

発現に影響を与える遺伝因子について、
SNP アレイ解析などを用いた検討を追加
する。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括
研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

厚生労働科学研究委託費（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

早産・胎内発育不全の胎盤等生体資料を用いたDNAメチル化を含めた
エピジェネティクス分析

担当責任者 氏名 秦 健一郎 独立行政法人国立成育医療研究センター・部長

研究要旨：

エピジェネティックな遺伝子発現制御は、胎児や胎盤の発生分化の必須の機構である事が知られている。また、子宮内環境は胎児のエピジェネティックな修飾状態を変化させる事がモデル生物で示されている。これらの知見を基に、本研究では、ヒト早産や胎児発育不全症例の臍帯血あるいは胎盤を用い、エピジェネティックな修飾状態の変化の有無を正確に検出する系を確立し、病態の解明や、出生後も長期遺残しうるエピゲノム変化の同定を行う。

A. 研究目的

エピジェネティックな遺伝子発現制御は、胎児や胎盤の発生分化の必須の機構である事が知られている。また、子宮内環境は胎児のエピジェネティックな修飾状態を変化させる事がモデル生物で示されている。これらの知見を基に、本研究では、ヒト早産や胎児発育不全症例の臍帯血あるいは胎盤を用い、エピジェネティックな修飾状態の変化の有無を正確に検出する系を確立し、病態の解明や、出生後も長期遺残しうるエピゲノム変化の同定を行う。本研究班の特徴を生かし、他の分担研究との連携により、早産・胎児発育不全症例の経過あるいは疫学的情報を含めた解析を進める。

B. 研究方法

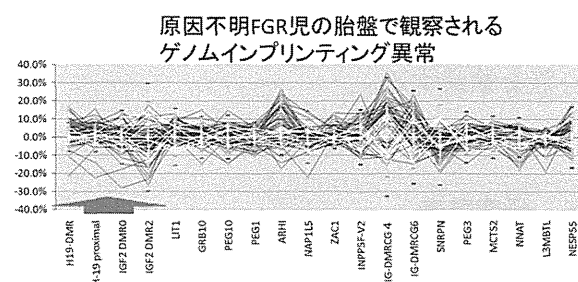
胎児発育不全症例および妊娠 37 週未満に出生した早産例から、臍帯血および胎盤（胎児面の絨毛膜板）を回収し、ゲノム DNA を精製する。エピジェネティックな修飾のうち、インプリンティング遺伝子の DNA メチル化状態は、諸家の報告からすでに胎児や胎盤の発生分化に直接重要な役割を担っていることが知られており、かつ、週数や環境因子に影響を受けない（受けにくい）領域と予測される。これらの特異的領域の DNA メチル化異常スクリーニングは、Bio-COBRA 法により行った（バイサルファイト変換後に非メチル化シトシンがウラ

シルに変換され、多型が生じることを利用し、制限酵素処理により多型判定をする手法、COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis) 法を改変し、キャピラリー電気泳動により定量性を高めたスクリーニング手法)。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト由来のゲノム解析・遺伝子解析研究であるためヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針をはじめとする関連法令と指針を遵守して計画され、本センターおよび連携研究者の所属する機関の倫理委員会の承認を得て行っている。すべての検体は、書面で患者本人もしくは代諾者からインフォームドコンセントを得た後に採取され、採取時に各医療機関で匿名化が実施された。網羅的遺伝子解析については、説明書・同意書を用いて同意を取得した。

C. 研究結果



上図に示すように、原因不明胎児発育不全症例の一部に、H19 領域の低 DNA メチル化異常が

同定された。これらの異常は、胎盤形成不全と胎児発育不全を呈することが知られており、実際にこれらの症例の病態に関与していると考えられた。

D. 考察

本年度は、既収集検体 250 例の解析を行い、そのうち 3 例に結果に示したようなエピゲノム異常を同定した。これらのエピゲノム異常は、同部位にエピゲノム異常を来すシルバー・ラッセル症候群が胎児発育不全を呈すること、あるいはモデル生物の解析結果から、胎児発育不全に直接関与する異常と考えられる。来年度以降は、これらの異常がインプリンティング遺伝子の調節領域特異的な変化か否かを検証するために、より広い領域を標的としたスクリーニングを進めていく。すなわち、Infinium Human Methylation450Beadchip を用い、常染色体上の 47 万か所の CpG サイトの DNA メチル化状態を比較検討する。胎児発育遅延の表現型に直結しない領域も含めてゲノム全域をスクリーニングすることで、これらの症例のエピジェネティックな背景を評価し、エピジェネティックな変異 (変化) のホットスポットの有無を解析する。

E. 結論

本年度は、既収集検体を用いたエピゲノム異常のスクリーニングを用い、原因不明とされる胎児発育不全症例の一部に、実際にエピゲノム異常 (胎児と胎盤の発育に関与するインプリンティング遺伝子の調節領域の DNA メチル化異常) を見出した。これらの症例の詳細な解析と報告を進めると共に、来年度以降は、よりスクリーニング領域を広げ、症例群で観察されるより広範なエピゲノム異常、あるいは診断指標となるエピゲノム変化の有無を検索する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Migita O, Maehara K, Kamura H, Miyakoshi

- K, Tanaka M, Morokuma S, Fukushima K, Shimamoto T, Saito S, Sago H, Nishihama K, Abe K, Nakabayashi K, Umezawa A, Okamura K, Hata K: Compilation of copy number variants identified in phenotypically normal and parous Japanese women. *J. Hum. Genet.* 2014;59:326-331
2. Sakashita A, Kobayashi H, Wakai T, Sotomaru Y, Hata K, Kono T : Dynamics of genomic 5-hydroxymethylcytosine during mouse oocyte growth. *Genes Cells.* 2014;19:629-636
3. Kao TH, Liao HF, Wolf D, Tai KY, Chuang CY, Lee HS, Kuo HC, Hata K, Zhang X, Cheng X, Goff SP, Ooi SK, Bestor TH, Lin SP : Ectopic DNMT3L Triggers Assembly of a Repressive Complex for Retroviral Silencing in Somatic Cells. *J Virol.* 2014;88:10680-10695
4. Liao HF, Chen WS, Chen YH, Kao TH, Tseng YT, Lee CY, Chiu YC, Lee PL, Lin QJ, Ching YH, Hata K, Cheng WT, Tsai MH, Sasaki H, Ho HN, Wu SC, Huang YH, Yen P, Lin SP : DNMT3L promotes quiescence in postnatal spermatogonial progenitor cells. *Development.* 2014;141:2402-2413
5. Lee SM, Lee YG, Bae JB, Choi JK, Tayama C, Hata K, Yun Y, Seong JK, Kim YJ: HBx induces hypomethylation of distal intragenic CpG islands required for active expression of developmental regulators. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:9555-9560
6. Yokonishi T, Sato T, Komeya M, Katagiri K, Kubota Y, Nakabayashi K, Hata K, Inoue K, Ogonuki N, Ogura A, Ogawa T: Offspring production with sperm grown in vitro from cryopreserved testis tissues. *Nat Commun.* 2014;5:4320
7. Maeda T, Higashimoto K, Jozaki K, Yatsuki H, Nakabayashi K, Makita Y, Tonoki H, Okamoto N, Takada F, Ohashi H, Migita M, Kosaki R, Matsubara K, Ogata T, Matsuo M, Hamasaki Y, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Hata K, Soejima H: Comprehensive and quantitative multilocus methylation analysis reveals the susceptibility of specific imprinted differentially methylated regions to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations. *Genet Med.* 2014;16:903-912
8. Romaneli V, Nakabayashi K, Vizoso M, Moran S, Iglesias-Platas I, Sugahara N, Simón C, Hata K, Esteller M, Court F, Monk D: Variable maternal methylation overlapping the nc886/vtRNA2-1 locus is locked between hypermethylated repeats and is frequently altered in cancer. *Epigenetics.* 2014;9:783-790 (in press)

9. Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K : Somatic CTNFB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. Am J Med Genet A. 2014;164:993-7
10. Kawai YL, Yura K, Shindo M, Kusakabe R, Hayashi K, Hata K, Nakabayashi K, Okamura K: Complete genome sequence of the mitochondrial DNA of the river lamprey, Lethenteron japonicum. Mitochondrial DNA. 2014 (in press)
11. Court F, Tayama C, Romanelli V, Martin Trujillo A, Iglesias-Platas I, Okamura K, Sugahara N, Simón C, Moore H, Harness JV, Keirstead H, Vicente Sanchez-Mut J, Kaneki E, Lapunzina P, Soejima H, Wake N, Esteller M, Ogata T, Hata K, Nakabayashi K, Monk D: Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of the human imprintome and suggests a germline methylation independent establishment of imprinting. Genome Res. 2014;24:554-569

2. 学会発表

(招待講演のみ)

1. 秦健一郎: 胎盤における環境エピゲノム変化とその医療活用. 第3回日本DOHaD研究会学術集会, 東京, 2014.7.26
2. 秦健一郎: 「次世代シーケンサーの日常診療への応用～環境は遺伝するか? 新型出生前診断の次は?」 第13回別府遺伝医学セミナー, 別府, 2014.6.4
3. 秦健一郎: 生殖・周産期のエピジェネティクス. 第87回日本内分泌学会学術総会, 福岡, 2014.4.27
4. 秦健一郎: 胎児発育異常のゲノム・エピゲノムの解析. 群馬大学生体調節研究所, 前橋, 2014.3.7
5. 秦健一郎: 「環境は遺伝する?～周産期医療にかかわるジェネティクスとエピジェネティクス～」, 第7回福岡胎児医療フォーラム, 福岡, 2014.1.31

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究委託費（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

電子化した NICU 退院手帳による極低出生体重児の全国共通長期フォロー体制強化
と長期予後の収集に関する研究

担当責任者 河野 由美 自治医科大学小児科学 学内教授

NICU 退院時の超長期フォローアップと健康管理が可能な NICU 退院手帳の電子化のための内容と方法を検討した。電子化手帳の内容は、NRN データベースと連結できる患者家族が保管することが望まれるデータと医療機関同士また医療機関と患者家族の双方向性情報交換のために必要な項目を確定し、Neonatal Research Network (NRN) データベースと共通の予後データ項目のテンプレート用電子ファイルを作成した。電子化の方法とシステム要件として、1) 電子カルテに記録された情報の使用に加え、時系列的に追跡できること、2) 患者家族自身が子どもの健康や医療の履歴を確認でき、医療機関側からは受診の勧奨などが行える双方向性のポータルサービス機能をもつこと、3) 患者家族自身が個人番号と手帳を保有するとともに、NRN データベースとひも付ける仕組みにより個人情報の保護が可能なこと、が挙げられた。

研究協力者

豊島勝昭 神奈川県立こども医療センター
新生児科

新生児医療のアウトカムとなる予後情報を含むものであり、超長期的コホート研究に活用することにより、医療の質の向上、ライフコース疫学的エビデンスを創出する基盤となる。

A. 研究目的

高度な周産期医療を NICU でうけ生存退院した児の予後は、一般児と比べ合併症や障害のハイリスクである。中でも極低出生体重児は、神経学的障害や発達障害のリスクが高い。近年では、成人期のメタボリック症候群のリスクや精神疾患、慢性閉塞性肺疾患(COPD)等の呼吸器疾患、また次世代へ影響も海外からは報告されている。そうした中、NICU を退院した極低出生体重児のフォローアップが長期的に継続され、自身の疾患や障害に関する情報の取得と提供を可能にする仕組み作り求められ、電子化 NICU 退院手帳は、その方法として想定されたものである。電子化 NICU 退院手帳は、周産期

本分担研究の目的は、1) 電子化 NICU 退院手帳の内容の策定、2) 電子化データの取得・提供方法の検討、3) 電子化システムによる全国共通長期フォロー体制の構築方法の検討である。

B. 研究方法

1) 電子化 NICU 退院手帳の内容の策定
2003 年より構築され、出生時から NICU 退院時までの疾病・治療等とその後の修正 1 歳半、暦年齢 3 歳での成長発達予後に関するデータを電子化して登録されている NRN データベースの中から、①患者家族自身が持つことで継続的に医療に関わる意識をもたらず情報、②転居

時に別の医療機関に受診する際やかかりつけ医である一次医療機関へ受診する際に共有されることが望ましい情報を選択した。

2) 電子化データの取得・提供方法の検討

電子カルテとしての要件に加えて、出生前から成人期にいたるまで追跡するコホート研究に資するデータ構築のための必要条件とその方法を検討した。

C. 研究結果

1) 電子化 NICU 退院手帳の内容

NRN データベースの「患者家族自身が保有することが望ましい」項目と退院後のフォローアップにおける成長、発達、疾病の記録から構成される。患者家族が保管する手帳としては、身近な内容の「いわゆる母子健康手帳のような体裁」で、わかりやすいインターフェースを用いた電子化が必要と考える。より詳細な内容については、家族の同意のもと NRN データベースと連結することにより各医療機関で取得することが可能になるように構築される。

まず NRN データベース 予後調査項目の改修（表 1、表 2）を行った。従来の神経学的障害（Neurodevelopmental Impairments : NDI）の評価に加え、現在必要とする医療ケアの内容を追加した。NRN データベースの NICU 退院時情報、予後情報から患者家族が保管する項目を選択し、医療機関同士また医療機関と患者家族の双方向性情報交換のための項目を追加し、電子化 NICU 退院手帳の構築案（図 1）と NRN データベースとの相互性を保管した内容を作成した（表 3）

2) 電子化データの取得・提供方法の検討

①電子データとしての要件

一般的に医療情報を扱う電子カルテにおいては、個人情報の保護の確保とともに電子保存の 3 条件（真正性、見読性、保存性の確保）を満

足することが基本となる。また、新しいシステムへの移行や、不特定の医療施設との情報連携のために、出来る限り HL7（電子化ヘルスケア情報の包括的枠組みに関する標準）、DICOM（医療画像のフォーマットとそれらを扱う機器間の通信プロコルを定義した標準規格）などの標準的なデータ形式を使用していることも要件となる。さらに厚生労働省電子的診療情報交換推進事業（SS—MIX）により記録された利用情報の電子化・標準化の普及がすすめられている。

構築を検討している電子化 NICU 退院手帳においては、出生前から成人期に至るまでの個人個人を時系列的に追跡するコホート研究に資するデータ構築であること、患者家族自身が自分の健康や医療の履歴を確認できること、医療機関側からは受診履歴の確認や受診の勧奨などが行える双方向性のポータルサービス機能をもつことが望まれる。

以上の国全体の医療情報の電子化の中で、NICU退院手帳の電子化方法とそのシステムについて、平成 26 年 12 月 1 日に、電子カルテや医療情報交換システムの構築を行っている団体、企業等を交えて検討した。研究班としての【電子 NICU 退院手帳の理想とする条件】は以下のとおりである。

1. 病院からデータを取り出す際の個人情報保護がクリアできる
2. 患者自身が自分のデータにアクセスでき、患者の許可があれば医療機関もアクセスできる
3. 全国どこでも同様に利用できる（共通性の担保）
4. 電子カルテシステムのベンダーやパッケージに制限されない
5. 患者がもし手帳を紛失した場合でも、セキュリティが担保される

6. 出生前から成人に至るまで長期にわたって使用できる
7. 未熟児分野に限らず様々な疾患、学会が利用できるような汎用性のあるシステムであること
8. 研究予算は期限があることから、それに頼らない持続可能な制度であること

これらの条件について、議論となった点は、以下のとおりである。

1. データを取り出すには、入力される情報の標準化が必要である。
2. 患者側はデータを持ちたいと考えていると思うが、医者側がどこまで受け入れられるかを不明確である。
3. 出力フォーマットの標準化が必要である。
4. サーバーを構築するまでは、公金などを使って構築できるが、維持するための企業参入が難しい。
5. 行政側（福祉）の情報を病院側がもっていない。

これらの検討結果から、必要な情報の内容および形式の標準化が最優先される課題であることが明らかとなった。

②データの出入力

電子化 NICU 手帳の内容は、通常の診療で行われる診察や検査の結果であり、各医療機関の電子カルテ内に記録されている。これらのデータが効率よく電子化 NICU 手帳に出入力されるシステムを構築する必要がある。前述した HL 7 による標準化データの他、各医療機関での電子カルテに対応できる形式で、出入力されるテンプレートを作成し、標準化されていないデータについても SSMIX 形式により保管されるようにすることが必要である。電子カルテへ入力するためのテンプレートの作成と電子カルテから出力するためのデータ形式を確定することにより、医師による手入力などの煩雑な

作業がなくとも電子化データが蓄積されていくようにシステムの構築を行う。

本年度は表 1、表 2 の項目が既存の NRN データベースと同じソフトウェアであるアクセスを使用したデータベース用のテンプレート見本を作成した。

D. 考察

NICU を退院した極低出生体重児の長期フォローアップについて、これまでも多くの試みが行われていたが、医療者側からのみの追跡では、数年のうちにフォローアップから脱落していくケースが多く、学童期以後の予後、特に思春期、成人期の予後について不明なままの現状である。一方、成人の糖尿病、高血圧などのメタボリック症候群、腎機能障害、精神疾患、呼吸器疾患が低出生体重と関連している事が海外から報告されており、日本でも今後その増加が予想される。NICU 退院手帳は患児側が出生時から NICU での情報を含む電子化された手帳であり、成人に至るまで自分の健康状態に目を向け、医療機関と双方向性のポータルサービス機能により超長期的追跡が可能な、有用なツールとなる。

本年度の研究により、電子化NICU手帳の内容が確定し、電子カルテ内の記録から出力されるよう、項目とデータ形式の標準化をすすめることが優先課題であることが明らかとなった。そのために、NICUの患者情報となるNRNデータベースの形式で、必要な予後情報の確定と電子カルテのテンプレートとなる電子化ファイルを作成した。しかし、全国の周産期医療ネットワーク施設が用いているNICUの電子カルテ、フォローアップに使用している電子カルテのシステムとベンダー、各施設が独自に作成しているデータベースの運用等は異なるため、それらを調査し、電子化NICU手帳へ対応できる方

法を確立する必要がある。

来年度には、全国のNICU電子カルテ、フォローアップ外来電子カルテのシステムとベンダーと独自データベースの調査を行い、それらに適応するNICU退院手帳用テンプレートの作成、電子カルテから出力するためのデータ形式を確定し、パイロット研究を実施する予定とした。

E. 結論

極低出生体重児を対象とした超長期フォロー

アップのための電子化 NICU 退院手帳の内容を策定し、データベース用のテンプレート見本を作成し、電子データとしての要件、データの入出力の方法について検討した。今後、電子カルテへの実装、パイロット研究を予定している。

F. 研究発表

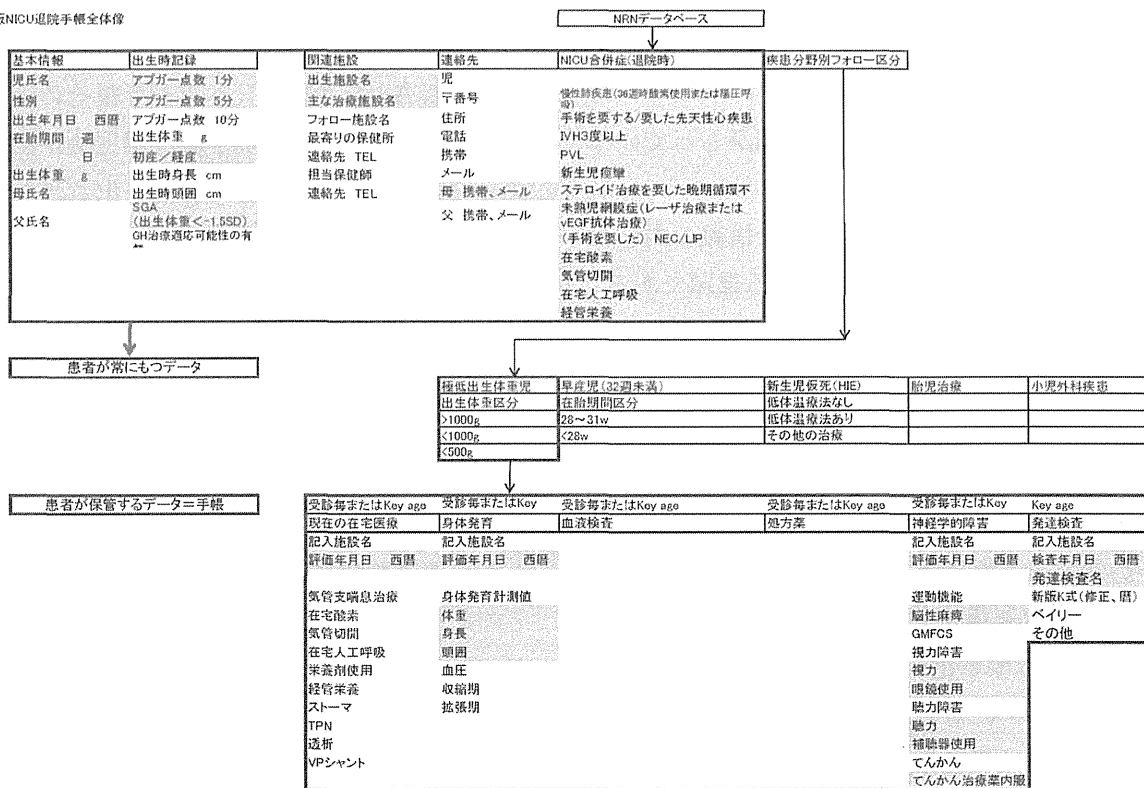
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 電子化NICU退院手帳システム原案

電子版NICU退院手帳全体像



厚生労働科学研究委託費（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

極低出生体重児の超長期予後
ーフォローアップ施設を中心とした後ろ向き研究ー

担当責任者

板橋家頭夫（昭和大学医学部小児科学講座）

研究協力者

平澤 恭子（東京女子医大小児科） 側島 久典（埼玉医大総合医療センタ
吉田 丈俊（富山大学医学部小児科） ー新生児科）
大木 茂（聖霊浜松病院新生児科） 市場 博幸（大阪市立総合医療センタ
中野 有也（昭和大学医学部小児科） ー新生児科）
児玉 雄介（昭和大学医学部循環器内 日比野 聡（昭和大学医学部小児科）
科）

研究の要旨

周産期医療の進歩により出生体重 1500g 未満で出生した極低出生体重児の生存率が著しく向上し、それに伴い長期予後への関心が高くなってきている。Developmental Origins of Health and Disease の視点で見れば、胎児環境や出生後の環境に問題がある極低出生体重児は non-communicable diseases (NCDs) のハイリスク群であると考えられ、それを示唆する諸外国の報告も増えつつある。一方、極低出生体重児の生存率は世界的にみてトップレベルであるにも関わらず、我が国ではほとんど検討されてこなかった。人工肺サーファクタントをはじめとする現代の NICU の治療手技が導入されてから約 30 年しか経過しておらず、NCDs に発展するかどうかを直接確認するためには今後さらに数十年数を要する。そのため、NCDs のリスクに関連する surrogate marker を用い同年齢の正期産正常出生体重児出身の青年を対照として比較することにより将来の NCDs のリスクを推測するほかはない。上記背景のもと、本研究の目的は、国内の複数 NICU に入院し 18 歳以上になった極低出生体重児出身の青年を対象に、呼吸・循環、代謝面を中心に、対照である正期産正常出生体重児出身の青年と NCDs に関連する surrogate marker を比較することにより、NCDs に発展するリスクの有無を検討するとともに、極低出生体重児に対するフォローアップや支援のあり方について再考することにある。平成 26 年度は 6 つの研究協力施設の研究協力者とともに文献レビューをもとに NCDs のリスクに関連する指標を抽出した。さらに、オンラインでデータを入力するためのプログラムを開発した。平成 27 年度より本格的な調査を行う予定である。

A. 研究の目的

胎児プログラミング仮説やそれを基盤に発展した developmental origins of health and disease (DOHaD) 仮説は、発達期の環境がその後の non-communicable diseases (NCDs) 発症に関与することを示唆している。これらの仮説は、子宮内発育遅延 (IUGR) を伴う正期産低出生体重児がその後 NCDs に発展するリスクが高いことに端を発している。2000 年代に入ってから、周産期医療の進歩により出生体重 1500g 未満で出生した極低出生体重児の生存率が著しく向上し、それに伴い長期予後への関心が高くなってきている。とくに「発達期の環境」という視点で見れば、胎児環境や出生後の環境に問題がある極低出生体重児について関心が集まるのは当然のことといえる。だが、人工肺サーファクタントをはじめとする現代の NICU の治療手技が導入されてから約 30 年しか経過しておらず、このような治療手技の恩恵を受けた極低出生体重児が NCDs に発展するかどうかを直接証明するためには今後さらに数十年数を要する。そのため、いくつかの NCDs のリスクに関連する surrogate marker を用い同年齢の正期産正常出生体重児出身の青年を対照として比較することで将来の NCDs のリスクを推測するほかはない。最近では、諸外国から極低出生体重児の青年期の予後が多数報告されるようになり、NCDs のハイリスク群という認識が高まってきているが、我が国では極低出生体重児の生存率は世界でトップレベルであるにも関わらず、ほとんど検討されてこなかった。

このような背景のもと、本分担研究の目的は、国内の複数 NICU に入院し 18 歳以上

になった極低出生体重児出身の青年を対象に、呼吸・循環、代謝面を中心に、対照である正期産正常出生体重児出身の青年と NCDs に関連する surrogate marker を比較することにより、将来 NCDs に発展するリスクの有無を検討するとともに、極低出生体重児に対するフォローアップや支援のあり方について再考することにある。

B. 研究方法

平成 26 年度は以下に示すごとく主要な文献をレビューし、これらをもとに NCDs に関連する surrogate marker について検討した。また、データを WEB 入力できるシステムを構築した。

1) 文献のレビュー

① 体構成および骨塩量

Helsinki study of very low birth weight adults (HeSVA) では、極低出生体重児を対象にしたコホート研究を行っている。この研究で二重 X 線吸収法 (DXA) による体構成を検討したところ、対照 (正期産出身) に比べて体脂肪率には差はなかったが、lean body mass が有意に少なかったという。極低出生体重児が成人期に達したときの骨密度や骨塩量は、正期産出身の場合に比べ劣るとされている[1,2]。HeSVA によれば、腰椎の骨密度は身長や日常の運動量で補正しても対照 (正期産出身) に比して明らかに低値であることが示されている [1]。その他のコホート研究でも、極低出生体重児出身の青年の骨密度が対照に比べて低値であり、両群間の全脂肪量や体幹部の脂肪量には差はなかったもののインスリン抵抗性が高かったと報告している[2]。これらの報告から、

極低出生体重児では将来骨粗鬆症へと進展するリスクが高いのではないかとと思われる。

文献

1. Hovi P, Andersson S, Järvenpää AL, et al. Decreased bone mineral density in adults born with very low birth weight: a cohort study. *PLoS Med.* 2009; 6:e1000135.
2. Smith CM, Wright NP, Wales JK, et al. Very low birth weight survivors have reduced peak bone mass and reduced insulin sensitivity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011; 75:443-9.

② 血圧、心機能

双胎を対象とした研究によると、高血圧のリスクは遺伝的な背景や家庭環境、成人期のBMIとは関係なく、より出生体重が小さかった場合に高い [3]。また、青年期の収縮期および拡張期高血圧のリスクは、子宮内発育不全の有無に関わらず未熟な児ほど高い傾向にある [4]。このような報告は、遺伝的な影響よりは発達期(胎児期、生後早期)の環境が関与している可能性を推測させる。極低出生体重児で出生すると正期産で出生した場合に比べて成人期の血圧が高いという報告が多い。早産児や極低出生体重児出身(在胎 28.8~34.1 週[平均 30.4 週]、出生体重 1098~1958g[平均 1280g])の小児や青年(6.3~22.4 歳、平均 17.8 歳)を対象とした報告を基に行われたメタアナリシスでは、対照(正期産出身)に比べて中等度収縮期血圧が高いと報告されている [5]。在胎 32 週以下あるいは出生体重 1500g 未満の早産児に限定すると、対照に比べて 3.2mmHg 高い [5]。出生体重 1850g 未満で出生した早産低出生体重児の成人期(20~39 歳)の心臓 MRI 検査では、正期産出身の対照と比較

し心筋の容積が大きく、左右の心室径が短く、さらに収縮期および拡張期の心機能が劣っているとの報告 [6] がある。

文献

3. Bergvall N, Iliadou A, Johansson S, et al. Genetic and shared environmental factors do not confound the association between birth weight and hypertension: a study among Swedish twins. *Circulation.* 2007; 115:2931-8.
4. Kajantie E, Hovi P. Is very preterm birth a risk factor for adult cardiometabolic disease? *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014; 19:112-7.
5. de Jong F, Monuteaux MC, van Elburg RM, et al. Systematic review and meta-analysis of preterm birth and later systolic blood pressure. *Hypertension.* 2012; 59:226-34.
6. Lewandowski AJ, Augustine D, Lamata P, et al. Preterm heart in adult life: cardiovascular magnetic resonance reveals distinct differences in left ventricular mass, geometry, and function. *Circulation.* 2013; 127:197-206.

③ 腎機能

早産低出生体重児はネフロンの形成途中で出生となる。出生後の低栄養や腎毒性のある薬剤投与、血流の低下、急性腎不全などによってネフロンの増加が抑制されると、その後ネフロン数が少ない状態のままとなる。慢性腎障害(chronic kidney disease:CKD)へと進展する機序については以下のように説明されている [7,8] ; 当初は個々のネフロンが拡大して GFR (glomerular filtration rate) を維持するが、年月とともに高血圧や蛋白

尿が出現し、やがてネフロンの喪失や巣状糸球体硬化がみられるようになる。このような変化は残存する正常なネフロンの過剰濾過につながりさらにネフロンの喪失や巣状糸球体硬化を招く悪循環を経て、やがてCKDへと進展するというもので、hyperfiltration理論(Brenner理論)と呼ばれている。実際に極低出生体重児出身の小児や成人で高血圧や蛋白尿を伴い生検により巣状糸球体硬化が認められた6例が報告されている[9]。我々も超低出生体重児出身の3例を経験している。

極低出生体重児や超早産児などに限定されたメタアナリシスではないが、低出生体重児が将来CKDとなるオッズ比は1.73(95%信頼区間:1.44-2.88)と報告されている[10]。IUGRの有無にかかわらず低出生体重児は、CKDの新たなリスク因子として位置づけられている。米國小児科学会は、低出生体重児の腎機能評価のための指標として、腎臓の大きさおよびアルブミン尿の有無を挙げている。

文献

7. Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? Am J Hypertens. 1988; 1(4 Pt 1):335-47.
8. Carmody JB, Charlton JR. Short-term gestation, long-term risk: prematurity and chronic kidney disease. Pediatrics. 2013; 131:1168-79.
9. Hodgin JB, Rasoulopour M, Markowitz GS et al. Very low birth weight is a risk factor for secondary focal segmental glomerulosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2009; 4:71-6.

10. White SL, Perkovic V, Cass A, et al. Is low birth weight an antecedent of CKD in later life? A systematic review of observational studies. Am J Kidney Dis. 2009; 54:248-61?

④ メタボリック症候群

メタアナリシスでは、正期産出身の成人に比べて早産児出身の成人ではLDLコレステロールが高値であると報告されている[11]。また、HeSVAでは、リポプロテインのサブクラスについての検討が行われており、極低出生体重児出身の青年ではカイロミクロン中の中性脂肪が高く、XXL-VLDL-TGやS-HDL-TGも有意に高いことが示されており、これはその後の心血管系疾患のリスク要因となりうると推測されている[12]。

文献

11. Parkinson JR, Hyde MJ, Gale C, et al. Preterm birth and the metabolic syndrome in adult life: a systematic review and meta-analysis. Pediatrics. 2013; 131:e1240-63.
 12. Hovi P, Kajantie E, Soininen P, et al. Lipoprotein subclass profiles in young adults born preterm at very low birth weight. Lipids Health Dis. 2013; 12: 57.
- Tinnionら[13]によるメタアナリシスによれば、早産低出生体重児はsmall for gestational age(SGA)の有無に関わらずその後インスリン抵抗性を有するが、年齢とともに早産の影響が減弱し、思春期や青年期では検討時の体構成(体脂肪)とより強く関連すると報告されている。別のメタアナリシスでは、正期産児と早産児出身の成人でインスリン抵抗性に差はみられてい

ない[14]。メタアナリシスでは、極低出生体重児や超早産児など未熟性の強い対象のみならず、中等度の未熟性のある児が多く含まれており対象が多様であることや、出生前の母胎環境の相違や出生後の管理の相違、NICU 退院後の食生活や運動などの交絡因子の影響を十分に除外することができないなどの限界がある。

極低出生体重児を対象とした HeSVA では、年齢や性、日常の運動、糖尿病の家族歴、BMI、両親の教育レベルを調整しても、対照（163 名）に比べて極低出生体重児出身の青年（169 名）のインスリン抵抗性が高いことが報告されている [15]。少数例の検討であるが、筆者らも自施設の 20 歳の極低出生体重児出身の青年（10 名）と対照（18 名）の空腹時インスリンおよび homeostasis model assessment as an index of insulin resistance (HOMA-IR) を BMI および性で調整し比較し、HeSVA と同様の結果が得られている [16]。

文献

13. Tinnion R, Gillone J, Cheetham T, et al. Preterm birth and subsequent insulin sensitivity: a systematic review. *Arch Dis Child*. 2014; 99:362-8.
14. Parkinson JR, Hyde MJ, Gale C, et al. Preterm birth and the metabolic syndrome in adult life: a systematic review and meta-analysis. *Pediatrics*. 2013; 131:e1240-63.
15. Hovi P, Andersson S, Eriksson JG, et al. Glucose regulation in young adults with very low birth weight. *N Engl J Med*. 2007; 356:2053-63.

16. 板橋家頭夫, 相澤まどか. 極低出生体重児の思春期以後の予後に関する検討. 厚生労働科学研究補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）「重症新生児のアウトカ改善に関する多施設共同研究（研究代表：藤村正哲）」総合研究報告書, 2013.

⑤ 呼吸機能

メタアナリシスによれば、極低出生体重児の青年期の呼吸機能（1 秒率）は対照に比べ有意に低いことが示されている。また、慢性肺障害合併例では、非合併例に比して 1 秒量が低いという[17]。このような呼吸機能の問題と関連し、極低出生体重児では運動能も対照に比べ劣っているとされる [18]。

文献

17. Gibson AM, Doyle LW. Respiratory outcomes for the tiniest or most immature infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2014; 19:105-11.
18. Svedenkrans J, Henckel E, Kowalski J, et al. Long-term impact of preterm birth on exercise capacity in healthy young men: a national population-based cohort study. *PLoS One*. 2013; 8:e80869.

⑥ Mental health

極低出生体重児では青年期に mental health 上の問題が対照に比べて多いという報告[19,20]や、明らかな差はないとする報告[21]もあり見解が分かれている。

19. Boyle MH, Miskovic V, Van Lieshout R, et al. Psychopathology in young adults born at extremely low birth weight. *Psychol Med*. 2011; 41:1763-74.

20. Lahat A, Van Lieshout RJ, Saigal S, et al. ADHD among young adults born at extremely low birth weight: the role of fluid intelligence in childhood. *Front Psychol.* 2014; 5:446.
21. Darlow BA, Horwood LJ, Pere-Bracken HM, et al. Psychosocial outcomes of young adults born very low birth weight. *Pediatrics.* 2013; 132:e1521-8.

2) 調査施設

調査施設は、昭和大学病院、大阪市立総合医療センター、東京女子医大病院、聖霊浜松病院、富山大学病院、埼玉医大総合医療センターに依頼した。昭和大学病院では倫理委員会にてすでに承認が得られているが、その他の病院においては倫理委員会申請準備中である。

3) 対象

6施設で1990～1993年に出生し生存退院できた極低出生体重児出身の青年100名、対照となる正期産正常出生体重児出身の同年齢の青年60名を予定している。

4) 調査方法 (図1,2)

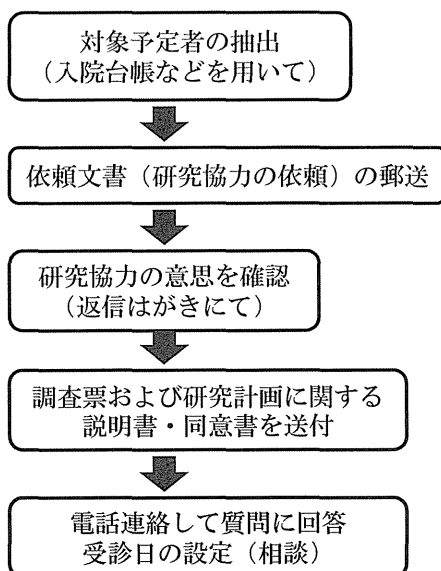


図1. 研究の依頼の手順

各施設で1990～1993年に出生し生存退院できた極低出生体重児出身の青年を抽出し、研究協力要請を依頼する。調査の要請は、アンケートおよび諸検査である。同意が得られた場合には、各施設に同意書および調査票を返送してもらう。また、来院して検査を行うことにも同意が得られた場合には、検査の日程を調整する。

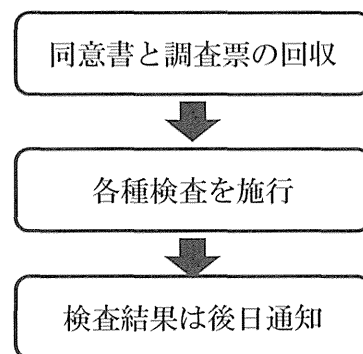


図2. 検査の手順と結果報告

5) WEB入力システム

全ての調査項目を各施設でWEB入力が可能なシステムを作成した。各施設の研究者に対してIDおよびパスワードを提供し、情報漏洩に配慮する。

C. 結果

1) アンケート調査項目

① 調査施設が記入する項目

症例番号、在胎週数、出生体重、出生時身長・頭囲、出生順位、NICU入院中の主要な合併症の有無(脳室内出血、脳室周囲白質軟化症、慢性肺障害、壊死性腸炎、ストマ/気管切開、治療を要した未熟児網膜症)、

NICU 退院時の修正週数とその時点の体重、身長、頭囲。

② 本人あるいは家族が記入する項目

- ・ 調査時の年齢、体重、身長
- ・ 両親の身長
- ・ 両親の NCDs の有無
- ・ 義務教育の状況（普通学級の有無）
- ・ 中学卒業以後の学歴
- ・ 現在の学業あるいは就業状況
- ・ 過去の入院歴
- ・ 現時点の健康問題点の有無
- ・ 聴力障害や視覚障害などの有無
- ・ 日常生活における問題の有無

2) 検査項目

① 血液・尿生化学検査

- ・ 血算、空腹時血糖、空腹時インスリン、中性脂肪、LDL/HDL/s-LDL コレステロール、血清 Ca, P, ALP、クレアチニン、シスタチン C、尿一般検査、eGFR、尿中微量アルブミン測定・・・各施設で測定
- ・ 血中レプチン・アディポネクチン、ウロテンシン・・・昭和大学小児科で測定

② 二重 X 線吸収診断装置

- ・ 体組成および骨塩量・骨密度の評価・・・各施設で測定

③ 腎臓超音波検査

- ・ 両側腎臓の長径・短径および前後径を測定し計算式により腎臓の容量を求める・・・各施設で実施

④ 呼吸機能検査

- ・ 肺活量（%VC）および 1 秒率（%FEV1.0）・・・各施設で実施

⑤ 心臓 MRI 検査

- ・ 心機能評価・・・各施設で行い、昭和大学に集約し研究協力者の児玉が解析

⑥ その他

- ・ 身体診察
- ・ 血圧測定

D. 考案

諸外国から報告された極低出生体重児の青年期の予後は、以前から前向きコホート研究として取り組んでいる結果であり、いわば research follow-up study である。これに対して、我が国では極低出生体重児のフォローアップ率は最近になって高くなってきたものの、1990 年代に出生した児では多くが就学前あるいは小学校低学年でフォローが途切れている。これより長期間フォローアップされている場合は概して何らかの異常や問題を抱えている例が多い。したがって、現時点で我が国の極低出生体重児の青年期の予後調査には自ずと限界があることは致し方がないといえよう。そこで、できるだけバイアスを減らすには、複数の施設から多くの対象を集めることが重要となる。

今回予定されている健診のデータは、被験者に返却されるため、異常があれば今後の健康指導のための有用な情報となる。

平成 27 年度より、本格的な調査を開始する予定である。

E. 結論

本研究の目的は、国内の複数の NICU に入院し 18 歳以上になった極低出生体重児出身の青年を対象に、呼吸・循環、代謝面を中心に、対照である正期産正常出生体重児出身の青年と NCDs に関連する surrogate

marker を比較することにより、将来 NCDs に発展するリスクの有無を検討するとともに、極低出生体重児に対するフォローアップや支援のあり方について再考することにある。

平成 26 年度は 6 つの研究協力施設を選出し、研究協力者とともに NCDs のリスクに関連する指標を抽出した。さらに、オンラインでデータを入力するためのプログラムを開発した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Hibino S, Sasaki H, Abe Y, Hojo A, Uematsu M, Sekine T, **Itabashi K**. Renal function in angiotensinogen gene-mutated renal tubular dysgenesis with glomerular cysts. *Pediatr Nephrol*. 2015; 30:357-60.
2. Akutsu Y, Kobayashi Y, Sambe T, Kurihara T, Kaneko K, Kodama Y, Li HL, Suyama J, Hamazaki Y, Iwasaki J, Gokan T, **Itabashi K**, Oguchi K, Uchida N, Kobayashi S. Five-year follow-up of a giant coronary aneurysm using virtual coronary angiography. *Coron Artery Dis*. 2014; 25:727-9.
3. Nakano Y, **Itabashi K**, Sakurai M, Aizawa M, Dobashi K, Mizuno K. Accumulation of subcutaneous fat, but not visceral fat, is a predictor of adiponectin levels in preterm infants at term-equivalent age. *Early Hum Dev*. 2014; 90:213-7.
4. **Itabashi K**, Miura F, Uehara R, Nakamura Y. New Japanese neonatal anthropometric charts for gestational age at birth. *Pediatr Int*. 2014; 56:702-8.
5. 板橋家頭夫. DOHaD の概念と妊娠前女性の教育のために. *糖尿病と妊娠* 2014; 14:55-59.
6. 板橋家頭夫. 早産低出生体重児と non-communicable diseases. *新生児栄養学* (板橋家頭夫編集). *メディカルビュー* 社, 東京, 2014, p.252-261.
7. 板橋家頭夫. わが国における低出生体重児の現状と小児歯科診療の関わり. *小児歯科臨床* 2014; 19:18-23.

厚生労働科学研究委託費（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

母子コホート研究を基盤とした低出生体重児の妊娠前後の栄養環境と
長期予後に関する研究

担当責任者 藤原武男 国立成育医療研究センター研究所 社会医学研究部
研究協力者 佐々木敏 東京大学大学院医学系研究科 社会予防疫学分野
朝倉敬子 東京大学大学院医学系研究科 社会予防疫学分野
小林美夏 大妻女子大学 家政学部食物学科 公衆栄養研究室

研究要旨

【目的】 Small for gestational age (SGA)児が肥満のリスクであるとの Barker 仮説は有名であるが、SGA 児の幼児期の栄養摂取状況との関連を示したものはほとんどない。本研究の目的は、3 歳児における食物頻度調査票（Food frequency questionnaire, FFQ）の妥当性を検討すること、それに関連して SGA 児の 3 歳における FFQ から得られた栄養状態のデータを非 SGA 児と比較し、さらに発育との関連を明らかにすることで、SGA 児の肥満が妊娠中の栄養状態によるものなのか、3 歳時の栄養状態によるものなのか、を明らかにする。

【方法】本年度は 3 歳児 FFQ の妥当性検証を行った。国立成育医療研究センターで実施している出生コホート研究で、妊娠中の栄養状態も把握してある母子コホート研究に参加同意を頂いた方で、国立成育医療研究センター病院で 3 歳児健診を受診した参加者のうち、追加研究である本研究への参加同意を頂いた 3 歳児 200 名（各季節 50 名程度）を対象とした。FFQ には佐々木が開発した 3 歳児向けの簡易型自記式食事歴法質問票(brief-type self-administered diet history questionnaire for 3 years old, BDHQ3y) を用いた。FFQ は母子コホート参加者全員が記入する 3 歳児健診に加え、健診後にも記入してもらい、信頼性を確認できるようにした。BDHQ3y による FFQ からの栄養素量の推定は DHQ サポートセンターにて行った。食事記録法（Dietary Record, DR）は 3 歳児健診の後に 3 日間（平日 2 日、休日 1 日）の食事について秤量式食事記録紙に記録してもらった。さらに、3 歳児健診の採血時に母子コホート研究で採取する採血項目と併せて血液を採取した。塩分摂取を推定するために食事調査の最終日に 24 時間蓄尿も実施した。

【結果】本年度 1 月時点で、104 名にリクルートし、55 名から同意を得た。

【考察】母子コホート研究にのせて 3 歳児 FFQ の妥当性研究を実施することができた。来年度はさらに参加者数を増やし、妥当性を示していく予定である。

A. 研究目的

Small for gestational age (SGA)児が肥満の
リスクであるとの Barker 仮説は有名である

が、SGA 児の幼児期の栄養摂取状況との関
連を示したものはほとんどない。その理由
として、幼児期の栄養状態を簡便に把握す

ることが難しいことがあげられる。栄養摂取状態を簡便に把握できる手法として食物摂取頻度調査票（Food Frequency Questionnaire, FFQ）があるが、その妥当性を示す必要がある。

FFQ とはリストアップされた食品や料理について、過去の一定期間における平均的な摂取状況を質問紙で回答して頂くことにより栄養素の摂取量を推定する方法である。他の栄養調査法には食事記録法（食事記録を対象者が毎回記録していく方法）や思い出し法（前日の食事内容を栄養士が聞き取る方法）などがあるが、いずれも対象者の負担が大きく、長期間の栄養調査には適していない。一方、FFQ はあらかじめある食品リストから摂取しているものを選択する方法であること、回答が本人の記憶に依存することによる推定誤差が短所である。推定された摂取量にどれくらい誤差が生じているのかを確認するため、FFQ のデータと食事記録法もしくは思い出し法で得られたデータを比較することによって各対象集団における摂取量推定の精度（妥当性）の検討することが不可欠である。また、国や地域で食文化の違いは非常に大きく、一般に FFQ の妥当性の検討は各国ごとに行う必要がある。海外では 3 歳児における FFQ の妥当性は示されている(Jarman M et al 2013)が、日本人の 3 歳児における FFQ の妥当性の研究は未だなされていない。

本研究の目的は、3 歳児における食事頻度調査票（Food frequency questionnaire, FFQ）の妥当性を検討すること、それに関連して SGA 児の 3 歳における FFQ から得られた栄養状態のデータを非 SGA 児と比較し、さらに発育との関連を明らかにすることで、

SGA 児の肥満が妊娠中の栄養状態によるものなのか、3 歳時の栄養状態によるものなのか、を明らかにする。

B. 研究方法

対象：2010-12 年に成育で出生した児のうち 2500 名を追跡する出生コホート研究（主任研究者：堀川玲子）、通称母子コホート研究の参加者を対象とする。このコホートは、妊娠中の栄養状態についても測定している。国立成育医療研究センター病院で 3 歳児健診を受診した患者様参加者のうち、追加研究である本研究への参加同意を頂いた 3 歳児 200 名（各季節 50 名程度）を対象とする。

測定内容：

① F F Q FFQ には佐々木が開発した BDHQ3y を用いた。FFQ は母子コホート参加者全員が記入する 3 歳児健診に加え、健診後にも記入してもらい、信頼性を確認できるようにした。BDHQ3y による FFQ からの栄養素量の推定は DHQ サポートセンターにて行った。

②食事記録 食事記録法（Dietary Record, DR）は 3 歳児健診の後に 3 日間（平日 2 日、休日 1 日）の食事について秤量式食事記録紙に記録してもらった。

③採血による栄養素の把握 さらに、3 歳児健診の採血時に母子コホート研究で採取する採血項目と併せて血液を採取した。測定項目は以下である。

血糖、コレステロール（総）、中性脂肪、脂肪酸（脂肪酸分画）、ビタミン B6、B12、葉酸、カロテノイド、ビタミン C、ビタミン D(1-25OH₂)、ビタミン D(25-OH)、セレン、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、鉄

分、イソフラボン、ヘモグロビン A1c、インスリン、アディポネクチン、レプチン、IGF-1

④蓄尿による塩分摂取の把握 塩分摂取を推定するために食事調査の最終日に 24 時間蓄尿も実施した。

⑤身体活動、Body image の把握 さらに、3 歳児の身体活動、親の Body image、子に対する Body image、親の若いときの肥満状況を調査した。

(倫理面への配慮)

国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施した (受付番号 784)。

C. 研究結果

平成 26 年 7 月-平成 27 年 1 月の 3 歳児健診において対象児 104 名にリクルートし、55 名の同意を得た。そのうち、1 月時点で食事記録返送者は 29 人で、同意撤回数は 9 名だった。

D. 考察

3 歳児の食事調査は育児をしながら親が食事を記録し、蓄尿についてもオムツがとれていない場合はできないなど困難を極め、これまで妥当性の検証がなされてこなかった。しかし、母子コホート研究の参加者は協力的であり、実施できたことは重要である。

また、保育園に通っている場合は食事内容を把握できないために参加者対象から外れた。幼稚園も 3 歳からスタートする場合もあり、参加者の確保も困難を極めた中、半年で 55 名の同意を得ることができたのは研究スタッフの努力の賜物である。食事

の季節性があるので通年で実施する必要はあるが、目標症例数は 100 名程度に下方修正する必要があるだろう。

E. 結論

尿採取など困難が予想される 3 歳児の FFQ の妥当性を検証する研究を実施できた。今後は参加者数をさらに増やし、食事記録からの栄養素計算を実施し、FFQ との妥当性を確認する作業を進めていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Jwa SC, Fujiwara T*, Kondo N. Latent protective effects of breastfeeding on late childhood overweight and obesity: a nationwide prospective study. *Obesity*. 2014; 22(6):1527-37. (IF=3.922)

*Corresponding author

2. Fujiwara T, Kondo K, Shirai K, Suzuki K, Kawachi I. Associations of childhood socioeconomic status and adulthood height with functional limitations among Japanese older people: Results from the JAGES 2010 Project. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014; 69(7):852-9. (IF 2012=4.314)

3. Parajuli RP, Fujiwara T*, Umezaki M, Watanabe C. Impact of Caste on the Neurodevelopment of Young Children from Birth to 36 Months of Age: A Birth Cohort Study in Chitwan Valley, Nepal. *BMC Pediatrics*. 2014; 14(1):56.

(IF=1.982)*Corresponding author

4. Ito J, Fujiwara T*. Breastfeeding and risk of atopic dermatitis up to the age 42 months: a birth cohort study in Japan. *Ann Epidemiol.* 2014; 24(4):267-72.
*Corresponding author (IF2013=2.145)
5. Parajuli RP, Fujiwara T, Umezaki M, Furusawa H, Watanabe C. Home Environment and Prenatal exposure to Lead, Arsenic and Zinc on the Neurodevelopment of Six-month-old Infants Living in Chitwan Valley, Nepal. *Neurotoxicology and Teratology.* 2014; 41C:89-95. (IF 2012=3.181)

2. 学会発表

1. Ichikawa K, Fujiwara T, Nakayama T, Sekiguchi T, Takahashi Y. Does home-visit program for high-risk pregnant women reduce parenting stress and improve birth outcomes in Japan? International Congress on Child Abuse and Neglect, Nagoya, Aichi, Japan, Sep 14-17, 2014. (Poster Presentation)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし