

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

低出生体重児の発症機序及び長期予後の解明に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 森 臨太郎

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、独立行政法人国立成育医療研究センターが実施した平成26年度「低出生体重児の発症機序及び長期予後の解明に関する研究書」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I . 委託業務成果報告 (総括)

統括本部

a . プロジェクトの総合推進

b . 班会議の実施

(各種データセットの連携のための基盤構築と国際連携) ----- 1
森 臨太郎

c . 文献および各研究班の成果のレビューと国際連携

(妊婦栄養と児の精神身体発育に関する母子バースコホート研究) ----- 1
福岡 秀興

II . 委託業務成果報告 (業務項目)

我が国の低出生体重児の要因解析および対策の探求

a . 日本産科婦人科学会周産期データベースを用いた早産、妊娠高血圧症候群、
子宮内胎児発育遅延児の要因の分析 ----- 1
斉藤 滋

b . 未熟児新生児学会データベースとの連携によるNICU要因分
(周産期母子医療センターネットワークデータベースに関する研究) ----- 1
楠田 聡

c . 慢性肺疾患を中心に極低出生体重児長期予後を改善するNICU介入の全国調査
難波 文彦 ----- 1

d . 低出生体重児出生予防のための妊娠中の適正体重増加と食事摂取保健指導の
介入研究 ----- 1
大田 えりか

(資料) Proposal: Global, regional and national optimal gestational weight gain in pregnant
women: a systematic review and meta-analysis

我が国における低出生体重出生の長期的予後計測とDOHaD検証、診療体制の構築

a . 極低出生体重児の臍帯血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
ックス分析 (早産のエピジェネティックス分析) ----- 1
高橋 尚人

b . 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
ックス分析 ----- 1
秦 健一郎

c . 早産合併症の遺伝子多型によるテーラーメイド治療法の検証
難波 文彦 上記 c. に含む

d . NICU退院手帳電子化を含めた極低出生体重児の全国共通長期フォロー体制構築
(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) ----- 1
河野 由美

e . 極低出生体重児の超長期予後フォロー施設を中心とした後ろ向き研究
(極低出生体重児の超長期予後 - フォローアップ施設を中心とした後ろ向き研究 -)
板橋 家頭夫 ----- 1

f . 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 ----- 1
藤原 武男

III . 学会等発表実績 ----- 1

. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 1

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（総括）

各種データセットの連携のための基盤構築と国際連携

業務主任者 森 臨太郎 国立成育医療研究センター政策科学研究部・部長

研究要旨

極低出生体重児の発症機序や長期予後改善に資するためにはさまざまな情報（データ）を広く用いて分析することがより効率的かつ効果的である。周産期にかかわるデータセットをマッピングし、それらを統合するデータリンケージの手法を整理して、周産期特異的なデータのリンケージ手法を構築した。早産や低出生体重にかかわる国際的な研究グループと連携のためのネットワークを構築して、国際共同研究に発展する素地を構築した我が国の周産期にかかわるデータセットとして、日本産科婦人科学会の周産期委員会で構築してきたハイリスク妊娠のデータベースがある。また日本未熟児新生児学会のメンバーが中心になって構築してきた総合周産期センターのネットワークによる極低出生体重児のデータベースが存在している。さらに、我が国の出生届や死亡届のデータも利用可能である。こういったデータベースをリンケージするための変数などを整理した。早産に関する研究者が集まって共同で研究をしていく Preterm Birth International Collaborative（PREBIC）というグループの疫学部門に参加し、先進諸国や途上国を含めて、早産や低出生体重に関する国際的な共同研究を行っていくため、プロトコールを作成した。さらに、The International Network for Evaluating Outcomes in Neonates（iNeo）という先進10か国での極低出生体重児の疾病登録を行っているネットワークがあり、我々が日本の代表として参加し、現在研究計画を立てているところである異なるデータセットの連携とさらにその連携を国際的なものにしていくための基盤を構築が進んだ。

研究協力者

森崎菜穂 国立成育医療研究センター政策科学研究部

善に資するためにはさまざまな情報（データ）を広く用いて分析することがより効率的かつ効果的である。本研究では、異なるデータセットの連携とさらにその連携を国際的なものにしていくための基盤を構築することを目的とした。

A. 研究目的

極低出生体重児の発症機序や長期予後改

B. 研究方法

1) 周産期にかかわるデータセットをマッピングし、それらを統合するデータリンケージの手法を整理して、周産期特異的なデータのリンケージ手法を構築した。

2) 早産や低出生体重にかかわる国際的な研究グループと連携のためのネットワークを構築して、国際共同研究に発展する素地を構築した。

(倫理面への配慮)

本研究は二次的に得られる情報で行う研究であり、特別の倫理的配慮は必要としなかった。

C. 研究結果

1) 我が国の周産期にかかわるデータセットとして、日本産科婦人科学会の周産期委員会で構築してきたハイリスク妊娠のデータベースがある。また日本未熟児新生児学会のメンバーが中心になって構築してきた総合周産期センターのネットワークによる極低出生体重児のデータベースが存在している。さらに、我が国の出生届や死亡届のデータも利用可能である。こういったデータベースをリンケージするための変数などを整理した。

2) 早産に関する研究者が集まって共同で研究をしていく PREBIC というグループの疫学部門に参加し、先進諸国や途上国を含めて、早産や低出生体重に関する国際的な共同研究を行っている

ため、プロトコルを作成した。さらに、iNeo という先進10か国での極低出生体重児の疾病登録を行っているネットワークがあり、我々が日本の代表として参加し、現在研究計画を立てているところである。

D. 考察

極低出生体重児の発症機序や長期予後改善に資するためにはさまざまな情報(データ)を広く用いて分析することがより効果的かつ効果的である。異なるデータセットの連携とさらにその連携を国際的なものにしていくためには、データのリンケージや国際研究グループが共同でのプロトコルの作成が有意義であることが認識された。

E. 結論

極低出生体重児の発症機序や長期予後改善に資するためにはさまざまな情報(データ)を広く用いて分析することがより効果的かつ効果的である。異なるデータセットの連携とさらにその連携を国際的なものにしていくための基盤を構築が進んだ。

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

森臨太郎.周産期データリングージによる研究の意義と可能性.第 50 回日本周産期・新生児医学会、2014. 7: 浦安、ワークショップ

森崎菜穂.周産期関連データベースの連結. 第 50 回日本周産期・新生児医学会、2014. 7: 浦安、ワークショップ

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（成育疾患克服等総合研究事業）
委託業務成果報告（総括）

妊婦栄養と児の精神身体発育に関する母子パースコホート研究

担当責任者 早稲田大学 総合研究機構 福岡 秀興

研究要旨：胎内低栄養環境は、エピジェネティクス変化を起こし、それが生活習慣病の疾病リスクになるとする DOHaD 説〔Developmental Origins of Health and Disease〕が注目されている。日本では低出生体重児の頻度は約 9.6%と OECD（Organization for Economic Co-operation and Development）加盟国の中では高く、その要因の解明は喫緊の課題である。出生体重を規定する因子には栄養、環境化学物質、ストレス等があるが、本研究では栄養特にメチル基を供与する系の栄養素を中心として調査した。妊婦のエネルギー摂取状況は、推定エネルギー必要量を下回り、しかも全妊娠期間それが増えておらず、エネルギー摂取量の不足した状態が続いていた。葉酸サプリメントを妊娠前から摂取している妊婦の頻度は比較的高く、妊娠全経過を通じて摂取している妊婦も多い結果を得た。葉酸の意義が周知されていることが伺われる。しかし逆に母体血中濃度が 9.0 ng/mL より高い例が多い。また臍帯血では葉酸濃度は母体血より高く胎盤を介する移行量が多い事、更にホモシステインの低いことが明らかとなった。胎児を含めた葉酸の摂取量及び動態の更なる検討が必要である。

A . 研究目的

成人病胎児期発症起源説(バーカー説)として JP Barker が示して以来、その視点からの疫学研究が数多く行われており、バーカー説を支持するデータが集積されつつある。現実にはこれら生活習慣病を含めた NCD 疾患（Non communicable disease）、更に疾病と健康の間としてのグレーゾーンともいべき人々が増加している。その発症機序と予防法の解明は重要な課題である。現在その考え方は DOHaD 説（Developmental Origins of Health and Disease）（1）として、更に発展し、動物実験・疫学調査・分子レベルでの解析が広く行われている。日本では出生体重の低下傾向が続いており、低出生体重児の頻度は、2010 年で 9.6%(厚生労働省人口動態統計)にまで達している。出生体重は妊娠持続期間、栄養、ストレス、環境化学物質等が関与している。本研究では栄養の摂取状況について調査する。また葉酸は先天奇形の神経

管閉鎖障害を予防する栄養素として、その重要である。葉酸は奇形予防以外にも One carbon metabolism の代謝系を介して、メチル基を DNA、ヒストン蛋白質に供与して、エピジェネティクスを制御する栄養素でもある。そこで葉酸のサプリメント摂取の状況と血中濃度についても検討した。この DOHaD 説は仮説であるとする考え方も一部ではある。しかし多くの疫学研究・動物実験ではその説の重要性が確認されつつある。現在先制医療という、疾病発症の基本となるエピジェネティクス変化が可塑性を有する時期〔特に developmental stage〕への早期のライフスタイルを含めた介入が有効な疾病発症を阻止するという DOHaD 説に基づいた新たな医療概念(2)が導入されつつある。本研究では、その視点から妊婦を対象に、アンケートと血液の分析を併せた栄養調査を行い、その妊婦栄養状態を検討した。特に葉酸が注目されているサプリメントの摂取状況についても検討した。

B. 研究方法

(1) 低出生体重児の頻度が増加しているといわれており、「母子保健の主たる統計」を中心としてその高頻度である県の数について経年的な推移を検討した。

(2) 倫理委員会の承認及び、口頭及び書面でのインフォームドコンセントを得て、東京近郊の産科施設で、妊娠初期から157名を対象に分娩に至るまで、妊娠初期、中期、末期に（それぞれの時期に対して、妊娠7週—15週、妊娠20週—27週、28週—34週に調査）栄養摂取状況をアンケートDHQ-L(佐々木式)を用いて調査した。加えてサプリメントでの葉酸の摂取状況をそれぞれの時期ごとにみた。併せて血液を採取し、エピジェネティクスのひとつの代謝系である One carbon metabolism に関与している葉酸、ビタミン B12、ホモシステインの血中濃度を分析した。分娩時には、母体血、臍帯血を採取して、同じく分析した。採血後は、速やかに遠心分離して血清を採取分注し、分析するまで - 80 で冷凍保存した。

C. 結果

1) 低出生体重児の頻度(図1、図2)

低出生体重児の頻度が10%、11%を超えた県の数の経時的な推移を検討した。男児、女児では出生体重に当然差があるので、男女合わせたものと、女児のみとの推移を比較した。平成9年までは男女合わせて10%を超える県は存在しておらず、平成10年~13年では1県に見られたのみであった。ところが平成14年以降21年にかけて急激に増加して、1県から12県にまで増加している。それ以降はやや減少傾向がみられている。女児では、同様に平成10年までは、1県または2県に見られているのみであったが、平成11年~18年の8年間という短期間で42県にまで急激な増加が生じている。それ以降は男女を併せたものと同じく、その状況が存続している。低出生体重児の頻度は、平成10年度で8.1%、22年度で9.6%である。この

短時間に著しく低出生体重児の頻度が増えている。その要因の分析が求められるところである。我々の調査群で低出生体重児の頻度は6.7%であり、全国平均〔平成25年度：9.6%〕と比べてその頻度は低い。平均体重は2968gであった。

2) エネルギー摂取状況(図3)

妊婦のエネルギー摂取状況をDHQ-L調査に基づいて調査し、妊娠初期、中期、末期でみたのが図3である。またこの図では現行の2010年度食事摂取基準(3)の「PALL2の20代女性の推定エネルギー必要量」を参考値として示した。妊娠初期は50kcal、中期は250kcal、末期は450kcalの付加量が必要とされている。しかし平均値は推定エネルギー必要量よりは低く、しかも各妊娠時期で変わらないという結果である、この結果は、多くの妊婦がエネルギー摂取の不足した状態にあるといえる。まず、妊娠中であってもエネルギー摂取はほとんど変化しない事、そのエネルギー摂取量は同年代の非妊娠女性と殆ど同じである。また非妊娠女性でも、推定エネルギー必要量を満たしていないのが現況である。妊娠末期では、平均値では約800kcalにまで達する不足した状態にある。2004年度の東京近郊で調べた結果もほぼ同じ傾向が認められるが、今回の調査では更にエネルギー摂取量は減少していた。勿論、個人間でエネルギー代謝は大きく異なっている。基礎代謝量では個人間で約4倍以上の差すらあるといわれているので、摂取エネルギーのみで過不足は単純に判断できない点は、注意すべきといえる。

3) 妊娠中の葉酸血中濃度分布(図4)

妊娠30週で、葉酸の血中の濃度分布を見たものが図4である。平均血中濃度は16.9±6.1ng/mLである。血中葉酸濃度9.0ng/mL以下ではホモシステインが増加する。葉酸から始まるメチル基の供与系を考えると、ホモシステイン濃度の上昇はエピジェネティクスの偏移を起こす可能性がある。しかし今回の調査では、20ng/mLを超える血中濃度を示す例があった。9.0ng/mL以下はむしろ少な

いが、中には 8.0 ng/mL 以下を示す低濃度例もある。エピジェネティクスを考えると、この過剰な葉酸の意義を検討していく必要があるといえる。

4) 葉酸サプリメントの摂取状況

葉酸のサプリメントは、妊娠前3ヶ月から妊娠初期一日 400 μ g の摂取が、二分脊椎症の予防に推奨されている。DHQ-L (佐々木式) による摂取食事調査に加えサプリメント摂取についてもアンケート調査した。今回の調査では妊娠初期に葉酸サプリメント 400 μ g を摂取しているのは約 47% であった。調査対象者数が少ないので必ずしも一般化されないが、この頻度は約半数の妊娠初期の妊婦が、葉酸を摂取しているのではないかと想定される。ところが葉酸の重要性が強調されて、葉酸が添加されている食品も多くなっており、本人が知って服用する以上の葉酸を摂取している可能性がでてきた。

そこでサプリメントの摂取状況と血中の葉酸を検討した。調査対象の妊婦は多くないので一般化は当然出来ないことを考慮すべきであるが、妊娠前から摂取しているのは約 26% で、そのうち 400 μ g を摂取しているのは約 20% であった。妊娠前からの葉酸サプリメントを服用している例がある事は、葉酸の重要性が認知されている事を示す事象と言える。初期に移行すると、その服用率は 56% と約 2 倍にまで増加しており、その内 400 μ g 摂取している妊婦は約 47% であった。それ以降の服用率はやや低下するが、33% が 400 μ g 摂取しているとの結果である。その摂取量は広い範囲に及んでおり、多くは 400 μ g であるが 100 μ g 以下や、500 μ g 以上〔時に 800 μ g〕を摂取している妊婦がいた。

2008 年の Mito らの妊娠初期の血清葉酸濃度 (4) は、9.0 ng/mL 以下を示す例が約半数以上を占めていた。妊娠 30 週と妊娠後半であるが 9.0 ng/mL 以下はむしろ少なく、20.0 ng/mL を超える濃度を示す妊婦が存在していた。サプリメント服用者は約 30% 前後であるので、この血液濃度分布の結果から、葉酸サプリメントは摂取していない

が、葉酸を多く含む食事を摂取している妊婦も多いのではと想像される。

5) 臍帯血の葉酸、総ホモシステイン濃度 (図 5)

50 例についてその相関性を見た。臍帯血の葉酸濃度は 10.0 mg/mL 以上と高値を示している。葉酸が高い場合、One carbon metabolism の代謝からはホモシステイン値は低くなる。実際対象者の臍帯血ホモシステイン濃度が一例を除き低値を示していた。胎盤には 2 種の葉酸のトランスポーターが存在して葉酸が胎児側に能動的に移動されており、母体血に比べ葉酸濃度は高い結果が得られた。

D. 考察

今回の対象妊婦はすべて 37 週以降の満期産であり、低出生体重児の頻度は 6.5% で、平均体重は 2968 g であった。平成 25 年度の全国の頻度は 9.6% であり、それよりは少ない集団といえる。しかしエネルギー摂取量は全妊娠経過を通して低く、しかも非妊娠女性と殆ど同じである。しかも 2004 年度の調査 (5) に比較すると更に低下傾向を示している。浜松医科大学の Kubota ら (6) も同様な報告をしている。すなわち平均摂取エネルギー量は 1600kcal 以下であり、全妊娠経過を通して摂取量が不変である。我々と同じ結果と言える。この傾向は日本全体で同じである可能性があると思定される。エネルギー代謝は個人ごとに異なっており摂取エネルギーのみで判断すべきでないことを考慮しても、エネルギー摂取量が少ない。妊娠末期のエネルギー摂取が不足していた場合、9 歳児での頸動脈内皮厚を計測した研究 (7) がある。それによると出生体重とは関係なく、妊娠末期に母親のエネルギー摂取が低くて、9 歳で肥満傾向のある児では、9 歳で既に頸動脈内皮厚の肥厚が認められている。しかし妊娠中のエネルギー摂取量の多い母親から生まれた児は肥満であっても、内皮厚の肥厚は認められていない。既に小児期に動脈硬化の発症が想定されるのである。妊娠中のエネルギーは血管内皮の代謝系のエピジェネティ

クス変化を起こす可能性を示唆する結果と言える。今の現況を考えると、過剰な摂取は控えるべきであるが、やはり妊娠経過と共に、推定エネルギー必要量を考慮しつつエネルギーの摂取量は増やすべきであると考えられる。

葉酸サプリメントを妊娠前から摂取している妊婦が約26%であり、血中濃度が2008年の報告(4)と比較して高い事などから、葉酸の重要性に対する認識度が高くなっている事が示唆される結果を得た。更に妊娠が判明してから約半数の人々が摂取している。その後はやや減るものの末期にいたるまで摂取している妊婦も多い。葉酸はエピジェネティクスを制御するメチル基の供与する栄養素であり、奇形予防に加えて胎児には重要な栄養素であり、末期までの摂取について勧めていく事を検討すべきであろう。葉酸の重要性についての認識が広がっている事が伺われる結果であった。血中の葉酸濃度を検討すると、**図3**に示すごとく、30ng/mL以上と濃度が高い例がある。エピジェネティクスへの影響の有無を含めた意義を今後検討する必要性が高い。

胎児での葉酸の動態はメチル基の代謝との関連でみるべきである。**図5**に臍帯での葉酸とホモシステインの相関性を示したが、ホモシステインの高値例は1例存在しているが、他は低値を示していた。メチル基を介するエピジェネティクスについて、レトロトランスポゾンであるLine1遺伝子エピジェネティクスが検討されている(8)。ホモシステイン濃度とプロモーター域のメチル化は、ホモシステインが高くなるとメチル化度が低くなり、逆に、低くなるとメチル化度が高くなるとの結果が示されている。この報告からは、ホモシステインの濃度はOne carbon metabolismの代謝がスムーズに動いているか否かの間接的マーカーともいえる。今後この視点からの分析が望まれる。

E. 結論

低出生体重児の増加にみられるごとく、出生体重の低下傾向があり、その要因分析が必要である。多様な要因が関与しているが、栄養面では、

エネルギー摂取の不足が著しい。非妊娠女性のエネルギー摂取量が低く、それに連動して妊娠が経過している可能性があり、妊娠前からのエネルギーを含めた栄養の重要性が広く認識されることが必要である。更に妊娠中の栄養教育も求められる。葉酸は、奇形予防以外にもエピジェネティクスの制御に重要なメチル基の供与体としての機能があるので、妊娠中の継続した摂取が求められる。但し比較的高い濃度を示す例があり、その意義についてのエピジェネティクス変化からの検討が求められる。臍帯血中の葉酸の濃度は高い例が多く、同様の検討が求められる。

(文献)

- 1) Hanson MA, Physiol Rev. 2014; 94(4):1027-76.
- 2) Imura H. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2013; 89:462-73.
- 3) 日本人の食事摂取基準(2010年版)
https://www.ishiyaku.co.jp/download/kanei-khp/data/info_pdf/shokuji_kijun_2010.pdf
- 4) Mito N, et al. Eur J Clin Nutr. 2007; 61:83-90.
Erratum in: Eur J Clin Nutr. 2007; 61:566.
- 5) 今野佳絵他.母性衛生 2010; 52:286
- 6) Kubota K. et al. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2013; 39: 1383-1390
- 7) Gale et al. ATVB 2006
- 8) Anthony A. Fryer, et al., Epigenetics 2009; 6:394-398;

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

I Sanae, Uenishi K, Fukuoka H et al., Relationships between Birth Weight and Serum Cholesterol Levels in Healthy Japanese Late Adolescents, J Nutr Sci Vitaminol, 60, 108-113.2014.

F Hashimoto, Nishiumi S, Fukuoka H, et al., Metabolomics analysis of umbilical cord blood clarifies changes in saccharides associated with delivery method,

Early Hum Dev, 89(5):315-20.2013

H Watanabe, Sugiyama T, Fukuoka H.et al., Folate Status and Depressive Symptoms in Reproductive-Age Women, Current Nutrition & Food Science, 7:96-102, 2012

福岡秀興 . 若い女性のやせ志向と危惧される次世代の生活習慣病リスク . 日本医師会雑誌 . 2015 ; 143(11) : RS283-4 .

福岡秀興 , 伊藤早苗,石田裕美 . 妊産婦のやせと胎児発育 DOHaD(Developmental Origins of Health and Disease)の視点から考える . 産婦人科の実際 . 2015 ; 64:27-33

福岡秀興,平野大志,向井伸二 . 胎内栄養環境と高血圧症—成人病胎児期発症起源説の視点から考える— . 血圧 . 2014; 2; 15-22.

福岡秀興, 母体の低栄養と精神疾患, 精神科 2014 ; 24 : 307-12 .

福岡秀興 . 母体の低栄養と低出生体重児 - 成人病胎児期発症起源説の視点から - . 小児の臨床栄養エビデンスとトピックス 臨床栄養 2014;9:31-37 .

福岡秀興 . がんおよび疾病予防の視点から見た周産期のエピゲノム変化 . 栄養学レビュー (Nutrition Reviews 日本語版) . 2014; 83(22-2):162-182.

福岡秀興,向井伸治 . 成人病胎児期発症説と PIH の胎児栄養 成人病胎児期発症起源説の視点から . 産婦人科の実際 . 2014; 63(2):191-198.

2 . 学会発表

福岡秀興 (シンポジウム): DOHaD(Developmental origins of health and Disease)からみた環境化学物及び栄養の次世代への影響 第 17 回環境ホルモン学会 . 東京大学 (東京) . 平成 26 年 12 月 9 日 .

福岡秀興 . 胎生期栄養環境と生活習慣病の形成機序 . 第 23 回アジア栄養科学ワークショップ . 中村学園大学 (福岡) . 平成 26 年 11 月 29 日 .

福岡秀興 . (シンポジスト): 胎生期エピゲノム変化と小児内分泌の Update . 第 24 回臨床内分泌代謝 Update in Saitama 大宮ソニックシティ(埼玉) . 平成 26 年 11 月 28 日 .

福岡秀興 . (基調講演): 若い女性のやせ志向と危惧される次世代の生活習慣病リスク . 平成 26 年度食育健康サミット . 日本医師会館 (東京) . 平成 26 年 11 月 27 日

福岡秀興 . (特別講演): 胎生期の脂質代謝とエピジェネティクス . 脂質栄養学会第 23 回大会 . 東京国際交流館プラザ平成 (東京) . 平成 26 年 8 月 29 日

福岡秀興(シンポジスト): 将来母親となる女子の成長期における栄養管理の重要性について . 第 61 回日本栄養改善学会学術総会 . パシフィコ横浜(神奈川県) . 平成 26 年 8 月 21 日 .

福岡秀興 . (基調講演)「エピジェネティクスと GWAS からみた DOHaD 研究の最近の動向」 . 第 3 回日本 DOHaD 研究会年会 . (東京) . 平成 26 年 7 月 25 日

福岡秀興 (シンポジウム): DOHaD 研究の現状と今後 第 50 回日本周産期・新生児医学会学術集会 . シェラトン・グランデ(東京) . 平成 26 年 7 月 14 日 .

福岡秀興 . (特別講演): 危惧される若い女性の低栄養問題 . 平成 26 年度日本フードスペシャリスト協会通常総会 . アルカディア市ヶ谷 (東京) . 平成 26 年 6 月 5 日 .

福岡秀興 . (シンポジウム): 胎生期・新生児期の

環境の及ぼす精神疾患及び発達障害の素因形成 .
第 56 回日本小児神経学会学術集会 .アクトシティ
浜松 (静岡). 平成 26 年 5 月 29 日 .

福岡秀興 . : 「妊婦栄養のたいせつさ」 ~ 成人病・
胎児期発症起源説より ~ 第 58 回食品新素材研究
会 . 糖業会館 (東京). 平成 26 年 2 月 7 日 .

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

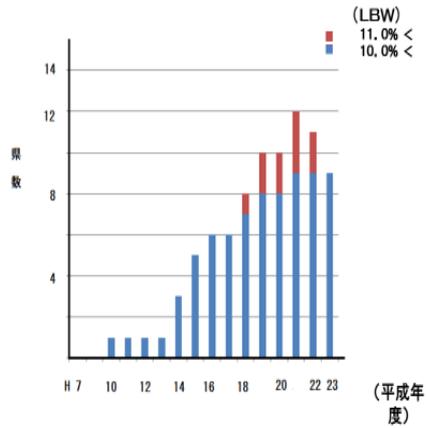
3. その他

特記すべきものなし。

付)

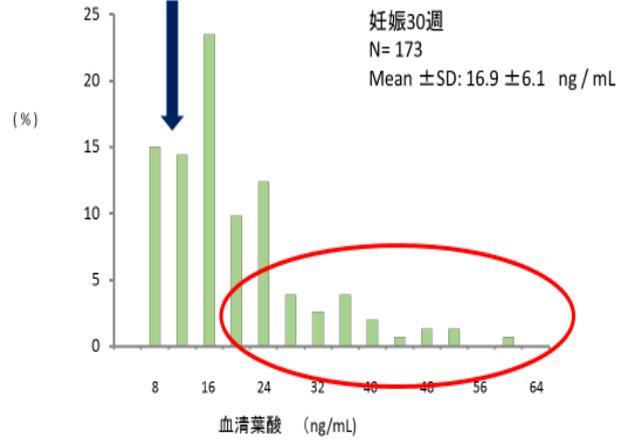
(図1)

低出生体重児頻度10%超過県の推移



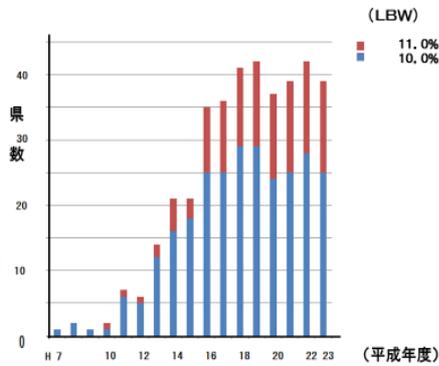
(図4)

血清葉酸の濃度分布



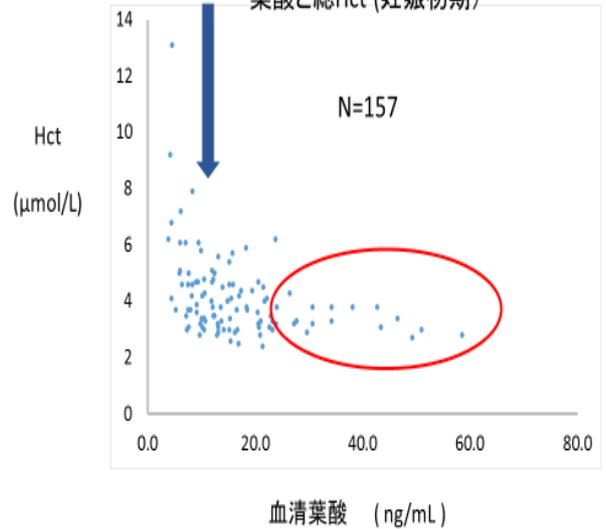
(図2)

女児低出生体重児10.0%超過県の推移



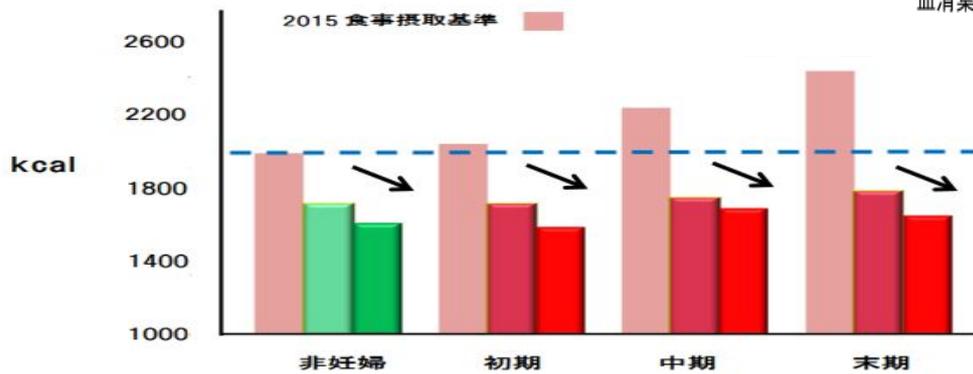
(図5)

葉酸と総Hct (妊娠初期)



(図3)

妊娠中の平均摂取カロリー



日本産科婦人科学会周産期登録データベースを用いた 早産、妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延児の要因の分析

担当責任者 齋藤 滋 富山大学大学院医学薬学研究部産科婦人科 教授
研究協力者 塩崎 有宏 富山大学附属病院産科婦人科 講師

研究要旨：2001年～2010年の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを用いて、正期産児（症例数：581,952）の出生体重の変化を経年的に評価したところ、正期産児の体重のピークが38～39週と、やや早くなっており、単胎妊娠における平均出生体重はこの10年間で約30グラム減少していた。2001年～2011年の日本産科婦人科学会周産期登録データベース（症例数：680,777）を用いて検討したところ、分娩時母体年齢は30～34歳が最も多かった。また児の出生体重は30～34歳がピークであり、年齢が若くても高齢化しても児の出生体重は低下していた。妊娠高血圧（gestational hypertension）のリスク因子は、初産、糖尿病であり、妊娠高血圧腎症（pre-eclampsia）のリスク因子は、初産、腎疾患であった。-1.5SD（標準偏差）未満の胎児発育不全児は11年間で平均5.9%、-2.0SD未満の胎児発育不全児は平均3.1%出生していたことが明らかとなった。

A．研究目的

- 1) 2001年～2010年の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを用いて、正期産児（症例数：581,952）の出生体重の変化を経年的に評価することを目的とした（日本産科婦人科学会周産期委員会 中井章人先生との共同研究）。
- 2) 2001年～2011年の日本産科婦人科学会周産期登録データベース（症例数：680,777）を用いて、母体分娩時年齢が児の出生体重に及ぼす影響を評価すること、ならびに、母体年齢別の妊娠高血圧・妊娠高血圧腎症の発症リスク因子を評価することを目的とした。

B．研究方法

- 1) 2001年～2010年の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを入手し、単胎妊娠のみを抽出した。分娩時妊娠週数の年次推移、単胎妊娠における平均出生体重の年次推移、出生日別の出生児体重の推移を評価した。
- 2) 2001年～2011年の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを入手し、単胎妊娠における分娩時母体年齢と出生児数との関連性、単胎妊娠における分娩時母体年齢と児出生体重との関連性を評価し、母体年齢別妊娠高血圧・妊娠高血圧腎症の発症リスク因子を抽出した。
（倫理面への配慮）
日本産科婦人科学会周産期登録データベースは連結不可能匿名化されているので、個人情報情報の漏出にはつながらないが、その使用に当たっては、個人情報取り扱いに十分注意

した。

C．研究結果

- 1) 2010年における正期産児の体重のピークが38～39週と、2001年の39～40週に比してやや早くなっていった。単胎妊娠における平均出生体重は2001年～2010年の10年間で約30グラム減少していた。
- 2) 分娩時母体年齢のピークは30～34歳であった（図1）。児の出生体重がピークとなる年齢も30～34歳で、30歳未満でも35歳以降でも出生体重が減少していた（図2）。妊娠高血圧のリスク因子は、初産、糖尿病であり、妊娠高血圧腎症のリスク因子は、初産、腎疾患であった（表1）。男児妊娠に比べ、女児妊娠で妊娠高血圧腎症の発症数が多かった。母体分娩時年齢が高いほど（図3）母体非妊時BMIが高いほど（図4）、母体分娩時BMIが高いほど（図5）、妊娠高血圧腎症の発症数が多かった。
母体年齢別の妊娠高血圧・妊娠高血圧腎症の発症リスク因子を評価するために、2001年～2011年の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを用いて、分娩時週数、胎児性別、経産回数、出生体重の情報を得て、胎児発育不全の程度を標準偏差で算出した。1例1例の手作業の入力のため、ここまでかなりの時間を要し、次年度には胎児発育不全（-1.5SD（標準偏差）未満、ならびに、-2.0SD未満）に関連する諸因子を同定できる見込みである。

図1 分娩時年齢と児数

日本産科婦人科学会 周産期登録データベース(2001~2011年)
単胎のみ、680,777症例

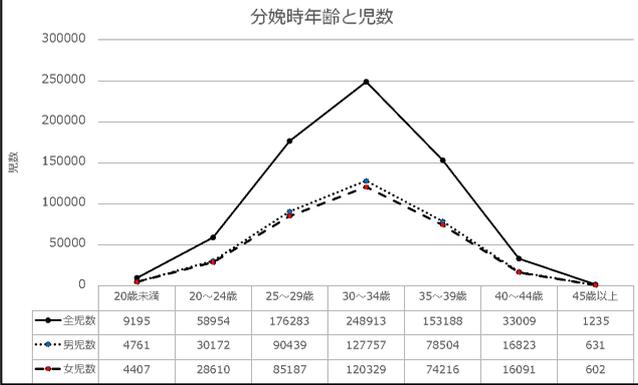


図4 非妊時BMIとPE発症率

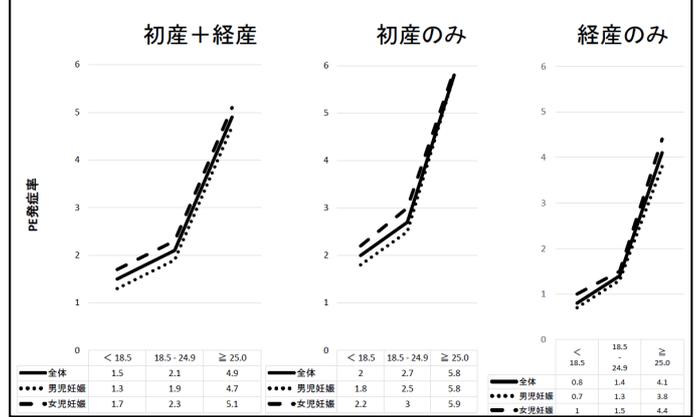


図2 分娩時年齢と児出生体重

日本産科婦人科学会周産期登録データベース(2001~2011年)
単胎のみ、680,777症例

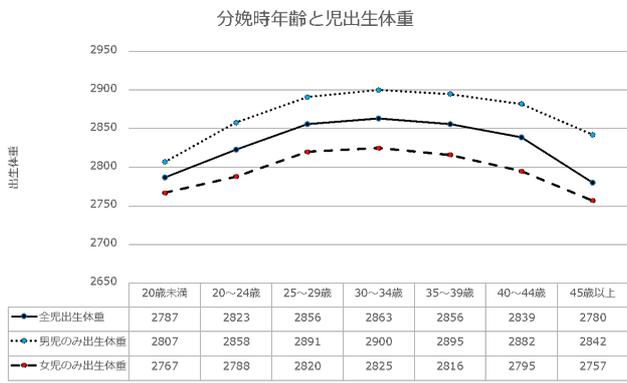


図5 分娩時BMIとPE発症率

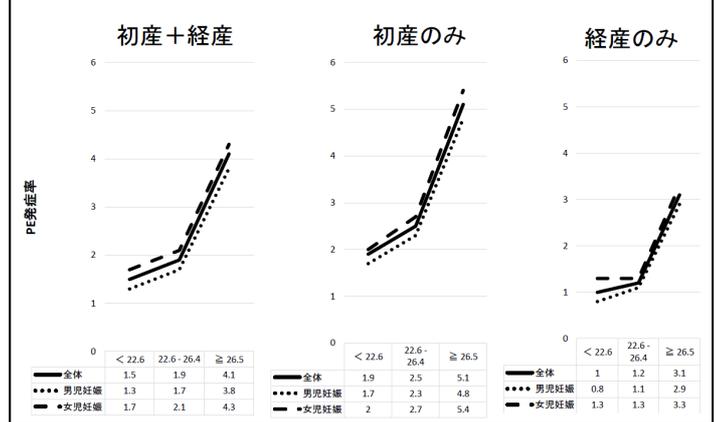


表1 分娩時年齢別 妊娠高血圧・妊娠高血圧腎症の発症リスク因子

対象： 日産婦周産期データベース(2001~2011年)
単胎妊娠のみ、本態性高血圧症例を除外

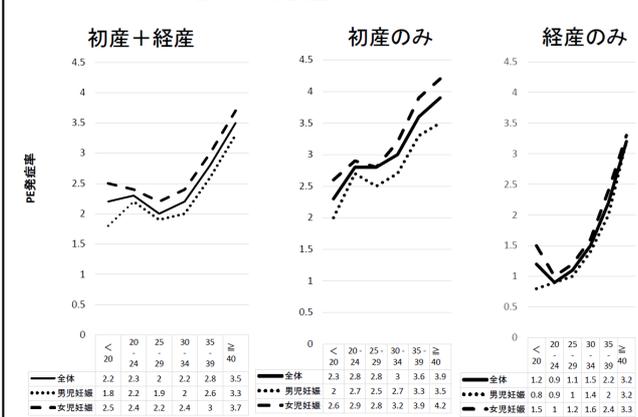
目的変数： 妊娠高血圧(GH)、妊娠高血圧腎症(PE)

説明変数： これまでに報告されているリスク因子のうち検討できるもの：
分娩回数、妊娠中喫煙、非妊時体重、非妊時BMI、
分娩時体重、分娩時BMI、腎疾患、糖尿病、甲状腺疾患

GHとPEに対するリスク因子の影響を母体分娩時年齢別に層別解析(ロジスティック回帰分析)(N = 324 626)

母体分娩時年齢	20歳未満	20~24歳	25~29歳	30~34歳	35~39歳	40歳以上
症例数	4,072	26,746	79,121	117,788	78,741	18,158
妊娠高血圧(GH)	なし	初産	初産	初産 DM	初産 妊娠時喫煙	初産
妊娠高血圧腎症(PE)	腎疾患	初産 腎疾患	初産 腎疾患	初産 腎疾患	初産 腎疾患	初産 腎疾患

図3 母体年齢とPE発症率



D. 考察

新生児予後を不良にする因子として、早産と子宮内胎児発育不全(fetal growth restriction:FGR)がある。FGRの中でも、妊娠高血圧症候群(pregnancy induced hypertension:PIH)(妊娠高血圧・妊娠高血圧腎症)の合併は予後不良因子であることは周知の事実である。

今回の解析から、妊娠高血圧のリスク因子は初産と糖尿病、妊娠高血圧腎症のリスク因子は、初産と腎疾患であることが判明したが、従来から報告されているリスク因子と一致していた。また妊娠高血圧腎症が女児妊娠に多いことは、我々のこれまでの報告(2011年、2013年)と同じ結果であった。

今回1年間という短い期間のため、1.5SD(標準偏差)未満、ならびに、-2.0SD未満の胎児発育不全児の抽出にかなりの時間を費やしてしまった。この理由として、標準偏差の計算には分娩時週数、出生児体重、胎児性別、経産回数を手入力しないと算出されないことがあげられた。現時点で約68万例の症例における手入力が終了しており、1.5SD(標準偏差)未満の胎児発育不全児は11年間で平均5.9%、-2.0SD未満の胎児発育不全児は平均3.1%出現していることが明らかとなっている。

今後、1.5SD(標準偏差)未満、ならびに、-2.

OSD未満の胎児発育不全児における母体リスク因子についても検討していく必要がある。

E . 結論

2001年～2010年の10年間の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを用いた検討では、この10年間で正期産児の体重のピークはやや早まり、分娩時母体年齢が30～34歳のときに児の出生体重が最大となり、それより年齢が若くても高齢化しても出生体重が減少していたことが明らかとなった。

また2001年～2011年の11年間の日本産科婦人科学会周産期登録データベースを用いた検討では、妊娠高血圧のリスク因子は、初産、糖尿病であり、妊娠高血圧腎症のリスク因子は、初産、腎疾患であった。男児妊娠に比べ、女児妊娠で妊娠高血圧腎症の発症数が多かった。-1.5SD(標準偏差)未満の胎児発育不全児は11年間で平均5.9%、-2.0SD未満の胎児発育不全児は平均3.1%出生していたことが明らかとなった。

F . 健康危険情報 なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoneda S, Shiozaki A, Ito M, Yoneda N, Inada K, Yonezawa R, Kigawa M, Saito S. Accurate prediction for the stage of histological chorioamnionitis before delivery by amniotic fluid IL-8 level. *Am J Reprod Immunol*. (in press)
- 2) Inada K, Shima T, Ito M, Ushijima A, Saito S. Helios-positive functional regulatory T cells are decreased in decidua of miscarriage cases with normal fetal chromosomal content. *J Reprod Immunol*.107:10-19, 2015.
- 3) Kambe S, Yoshitake H, Yuge K, Ishida Y, Md. Moksed Ali, Takizawa T, Kuwata T, Ohkuchi A, Matsubara S, Suzuki M, Takeshita T, Saito S, Takizawa T. Human exosomal placenta-associated miR-517a-3p modulates the expression of PRKG1 mRNA in Jurkat cells. *Biol Reprod* 91:129, 2014.
- 4) Shiozaki A, Yoneda S, Yoneda N, Yonezawa R, Matsubayashi T, Seo G, Saito S. Intestinal microbiota is different in women with preterm birth: results from terminal restriction fragment length

polymorphism analysis. *PLoS ONE*. 9:e111374, 2014.

- 5) Yoshida T, Takasaki I, Kanegane H, Inomata S, Ito Y, Tamura K, Makimoto M, Saito S, Yoshimoto Y, Miyawaki T. Intrauterine growth restriction modifies gene expression profiling in cord blood. *Pediatr Int*. 56:559-565, 2014.
- 6) Hayakawa M, Ito Y, Saito S, Mitsuda N, Hosono S, Yoda H, Cho K, Otsuki K, Ibara S, Terui K, Masumoto K, Murakoshi T, Nakai A, Tanaka M, Nakamura T. Executive Committee, Symposium on Japan Society of Perinatal and Neonatal Medicine. Incidence and prediction of outcome in hypoxic-ischemic encephalopathy in Japan. *Pediatr Int*. 56:215-221, 2014.
- 7) Saito S, Nakashima A. A review of the mechanism for poor placentation in early-onset preeclampsia; the role of autophagy in trophoblast invasion and vascular remodeling. *J Reprod Immunol* 101-102: 80-88, 2014.
- 8) Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Saito S, Matsumoto N. Whole exome sequencing revealed biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. *Clin Genet* 85:592-4, 2014.
- 9) Shiozaki, A., Yoneda S., Nakabayashi M., Takeda Y., Takeda S., Sugimura M., Yoshida K., Tajima A., Manabe M., Akagi K., Nakagawa S., Tada K., Imafuku N., Ogawa M., Mizunoe T., Kanayama N., Itoh H., Minoura S., Ogino M., Saito S. Multiple pregnancy, short cervix, part-time worker, steroid use, low educational level, and male fetus are risk factors for preterm birth in Japan: A multicenter, prospective study. *J Obstet Gynaecol Res* 40: 53-61, 2014.

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

厚生労働科学研究委託費（成育疾患克服等総合研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

周産期母子医療センターネットワークデータベースに関する研究

担当責任者 楠田 聡 東京女子医科大学母子総合医療センター教授
研究協力者 藤村正哲 大阪府立母子保健総合医療センター名誉総長

研究要旨

<目的> 周産期母子医療センターネットワークデータベースの構築と運営を通じて、わが国の周産期医療のさらなる向上を図る。

<方法> 全国の総合あるいは地域周産期母子医療センターに入院する極低出生体重児を共通データベースに登録する。そして、このデータベースの解析から示される臨床指標を用いて、ハイリスク新生児の診療水準の向上を図る。さらに、今後より詳細な解析が可能なように、データベース内容の強化を図る。

<結果> 2011年出生児では、参加施設は192、登録数は5288例となり、全国の約65%をカバーした。また、過去10年間で登録児の死亡退院率は約1/2に改善した。さらに、今後のデータベース解析の質を向上させるために、2015年出生児から登録対象を在胎期間32週未満および出生体重1500g以下と拡大した。

<考察> 周産期ネットワークデータベースは順調に運営されているが、まだ参加していない施設が存在するので、さらなる拡大が必要である。一方、登録児の対象拡大により、より正確な解析が可能となる。

<結論> 周産期ネットワークデータベース機能がさらに強化された。

A．研究目的

わが国の周産期医療は、国際的に優れた水準にあるが、これは、国および地方自治体による周産期医療体制の整備と、産科および新生児の医学的管理の進歩の結果である。しかしながら、児の死亡リスクが特に高い極低出生体重児の予後を見ると、未だ改善の余地がある。そこで、「周産期母子医療センターネットワーク」の構築に関する研究（研究代表者：藤村正哲）で全国の周産期母子医療センターを対象にした極低出生体重児のデータベースを2003年に構築し、蓄積されたデータの分析結果から、予後改善に必要な対策を講じてきた。現在このネットワークデータベースは、日本未熟児新生児学会

と共同で運営されている。本研究では、このネットワークデータベースの集積データの解析およびデータベース機能の強化を目的とした。

B．研究方法

全国の総合あるいは地域周産期母子医療センターに入院する出生体重1500g以下の極低出生体重児を、入院患者共通データベースに登録する。そして、このデータベースで解析される臨床指標を用いて、参加施設のハイリスク新生児の診療水準の向上を図る。また、全国規模で極低出生体重児の予後データを解析する。

データベースの基本様式は、本邦の一部施設で既に利用されている平成7～9年度厚生省

心身障害研究「周産期の医療システムと情報管理に関する研究」班（研究代表者:多田裕、研究分担者:中村肇）が作成した「ハイリスク新生児入院基本情報」を参考にし、さらに、NICHD（National Institute of Child Health and Development）、Vermont Oxford Network、British Association of Perinatal Medicine 等の海外データベースを参考に作成。疾患の定義、重症度の判定などは、データベースマニュアルを作成して一定の定義に従う。現在登録項目数は新生児144、施設13である。

さらに、今後のさらなる診療水準の向上のために必要なデータベース機能の強化を目指す。

（倫理面への配慮）

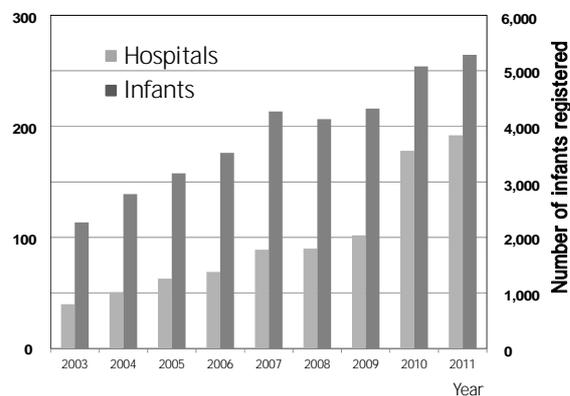
「疫学研究に関する倫理指針」に則り、登録児の情報を匿名化して収集する。また、データ登録に際しては、保護者から同意を得る。

C. 研究結果

1. 登録数

2003年当初は図1に示すように、参加施設は40、登録数は2281例であったが、最新のデータである2011年出生児では、参加施設は192、登録数は5288例となった。これは全国の極低出生体重児の約65%のカバー率である。

図1 参加施設および登録数の推移



2. 報告書によるデータのフィードバック

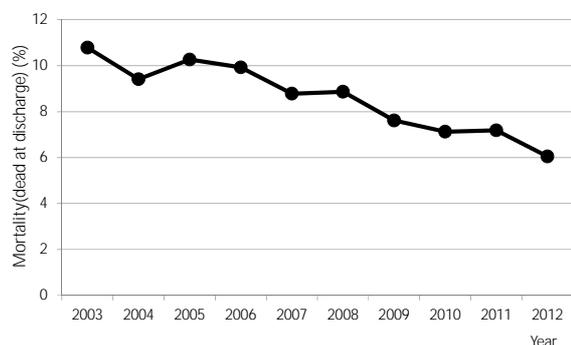
収集データは年次報告書として参加施設別に報告される。報告書の内容は、

- ・施設データ（年度別、全体との比較）
 - ・症例データ（年度別、全体との比較、施設ランク）
 - ・出生体重で補正した施設ランク）
 - ・予後データ（年度別、全体との比較、施設ランク）
 - ・年次推移（2003年からの推移、全体との比較）
 - ・出生体重および在胎期間別データ（年度別）
- で、全体で約300頁となっている。そのため、参加施設では、登録データの年次報告書から、当該施設での診療内容の課題を知り、その向上を図ることができる。

3. 死亡率の年次推移

2003年出生児と2012年出生児の死亡退院率を比較すると、図2に示すように、11%から6%と低下しており、10年間で死亡率が約1/2に減少した。このデータベースを通じて、わが国の周産期医療が現在も急速に進歩していることが確実に示された。

図2 死亡退院率の年次推移



4. データベースの機能強化

2015年出生児からは、現在の出生体重のみ

による登録基準から、在胎期間 32 週未満または出生体重 1500g 以下とする。また、登録項目として、＜母体情報＞として、胎児母体間輸血症候群の有無、＜分娩情報＞として臍帯動脈血ガス分析値、＜新生児期情報＞として入院時血液ガス分析値を追加する。

D．考察

周産期ネットワークデータベースは順調に運営されているが、まだ参加していない施設が存在するので、さらなる拡大が必要である。また、従来の登録基準は出生体重 1500g 以下であったため、在胎期間が進むと子宮内発育制限児の割合が多くなり、分析結果にバイアスが生じていた。そこで、2015 年からは、在胎期間 32 週未満または出生体重 1500g 以下を登録基準とした。この結果、子宮内発育制限児の増加による解析バイアスを回避することが可能となった。また、新たに出生時の情報を追加することで、出生前の胎児の状態と出生後の予後との関係をより詳細に検討できるデータベースとなった。今後のわが国の周産期医療の発展にとって、周産期ネットワークデータベースはさらに重要な役割を果たすことになる。

E．結論

2003年出生児から登録されている周産期ネットワークデータベースが順調に運営され、さらにその機能が強化された。

G．研究発表

1. 論文発表

・Shah PS, Lee SK, Lui K, Sjörs G, Mori R, Reichman B, Håkansson S, Feliciano LS, Modi N, Adams M, Darlow B, Fujimura M, Kusuda S, Haslam R, Mirea L; International Network for Evaluating Outcomes of Neonates (iNeo). The International Network for Evaluating Outcomes of very low birth weight, very preterm neonates (iNeo): a protocol for collaborative compar-

isons of international health services for quality improvement in neonatal care. BMC Pediatr. 2014; 14:110.

・Morisaki N, Belfort MB, McCormick MC, Mori R, Noma H, Kusuda S, Fujimura M; Neonatal Research Network of Japan. Brief parenteral nutrition accelerates weight gain, head growth even in healthy VLBWs. PLoS One. 2014; 9:e8392.

2. 学会発表

・Kusuda S. Outcomes of Infants Born at 22 and 23 Weeks Gestation. Hot Topics in Neonatology 2014

H．知的財産権の出願・登録状況
無し

慢性肺疾患を中心に極低出生体重児長期予後を改善する NICU 介入の全国調査

担当責任者 難波 文彦 埼玉医科大学総合医療センター小児科講師
研究協力者 田村 正徳 埼玉医科大学総合医療センター小児科教授

研究要旨

新生児慢性肺疾患（chronic lung disease of infancy, CLD）は早産・低出生体重児にとって高頻度で重篤な合併症の一つであり、神経学的後遺症を残す。中でも近年、新生児期のみならず、幼・小児期・成人期にも呼吸器合併症が引き続くことが問題となっている。今回我々は、CLD 全国調査、CLD 動物モデルを用いた疾患関連遺伝子のスクリーニングとその機能解析、CLD 重症化に関連する遺伝子多型解析、シベレスタットナトリウム（以下、シルベスタット）を用いた CLD 新規治療・予防法に関する臨床試験、を目的に研究を行った。2015 年 CLD 全国調査の質問票を作成し、アンケート調査研究の準備を行った。新生仔期高濃度酸素暴露 CLD 動物モデルを用いて、CLD 回復期に重要な遺伝子 Hapln1 を同定した。Single Nucleotide Polymorphism（SNP）解析のため早産・低出生体重児より血液を採取し genomic DNA を抽出した。CLD 薬物療法に関する全国調査を行い、シベレスタット使用施設が判明した。新生児に対するシベレスタットの有効性について後方視的に検討を行っている。引き続き CLD の現状と病態把握、新規バイオマーカーの探索と治療・予防法の開発のための研究を行っていく。

A. 研究目的

本研究の目的は、新生児慢性肺疾患（chronic lung disease、以下 CLD）の現状と病態把握、新規バイオマーカーの探索と治療・予防法の開発のために、CLD 全国調査、CLD 動物モデルを用いた疾患関連遺伝子のスクリーニングとその機能解析、CLD 重症化に関連する遺伝子多型解析、シベレスタットナトリウムを用いた CLD 新規治療・予防法に関する臨床試験、を行うことである。

B. 研究方法

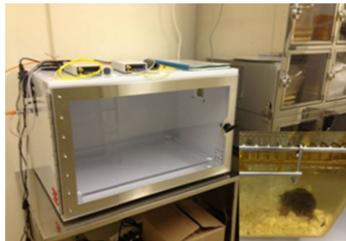
1. CLD 全国調査

5 年毎に行われる CLD 全国調査を行う。2010 年に行われた調査票（体重別入院症例調査、CLD 症例調査、CLD 管理方式調査）を入手する。追加項目を検討し、調査票を更新、埼玉医科大学総合医療センター倫理委員会に提出する。同倫理委員会承認後、全国の日本周産期・新生児医学会周産期（新生児）専門医基幹および指定施設に送付する。

2. 遺伝子発現解析

マウスは C57BL/6 マウスを用いる。生後 12 時間以内の新生仔マウスに 95%酸素を 96 時間（4 日間）動物チャンバー内で暴露し、CLD マウスモデルを作製する（図 1）。3 日間 21%酸素（以下、ルームエア）で回復

させた日齢 7 のマウスから肺を摘出し、mRNA を抽出する。microarray を用いて網羅的に遺伝子発現解析を行う。コントロールはルームエアで飼育した日齢 7 マウスとする。同定した遺伝子の発現量は qPCR を用いて確認する。



Animal chamber
O₂ controller
CO₂ controller

図 1. 動物チャンパー
動物チャンパー内で新生仔マウスに対して 95% 酸素を 96 時間暴露する。

3. 遺伝子多型解析

両親へのインフォームドコンセント後、在胎期間 32 週未満かつ出生体重 1250g 未満の早産・低出生体重児から末梢血 2 mL を採取する。採血は EDTA 入り採血管に行い冷蔵庫保存する。Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) を用いて DNA を抽出し、注目する遺伝子の遺伝子多型を TaqMan® SNP Genotyping Assays を利用して解析する。

4. シベレスタットナトリウム

全国の総合周産期施設における CLD に対する薬剤使用の状況を把握するためにアンケート調査を実施する。シベレスタット使用経験施設 (11 施設) と CLD に対するシベレスタット投与に関する後方視的研究を行う。対象は 2007 年から 2013 年の 7 年間に入院した在胎期間 28 週未満かつ出生体重 1000g 未満の早産・低出生体重児とする。カルテを後方視的にレビューし、新生児に対するシベレスタット投与の効果について非投与群と予後、特に呼吸器系予後を比較検討する。

C. 研究結果

1. CLD 全国調査

2010 年に行われた CLD 全国調査の調査票を高槻病院小児科、南宏尚先生から入手した。体重別入院症例調査、CLD 症例調査、CLD 管理方式調査のうち、CLD 管理方式調査に近年話題となっている、INSURE (intubation-surfactant-extubation)、カフェイン、シベレスタット、HFNC (high-flow nasal cannula)、NAVA (neurally adjusted ventilatory assist) 等の項目を追加した。現在、本調査研究について、埼玉医科大学総合医療センター倫理委員会に申請中であり、承認後には日本周産期・新生児医学会周産期 (新生児) 専門医基幹および指定施設に質問票を送付する予定である。

2. 遺伝子発現解析

生後 12 時間以内の新生仔マウスに 95% 酸素を 96 時間暴露し、CLD 動物モデルを作製した。96 時間以降はルームエアで飼育した (回復期)。新生仔期の高濃度酸素暴露により、肺胞発達は停止し、数の少ない大きさの大きい肺胞構造を示した (肺胞の単純化)。肺胞の単純化は少なくとも回復期 (日齢 14) まで持続した (図 2、図 3)。

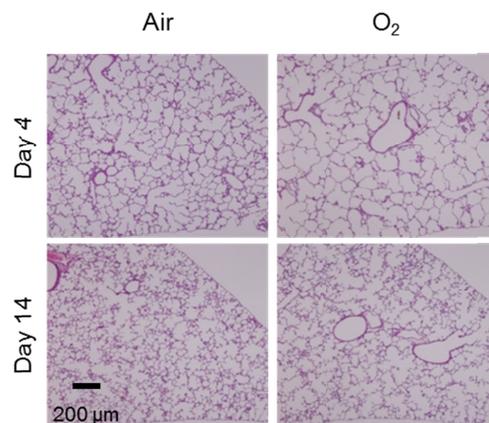


図 2. 肺組織像 (H.E.染色)

新生仔期高濃度酸素暴露により肺胞は単純化し、影響は日齢 14 まで続いた。(Air、21%酸素；O₂、95%酸素)

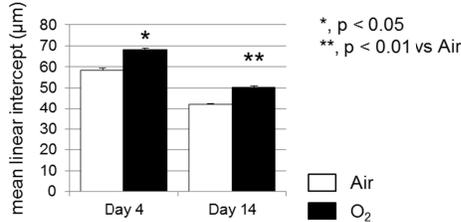


図 3. Mean Linear Intercept (MLI)

MLI (肺胞径の指標) は高濃度酸素暴露群で有意に大きく、この有意差は日齢 14 まで続いた。(Air、21%酸素；O₂、95%酸素)

新生仔期 96 時間高濃度酸素暴露後 3 日間ルームエア下でリカバリーさせた日齢 7 のマウス肺を用いて遺伝子発現解析を行った。ルームエア下で 7 日間飼育したマウス肺をコントロールとした。コントロールと比較して肺で 2 倍以上有意に発現量の異なる遺伝子をスクリーニングし、結果以下の 5 つの遺伝子、Cc dc3、Prnd、Cpa3、Hapln1、Fhl5 を同定した。(図 4、図 5)

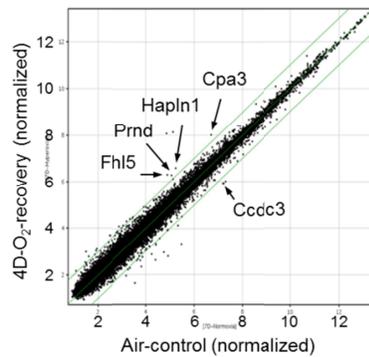


図 4. 遺伝子発現解析 (マウス肺)

両群間 (O₂ 対 Air) で有意に 2 倍以上発現量の異なる遺伝子 5 つを同定した。(Air、21%酸素；O₂、95%酸素)

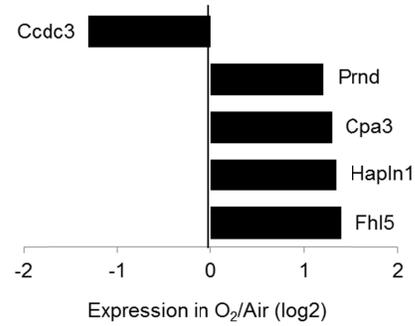


図 5. 候補遺伝子

候補遺伝子の発現量の比 (O₂/Air) (Air、21%酸素；O₂、95%酸素)

同定した 5 つの候補遺伝子の中から、細胞外基質で重要な役割を果たし、その欠損マウスは生後すぐ呼吸不全で死亡し、日本人の遺伝子多型が報告されている Hapln1 遺伝子に注目し、以降の解析を行った。まず、microarray の結果の妥当性を確認するため、Hapln1 の発現量を qPCR を用いて確認した。Microarray の結果と同様に高濃度酸素暴露群ではコントロール群と比較して、Hapln1 遺伝子の発現量が 2 倍以上有意に増加していた (図 6)。

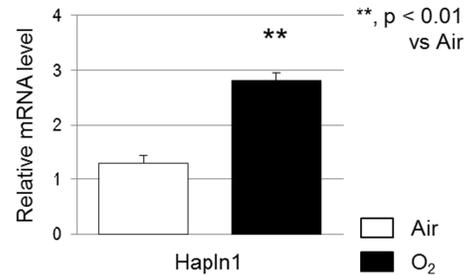


図 6. Hapln1 遺伝子発現量の比較

高濃度酸素暴露群では Hapln1 遺伝子発現量がコントロール群と比較して有意に増加した。(Air、21%酸素；O₂、95%酸素)

次に Hapln1 遺伝子の発現量を同様に qPCR で時系列に定量したところ、Hapln1 遺伝子発現量は高濃度酸素暴露後の回復期

にコントロールと比較して有意に上昇し、この有意差は成獣期まで持続した（図 7）。

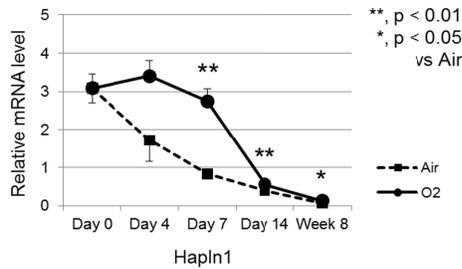


図 7. Hapl1 遺伝子発現の時間的推移
コントロール群と比較して、高濃度酸素暴露群では暴露後回復期に Hapl1 遺伝子の発現量が増加し、その増加は成獣期まで続く。（Air、21%酸素；O2、95%酸素）

今後は細胞・組織培養系を用いた in vitro の解析やノックアウトマウスを用いた in vivo の解析により、Hapl1 が CLD の病態にどのように関与しているかどうかについて解析を行っていく予定である。

3. 遺伝子多型解析

埼玉医科大学総合医療センターおよび埼玉医科大学の倫理委員会の承認を得て、研究を開始した。対象患児の両親の同意を得た後、末梢血 2 mL を採取した。末梢血全血からキット（Wizard® Genomic DNA Purification Kit、Promega）を用いてゲノム DNA を抽出し、今後の SNP タイピングのため、4°C で保存中である。SNP 解析の候補遺伝子として Hapl1 の遺伝子多型をタイプング予定である。また、新生児慢性肺疾患コンソーシアムを立ち上げ、現在多施設共同研究体制を構築中である。参加予定施設は、当センターの他、秋田大学、大阪大学、大阪府立母子保健総合医療センター、久留米大学、慶応大学、国際医療福祉大学、聖マリアンナ医科大学、筑波大学、東京女子医科大学、獨協医科大学越谷病院、富山大学、北海道大学、横浜市立大学附属市民

総合医療センター、りんくう総合医療センターである。

4. シベレスタットナトリウム

CLD に対する予防薬・治療薬の使用状況について全国の総合周産期施設 96 施設にアンケート調査を行った。回答率は 80%（77/96）だった（図 8）。

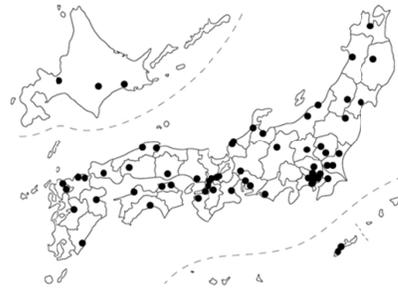


図 8. 回答のあった総合周産期施設
回答率は 80%（77/96）。

CLD 予防を目的とした薬剤のうちシベレスタットは 96 施設中 15 施設（16%）で使用されていた（図 9）。

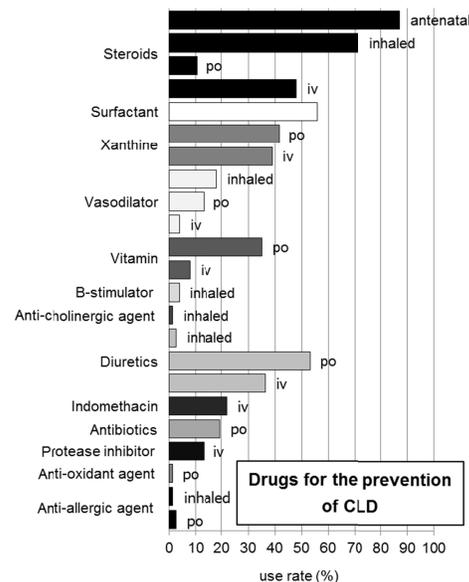


図 9. CLD 予防を目的とした薬剤使用率
96 施設中 15 施設でシベレスタットを CLD 予防に使用していた。

15施設中11施設の賛同のもと、「CLDに対するシベレスタット投与の予防・治療効果に関する研究班」を立ち上げた。参加施設は、安城更生病院、大分県立病院、岡山医療センター、北九州市立医療センター、高知医療センター、聖マリアンナ医科大学、名古屋第一赤十字病院、名古屋第二赤十字病院、奈良県立医科大学、広島市民病院、三重中央医療センターである。現在、早産・低出生体重児に対するシベレスタットの有効性について、後方視的カルテレビューによる検討を行っている。将来的には多施設によるランダム化比較試験を行う計画である。

D. 考察

CLDは、めざましい新生児医療の発展にもかかわらず、未だ早産・低出生体重児にとって高頻度で重篤な合併症の一つであり、神経学的後遺症を残す。出生体重1000g未満の超低出生体重児に限っては50%以上が罹患する。中でも近年、新生児期のみならず、幼・小児期にも呼吸器合併症が引き続くことが問題となっており、呼吸器感染症や喘息様疾患で頻回の再入院を必要とする。この症状は思春期・青年期でも引き続き、長期の薬剤によるコントロールを必要とすることもあり、医療経済学上大きな問題となっている。今回われわれは、CLDの現状と病態把握、新規バイオマーカーの探索とその機能解析、薬剤を用いた新規治療法の開発に向けて研究を行った。

まず、CLDの現状把握のため2015年に予定しているCLD全国調査の準備を行った。本調査に関しては2015年春には調査票を送付する予定である。過去の全国調査と比較することにより現在のCLD対策に関する問題点を抽出することができ、その結果を今後のCLD対策とそのための研究材料として

使用できることが期待される。また、新しいCLD対策として期待されているINSURE、HFNC、NAVA等も質問事項に加え、これらの国内での認知度を知るとともに今後の情報提供に役立てることができる。

CLDの予後判定や治療法の開発のためには新規バイオマーカーの同定が必須である。今回われわれは、CLDマウスモデルの回復期肺を用いた遺伝子発現解析を行った結果Hapl1に注目し、以降の解析を行った。Hapl1遺伝子発現はCLDマウスモデルの回復期に増加し、その増加は成獣期まで持続した。今後は胎児肺の培養系やHapl1遺伝子欠損マウスを用いた表現型解析により、肺内Hapl1の機能について解析予定である。

さらに、CLDは多因子疾患であり、過去の双胎研究等により遺伝もCLDの病因の一つとして報告されている。現在、患者血液よりgenomic DNAを収集中である。CLD動物モデルで候補遺伝子として同定され、日本人での遺伝子多型もすでに報告されているHapl1を最初の候補遺伝子としてSNP解析を行っていく予定である。

CLDのその他の病因の一つとして胎内感染/炎症の重要性が近年指摘されている。胎内感染/炎症の病態は絨毛膜羊膜炎であり、それは主に母体好中球浸潤による急性炎症である(Namba F, et al. *Pediatr Res* 2010)。また、好中球がCLDまたはCLD重症化に関与することを示唆する報告も多い。シベレスタットは選択的好中球エラスターゼ阻害剤であり、好中球エラスターゼ阻害による重症化予防がCLDの新規予防・治療法として期待されている。今回われわれは新生児に対するシベレスタット投与の有効性を後方視的に検討するために、シベレスタット使用施設を調査した。現在、カルテから抽出した臨床データを収集・解析中である。同時に小児に対するシベレスタ

ット投与に関する系統的レビューも行っており、将来的には多施設共同ランダム化比較試験を計画中である。

E. 結論

- 2015年 CLD 全国調査の質問票を作成し、アンケート調査研究の準備を行った。
- CLD 動物モデルを用いて、CLD 回復期に重要な遺伝子 Hapln1 を同定した。胎児肺組織培養や遺伝子欠損マウス等を用いた機能解析を行う。
- SNP 解析のため患者血液より genomic DNA を収集中である。Hapln1 の SNP を解析予定である。
- シベスタット使用施設を調査した。新生児に対するシベスタットの有効性について後方視的に検討中であり、将来的には多施設ランダム化比較試験を行う。

F. 研究発表

1. 論文発表

- **Namba F**, Go H, Murphy JA, et al. Expression level and subcellular localization of heme oxygenase-1 modulates its cytoprotective properties in response to lung injury: a mouse model. PLoS One 2014; 9: e90936.
- Itakura R, **Namba F**, Arakawa A, et al. EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in a ten-year-old girl accompanied by posterior reversible encephalopathy syndrome and disseminated herpes simplex virus infection: A case report. J Saitama Medical University 2015; in press.
- Ogawa R, Mori R, **Namba F** et al. Drug therapies in bronchopulmonary dysplasia in Japan: questionnaire survey. Pediatr Int 2015; in press.
- **難波文彦** . 病態—出生後因子とその対応 酸素障害 . 最新版 慢性肺疾患、

周産期医学、2014; 44 (8): 1053-1057 . 東京医学社 .

- モハメド・ハメド・フセイン、**難波文彦**、加藤稲子ら . 呼吸管理の実際 HHHFNC . 最新版 新生児呼吸管理、周産期医学、2014; 44 (12): 1571-1576 . 東京医学社 .
 - **難波文彦** . 新生児慢性肺疾患 . 今日の治療指針、2015; 1: 1272 . 医学書院 .
- ### 2. 学会発表
- Ogawa R, Mori R, Sako M, Kageyama M, Tamura M, **Namba F**. Drug therapies for bronchopulmonary dysplasia in Japan: A questionnaire survey. Pediatric Academic Societies and Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting, 2014.5: Vancouver, Canada, poster presentation.
 - 小川 亮、森 臨太郎、佐古まゆみ、影山 操、田村 正徳、**難波文彦** . わが国における新生児慢性肺疾患薬物療法：アンケート調査から、第 50 回日本周産期・新生児医学会、2014. 7: 浦安、一般講演
 - **難波文彦**、小川亮、伊藤誠人、新井幸男、郷勇人、加藤稲子、田村正徳 . 動物モデルを用いた新生仔期高濃度酸素暴露の長期的影響と肺傷害修復過程における重要分子の同定、第 59 回日本未熟児新生児学会、2014. 11: 松山、一般講演

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（成育疾患克服等総合研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

低出生体重児出生予防のための妊娠中の適正体重増加と食事摂取保健指導の介入研究

担当責任者 大田えりか（成育医療研究センター研究所政策科学研究部 室長）

研究要旨

日本において、痩せ型の女性が20年前に比べ2倍に増加しており、痩せ型女性の妊娠中の体重管理が低出生体重児増加の大きなリスク要因となっている。妊婦健康診査（以下、妊婦健診という。）での効果的な介入に関するエビデンスをまとめたパッケージは未だなく、効果のある介入につながるエビデンスの構築が急務である。本研究分担任では、低出生体重児出生予防のための妊娠中の適正体重増加と食事摂取保健指導の介入研究を実施するために、適正な体重増加量の範囲および効果のある介入パッケージを作成することを目的とした。妊娠中の適正体重増加量に関する系統的レビューおよび低出生体重児出生予防のための妊娠中効果のある介入研究のオーバービューレビューを実施している。来年度には、科学的根拠のまとめが報告できる予定である。

研究協力者

Olukunmi Omobolanle Balogun 東京大学
Amarjagal Dagvadorj 成育医療研究センター
研究所
Mizanur Rahman 東京大学
Juan Pablo Peña-Rosas 世界保健機関

A. 研究目的

近年日本では、低出生体重児が全出生のおよそ10%にまで増加している。低出生体重児は、将来生活習慣病になるリスク要因であることが、多くの疫学調査から明らかにされている。低出生体重児が増加する要因の多くは母体要因であり、女性の喫煙率の増加や、高齢出産の増加に加え、アジア諸国に特有の妊娠前Body Mass Index(BMI)が痩せ型(BMI < 18.0kg/m²)の女性の増加が要因であると報告されている。特に日本において、痩せ型の女性が20年前に比べ2倍に増加しており、痩せ型女性の妊娠中の体重管理が低出生体重児増加の大きなリスク要因となっている。妊婦健診での効果的な介入に関するエビデンスをまとめたパッケージはいまだなく、効果のある介入につながるエビデンスの構築が急務である。本研究分担任では、低出生体重児出生予

防のための妊娠中の適正体重増加と栄養指導の介入研究を実施するために、適正な体重増加量の範囲および効果のある介入パッケージを作成することを目的とした。

B. 研究方法

- 1) 妊娠中の適正体重増加量に関する系統的レビューの計画書(プロトコール作成)

妊娠中の適正な体重増加量を明らかにするために、系統的レビューを実施する。

研究疑問：妊娠前BMI別に、周産期リスクを予防するために妊娠中の体重増加量の適正な範囲はどの程度か？

検索データベース：PubMed, EMBASE, CINAHL, British Nursing Index, Web of Scienceにて検索を実施する。

研究デザイン：population-basedのprospective, retrospective研究

対象者：妊婦

暴露要因：妊娠中の体重増加量は、妊娠前の体重(self-reportでも可)または妊娠初期の初回の体重から出産直前の体重の変化量と

する。

アウトカム：主なアウトカムは、small for gestational age (SGA) 児または、large for gestational age (LGA) 児出生とする。副次的なアウトカムとして、早産児、低出生体重児、巨大児、周産期死亡の児の出生とする。

研究の質の評価：方法の質の評価は、Newcastle-Ottawa Scaleを用いる。

分析方法：データは、BMIカテゴリーを（18.5未満、18.5-25未満、25以上）の3群に分けて、アウトカムになるリスクの範囲をメタ分析で統合し、適正範囲を計算する。

- 2) 低出生体重児出生予防のための妊娠中に効果があるとされている介入研究のオーバービューレビューの計画書（プロトコール）

低出生体重児出生を予防するための妊娠期の適切な体重増加量・身体活動量・食事摂取量・生活習慣などの妊婦健診での保健介入についてオーバービューレビューを作成し、エビデンスを集約し、効果のある介入に関して明らかにする。

研究手法：オーバービューレビュー

分析対象となる研究：randomized controlled trials (RCTs)を対象とするコクランレビューなどの系統的レビュー

対象者：妊産婦、または妊娠前の女性

介入方法：行動介入（栄養摂取、運動、生活習慣、サプリメント摂取など）

結果測定方法：出生体重、低出生体重児(2500g未満)出生率（%）

先行研究探索方法：The Cochrane central register for controlled trials (CENTRAL), Cochrane database of systematic reviewsなどのオンラインデータベースを用いて、2009年以降にアップデートされているPregnancy and childbirth groupのコクランレビューの中で、低出生体重児をアウトカ

ムとして行われたすべての介入研究を対象に検索を行い、分析を行う予定である。

（倫理面への配慮）

出版されたデータの二次利用であるので、倫理委員会の承認は要さない。

C. 研究結果

- 1) 妊娠中の適正体重増加量に関する系統的レビュー

本分担研究班およびWHOの栄養部と共同研究で、妊婦の体重増加量の系統的レビューを実施している、添付資料1の“Global, regional and national optimal gestational weight gain in pregnant women: a systematic review and meta-analysis”の計画書(protocol)を作成した。検索を実施したところ、合計5963の文献が5つのデータベースから検出され、現在スクリーニングを実施している(表1)。

ProtocolはPROSPEROという系統的レビューの登録システムに、登録申請をしている。Protocolも論文として、英文医学誌に出版する予定である。

表1 検索結果

Database searched	Date searched	Number of results
CINAHL (EBSCO) 1982 to feb 2015	5/2/15	390
MEDLINE & Medline in Process (OVID) 1946 to 4/2/15	5/2/15	1659
EMBASE (OVID) 1974 to 4/2/15	5/2/15	3922
British Nursing Index 1994 to Feb 2015	5/2/15	13
Web of Science (SCI, SSCI, CPCI-S, CPSI-SSH) to Feb 2015	5/2/15	294
Total		6279
After de-duplication		5963

2) 低出生体重児出生予防のための妊娠中効果のある介入研究

WHO Global Nutrition Targets 2025: Low Birth Weight Policy Briefのドラフト作成(特に、サプリメントによる介入の有効性の部分を加筆した)に貢献した(添付資料2)。低出生体重児を2025年までに30%減少させるという目標に向けて、日本から貢献するために、妊娠中に効果のある介入のパッケージを作成するために、来年度overview reviewを作成する。

ポリシーブリーフでは、低出生体重児出生予防に効果のある介入として以下のものがあげられた。引き続き、これらの効果のある介入をまとめる論文を作成する予定である。

D. 考察

上記の系統的レビューをもとに、低出生体重児の出生を予防するための科学的根拠を明らかにすることができる。それをもとに、妊娠中に効果のある介入のパッケージを作成する。WHOとの共同研究で進めることにより、日本のみならず世界の低出生体重児出生?予防にも貢献することができる。低出生体重児出生?予防のために、痩せ型の妊婦の体重増加量をどのように増やしていくかが今後の課題だが、文化的な背景もあるため、今後心理の専門家などと相談しながら、計画している系統的レビューにより明らかになった科学的根拠を日本でどのように応用するかを明らかにする必要がある。

E. 結論

系統的レビューは順調に進んでおり、低出生体重児を予防するための科学的根拠を明らかにすることができる。今後、日本で増加するやせ型の体型の妊婦が、適正な体重増加ができるような有効な介入方法を文化的な背景を含めて検討していく必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Kita M, Gilmour S, Ota E. Trends in perinatal mortality and its risk factors in Japan. 20th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility, Paris Marriott Rive Gauche Hotel & Conference Center, Paris, France, 2014, Dec.5.
- 2) Kita M, Gilmour S, Ota E. Estimating trends in the optimal birth weight in Japan, 1979-2010. 20th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility, Paris Marriott Rive Gauche Hotel & Conference Center, Paris, France, 2014, Dec.6.

G. 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

Proposal

Global, regional and national optimal gestational weight gain in pregnant women: a systematic review and meta-analysis

Background and rationality

The monitoring gestational weight gain (GWG) during pregnancy reflects of measuring nutritional status and physical activity during pregnancy. The effects of gestational weight gain on perinatal outcomes have been well recognized. A systematic review of the outcomes of maternal weight gain have suggested that low birthweight (LBW), small for gestational age (SGA), macrosomia and large for gestational age (LGA) have strong correlations with gestational weight gain, while cesarean section has a moderate correlation and preeclampsia has a weak correlation with gestational weight gain.¹ The updated guideline by the Institute of Medicine in the US regarding appropriate gestational weight gain published in 2009. There is no comprehensive updated review for appropriate GWG during pregnancy globally.

Aim: The main aim of this study is to determine the appropriate gestational weight gain (GWG) for women at global, regional level.

Objective: We will conduct a systematic review with meta-analysis of the literature to assess appropriate GWG and its range for each maternal body mass index (BMI) category (underweight, normal, overweight, or obesity) at the global, regional, and country level.

Methods

Population: All pregnant women

Exposure: GWG and it will be defined as the differences between the weights recorded at the third trimester closed to the date of delivery and the weight recorded at the pre-pregnancy or first antenatal visit. First visit in in the first trimester will be treated as fist antenatal visit.

Outcomes: Small for gestational age (SGA) or large for gestational age (LGA)

Study Inclusion criteria:

- Pregnant women aged 15-49 years
- Singleton deliveries
- Self-reported weight as well as measured weight
- Population-based cohort studies particularly prospective or retrospective types
- No restrictions on language or time.
- No restrictions on country or region.
- Published articles and unpublished work including conference proceedings, and working papers.
- Multiple publication from the same study data: if they provide mutually exclusive information, both publications were included

Study exclusion criteria:

- Women weights recorded after first trimester.
- Cross-sectional studies and case-control studies
- High risk population in the cohort: women with HIV/AIDS, malaria, heart diseases, diabetes, preeclampsia or pregnancy-induced hypertension
- RCTs addressing the any intervention during pregnancy
- Systematic review

Search Strategy:

We will conduct a systematic review with meta-analysis according to Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) census statement.² We will perform a search for studies on maternal anthropometry and risk of perinatal outcomes particularly SGA or LGA with the assistance of an information specialist. A comprehensive literature review using the databases PubMed, EMBASE, CINAHL, and British Nursing Index will be performed with the assistance of an information specialist. A separate search of Web of Science will be undertaken in order to capture any grey literature. Further searches for eligible studies were conducted by reviewing references within identified papers and relevant journals. No limit will be applied to the databases either in terms of publication date or language, with all databases searched from inception.

Three search themes will be merged using the Boolean operator “AND.” The first theme, pregnant women, combined exploded versions of Medical Subject Headings pregnant women OR pregnancy OR title and abstract text mother* OR pregnan* OR gravid OR obstetric OR antenatal OR antepartum OR gestation*. The second theme, maternal anthropometry, combined exploded versions of Medical Subject Headings terms Body Mass Index OR Body Weight OR gestational weight gain OR title and abstract text BMI* OR weight* OR attained weight OR height*. The third theme, pregnancy outcomes combined exploded versions of Medical Subject Headings terms infant, low birth weight

OR gestational age, OR birth weight OR text words small for gestational age OR birth weight.

Study Quality Assessment Checklist: We employed a specific a specific checklist to assess the methodological quality of all included cohort studies using the Newcastle–Ottawa Scale (NOS) recommended by Wells and colleagues.³ Two authors will assess the study quality independently.

Data Extraction Strategy: Two authors will manually enter data into a standard data extraction form for each study and then synthesize into tables.

Measurement of appropriate GWG: Appropriate GWG and its ranges differ according to maternal body mass index (BMI) at pre-pregnancy or first trimester. The range of optimal GWG will be determined depending on the joint predicted risk of either SGA or LGA births in relation to maternal BMI categories (underweight, overweight, or obesity) proposed by WHO.

Analysis: We will summarize baseline characteristics, cases and events in exposed and non-exposed cohorts, and odds ratio (OR) or relative risk (RR) according to individual study sample size and design. RR will be used as the common outcome measure in observational studies. Where the incidence of an outcome is not common (<10) in the study population, the OR is approximately equivalent to RR, but this is not true for common outcomes of interest. In these cases, we will convert OR into RR according to Zhang's proposed methodology.¹ We will directly consider RRs when a study reports

hazard ratios and incidence density ratios. If the RR or OR is unavailable, we will estimate the unadjusted RR with 95% CI from raw data and use this estimate in the meta-analyses. We will estimate mean difference for continuous data.

Pooled risk estimates will be performed according to maternal BMI categories. If random-effects analyses will be conducted, the results will be presented as the average treatment effect with 95% confidence intervals, and the estimates of τ^2 and I^2 . If there are few studies, or small sample size, it may be impossible to estimate between-study variance with any precision. In that case a random-effects analysis would provide poor estimates of the distribution of intervention effects, therefore we would use a fixed-effect model. We used Funnel plots and Egger's regression asymmetry test to examine publication bias.² To account for these publication biases in meta-analysis, we additionally performed trim-and-fill procedures.³

We will perform subgroup and meta-regression analyses according to study design, sample size, confounding factors, study quality, World Bank country income category, WHO regions, ethnicity, and country-specific. We will undertake sensitivity analyses to determine differences in summary effects by dropping a small number of highly influential studies.

References:

Viswanathan M, Siega-Riz AM, Moos MK, et al. Outcomes of maternal weight gain. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2008(168):1-22

厚生労働科学研究委託費（成育疾患克服等総合研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

早産のエピジェネティクス分析

担当責任者 高橋尚人 東京大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター
准教授

研究要旨 低出生体重児は冠動脈疾患・肥満・2型糖尿病・メタボリックシンドロームをはじめとした成人後疾病発症のハイリスクとされ、エピジェネティックな変化がそのメカニズムの一つとして想定されているが、その証明はなされていない。本研究は極低出生体重児に焦点を当て、臍帯血・生後末梢血・胎盤絨毛膜板を用いて網羅的 DNA メチル化解析と遺伝子発現解析を行うことにより、出生時・出生後の栄養状態・治療がエピジェネティックな修飾状態と遺伝子発現に与える影響およびそれらの関連を検証することを目的とする。東京大学医学部附属病院と国立成育医療研究センターの倫理委員会の承認を得て、2014年11月より検体の回収を開始し、2015年1月末までに、35例の検体を採取した。今後、さらに検体採取を進めるとともに、解析を行う。メチル化解析・発現解析の過程で有意な情報が得られた場合は、DNA メチル化や発現に影響を与える遺伝因子について、SNP(single nucleotide polymorphism;一塩基多型)アレイ解析などを用いた検討を追加する。

A. 研究目的

近年、胎児期の環境が将来の生活習慣病の発症に影響するという仮説が提唱され、DOHaD(developmental origins of health and disease)と呼ばれている。この仮説は疫学的検討および動物実験では実証されつつあるが、ヒトにおけるそのメカニズムはまだ不明である。そのメカニズムの一つとして、環境に合わせて遺伝子発現を調節するエピジェネティクスが想定されている。一方、極低出生体重児（出生体重 1500g 未満の児）をはじ

めとする多くのハイリスク新生児が生存可能となっているが、これらハイリスク児には子宮内環境のみならず出生後にも医療など様々な環境要因が負荷される。従って、極低出生体重児には出生前のみならず出生後においてもエピジェネティクスの面で、様々な変化があることが想定される。

現在、これら胎生期から新生児期にかけてのエピジェネティクスについては、正期産児および late preterm の児についての検討はいくつか報告されているが、さ

らなる早産児や極低出生体重児に絞った解析はなされておらず、特に網羅的解析についての報告は皆無である。

本研究では、極低出生体重児の臍帯血および生後の末梢血、さらに胎盤から DNA を抽出し、網羅的メチル化解析および遺伝子発現解析を行うことにより、出生時・出生後の栄養状態・治療がエピジェネティックな修飾状態と遺伝子発現に与える影響およびその関連を検証する。さらに、この解析過程で有意な情報が得られた場合は、DNA メチル化や発現に影響を与える遺伝因子について、SNP アレイ解析および全エクソン配列解析を用いた検討を追加する。

B. 研究方法

本研究は東京大学（以下、東大）医学部産婦人科・小児科と成育医療研究センター周産期病態研究部の共同研究とする。東大が主たる研究施設となる。

主な対象は東京大学医学部附属病院（以下、東大病院）で出生する極低出生体重児とするが、同時に出生体重 1500g 以上の新生児についても、比較対照として同様に検体採取を行う。検体は胎盤、臍帯血、生後の末梢血とする。これら新生児の出生後に臍帯血 2ml と胎盤 3cm³ を採取する。また、新生児がそのまま東大病院新生児集中治療部に 2 週間以上入院する場合、受胎後 36～42 週の時点で末梢血を 1-2ml 採取する。

東大小児科において、これら採取した

血液からリンパ球を分離し、DNA と RNA を抽出した後、成育医療研究センターに搬送する。胎盤については、東大にて小片を取り分けた後、速やかに凍結保管とし、成育医療研究センターに搬送し、その後 DNA と RNA を抽出する。

これらの DNA について、成育医療研究センターにおいて DNA のメチル化を網羅的に解析する。その後、DNA のメチル化の状況を、在胎週数や出生体重、胎児発育遅延の有無(SGA vs non SGA: *SGA; small for gestational age)、母体因子などの臨床情報、児への治療内容(呼吸管理, 栄養状況など)、遺伝背景および各遺伝子の発現状態と照らし合わせて、統計学的解析を行う。もしこの過程で有意な情報が得られた場合は、DNA メチル化に影響を与える遺伝要因について、成育医療研究センター周産期病態研究部で、一塩基多型(SNP)アレイ解析および全エクソン配列解析、遺伝子発現アレイを用いた検討を追加する。全ゲノムシーケンス解析は行わない。

（倫理面への配慮）

研究は東京大学医学部附属病院ヒトゲノム倫理委員会・成育医療研究センター倫理委員基へ申請を行い、承認を得た（審査番号: 東大 G10036、成育 234）。その申請内容に基づき、検体・資料の匿名化を行い、個人情報保護した。臍帯血・胎盤絨毛膜板に関しては、母児に負担をかけずに採取を行っている。生後の末梢血に関しても、検体量は 1-2mL と直後の貧

血につながる量ではない。あくまで生後の児血の採取は定期採血と同時に行うこととしており、本研究のためだけの児からの採血は行っていない。また、児の全身状態が不安定と主治医が判断した際には生後末梢血採取は行っていない。研究参加者は新生児のため、その保護者に口頭ならびに文書にて説明し同意書を取得している。

C. 研究結果

2014年4月～10月の間は、検体処理プロトコルの作成、予備実験など研究開始にあたっての基盤作りを行なった。予備実験では健常成人血液検体を用いて単核球分離後、核酸精製ができることを確認した。2014年11月から臨床検体(臍帯血、生後の末梢血、胎盤絨毛膜板)の回収を開始し、2015年1月31日までに極低出生体重児9例、比較対照の児26例から検体回収し、全例のDNA回収に成功している。RNAに関しては生後の末梢血が1例回収できなかったが、残りの対象症例に関しては回収できている。これまでの研究参加症例35例の内訳は、35例全体の中で男児15例、女児20例、SGA児10例(男児5例、女児5例)、non SGA児25例(男児10例、女児15例)であった。在胎週数に関しては23週2日から40週2日の範囲(中央値37週3日)で、出生体重に関しては300gから3576gの範囲(中央値2540g)である。在胎週数32週以下の症例は9例でこのうちSGA児は5例、non SGA

児は4例であった。

D. 考察

予算執行が10月末からで、検体採取開始が遅かったこともあり、現時点で網羅的メチル化解析は行えていないが、年度内に開始する予定である。検体採取が順調に進んでいることから、今後さらに検体回収を進める。極低出生体重児の検体回収も進んではいるが、進捗速度の改善が望まれるため、現在、他の施設の当研究への参入を検討中である。

今までに検体を採取した対象について、週数・出生体重・SGAの頻度を考慮した症例の多様性もあり、今後の研究を進める上で十分に検討の対象になるものと考ええる。

メチル化解析・発現解析の過程で有意な情報が得られた場合は、DNAメチル化や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予定で、その準備も開始している。

E. 結論

研究初年度で、倫理申請、検体処理プロトコルの作成、予備実験など研究開始にあたっての基盤作りを行なった。2014年10月末の予算執行後、同年11月より検体(臍帯血、生後の末梢血、胎盤絨毛膜板)の回収を開始し、回収状況は順調である。平成27年度は残りの検体回収を行う。メチル化解析・発現解析の過程で有意な情報が得られた場合は、DNAメチル化や

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

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ック分析

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

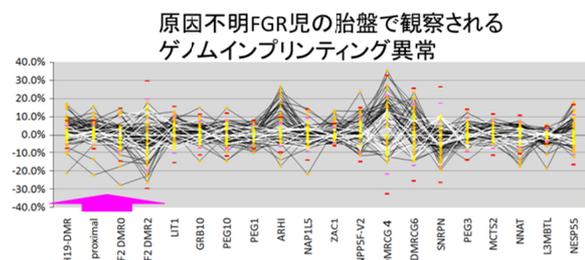
胎児発育不全症例および妊娠 37 週未満に出生した早産例から、臍帯血および胎盤（胎児面の絨毛膜板）を回収し、ゲノム DNA を精製する。エピジェネティックな修飾のうち、インプリンティング遺伝子の DNA メチル化状態は、諸家の報告からすでに胎児や胎盤の発生分化に直接重要な役割を担っていることが知られており、かつ、週数や環境因子に影響を受けない（受けにくい）領域と予測される。これらの特異的領域の DNA メチル化異常スクリーニングは、Bio-COBRA 法により行った（バイサルファイト変換後に非メチル化シトシンがウラ

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關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關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關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、症例群で觀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. Romanelli 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 CTNBN1 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

H . 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（成育疾患克服等総合研究事業）
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、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、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

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。

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 HL7 による標準化データその他、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

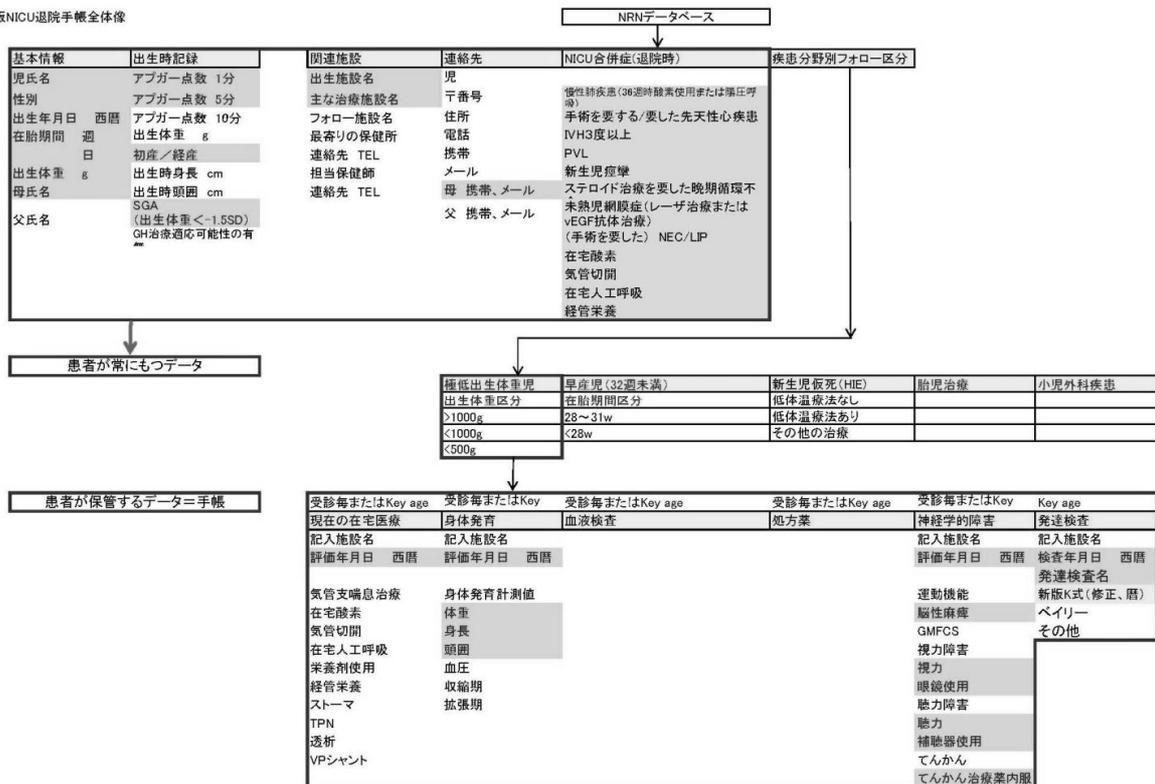
アップのための電子化 NICU 退院手帳の内容を策定し、データベース用のテンプレート見本を作成し、電子データとしての要件、データの出入力の方法について検討した。今後、電子カルテへの実装、パイロット研究を予定している。

G . 研究発表
なし

H . 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（成育疾患克服等総合研究事業）
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
- フォローアップ施設を中心とした後ろ向き研究 -

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

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.

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.

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系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系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系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, Rasoulpour 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?

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.

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、非合併例に比べて 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.
- #### 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.

1 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、対照となる正常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)

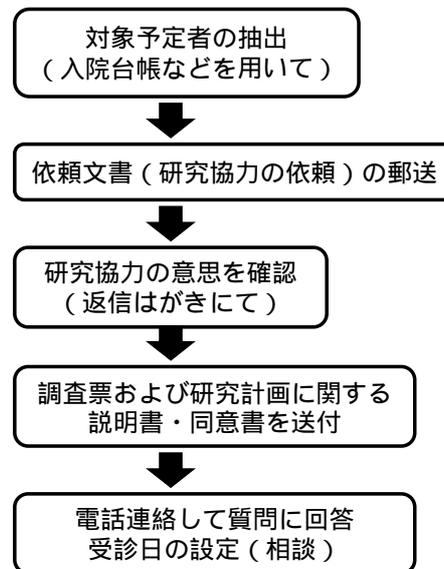


図1. 研究の依頼の手順

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。

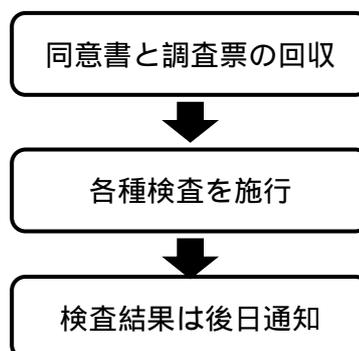


図2. 検査の手順と結果報告

5) WEB入力システム

全ての調査項目を各施設でWEB入力可能なシステムを作成した。各施設の研究

力者に対して 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

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。

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

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

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
- 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
- 呼吸機能検査
- ・ 肺活量（%VC）および 1 秒率（%FEV1.0）・・・各施設で実施
- 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
- 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（成育疾患克服等総合研究事業）
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：

FFQ 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。

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。

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

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。

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

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

学会等発表実績

委託業務題目「低出生体重児の発症機序及び長期予後の解明に関する研究」

機関名 独立行政法人 国立成育医療研究センター

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果(発表題目、口頭・ポスター発表の別)	発表者氏名	発表した場所 (学会等名)	発表した時期	国内・外の別
周産期データリングージュによる研究の意義と可能性	森臨太郎	第50回日本周産期・新生児医学会	2014.7	国内
周産期関連データベースの連結	森崎菜穂	第50回日本周産期・新生児医学会	2014.7	国内
DOHaD (Developmental origins of health and Disease)からみた環境化学物及び栄養の次世代への影響	福岡秀興	第17回環境ホルモン学会(シンポジウム)	2014.12.9	国内
胎生期栄養環境と生活習慣病の形成機序	福岡秀興	第23回アジア栄養科学ワークショップ	2014.11.29	国内
胎生期エピゲノム変化と小児内分泌のUpdate	福岡秀興	第24回臨床内分泌代謝Update in Saitama(シンポジスト)	2014.11.28	国内
若い女性のやせ志向と危惧される次世代の生活習慣病リスク	福岡秀興	平成26年度食育健康サミット(基調講演)	2014.11.27	国内
胎生期の脂質代謝とエピジェネティクス	福岡秀興	脂質栄養学会第23回大会(特別講演)	2014.8.29	国内
将来母親となる女子の成長期における栄養管理の重要性について	福岡秀興	第61回日本栄養改善学会学術総会(シンポジスト)	2014.8.21	国内
エピジェネティクスとGWASからみたDOHaD研究の最近の動向」	福岡秀興	第3回日本DOHaD研究会年会(基調講演)	2014.7.25	国内
DOHaD研究の現状と今後	福岡秀興	第50回日本周産期・新生児医学会学術集会(シンポジウム)	2014.7.14	国内
危惧される若い女性の低栄養問題	福岡秀興	平成26年度日本フードスペシャリスト協会通常総会(特別講演)	2014.6.5	国内
胎生期・新生児期の環境の及ぼす精神疾患及び発達障害の素因形成	福岡秀興	第56回日本小児神経学会学術集会(シンポジウム)	2014.5.29	国内

「妊婦栄養のたいせつさ」～成人病・胎児期発症起源説より～	福岡秀興	第58回食品新素材研究会	2014.2.7	国内
Drug therapies for bronchopulmonary dysplasia in Japan: A questionnaire survey.	Ogawa R, Mori R, Sako M, Kageyama M, Tamura M, Namba F.	Pediatric Academic Societies and Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting	2014.5	国外
わが国における新生児慢性肺疾患薬物療法：アンケート調査から	小川 亮、森 臨太郎、佐古 まゆみ、影山 操、田村 正徳、難波 文彦	第50回日本周産期・新生児医学会	2014. 7	国内
動物モデルを用いた新生仔期高濃度酸素暴露の長期的影響と肺傷害修復過程における重要分子の同定	難波文彦、小川亮、伊藤誠人、新井幸男、郷勇人、加藤稲子、田村正徳	第59回日本未熟児新生児学会	2014. 11	国内
Trends in perinatal mortality and its risk factors in Japan.	Kita M, Gilmour S, Ota E.	20th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility	2014.12.5	国外
Estimating trends in the optimal birth weight in Japan, 1979-2010.	Kita M, Gilmour S, Ota E.	20th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility	2014.12.6	国外
胎盤における環境エピゲノム変化とその医療活用	秦健一郎	第3回日本 DOHaD 研究会 学術集会	2014.7.26	国内
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？	秦健一郎	第13回別府遺伝医学セミナー	2014.6.4	国内
生殖・周産期のエピジェネティクス.	秦健一郎	第87回日本内分泌学会学術総会	2014.4.27	国内
胎児発育異常のゲノム・エピゲノムの解析	秦健一郎	群馬大学生体調節研究所	2014.3.7	国内
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～	秦健一郎	第7回福岡胎児医療フォーラム	2014.1.31	国内
Does home-visit program for high-risk pregnant women reduce parenting stress and improve birth outcomes in Japan?	Ichikawa K, Fujiwara T, Nakayama T, Sekiguchi T, Takahashi Y.	International Congress on Child Abuse and Neglect (Poster Presentation)	2014.9.14-17	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 （学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Relationships between Birth Weight and Serum Cholesterol Levels in Healthy Japanese Late Adolescents.	Sanae I, Uenishi K, Fukuoka H et al.	J Nutr Sci Vitaminol	2014	国内
Metabolomics analysis of umbilical cord blood clarifies changes in saccharides associated with delivery method.	F Hashimoto, Nishiumi S, Fukuoka H, et al.	Early Hum Dev	2013	国外
Folate Status and Depressive Symptoms in Reproductive-Age Women.	H Watanabe, Sugiyama T, Fukuoka H. et al.	Current Nutrition & Food Science	2012	国外
若い女性のやせ志向と危惧される次世代の生活習慣病リスク	福岡秀興	日本医師会雑誌	2015	国内
妊産婦のやせと胎児発育 DOHaD(Developmental Origins of Health and Disease)の視点から考える	福岡秀興, 伊藤早苗, 石田裕美	産婦人科の実際	2015	国内
胎内栄養環境と高血圧症 成人病胎児期発症起源説の視点から考える	福岡秀興, 平野大志, 向井伸二	血圧	2014	国内
母体の低栄養と精神疾患	福岡秀興	精神科	2014	国内
母体の低栄養と低出生体重児 - 成人病胎児期発症起源説の視点から - . 小児の臨床栄養 エビデンスとトピックス	福岡秀興	臨床栄養	2014	国内
がんおよび疾病予防の視点から見た周産期のエピゲノム変化	福岡秀興	栄養学レビュー (Nutrition Reviews 日本語版)	2014	国内
成人病胎児期発症説とPIHの胎児栄養 成人病胎児期発症起源説の視点から	福岡秀興, 向井伸治	産婦人科の実際	2014	国内
Accurate Prediction of the Stage of Histological Chorioamnionitis before Delivery by Amniotic Fluid IL-8 Level.	Yoneda S, Shiozaki A, Ito M, Yoneda N, Inada K, Yonezawa R, Kigawa M, Saito S.	Am J Reprod Immunol.	in press	国外

Helios-positive functional regulatory T cells are decreased in decidua of miscarriage cases with normal fetal chromosomal content.	Inada K, Shima T, Ito M, Ushijima A, Saito S.	J Reprod Immunol.	2015	国外
Human Exosomal Placenta-Associated <i>miR-517a-3p</i> Modulates the Expression of <i>PRKG1</i> mRNA in Jurkat Cells.	Kambe S, Yoshitake H, Yuge K, Ishida Y, Md. Moksed A, Takizawa T, Kuwata T, Ohkuchi A, Matsubara S, Suzuki M, Takeshita T, Saito S, Takizawa T.	Biol Reprod	2014	国外
Intestinal microbiota is different in women with preterm birth: results from terminal restriction fragment length polymorphism analysis.	Shiozaki A, Yoneda S, Yoneda N, Yonezawa R, Matsubayashi T, Seo G, Saito S.	PLoS ONE.	2014	国外
Intrauterine growth restriction modifies gene expression profiling in cord blood.	Yoshida T, Takasaki I, Kanegane H, Inomata S, Ito Y, Tamura K, Makimoto M, Saito S, Yoshimoto Y, Miyawaki T.	Pediatr Int	2014	国外

<p>Incidence and prediction of outcome in hypoxic-ischemic encephalopathy in Japan.</p>	<p>Hayakawa M, Ito Y, Saito S, Mitsuda N, Hosono S, Yoda H, Cho K, Otsuki K, Ibara S, Terui K, Masumoto K, Murakoshi T, Nakai A, Tanaka M, Nakamura T, Executive Committee, Symposium on Japan Society of Perinatal and Neonatal Medicine.</p>	<p>Pediatr Int.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>A review of the mechanism for poor placentation in early-onset preeclampsia; the role of autophagy in trophoblast invasion and vascular remodeling.</p>	<p>Saito S, Nakashima A.</p>	<p>J Reprod Immunol</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Whole exome sequencing revealed biallelic <i>IFT122</i> mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss.</p>	<p>Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Saito S, Matsumoto N.</p>	<p>Clin Genet</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>

<p>Multiple pregnancy, short cervix, part-time worker, steroid use, low educational level and male fetus are risk factors for preterm birth in Japan: A multicenter, prospective study.</p>	<p>Shiozaki A, Yoneda S, Nakabayashi M, Takeda Y, Takeda S, Sugimura M, Yoshida K, Tajima A, Manabe M, Akagi K, Nakagawa S, Tada K, Imafuku N, Ogawa M, Mizunoe T, Kanayama N, Itoh H, Minoura S, Ogino M, Saito S</p>	<p>J Obstet Gynaecol Res</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>The International Network for Evaluating Outcomes of very low birth weight, very preterm neonates (iNeo): a protocol for collaborative comparisons of international health services for quality improvement in neonatal care.</p>	<p>Shah PS, Lee SK, Lui K, Sjörs G, Mori R, Reichman B, Håkansson S, Feliciano LS, Modi N, Adams M, Darlow B, Fujimura M, Kusuda S, Haslam R, Mirea L; and on behalf of the International Network for Evaluating Outcomes of Neonates (iNeo)</p>	<p>BMC Pediatr</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Brief Parenteral Nutrition Accelerates Weight Gain, Head Growth Even in Healthy VLBWs</p>	<p>Morisaki N, Belfort MB, McCormick MC, Mori R, Noma H, Kusuda S, Fujimura M; the Neonatal Research Network of Japan</p>	<p>PLoS One</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>

Expression Level and Subcellular Localization of Heme Oxygenase-1 Modulates Its Cytoprotective Properties in Response to Lung Injury: a Mouse Model.	Namba F, Go H, Murphy JA, et al.	PLoS One	2014	国外
EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in a ten-year-old girl accompanied by posterior reversible encephalopathy syndrome and disseminated herpes simplex virus infection: A case report.	Itakura R, Namba F, Arakawa A, et al.	J Saitama Medical University	2015	国内
Drug treatment for bronchopulmonary dysplasia in Japan: questionnaire survey.	Ogawa R, Mori R, Namba F, et al.	Pediatr Int	2015	国外
病態 出生後因子とその対応 酸素障害 . 最新版 慢性肺疾患	難波文彦	周産期医学	2014	国内
呼吸管理の実際 HHHFNC . 最新版 新生児呼吸管理	モハメド・ハメド・フセイン、難波文彦、加藤稲子ら .	周産期医学	2014	国内
新生児慢性肺疾患	難波文彦	今日の治療指針	2015	国内
Compilation of copy number variants identified in phenotypically normal and parous Japanese women.	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.	J. Hum. Genet.	2014	国外

Dynamics of genomic 5-hydroxymethylcytosine during mouse oocyte growth.	Sakashita A, Kobayashi H, Wakai T, Sotomaru Y, Hata K, Kono T.	Genes Cells.	2014	国内
Ectopic DNMT3L Triggers Assembly of a Repressive Complex for Retroviral Silencing in Somatic Cells.	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.	J Virol.	2014	国外
DNMT3L promotes quiescence in postnatal spermatogonial progenitor cells.	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.	Development	2014	国外
HBx induces hypomethylation of distal intragenic CpG islands required for active expression of developmental regulators.	Lee SM, Lee YG, Bae JB, Choi JK, Tayama C, Hata K, Yun Y, Seong JK, Kim YJ.	Proc Natl Acad Sci U S A.	2014	国外
Offspring production with sperm grown in vitro from cryopreserved testis tissues.	Yokonishi T, Sato T, Komeya M, Katagiri K, Kubota Y, Nakabayashi K, Hata K, Inoue K, Ogonuki N, Ogura A, Ogawa T.	Nat Commun	2014	国外

<p>Comprehensive and quantitative multilocus methylation analysis reveals the susceptibility of specific imprinted differentially methylated regions to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations.</p>	<p>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.</p>	<p>Genet Med.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Variable maternal methylation overlapping the nc886/vtRNA2-1 locus is locked between hypermethylated repeats and is frequently altered in cancer.</p>	<p>Romaneli V, Nakabayashi K, Vizoso M, Moran S, Iglesias-Platas I, Sugahara N, Simón C, Hata K, Esteller M, Court F, Monk D.</p>	<p>Epigenetics.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation.</p>	<p>Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Complete genome sequence of the mitochondrial DNA of the river lamprey, <i>Lethenteron japonicum</i>.</p>	<p>Kawai YL, Yura K, Shindo M, Kusakabe R, Hayashi K, Hata K, Nakabayashi K, Okamura K.</p>	<p>Mitochondrial DNA.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>

<p>Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of the human imprintome and suggests a germline methylation independent establishment of imprinting.</p>	<p>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.</p>	<p>Genome Res.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Renal function in angiotensinogen gene-mutated renal tubular dysgenesis with glomerular cysts.</p>	<p>Hibino S, Sasaki H, Abe Y, Hojo A, Uematsu M, Sekine T, Itabashi K.</p>	<p>Pediatr Nephrol</p>	<p>2015</p>	<p>国外</p>
<p>Five-year follow-up of a giant coronary aneurysm using virtual coronary angiography.</p>	<p>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.</p>	<p>Coron Artery Dis.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>Accumulation of subcutaneous fat, but not visceral fat, is a predictor of adiponectin levels in preterm infants at term-equivalent age.</p>	<p>Nakano Y, Itabashi K, Sakurai M, Aizawa M, Dobashi K, Mizuno K.</p>	<p>Early Hum Dev.</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>

New Japanese neonatal anthropometric charts for gestational age at birth.	Itabashi K, Miura F, Uehara R, Nakamura Y.	Pediatr Int.	2014	国外
DOHaD の概念と妊娠前女性の教育のために .	板橋家頭夫	糖尿病と妊娠	2014	国内
早産低出生体重児と non-communicable diseases.	板橋家頭夫	新生児栄養学 (板橋家頭夫編集)	2014	国内
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.	板橋家頭夫	小児歯科臨床	2014	国内
Latent protective effects of breastfeeding on late childhood overweight and obesity: a nationwide prospective study.	Jwa SC, Fujiwara T, Kondo N.	Obesity.	2014	国外
Associations of childhood socioeconomic status and adulthood height with functional limitations among Japanese older people: Results from the JAGES 2010 Project.	Fujiwara T, Kondo K, Shirai K, Suzuki K, Kawachi I.	J Gerontol A Biol Sci Med Sci	2014	国外
Impact of Caste on the Neurodevelopment of Young Children from Birth to 36 Months of Age: A Birth Cohort Study in Chitwan Valley, Nepal.	Parajuli RP, Fujiwara T, Umezaki M, Watanabe C.	BMC Pediatrics.	2014	国外
Breastfeeding and risk of atopic dermatitis up to the age 42 months: a birth cohort study in Japan.	Ito J, Fujiwara T	Ann Epidemiol.	2014	国外
Home Environment and Prenatal exposure to Lead, Arsenic and Zinc on the Neurodevelopment of Six-month-old Infants Living in Chitwan Valley, Nepal.	Parajuli RP, Fujiwara T, Umezaki M, Furusawa H, Watanabe C.	Neurotoxicology and Teratology.	2014	国外

(注1) 発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。

(注2) 本様式は excel 形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。