

# 運動誘発性胎盤由来タンパク質による 妊娠・産後ストレス軽減の分子生理メカニズム

東北大学学際科学フロンティア研究所・新領域創成研究部 助教 楠山 譲二

## 要 約

2型糖尿病は、環境因子と遺伝的感受性の組み合わせから生じる複合疾患である。日本の糖尿病有病者は1000万人を超え、米国でも2030年までに米国人口の15%以上が糖尿病に罹患する可能性が報告されている。そのため、糖尿病やその付随疾患が個人、公衆衛生、経済レベルでもたらす社会的コストの増大は世界的な重大課題である。近年、母親の肥満や糖尿病は自身の健康に害悪を及ぼすだけでなく、子に対して糖尿病の発症リスクを伝播させることが分かっており、高脂肪食を摂取した母親から産まれた仔マウスでは、耐糖能障害や体脂肪の増加が認められる。我々は妊娠中の母マウスを車輪の設置された飼育ケージで飼い自発運動させたところ、母親の肥満による仔マウスの耐糖能機能の低下を改善できることを見出した。子の正常な発育には、母親の適切な養育行動(母性行動)が必要であり、これが損なわれると代謝疾患・精神神経疾患の後天的原因となりうる。我々は妊娠中に高脂肪食を摂取した母親マウスは産後の母性行動(授乳・保温・保護)を積極的に取らず、育児放棄や仔の成長発育阻害をもたらすことを見出した。ところが妊娠期に運動を組み合わせると、高脂肪食摂取による不安様行動や消極的母性行動は有意に改善された。ヒトにおいても同様に肥満群の妊婦は妊娠中の生活や分娩、育児に不安を抱くものが多いことが指摘されている。今後、肥満による妊娠期のストレスに対して実践的軽減法を確立できれば、妊婦と子の双方の健康や安定的な育児、ひいては少子化における具体的支援策に結びくと考えられる。

## 緒 言

2型糖尿病は、環境因子と遺伝的感受性の組み合わせから生じる複合疾患である。日本の糖尿病有病者は1000万人を超え、米国でも2030年までに米国人口の15%以上が糖尿病に罹患する可能性が報告されている。更に、妊婦の過剰栄養や肥満は、子の将来的な糖尿病罹患率を増大させることが、ヒトおよび動物モデルによって明らかとなっている。すなわち、親の肥満、前糖尿病、糖尿病は自身の健康に害悪を及ぼすだけでなく、子に対して糖尿病をはじめとした慢性代謝性疾患の発症リスクを伝播させる悪循環を引き起こすと考えられる。しかし、糖尿病の世代間連鎖を防ぐ効果的な予防方策や、それを実証するエビデンスは分かっていない。

高脂肪食を摂取した母親から産まれた仔マウスでは、耐糖能障害、血清インスリン濃度と体脂肪の増加が認められるが、申請者の研究グループは、妊娠中の母マウスを車輪の設置された飼育ケージで飼い、自発運動させると、母親の肥満による仔マウスの耐糖能機能の低下を劇的に改善できることを報告

した<sup>1</sup>。母親の運動は仔マウスの肝臓における、インスリン感受性の増加、グルカゴン刺激によるグルコース産生の低下をもたらした。この成果は、妊娠期運動は、仔の肝臓のグルコース代謝能を改善し、母親の肥満による子への耐糖能障害の伝播を防ぐ作用があることを示す。更に我々は、妊娠中の運動はマウスとヒトの胎盤でスーパーオキシドジスムターゼ3(Superoxide dismutase 3; SOD3)の発現を増加させており、この胎盤由来のSOD3が母親の運動の有益な効果の子へ伝達していることを実証した<sup>2</sup>。SOD3は母体内で胎子の肝臓に働きかけ、エピジェネティクス改変の一種であるDNA脱メチル化によって、主要な糖代謝遺伝子の発現を増加し、肝機能を改善させていた。更に胎盤からのSOD3発現には、運動によるビタミンD受容体シグナルが必要であることを突き止めた。

子の正常な発育には、母親の適切な養育行動(母性行動)も重要であり、これが損なわれると代謝疾患・精神神経疾患の後天的原因となりうる。興味深いことに、我々は妊娠中に高脂肪食を摂取した母親

マウスは産後の母性行動(授乳・保温・保護)を積極的に取らず、育児放棄や仔の成長発育阻害をもたらすことを見出した。そのため、母親の高脂肪食接種や肥満は、胎仔肝臓のエピジェネティクス変化に影響を及ぼすだけでなく、生後の養育行動にも影響を与えることによって、遺伝的かつ環境的に子の糖代謝を悪化させている可能性がある。そこで本研究では、妊娠期運動の効果を①運動で分泌される胎盤タンパク質、②親の母性行動、③仔の生理フェノタイプの三点から解析を行うことで、妊娠期運動のもつメンタルヘルスへの有益性の解明を目標とした。

## 方法

### A. マウスにおける妊娠期運動プログラムの設計

8週齢のC57BL/6雌マウスおよび遺伝子改変マウスを4群に分け、通常の飼育箱(静的ケージ)または車輪の設置された飼育箱(運動ケージ)に収容し、通常飼料または高脂肪食を与えながら2週間飼育する。その後、4群の雌を交配のために、静的ケージにて通常飼料で飼育された雄と3日間飼育する。交配後、雌を再び4種の飼育条件に戻す。マウスは、妊娠前は約7km/日、妊娠中は約3km/日の走行を確認している。各4群の雌は出産後、静的ケージで育児を行う。全ての動物実験は東北大学医学系研究科動物実験委員会における倫理審査を受け承認された。

### B. 遺伝子改変マウスの樹立

胎盤特異的Sod3ノックアウトにはCre/loxPシステムを用い、Trophoblast specific protein alpha (Tpbpa)にAdenosine deaminase (Ada)のプロモーター部位を結合させたTpbpa/Ada-Cre Sod3-floxマウスを樹立した。

### C. 母性行動の解析

出産後、養育中のケージの蓋を開け、巣の中で活動的な仔を3匹取り、巣から離れた三隅に1匹ずつ仔を置き、以下の行動を10分間観察し、時間を記録した。

- 1) スニッフing: 最初に仔に近づいて匂いを嗅ぐまでの時間
- 2) レトリeving: それぞれの仔を巣へ連れ帰るまでの時間
- 3) グルーping: 巣の中の仔達を一箇所に集め終

えるまでの時間

- 4) クラウチng: 仔達を寄せた後に、その上に継続して1分またがるまでの時間

### D. ヒトコホート解析

デンマークでのヒト妊婦共同研究は、オーフス大学のヒト健康研究倫理に関する地域委員会の承認(j.nr. M-20100048)を得た。参加者全員から、参加前に書面によるインフォームドコンセントを得た。オーフス大学病院で妊娠10週目から13週目までの定期的な妊婦健診の際に、合計400人の女性を募集した。女性は、18歳以上で単胎妊娠、移動に支障がなく、デンマーク語を理解できる場合に参加資格を得た。除外基準は、年齢18歳未満、多胎妊娠、動作に影響を及ぼす身体障害、デンマーク語の不十分な知識とした。最終的な研究対象者は、年齢、分娩数、BMIに関して、通常の妊婦と同等であった。妊娠期間中、妊娠週数10-15、18-24、32-38の3回、参加者は研究に関連した検査に参加した。各診察時に、訓練を受けた看護師による体重測定と血液サンプルの採取が行われた。さらに、参加者は毎日の身体活動量を、SenseWear Armband Pro3 (SWA)を用いて測定された。SWAは、入浴時および水中活動時を除き、連続7日間、右腕の上腕三頭筋に装着した。SenseWear Professional ソフトウェアを使用し、エネルギー消費量、1日あたりの歩数、タスクの代謝当量(MET)を算出した。装着時間が12時間未満の日は除外した。

## 結果

妊娠中に高脂肪食を摂取した母親マウスは産後の母性行動を積極的に取らず、育児放棄や仔の成長発育阻害をもたらした。ところが妊娠期に運動を組み合わせると、高脂肪食摂取による消極的母性行動は有意に改善された。

親のCre遺伝子をヘテロまたはホモにすることによって、妊娠時の胎盤ごとのSOD3分泌の有無を操作したところ(ヘテロであればSOD3を分泌する胎盤または分泌しない胎盤が母体内に存在する。ホモであれば全ての胎盤からSOD3が分泌されない)、母体血中の胎盤由来SOD3タンパク量が減少すればするほど、養育行動が悪化することが分かった。また妊娠時運動による養育行動の改善は、胎盤特異的SOD3ノックアウトで阻害された。

オーフス大学病院で妊娠第1期(1-13週)、第2期(14-27週)、第3期(28-40週)に追跡調査を行ったヒト妊婦コホートにて血清を採取したところ、血清中のSOD3量は第1期および第2期と比較して第3期で有意に高く、胎盤重量と正の相関があった。しかし、このコホートではベースラインの身体活動があまりに高く、個々の妊婦を活動的か非活動的かに有意に分類することは困難であり、結果として毎日の運動強度と血清SOD3量との間に明確な関係は見られなかった。現在、他のパラメーターとの相関を解析中である。

## 考 察

ヒトにおいても同様に肥満群の妊婦は妊娠中の生活や分娩、育児に不安を抱くものが多いことが指摘されている。肥満による妊娠期のストレスに対して実践的軽減法を確立できれば、妊婦と子の双方の健

康や安定的な育児、ひいては少子化における具体的支援策に結びつくと考えられる。本研究によって胎盤由来SOD3が胎児のエピジェネティクス変化に関与するのみならず、母親の養育行動にも影響する可能性が示唆されたことで、妊娠時運動の有益性を母子の両面から検討できる可能性がある。今後、より詳細な分子メカニズムの解析を推進することで、運動を活用した新しい子育て支援策に繋げることを目指したい。

## 参考文献

1. Kusuyama et al. Effects of maternal and paternal exercise on offspring metabolism. *Nature Metabolism*. 2(9):858-872. 2020.
2. Kusuyama et al. Placental superoxide dismutase 3 mediates benefits of maternal exercise on offspring health. *Cell Metabolism*. 4;33(5):939-956.e8. 2021

## Abstract

Type 2 diabetes is resulted from the combination of environmental factors and genetic susceptibility. Recent studies have shown that maternal obesity and type 2 diabetes increase the risk of obesity development and diabetes in their offspring despite healthy lifestyle. Our studies using rodents demonstrated that offspring of high fat diet-fed dams show impaired glucose tolerance and increased body fat. We found voluntary running exercise during pregnancy improves glucose metabolism and reverses the detrimental effect of maternal high fat diet feeding in offspring. Maternal behavior is also necessary for the normal development of the offspring. Impaired maternal behavior induces high risks of metabolic dysfunction and neuropsychiatric diseases. We found that high fat diet-fed dams during pregnancy did not actively engage in postnatal maternal behaviors including feeding, warming, and protection. However, when exercise was combined with gestation, the anxiety and negative maternal behavior caused by a high-fat diet were significantly reversed. Previous human studies have been pointed out that obese pregnant women tend to become more anxious about life, delivery, and childcare during pregnancy. If we can establish a practical method to reduce obese-caused mental stress during pregnancy, it will lead to healthier pregnant women and their children, stable child-rearing, and concrete support measures for the declining birthrate.