

奨励金No.1595

妊娠期の環境周期攪乱が胎児の脳発生に与える影響の解明

方 凌艶

東京大学 特任助教

Impact of maternal chronodisruption during pregnancy on fetal brain development

Lingyan Fang

The University of Tokyo, Project Research Associate



本研究では、妊娠期の母体の概日リズムの乱れが胎児脳の形成に与える影響をマウスモデルで解析した。母体の概日リズムを攪乱すると、仔マウス的大脑新皮質におけるニューロン産生に異常が生じることを発見した。また、胎仔脳で概日リズムを攪乱すると神経幹細胞のニューロン分化が抑制されることも見出した。これにより、妊娠期の概日リズム破綻が子どもの脳発達に及ぼす影響の一端が明らかになった。

In this study, we investigated the effects of maternal circadian rhythm disruption during pregnancy on fetal brain development. Using a mouse model, we demonstrated that maternal circadian disruption leads to impaired cortical neurogenesis in offspring. We further found that circadian rhythm disruption in the fetal neocortex suppresses neuronal differentiation of neural stem cells. These results provide novel insights into how maternal circadian misalignment during pregnancy may adversely affect fetal brain development.

1. 研究内容

1.1 目的

シフトワークに伴う概日リズム（約 24 時間周期のリズム）の乱れは、がん・肥満・うつなど様々な疾患リスクの上昇と相関することが疫学研究から明らかになってきた。なかでも妊娠期のシフトワークは子どもの健康を損なう可能性が指摘されており、その病態メカニズムを明らかにすることは健康医学上のきわめて重要な課題である。マウスモデルでは、母親の概日リズム攪乱が仔の神経発達障害を引き起こすことが報告されており、胎児期の脳の形成異常が示唆される。しかし、母親の概日リズム破綻が脳の発生・発達にどのような影響を与えるかはほとんど解明されていない。本研究では、妊娠期の母体の概日リズムの乱れが胎児脳の形成に与える影響を明らかにすることを目的とする。

1.2 方法と結果

母体の概日リズムの乱れが大脑新皮質の形成に与える影響を調べるために、妊娠マウスを規則正しい明暗周期（12 時間明期：12 時間暗期）のもとで飼育する対照群と、2 日ごとに明暗周期を逆転させる攪乱群に分けた。明暗周期の逆転は交配を確認した日から出生まで行い、生後は規則正しい明暗周期に戻して飼育した。生後 5 日目に仔マウスの脳切片を作製して観察したところ、対照群に比べて攪乱群では大脑新皮質において表層の厚みが減少していた。また免疫組織染色により、攪乱群では CUX1 陽性の表層興奮性ニューロンの数が減少していることも見出した。このことから、妊娠期の母体の概日リズムの攪乱は胎仔脳的大脑新皮質のニューロン産生を阻害することが示唆された。

脳の発生過程では、神経幹細胞が増殖・分化す

ることでニューロンやグリアを産み出し、胎生期の間に脳の大部分をつくりあげる。筆者はマウス胎仔脳の大脳新皮質で神経幹細胞がすでに概日リズムを刻みはじめていることを発見していた。そこで、胎仔脳で概日時計が正しくリズムを刻まなくなることが正常な皮質形成を阻害するのではないかと考え、時計遺伝子の一つ *Bmal1* の欠損マウスを作製して脳切片を観察した。すると生後5日目の大脳新皮質において、*Bmal1* 欠損マウスは野生型マウスに比べて表層の厚みが減少し、CUX1陽性の表層興奮性ニューロンの数が減少していた。この結果から、胎仔脳での概日リズムの攪乱が大脳新皮質のニューロン産生を抑制し、正常なニューロン層構造の形成を阻害することが示唆された。

では、概日リズムの攪乱は神経幹細胞のニューロン分化に影響するのだろうか。これを調べるために、子宮内電気穿孔法を用いて胎生15日目にマウス胎仔大脳新皮質の神経幹細胞で時計遺伝子 *Bmal1*、*Clock*、*Nr1d2* のノックダウンを行い、概日時計を機能欠損させた。胎生17日目に脳切片を観察すると、*Bmal1*、*Clock*、*Nr1d2* いずれのノックダウンにおいてもDCX陽性の未成熟ニューロンの割合が減少し、ニューロン分化が抑制された。さらにBMAL1とCLOCKを同時に過剰発現することで概日時計を機能欠損させても、同様にDCX陽性細胞の割合が減少した。これらの結果から、胎仔脳神経幹細胞での概日リズムの攪乱はニューロン分化を阻害することが示唆された。

1.3 考察

本研究では、妊娠期の母体の概日リズムの攪乱が仔マウスの大脳新皮質ニューロン産生を阻害することを見出した。この表現型は胎仔での概日時計の欠損によっても再現された。さらに、胎仔脳の神経幹細胞での概日時計の攪乱はニューロン分化を阻害した。以上の結果から、母体の概日リズムの攪乱が胎仔脳の神経幹細胞の概日リズムを破

綻させ、ニューロン分化の異常を引き起こす可能性を考えている。

夜も光があふれる「24時間社会」は、人々の生活に利便性を与えた反面、生活リズムの乱れによる健康問題をも生み出している。なかでも妊娠期のシフトワークは、子どもの疾患のリスク上昇と関連することが疫学研究から明らかになったが、その因果関係や病態メカニズムは不明である。そのため、妊娠中の母親の概日リズムの乱れが胎児の成長に及ぼす影響を生物学的に解明することは、健康医学上の重要課題である。本研究成果がこのような病態メカニズムの解明に繋がることを期待している。

2. 発表（研究成果の発表）

Lingyan Fang, Takaaki Kuniya, Sara Kukimoto, Takuro Toda, Megumi Hatori, Tsuyoshi Hirota, Yukiko Gotoh “Circadian clock regulation of brain development” EMBO Fellows’ Meeting (ハイデルベルク、2025)

方 凌艶、國屋 敬章、柊元 沙羅、羽鳥 恵、廣田 毅、後藤 由季子「大脳発生における概日リズムの出現とその機能」第47回日本分子生物学会年会（福岡、2024）

方 凌艶、國屋 敬章、柊元 沙羅、羽鳥 恵、廣田 毅、後藤 由季子「大脳発生における概日リズムの出現とその機能」第97回日本生化学会大会（横浜、2024）