ではほぼ全例で完成したはいはいを示す。9か月で全例が「交互凝視」が可能であった。9か月で約半数が「後方指さしの理解」可能であり、12か月ではほぼ全例がこの課題を通過した。(表)

睡眠リズムの確立、ロコモーションの基礎としてのはいはいの完成、後方指さしの理解がいずれも生後9-12か月に完成する。

表 上：ロコモーションと視覚的共同注意の観察対象、下：各群における9か月と12か月でのロコモーションと視覚的共同注意の完成度

ロコモーションと視覚的共同注意の観察対象

Group	9Mo	12Mo	合計
A	1	5	6
B	16	7	23
C	7	0	7
A/C	11	7	18
	35	19	54

ロコモーションと視覚的共同注意の完成度

Group	9Mo			12Mo		
	はいはい完成	交互凝視	後方指さし理解	はいはい完成	交互凝視	後方指さし理解
A	0/1人	1/1人	0/1人	4/5人	5/5人	3/5人
B	7/16人	16/16人	8/16人	7/7人*	7/7人	6/7人***
C	3/7人	7/7人	1/7人	-	-	-
A/C	5/11人	11/11人	5/11人	6/6人**	6/6人	4/6人

はいはいの完成: \* :9MoB vs 12MoB P=0.01, \* \* :9MoA/AC vs 12MoA/AC P=0.02  
後方指さし理解: いずれも有意差なし(\*\*\*B群12Moで1人増えると有意差ありとなる)

## 母子コホート研究 (分担研究者 渡辺典芳)

周産期医療における臨床研究においては、妊娠・分娩期の疾患・介入は暴露であり、短期的な転帰としては分娩時の母児転帰である。しかし、長期的な疾患・



介入の改善に関しては長期的なコホート研究の継続が必要である。今年度は、合併症として「C9欠損症合併妊娠」の報告、介入の検討としては「妊娠中の自己血輸血の検討」「超低出生体重児の帝王切開術におけるニトログリセリンの使用について」の報告を行った。

#### 妊娠前の子宮卵管造影検査で用いられるヨウ素含有造影剤の妊婦および新生児の甲状腺機能への影響に関する研究 および妊娠とその後の女性の生活習慣病発症に関する母子健康手帳を用いた研究

(分担研究者 荒田尚子)

①ヨード含有造影剤による子宮卵管造影検査後の妊娠では、HSG直後の妊娠の場合には、母体・胎児共に高濃度ヨード曝露をうける可能性が高い。妊娠初期の母体甲状腺機能はHSG施行後3カ月以内の妊娠では、高TSHになる可能性があり注意が必要と考えられた。新生児甲状腺機能への影響は今回の検討では顕かではなかったが、出生後の児の長期の甲状腺機能や精神発達への長期影響なども含め、さらなる検討が必要と考えられた。

②妊娠中の尿糖陽性(2+以上1回以上陽性)は産後約35年後、約64歳時の糖尿病罹患と強く関連し、そのリスクは陰性のものの約13倍とハイリスクであった。妊娠中の妊娠高血圧症候群の合併や血圧高値はその後の約35年という長期期間後の高血圧罹患とはあまり関連していなかった。心脳血管障害罹患と妊娠中の指標についてはまだ検討が必要である。

#### 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)

母子コホート研究データを基に、以下の解析を行った。

1) 基本的統計指標の解析: 母の年齢は平均 $36 \pm 4$ 歳で、初産婦が58%であった。分娩方法は、正常経膈分娩が60%、吸引分娩が12%、帝王切開が28%であった。出生児は、在胎週数 $38 \pm 2$ 週、出生体重 $2920 \pm 464$ g、出生時身長 $48.5 \pm 2.7$ cmで、男:女比は52:48であった。2) SGA群と非SGA群との比較解析(母子背景データおよび生後1ヶ月までの成長の解析): 母子背景データとして、母年齢、初産か経産か、出生した児の性別を因子として、これらの因子がSGAかそうでないかに関連性があるかどうかを検討した。単変量解析では、母の年齢(OR: 0.935, 95% C.I.: 0.899-0.968,  $p=0.0002$ )、出生した児が女兒(OR: 1.552, 95% C.I. 1.124-2.151,  $p=$

0.0076)が、SGAであることに有意な関連性を認めた。在胎週数を調整して、これらの3因子による多変量解析でも、SGAであることに有意な関連性を示したのは、母年齢(OR: 0.935, 95% C.I.: 0.900-0.970,  $p=0.0004$ )、出生した児が女兒(OR: 1.606, 95% C.I.: 1.156-2.238,  $p=0.0046$ )であった。SGA群と非SGA群での出生時から1歳健診までの体重、身長増加量は、両群間に有意差は認められなかった。出生時から1歳健診までのBMI値はSGA群が有意に低値であったが、その増加量は、SGA群で有意に高値であった。3) 日齢5でのTSH, free T4測定値の解析(母子背景因子の解析): 日齢5に濾紙血で測定した児のFree T4値は、出生体重、出生時身長、在胎週数と有意な正の相関( $p<0.0001$ )を認めた。TSH値は、在胎週数と有意な負の相関( $p=0.0142$ )を認めた。分娩様式との関係では、日齢5の児のTSH値は、帝王切開児が経膈自然分娩児に比して、有意に高値を示した( $1.61 \pm 1.07$  vs.  $1.36 \pm 0.96 \mu\text{g/ml}$ ,  $p=0.039$ )。

#### 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

(分担研究者 藤原武男)

① 母子コホート研究参加者で、気質・性格に関する質問票(TCI: Temperament & Character Inventory)に回答し、なおかつ分娩に至った単胎症例(母親387名、父親399名)を対象とし解析を行った。母親の性格と出生体重の間には関連を認めなかった。母親の性格と妊娠週数には有意な関連を認め、母親の性格において持続、協調性が高い場合、妊娠週数は有意に短くなる傾向にあった。父親の性格と出生体重、妊娠週数には有意な関連を認め、父親の性格において、持続、協調性、自己超越性が強い場合、出生体重は有意に大きくなる傾向にあった。一方で、損害回避が強いと、出生体重は有意に小さくなる傾向にあった。父親の性格において自己超越性が強いと、妊娠週数は長くなる傾向にあった。

② 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目的で、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。

文献検索はPubMedを用い、3つの文献を抽出した (Minagawa-Kawai, 2009 ; Nagamitsu, 2010 ; 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。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。

#### 小児応用基本動作スケールの信頼性と妥当性に関する研究

(分担研究者 橋本圭司)

乳幼児の発達を経時的に評価する目的で、初年度は、広く一般に用いることのできる乳幼児基本動作評価スケール ABMS-C (Ability for basic movement for children の信頼性と妥当性を、次年度は、ABMS-CT (Ability for basic movement for children Type T) の信頼性と妥当性を、最終年度は、乳幼児発達スケール(KIDS)の妥当性を検討した。

2011年3月から4月の2か月間に、国立成育医療研究センターリハビリテーション科へ依頼のあった入院患者49名(男児29名、女児20名。年齢1~15.17歳)を対象にABMS-CTを2名の検者が評価し、WeeFIMも併せて評価した。ABMS-CTの各項目とWeeFIM運動項、認知項目との相関については、Spearmanの順位相関係数を用い、内的整合性の検証にはCronbachの $\alpha$ を、検者間信頼性の検討には $\kappa$ 値を、それぞれ用いた。

R値=0.753~0.878 (P値=0.0001)でABMS-CTは、WeeFIM運動スコア、認知スコアと、それぞれ高い相関関係を示した(表1)。ABMS-CTの各5項目はCronbach $\alpha$ 値=0.970と極めて高い内的整合性を認め、検者間信頼性も $\kappa$ 値=0.854~0.925とほぼ完べきな値を認めた。

また、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

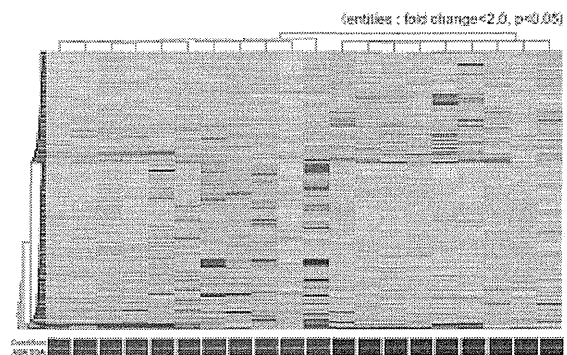
WeeFIM運動、WeeFIM認知、ASQ-3のコミュニケーション、粗大運動、微細運動、問題解決、個人-社会などの項目の合計点と有意に相関していた( $r$  = 0.417-0.894,  $p$  < 0.01)。また、KIDSによる発達指数は、在胎週数や出生体重と有意に相関していた( $r$  = 0.353, 0.299,  $p$  < 0.01)

#### 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)

本研究においては、①SGAの発症要因を解明するために網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、母胎面側の遺伝子発現profileではSGA症例は特異な遺伝子発現パターンを示さなかったが、胎児面側の組織における遺伝子発現profileはSGAとAGAで大きく異なり、その上SGA症例は3つの群に分かれる事が明らかとなった。②子宮内環境が子宮内感染や乳幼児期早期のアレルギー疾患発症に与える影響については、対象児がまだアレルギー疾患の好発年齢に達していない事から、解析を行っていない。

#### 胎児面側の遺伝子発現パターン



赤がAGA症例、青がSGA症例

#### 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)

成育母子コホート参加者台帳より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、臍帯附着である。これらについて、ロジスティック回帰分析を行った。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BMI1.23(95%CI 1.08-1.39)、予定帝王切開0.30

(95%CI 0.17-0.55)、PIH0.03 (95%CI 0.00-0.18)であった。

表 各変数の基本的統計

	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 週末満	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

### 新生児のエピゲノム多様性の解析

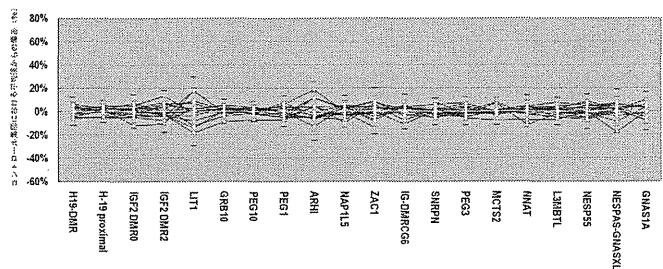
(分担研究者 秦健一郎)

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、出生児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た。

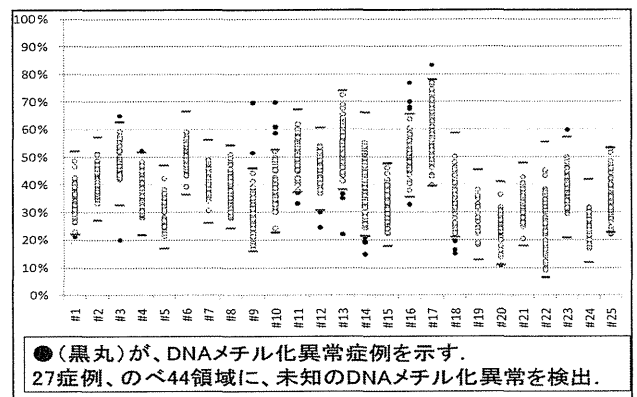
初年度 (H22 年度) は、主に検体収集体制の構築を行った。研究協力機関で、我々の倫理申請を基に、

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常産の臍帯血) 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。(図 1)



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 (図 2)。



### 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)

前向きコホート研究デザインにより、妊産婦の細菌性膣炎・頸管炎等の「感染性要因」、喫煙・ダイエット、就労状況等の「ストレス要因」、不妊治療等の「医原性要因」、そして「遺伝的要因」について全国規模の調査を行ってデータベースを構築し、前方視的に周産期における疾患 (早産や低出生体重児等) のリスク因子を抽出した。現在までに 1810 名の妊婦が登録され、1592 例が分娩している。子宮頸管長の

データが欠損していた227例を除いた1365例で検討したところ、妊娠34週未満の早産のリスク因子は、妊娠20-24週の頸管長の短縮と胎児性別が男児であることであった。妊娠37週未満の早産のリスク因子はパートタイム勤務、子宮筋腫、ステロイド剤の内服、頸管長の短縮であった。

#### 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)

周産期の異常の多くは、複数の環境要因や遺伝要因の関与する多因子疾患であり、コホート研究で得られるような詳細で正確な臨床経過情報に基づく大規模疫学調査が、解析に有効である。その一方で、多因子疾患で同定される関連因子の多くは寄与率が低く、関連解析で十分な検出力を期待するには、多数(多くは千例規模)の疾患集団の解析が必要とされる場合が多いため、コホート研究では十分な症例を得られない場合が多い。そこで本研究計画では、症例対照研究の体制を基軸に、多数かつ多彩な症例を収集する。検体収集に当たっては、正確な臨床情報と共に、将来の遺伝子解析に供する事が可能な倫理的手続きを踏み、様々な疫学解析手法に供する事の出来るよう対応する。このような大規模検体収集体制を確立し、未知の病因病態の解明に資するリソースを整備する事を目的として研究を行い、以下の結果を得た。

初年度は、特に遺伝子解析に対する倫理申請に十分な準備を行った後、検体収集体制の構築を行ない、倫理申請承認後の2010年11月より、実際に周産期の異常症例の回収を開始した。

次年度は、合計約330症例(正常対照群150例、妊娠糖尿病80症例、早産50症例、胎児発育不全50症例)を収集した。

最終年度は合計約300症例(正常対照群150例、妊娠糖尿病50症例、早産50症例、胎児発育不全40症例、先天異常10症例)を収集した。

#### 周産期異常の統計解析

(分担研究者 田嶋敦)

周産期異常を伴う疾患の多くは、その発症に複数の環境要因や遺伝要因が関わる多因子性を示すことから、その病因病態解明には、詳細で正確な臨床経過情報と、多数の遺伝情報とを同時分析することが可能であるゲノム網羅的アプローチが有効であると

考えられる。周産期関連疾患の症例対照研究体制の構築のために、本分担課題では、統計学的観点からの検体収集サポート、ならびに遺伝疫学的解析に必要な統計学的基盤整備を目的としている。本年度は、ゲノム全域SNPデータに基づく症例対照関連分析を行うことにより、周産期疾患のひとつである不育症の遺伝的リスクに関して考察した。

SNP、サンプルに対する品質管理基準をそれぞれ設定し、基準を満たした症例対照サンプル(不育症78例、対照80例)につき、648,009SNPs(リスクアレル頻度5%以上の常染色体およびX染色体SNPs)の疾患関連を統計学的に評価した。

コクラン・アーミテージ傾向性検定P値が $10^{-6}$ を下回るSNPを認めたものの(最小P値 $=4.56 \times 10^{-7}$ )、Bonferroni補正有意水準値 $(0.05/648,009 = 7.72 \times 10^{-8})$ を満たすSNPは観察されず、遺伝的効果の大きな不育症関連common SNPが存在する可能性は低いことが明らかになった。

#### 胎児炎症反応症候群の解析

(分担研究者 柳原格)

① 我が国における流産早産起因微生物の同定と、その病原性発揮機構について解析を行った。その結果、1)原因不明の流産早産胎盤の42%からマイコプラズマ科ウレアプラズマ属細菌が分離された。また、2)ウレアプラズマのリポ蛋白質(MBA)および合成したMBA由来リポペプチド(UPM-1)が、自然免疫系(TLR)を介してNF- $\kappa$ Bのシグナルカスケードを活性化すること、3)MBA、UPM-1が妊娠マウス胎盤において誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)の発現を上昇させることを見出し、これらの因子による胎仔・胎盤循環不全の病態が明らかとなった。

② 日本人習慣流産患者に認められるアネキシンA5遺伝子のSNP5のマイナーアレル(T/G, G/G)は習慣流産のリスクファクターであることを報告したが、マイナーアレルG/Gの抗凝固療法に対する反応性は良く12名中10名が生児を獲得した(83%)。本遺伝子多型は、抗凝固療法が必要な症例を個別化できる可能性を示唆した。

#### マウス新生仔期の肝臓における脂肪合成のエピゲノム制御

(分担研究者 小川佳宏)

肝臓は主要な代謝臓器であり、肝臓の脂肪合成系の破綻はインスリン抵抗性や脂肪肝などの生活習慣病態を引き起こすことが知られている。胎生期のみな

らず個体の成長が著しい新生児期も全身臓器の可塑性が高い時期であり、新生児期の栄養環境が成人期の肥満や生活習慣病の疾患感受性に影響を与える可能性がある。本研究は、従来知見のなかった新生児期の肝臓における*de novo*脂肪合成のエピジェネティクス制御の分子機構の解明を目指す新しい試みである。本研究では、出生後の栄養環境変化に応じて変化する肝臓脂肪合成の分子機構に着目し、肝臓の中性脂肪合成の律速酵素Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase 1

(GPAT1; *Gpam*) 遺伝子のDNAメチル化制御の可能性を検討した。マウス肝臓の*Gpam*のプロモーター領域は、成獣と比較して新生仔でDNAメチル化が高く、遺伝子発現と逆相関した。成獣の肝細胞（初代培養）において、*Gpam*プロモーターをDNAメチル化することにより転写因子SREBP-1cのプロモーターへのリクルートとGPAT1の遺伝子発現が減少し、中性脂肪合成が低下した。また、*Gpam*はDNAメチル化酵素Dnmt3bによりDNAメチル化された。さらに、胎仔期～新生仔期における母獣の過栄養の環境が新生仔の*Gpam*プロモーターのDNAメチル化を減少させた。以上より、肝臓の中性脂肪合成の律速酵素GPAT1は新生仔期にDNAメチル化によるエピジェネティックな制御を受けることが明らかとなった。さらに、本研究により、DNAメチル化の網羅的解析法であるMIAMI法

(*Oncogene* 25: 3059-3064, 2006) の導入を完了し、胎仔期～新生仔期～成獣期のマウスの肝臓におけるDNAメチル化状態の網羅的な解析を開始している。

#### 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）

6ヶ月児を対象とした神経芽腫検査事業が、平成15年に休止され、その休止の条件として①本症の罹患と死亡の正確な把握、②マススクリーニングの実施時期変更等、新たな検査方法の検討・評価、③本症による死亡の減少を目指した臨床診断と治療成績向上のための研究の推進と実施体制の確立、の三点への対応が課せられ、その後の解析で、この検査事業で本腫瘍の6歳までの累積罹患率が約2.8倍に上昇した一方で、6歳までに罹患した腫瘍による累積死亡率は半数に減少していた。そこで、本分担研究では、母子コホート研究として、本症の発生機序を解明し、死亡率に結びつく予後不良な神経芽腫の新たな早期発見法と有効な対応策について検討した。

神経芽腫検査事業の休止後のコホート解析を

2010年登録例まで検討した結果、休止後1才未満症例の発症率は速やかに減少したのに対し、2歳以降の症例が有意に増加していた。国際神経芽腫リスク分類委員会（INRG）のデータとの比較からは、検査事業を施行したコホートでは2歳以上の*MYCN*増幅した予後不良例の有意な低下が示され、乳児期に発症した腫瘍が予後不良腫瘍に転化することが示された。施行中の症例を休止後症例と比較すると、予後不良例が1歳以降特に2歳代で増加していた。

18ヶ月でのスクリーニング検査を施行している大阪、京都、札幌での現在までのデータを集計すると、受診例が約20万人に達し、約7000人に1例の発症率で、明らかな過剰診断症例はなく、現在、全例生存で、ある程度の有効性が示されつつある。

過剰診療の観点から、発見された腫瘍の特性を判定する方法として、血清の予後不良例に特異的に上昇するペプチドMHを見出し、一方、神経芽腫細胞の培養上清プロテオーム解析で得たGlutamate decarboxylase活性が予後不良群の血清で有意に低値であった。そこでこの両者を組合わせて測定すると、予後不良例の層別に極めて有効性が高い結果が得られた。さらに、血清中DNAを用いた*MYCN*増幅や染色体1p、11q欠失の診断法を組合わせることで、発見された神経芽腫の悪性度診断の非侵襲的判定がある程度可能となった。

また、多発神経芽腫症例の全エクソン解析から、11番染色体に位置する遺伝子に共通したミスセンス変異を発見し、本腫瘍の易罹患性に関与した変異と考えられ、ゲノムスクリーニングへと展開する可能性が示唆された。

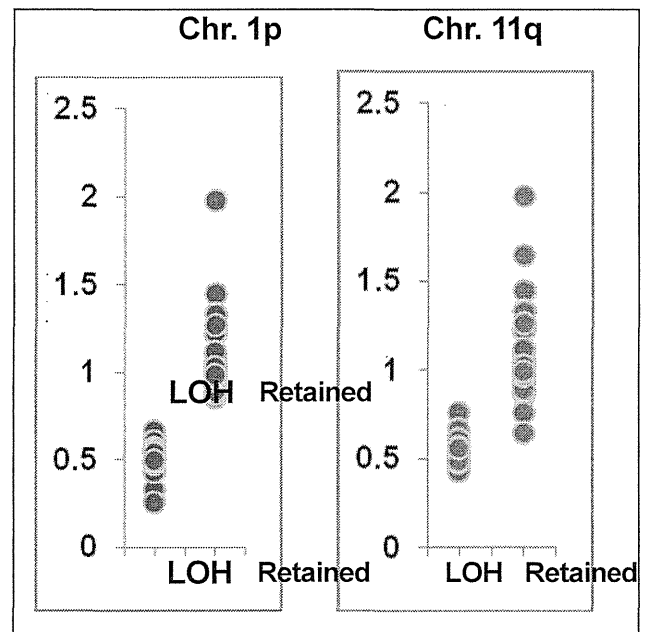


図 1 血清中DNAでのマイクロサテライトマーカーで1番染色体短腕及び1番染色体長腕のLOH (Loss of Heterogeneity) の検索

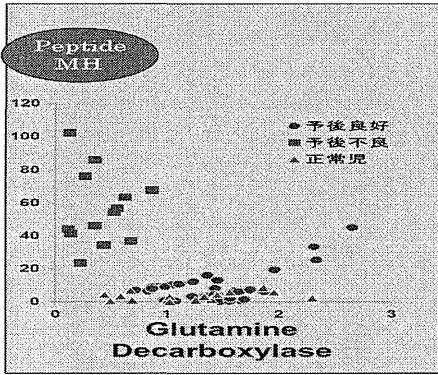


図 2 正常児および診断時血清中の Peptide MH および Glutamine Decarboxylase 値と生物学的特性

#### D 考察

早産・低出生体重児、およびハイリスク妊娠児を対象とし、幅広くペアドコントロールをとって健常児も含めた母子コホート研究を、国立成育医療研究センターにて開始し、継続してリクルートを行ってきた。母子の血液・尿・唾液検査、臍帯血・胎盤採取とそのバンク化を行い、質問紙や身体検査のデータと生化学データ、ゲノム・エピゲノム解析を総合した研究の基盤整備を行い、推進した。

胎児期の栄養状態で潜在的な慢性疾患高リスク群が存在するという仮説を証明するためには、本研究の「正常新生児エピゲノム多様性」を指標にした解析が必要となる。本研究では、この解析が可能となる。

これまでに収集したデータより、低出生体重児にエピゲノム異常を認める症例を見いだした他、胎児成長と母体体格の関連、成長因子やアディポサイトカインとの関連、父母の心理要因との関連を見いだした。児の神経学的発達予後と子宮内発育状態についても検討が進められている。運動・神経発達に関する検討では、新規に簡便な発達評価尺度を開発し、また、正常の発達過程をより詳細に観察し、睡眠や注視の成熟過程を明らかにしたことで、本研究成果を発達障害の早期発見、早期療育介入に利用可能である。

生後早期の成長と甲状腺ホルモンの関連や、母体のヨード曝露の母児への影響にも貴重なデータを得た。さらに、母子間のみならず、祖母から3世代にわたる疾患罹患の解析を行うことで、環境因子と遺伝因子の関連を検討していくことが可能である。こ

れらのデータの中には、健全な妊娠と出産、児の成長発達障害の予防につながるものがあると考えられる。

今回の解析結果と、各症例の臨床情報を精査して、病歴別のSGA関連遺伝子群を検索することにより、原因不明のSGAの病型分類が出来る可能性がある。また、妊娠高血圧症候群発症の観点からもART妊娠はハイリスクであることが再認識され、行政によるサポートが安全な出産に不可欠であり少子化対策となりうる事が確認された。類似の研究は国内で行われておらず、当該分野を独占的にリードした研究と言える。

基礎的研究においては、世界で初めて新生児期(授乳期)の栄養環境によりDNAメチル化の変化を介して肝臓における新規脂肪合成の律速酵素の遺伝子発現制御に関与することが証明され、ヒトにおける検討の必要性を提案することができた。新生児期(授乳期)の栄養環境が成人期の生活習慣病の発症に関連する可能性が明らかになり、器官形成期に一致する胎児期(妊娠期)～新生児期(授乳期)における母子の食事指導の見直しにつながる可能性があり、社会的にも大きなインパクトがあると予想される。

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ることから、胎内環境改善対策は重要である。

今回の研究では、成人期になるより以前、生後早期から低出生体重の影響も見られると考えられ、さらに詳細な調査が必要と考える。

#### E 結論

大規模母子コホート研究を、倫理委員会の承認を得て推進した。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

成果を示した HP など

<http://www.tmd.ac.jp/grad/cme/activities/index.html>

#### 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。

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)

平成 22-24 年度総合研究報告書

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

分担研究課題：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

研究代表者 堀川玲子 (独) 国立成育医療研究センター内分泌代謝科 医長

**研究要旨** 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。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、出生児に占める低出生体重児の割合は、10%と高率である。このような背景をもった児は、成長障害・性成熟・代謝の異常を有する率が高く、さらに前述のように成人期疾患や次世代への影響も懸念される。

本研究では、国立成育医療研究センターにおいて、妊婦とその児を対象として、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)、および早産・SGA やハイリスク妊娠より出生した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行い、胎生期及び生後の成長に關与する因子を明らかとすることを目的とした。

二年度は、早産・SGA 児を中心とし、コントロール群とハイリスク妊娠児を含めた母子コホート研究を進め、計測の他臍帯血採取を進めた。児の胎児期の成長と、母の妊娠前の BMI、IGF-I、アディポサイトカインの関連が認められ、胎児成長におけるジェネティックな要素の他エピジェネティックな因子の關与、成長因子の重要性、アディポネクチンとの相関が示唆された。

三年度は、早産・SGA 児を中心とし、コントロール群とハイリスク妊娠児を含めた母子コホート研究を進め、計測の他臍帯血採取を進めた。また、近年骨外作用が注目されている VD について、494 組の母子を対象として妊娠母体および臍帯血中ビタミン D を測定し、母体 VD が半数例において推奨値未満であり、母体血 VD は臍帯血 VD と正の相関を示すことを認めた。VD と胎児成長、臍帯血の成長因子・代謝因子との相関は認めなかった。

## 研究協力者

山本晶子 国立成育医療研究センター  
内木康博 国立成育医療研究センター  
西垣五月 国立成育医療研究センター  
宮下健悟 国立成育医療研究センター  
水野裕介 国立成育医療研究センター  
深見真紀 国立成育医療研究センター研究所

## A 研究目的

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ことが挙げられる(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・代謝の異常を有する率が高く、さらに成人期疾患や次世代への影響も懸念される。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。

本研究の目的は、早産・低出生体重児(SGA)の病因と予後を明らかにすることである。このため、国立成育医療研究センターにおいて、早産・SGA 児とその母の両方を対象としたケースコホート研究とそのコントロールとしての健常児コホート研究を行い、SGA や母体ハイリスク妊娠児の成長成熟予後・代謝予後に關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。

近年ビタミン D (VD) の糖代謝等、骨以外に対する作用が注目されている。成人病胎児起源説にもビタミン D が關与している可能性が示唆されている。また、妊娠中の母体におけるビタミン D 欠乏症が胎

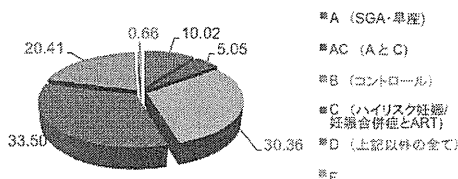




参加再同意を 1224 名から得た(再同意率 89.4%)。対象を早産・低出生体重児群 (A 群)、ペアドコントロール群 (B 群)、ハイリスク妊娠群 (基礎疾患、妊娠中薬剤曝露、生殖補助医療妊娠、高齢出産等 : C 群)、それ以外の正常コントロール群 (D 群) に分類した。1 ヶ月時のフォロー率は 89.6%、1 ヶ月時に質問紙を回収し、健診に参加した参加者の 1 歳におけるフォローアップ率は 91%であった。

### 群振り分け

(n=1367)

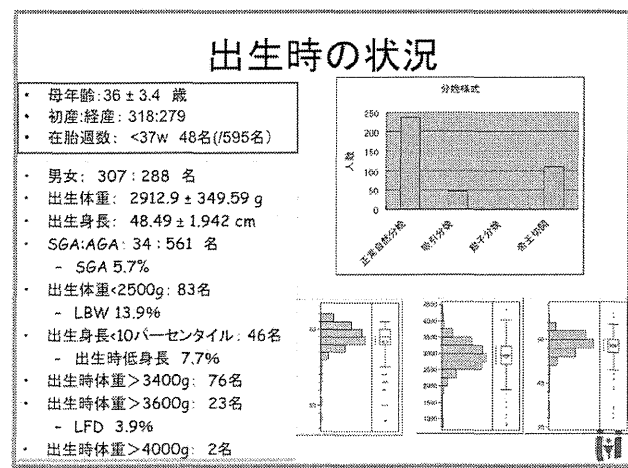


群	人数	目標人数
A: 早産・低出生体重	168-31-137	400名⇒250
B: コントロール	482-67-415	500名
C: 合併症・ART・ハイリスク妊娠	530-72=458	400名
D: その他	303-24=279	
AC: A+C	83-14=69	

母体年齢との相関は認めなかった。一方、SGA 児 (n=111)においては、出生時体重は臍帯血中 IGF-I、アディポネクチンと強い正の相関を示し (各々  $R^2=0.249, P=0.0041$ 、 $R^2=0.254, P=0.0004$ )、レプチンとは弱いながら有意の相関を示したが ( $R^2=0.0157, P=0.0448$ )、インスリンとは有意な相関は認めなかった。臍帯血中 IGF-I、レプチン、アディポネクチンは、AGA (Appropriate for gestational age) において SGA より有意に高値であった ( $P<0.0001$ )。

SGA 児は AGA 児に比し、生後一ヶ月間の BMI 増加が有意に大きかった。

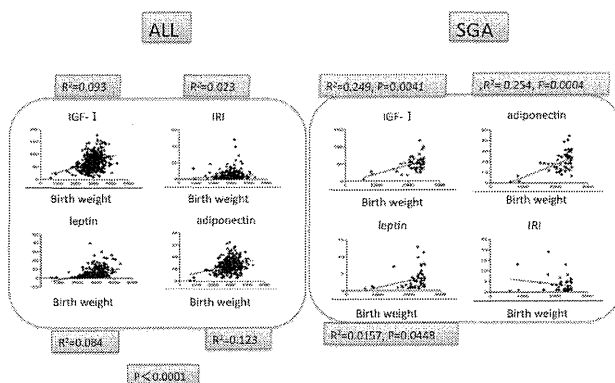
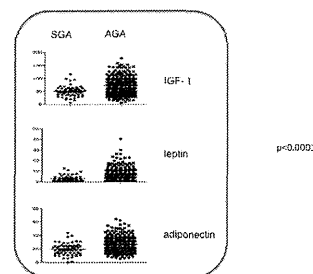
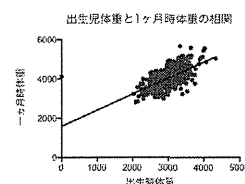
2) コホート参加者背景 : 本コホートに参加同意を得た参加者の出生時状況を表に示す。(出生 595 名時におけるまとめ)



3) 胎生期・生後早期の成長に関する因子の検討

679 名の児の出生時体重は、 $2903.9 \pm 493.3$  g (平均 $\pm$ SD)、出生時身長  $48.49 \pm 1.94$  cm であった。出生時体重は参加者全体としては、臍帯血中 IGF-I ( $R^2=0.093, P<0.0001$ )、インスリン ( $R^2=0.023, P<0.0001$ )、レプチン ( $R^2=0.1228, P<0.0001$ )、アディポネクチン ( $R^2=0.08359, P<0.0001$ ) と有意な相関を示した。

満期産で標準体重で出生した児においては、出生時体重は母の妊娠前体重と有意な相関を示したが、



## 2. 母子の血中 VD と代謝因子、成長との関連

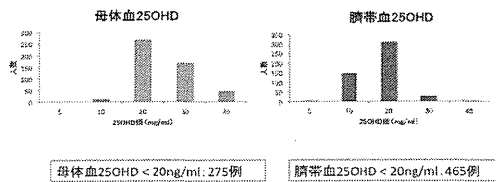
対象の母体年齢は平均 35.8 歳 (24-46 歳)、経産 : 初産は 273 : 221 であり、児の在胎週数は中央値 39 週 0 日 (23 週 6 日-41 週 5 日)、出生体重中央値は 2964g (596-4332g)、出生身長中央値 49cm (31-56cm)、児の男女比 257 : 237 であった。

妊娠中期母体血の 25OHD 中央値は 18.9mg/ml (8.3~39.8) で、そのうち 20mg/dl 未満の症例が 275 例と半数以上を占めていた。また、臍帯血の 25OHD 中央値は全体で 11.8mg/ml (3.5~35.3)、満期産では低値を示し、母体血と臍帯血の 25OHD は、正の相関を認めた ( $r=0.41$ ,  $p<0.001$ )。また、妊娠中の体重増加量と児の出生体重は正の相関を認めた ( $n=256$ ,  $r=0.23$ ,  $p=0.0002$ )。一方、母体血および臍帯血 25OHD と出生体重との相関は認めず、それぞれの 25OHD 中央値は SGA と AGA 間で差を認めなかった (母体血 SGA:20.35mg/dl、AGA:18.9mg/dl、臍帯血 SGA:10.3mg/dl、AGA:11.9mg/dl)。

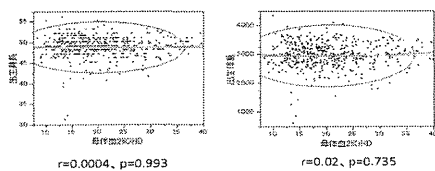
臍帯血 25OHD と IGF-I は弱い正の相関を認めたが ( $r=0.10$ ,  $P=0.0261$ )、レプチン、コレステロール、インスリンには有意な相関は認めなかった。

### 母体血25OHDと臍帯血25OHD

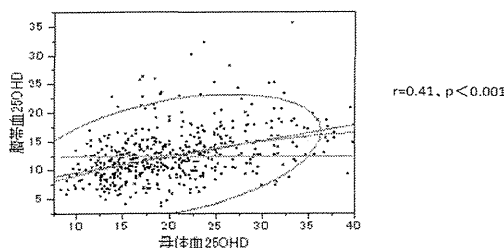
母体血25OHD 平均(範囲)	18.9ng/ml (8.3~39.8)
臍帯血25OHD 平均(範囲)	11.8ng/ml (3.5~35.3)



### 母体血25OHDと出生体重・出生身長の関係

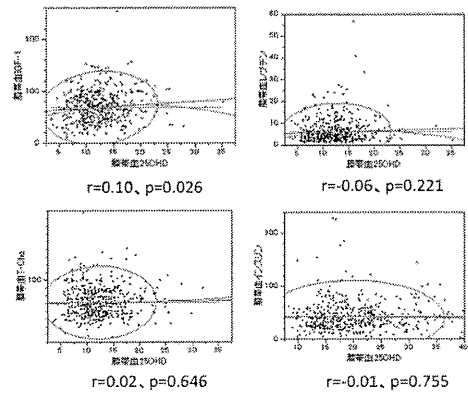


### 母体血25OHDと臍帯血25OHDの関係



母体血及び臍帯血25OHDでは半数以上が20ng/ml未満。  
母体血25OHDと臍帯血25OHDは正の相関を認める。

### 臍帯血25OHDとIGF-1、レプチン、T-Chol、インスリンの関係



### SGA・AGA・LGAにおける母体血・臍帯血25OHDの比較

	SGA	AGA	LGA
人数 (人)	26	467	1
母体血25OHD (ng/ml)	20.35	18.9	12.8
臍帯血25OHD (ng/ml)	10.3	11.9	6.6

### D 考察

本研究では、母児を対象とし、早産・SGA 児を核として、そのペアドコントロールと、母体ハイリスク妊娠児に対するコホート研究を開始し、リクルートを進めてきた。全出生に対する研究参加率は約 56%、追跡率は出産後の段階で 96% である。

今年度、母体の因子、出生時の臍帯血中生化学指標と児の胎児期及び生後早期の成長について検討した。母体の妊娠前の体格 (BMI) が出生体重と有意に相関することは、胎児成長が遺伝的要因で規定されている部分があること、受精時の母体の栄養状況がエピジェネティックな因子として胎児の成長に影響している可能性が示唆された。

臍帯血中 IGF-I は、児の出生時体重に強く相関した。IGF-I が胎児成長の規定因子であることが示された。一方、レプチンやアディポネクチンといった、アディポサイトカインも出生時体重と有意な正の相関を示した。これは、胎児成長の規定因子というよりは、胎児の脂肪組織量を示す結果を見ていると考えられる。

SGA 児では、AGA 児に比して身長増加に対する体重増加の割合が高く、結果として BMI 増加率に有意差が認められた。このような体重の急激な増加が、後に代謝系にどのような影響を及ぼすか、注意

深い観察が必要である。

近年ビタミン D (VD) が膵内分泌機能、すなわち糖代謝に影響することが示され、骨以外に対する作用が注目されている。成人期の糖尿病発症と VD の関連を示す報告も散見される。さらに、成人病胎児起源説にもビタミン D が関与している可能性が示唆されている。また、妊娠中の母体におけるビタミン D 欠乏症が胎児期もしくは新生児期の身体精神発育に影響を与えるという報告もあるが、本邦で胎児成長とビタミン D の関連を検討したデータはまだない。今回の我々の研究では、本邦の妊婦及び臍帯血中 25OHD は、一般の推奨値より低値であった。VD と IGF-I は有意な正の相関を示し、IGF-I と出生体重は正の相関を示したが、VD と出生体重は有意な相関を示さず、VD が胎児成長、IGF-I 以外の代謝因子に及ぼす有意な影響は確認できなかった。今後児の生後成長や代謝系への関与をフォローしていくとともに、母体の糖代謝との関連についても検討していく予定である。

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ると言われており、長期間のコホート調査によって日本人での実態が明らかとなることが重要である。

## E 結論

早産・SGA 児を中心とし、コントロール群とハイリスク妊娠児を含めた母子コホートを進めた。

児の胎児期の成長と、母の妊娠前の BMI、IGF-I、アディポサイトカインの関連が認められ、胎児成長におけるジェネティックな要素の他、エピジェネティックな因子の関与、成長因子の重要性、アディポネクチンとの相関が示唆された。

また、本邦の妊婦及び臍帯血中 25OHD は、一般の推奨値より低値であった。VD と IGF-I は有意な正の相関を示し、IGF-I と出生体重は正の相関を示したが、VD と出生体重は有意な相関を示さず、VD が胎児成長、IGF-I 以外の代謝因子に及ぼす有意な影響は確認できなかった。今後児の生後成長や代謝系への関与をフォローしていくとともに、母体の糖代謝との関連についても検討していく予定である。

## F 健康危険情報

なし

## G 研究発表

### 【原著論文・総説】

1. 堀川玲子 周産期診療指針 2010 新生児科編 2. 症状による診断と治療 26) 外性器異常 周産期医学 vol140 増刊号 東京医学社 (2010)
2. Yamazawa K, Akabayashi K, Kagami M, Sato T, Saito S, Horikawa R, Hizuka N, Ogata T. Parthenogenetic chimaerism/mosaicism with a Silver-Russell syndrome-like phenotype. *Med Genet*; Aug 3: Epub ahead of print, 2010
3. Isojima T, Yokoya S, Ito J, Naiki Y, Horikawa R, Tanaka T. Proposal of New Auxological Standards for Japanese Girls with Turner Syndrome. *Clin Pediatr Endocrinol*. 19(3):69-82, 2010.
4. Sato Y, Warabisako E, Yokokawa H, Harada S, Tsuda M, Horikawa R, Kurokawa Y, Okada T, Ishizuka N, Kobayashi Y, Kishi M, Takahashi T, Kasahara Y, Imazeki N, Senoo A, Inoue S. High cardiovascular risk factors among obese children in an urban area of Japan. *Obesity Research & Clinical Practice* 4: e333-337, 2010.
5. 堀川玲子 小児期から始まる生活習慣病-実態と予後 環境ホルモン学会 NewsLetter 12(4) 2010.
6. 堀川玲子 性分化と思春期発来の生物学的メカニズム 思春期青年期精神医学 20(1):43-50, 2010
7. Inoue H, Kangawa N, Kinouchi A, Sakamoto Y, Kimura C, Horikawa R, Shigematsu Y, Itakura M, Ogata T, Fujieda K. Japan Growth Genome Consortium. Identification and functional analysis of novel human growth hormone-releasing hormone receptor (GHRHR) gene mutations in Japanese subjects with short stature. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 74:223-33, 2011.
8. Fukami M, Muroya K, Miyake T, Iso M, Kato F, Yokoi H, Suzuki Y, Tsubouchi K, Nakagomi Y, Kikuchi N, Horikawa R, Ogata T. GATA3 abnormalities in six patients with HDR syndrome. *Endocr J*. 58:117-1, 2011.