

2025 年度
生命科学院 ソフトマター専攻
修士論文

岩見沢市母子健康調査 (SMILE Iwamizawa) に
おける母乳と乳幼児糞便の統合 NMR メタボ
ロミクス

北海道大学 生命科学院 ソフトマター専攻
蛋白質科学研究室
阿部 潤

2026 年 1 月 1 日 提出

目次

1 諸言	2
2 材料と方法	3
2.1 実験デザイン	3
2.2 サンプル調製	3
2.2.1 母乳	3
2.2.2 母子糞便	4
2.3 NMR 測定	4
2.4 スペクトル処理・濃度定量	4
2.4.1 母乳	4
2.4.2 母子糞便	5
2.5 統計解析	5
3 結果	6
3.1 母乳の ^1H -NMR 測定及び代謝物同定・定量	6
3.2 母乳中代謝物の定量における解析者間の系統誤差の評価	6
3.3 産後時期別の母乳中メタボローム解析	6
3.4 分泌型/非分泌型における母乳中メタボロームの差異解析	7
3.5 糞便の ^1H -NMR 測定及び代謝物同定	7
3.6 母子糞便中メタボロームの主成分分析	7
3.7 母子糞便中メタボロームの産後時期による OPLS-R 解析	8
3.7.1 乳児	8
3.7.2 母親	8
3.8 分泌型/非分泌型における母子糞便中メタボロームの差異解析	8
4 考察	9
5 結論	10
6 参考文献	11

7 図表	12
8 謝辞	28

この文書は、著作権の対象となっている文章を、ウィキペディア日本語版において引用する際に守るべき事項を定めたものです。なお、この文書において「引用」とは、参考文献に掲載されている文章等を抜粋し、転載すること (Quotation) をいい、執筆者独自の文章に対し、その文章の作成において参照された文献の書誌情報のみを表示すること (Citation) を指すものではありません。後者に関する詳しい説明は、Wikipedia:出典を明記するを参照してください。

1 諸言

ヒトにおけるメカニズムについては、コホートの希少性や測定に要するリソースの制約から、依然として解明が進んでいない。本研究では、授乳期における母乳および乳児の糞便代謝物の変動、ならびにそれらの相関関係を明らかにすることを目的とし、北海道岩見沢市で実施中の前向きコホート研究である岩見沢市母子健康調査(SMILE Iwamizawa)に参加している母親とその乳児を対象に、母乳および母子糞便のNMRメタボローム解析を実施した。

2 材料と方法

2.1 実験デザイン

本研究は、北海道岩見沢市で実施中の前向きコホート研究である、岩見沢市母子健康調査（SMILE Iwamizawa）¹の一環として実施された。本調査は、健康な妊婦を対象に、妊娠中の環境の把握から始め、出産、乳児期から幼児期、学童期まで子供の生活習慣、健康状態を調査することで、子供の成長発達に影響を与える因子や、近年増加している子どものアレルギーや肥満などの様々な疾患の原因を明らかにすることを目的としている。

本研究はヘルシンキ宣言の精神に則り実施された。ヒトを対象とする全ての実施手順は、北海道大学大学院医学研究院医の倫理委員会（承認番号：16-039）および森永乳業倫理委員会（承認番号：16005-144）の承認を得ている。岩見沢市在住の妊婦が母子健康手帳の交付を受ける際に、本調査に関する説明を行い、書面によるインフォームド・コンセントを得た。なお、乳児の研究参加については、代諾者である母親の同意をもってこれに代えた。同意を得られた参加者（母、子）に対して、調査票などによる調査や母乳・糞便の採取を実施した。採取された試料は速やかに -20°C で保管され、採取から約 1 ヶ月以内に分析時まで -80°C で凍結保存された。参加者の臨床的特性については、表 1 に示す通りである。また、サンプルの採取時期およびサンプル数については、表 2 に示す通りである。

2.2 サンプル調製

2.2.1 母乳

解凍した母乳試料 1 mL を、15,000 rpm、4°C で 30 分間遠心分離し、脂質層と水層を分離させた。回収した水層画分 400 μL を、分子量 5 kDa 以上の高分子除去用遠心式限外ろ過フィルターユニット (UFC3LCCNB-HMT; Human Metabolome Technologies, Tsuruoka, Japan) に充填し、9,100 × g、4°C で完全にろ過されるまで遠心を行った。なお、フィルターユニットの洗浄のため、事前に超純水 300 μL を用いた遠心 (9,100 × g、4°C、30 分間) を 3 回繰り返した。得られたろ液 270 μL に対し、超純水 270 μL および NMR 測定用緩衝液 60 μL (pH 7.4, 50 mM Sodium phosphate, 0.5 mM 3-(trimethylsilyl)propionic acid-d4 sodium salt (TSP), 0.04% NaN₃, 1 mM formate, 10% D₂O；濃度はすべて終濃度) を添加した。この混合液 600 μL のうち 540 μL を外径 5 mm の NMR 試料管 (SJ-5;

Shigemi, Hachioji, Japan) に充填した。その後、試料中の溶存酸素を除去するため、試料管を超音波洗浄機に数秒間供し、脱気を行った。

2.2.2 母子糞便

凍結保存された糞便試料を 4°C で解凍し、スパーテルを用いて 2 分間均一に攪拌した後、約 200 mg を分注した。秤量した試料重量に対して 10 倍量の NMR 測定用緩衝液（組成は節 2.2.1 と同一）を添加し、1,800 rpm、4°C で 15 分間振とう抽出を行った。抽出後、13,000 rpm、4°C で 5 分間遠心分離し、上清約 1.5 mL を回収して -80°C で保存した。測定直前に 4°C で再解凍し、15,000 rpm、4°C で 10 分間遠心分離した後の上清 540 μL を、外径 5 mm の NMR 試料管 (SJ-5; Shigemi, Hachioji, Japan) に充填した。

2.3 NMR 測定

NMR スペクトルの測定には、CryoProbeTM および SampleJet を装着した Bruker Avance Neo 800 MHz 分光計を用い、すべての測定を 25°C で実施した。パルスシーケンスにはプレサチュレーション付き 1 次元 ¹H NOESY (noesypr1d) を用いた。主な測定パラメータは、観測範囲 12 ppm, データポイント数 65536、ダミースキャン回数 8 回、積算回数 128 回、取り込み時間 3.4 秒、待ち時間 1.6 秒、NOE 混合時間 0.1 秒とした。

2.4 スペクトル処理・濃度定量

スペクトルデータの処理および濃度定量には、Chenomx NMR Suite 12.0 (Chenomx Inc., Edmonton, Canada) を用いた。Chenomx Processor により、0.3 Hz のラインプロードニングを適用した指数関数をウインドウ関数として乗じ、データポイント数が 262,144 となるようにゼロフィリングを行った後、フーリエ変換を実施した。位相およびベースラインを手動で補正し、全スペクトルを TSP の信号強度に基づいて規格化した。

2.4.1 母乳

Chenomx Profiler を用い、内蔵データベースを基に代謝物の同定と濃度定量を行った。データベースに未登録の代謝物については、標準物質を同一条件で測定（節 2.3 参照）したスペクトルをリファレンスとして同定・定量を実施した。

また、濃度定量の解析者による系統誤差を最小限に抑えるため、本作業の解析手順を統一し、文書化した。解析手順の統一性を評価するため、異なる 5 人の解析者が同一試料セット (n=4) を解析し、その定量値について、主成分分析 (PCA) および、Bland-Altman 分析を実施した。

2.4.2 母子糞便

Chenomx Profiler を用いてスペクトルのビニングを行い、各ビン領域の信号強度総和を算出した。ビンの幅は 0.02 ppm とし、化学シフト範囲は 0 ppm から 10 ppm までとした。ただし、水信号領域（4.68 ppm ~ 4.88 ppm）は解析から除外した。

2.5 統計解析

母乳の濃度データおよび母子糞便のビニングデータを用い、多変量解析ソフト SIMCA 18 (Sartorius, Umeå, Sweden) にて多変量解析を実施した。各変数は平均 0、分散 1 となるように標準化 (Unit variance scaling) を行い、PCA および直交部分的最小二乗回帰分析 (OPLS-DA/R) を実施した。群間の統計学的比較には、Welch の t 検定または Tukey-Kramer 法を用いた。

3 結果

3.1 母乳の¹H-NMR 測定及び代謝物同定・定量

全てのサンプルについて、良好な¹H-NMR スペクトルを得た（図 1）。代謝物の同定はピークの組み合わせによって決定され、計 51 種類の代謝物を同定・定量した。これらすべての代謝物の平均濃度は図 2 に示すとおりである。

3.2 母乳中代謝物の定量における解析者間の系統誤差の評価

節 3.1 の解析において、解析者間による定量値の系統誤差の低減を目的に、本作業の解析手順を統一し、その評価を実施した（図 3）。PCA スコアプロット（図 3 A）において、5人の解析者が同一試料セット（n=4）を解析した結果が重なり合って分布しており、解析者間で大きな差異がないことが示された。Bland-Altman 分析（図 3 B）においても、各代謝物について 5人の解析者が得た定量値の平均値と、各解析者の定量値と平均値との差をプロットした結果、ほとんどの代謝物が平均差の 95% 信頼区間に収まっており、解析者間で大きな系統誤差がないことが確認された。以降、本研究における母乳中代謝物の濃度定量は、この統一された手順に基づいて実施した結果を用いることとした。

3.3 産後時期別の母乳中メタボローム解析

母乳中メタボロームを可視化するため、濃度定量値をもとに PCA を実施した（図 4）。スコアプロットを母乳の採取時期別に色分けした結果、初乳・産後 1ヶ月・産後 4-5ヶ月の各群でクラスターの形成が確認できた。これらのクラスターは第 1 主成分・第 2 主成分が初乳とその他の群の分離に寄与しており、ローディングプロットにおいて、2'-fucosyllactose (2'-FL)、3'-sialyllactose、6'-sialyllactose などのヒトミルクオリゴ糖 (HMOs) が初乳群の特徴的な代謝物であった。一方産後 1ヶ月・産後 4-5ヶ月群では、Lactose などエネルギーの供給源となる代謝物や、Caprate、Caprylate などの中鎖脂肪酸が特徴的であった。また、産後 1ヶ月群と産後 4-5ヶ月群の分離には、第 3 主成分が寄与しており、HMOs の一種である 3-fucosyllactose (3-FL) や Lactate・Pyruvate などの短鎖脂肪酸が産後 1ヶ月群で、Citrate や O-phosphocholine が産後 4-5ヶ月に特徴的な代謝物であった。HMOs

定量された各代謝物濃度の産後時期別の単変量解析を行った（図 5 - 図 8）。図 5 では、2'-FL の濃度分布が二峰性を示した。2'-FL は代表的な HMOs の一つで、Lactose

に Fucose が α 1,2 結合したオリゴ糖であり、その合成には *FUT2* 遺伝子にコードされる α 1,2-フコシルトランスフェラーゼ (*FUT2*) が関与している。*FUT2* の活性には遺伝的多型が影響を与え、分泌型 (Se+) の個体は 2'-FL を豊富に分泌し、HMOs 全体の約 30% を占める²。一方、非分泌型 (Se-) の個体は 2'-FL をほとんど分泌しないことが知られている。

以降の解析では、2'-FL 濃度が 0.1 mM を閾値として、Se+群 (2'-FL 濃度 > 0.1 mM) と Se-群 (2'-FL 濃度 \leq 0.1 mM) に分類し、各群の母乳中代謝物プロファイルの比較を実施している。このとき、分泌型の個体は全体の 81% を占めていた (Se+: 110, Se-: 26)。これは、日本人集団における *FUT2* 分泌型の頻度が約 80% であることと一致していた³。

3.4 分泌型/非分泌型における母乳中メタボロームの差異解析

節 3.3 の PCA 及び単変量解析の結果を踏まえ、2'-FL に注目した詳細な解析を実施するため、2'-FL 分泌型/非分泌型を目的変数とした OPLS-DA を実施した (図 9)。分離の良いモデルを構築することができ (図 9A)、ローディングプロット及び VIP 値 (図 9B) から、Fucose が Se+群で特徴的な代謝物であり、3-FL が Se-群で特徴的な代謝物であることが示された。それ以外の代謝物については、Se+群と Se-群の間で特徴的な差異は認められなかった。

2'-FL 分泌型/非分泌型による母乳中 2'-FL、3-FL、Fucose 濃度の比較を、産後時期別に単変量解析を実施した (図 10)。その結果からも、2'-FL、Fucose は Se+群で、3-FL は Se-群で有意に高く、その差異も 2 倍以上であることが確認された。

3.5 粪便の¹H-NMR 測定及び代謝物同定

全てのサンプルについて、良好な¹H-NMR スペクトルを得た (図 11)。代謝物の同定はピークの組み合わせによって決定され、最大 76 種類の代謝物を同定した。

3.6 母子糞便中メタボロームの主成分分析

母子ともに、産後時期別に糞便中メタボロームを可視化するため、糞便測定スペクトルから作成したビニングデータをもとに PCA を実施した (図 12)。母乳同様に、スコアプロットを産後時期別に色分けした結果、乳児ではクラスターの形成が確認でき、出産直後と産後 1 ヶ月の群、及び産後 1.5 年以降の群は重なり合って分布していた。これらは第 1 主成分が分離に寄与していた。一方、母親では産後時期によるクラスターの形成は確認できなかった。また、母子ともに 2'-FL 分泌型/非分泌型による明確な分離は認められなかった。

3.7 母子糞便中メタボロームの産後時期による OPLS-R 解析

母子ともに、産後の糞便中メタボロームの経時変化を詳細に解析するため、サンプル採取時期を目的変数として OPLS-R を実施した（図 13）。

3.7.1 乳児

図 13 A に示すように、良好なモデルを構築することができ、S-Line プロット（図 13 B）から、Glucose、Lactose、Galactose などの糖類や myo-Inositol が出産後初期に特徴的な代謝物であることが示された。

3.7.2 母親

母親の糞便中メタボロームについても、良好なモデルを構築することができ（図 13 C）、S-Line プロット（図 13 D）から、Aspartate が出産後後期に特徴的な代謝物であることが示された。

3.8 分泌型/非分泌型における母子糞便中メタボロームの差異 解析

母子ともに、2'-FL 分泌型/非分泌型を目的変数とした OPLS-DA を実施した（図 14）。乳児では、授乳時期別に出産直後、生後 1 ヶ月、生後 4-5 ヶ月では良好なモデルを構築することができた（図 14 A、C、E）。S-Line プロットから、出産直後（図 14 B）では 2'-FL と Lactulose が分泌型で、3-FL と Inosine が非分泌型で特徴的であることが示された。生後 1 ヶ月（図 14 D）では 2'-FL と Lactulose が分泌型で特徴的であること、生後 4 ヶ月では Inosine が非分泌型で特徴的であることが示された。一方、生後 8 ヶ月以降では明確な分離は認められなかった。また、母親ではいずれの時期においても明確な分離は認められなかった。

4 考察

この文書は、著作権の対象となっている文章を、ウィキペディア日本語版において引用する際に守るべき事項を定めたものです。なお、この文書において「引用」とは、参考文献に掲載されている文章等を抜粋し、転載すること (Quotation) をいい、執筆者独自の文章に対し、その文章の作成において参照された文献の書誌情報のみを表示すること (Citation) を指すものではありません。後者に関する詳しい説明は、Wikipedia:出典を明記するを参照してください。

この文書は、著作権の対象となっている文章を、ウィキペディア日本語版において引用する際に守るべき事項を定めたものです。なお、この文書において「引用」とは、参考文献に掲載されている文章等を抜粋し、転載すること (Quotation) をいい、執筆者独自の文章に対し、その文章の作成において参照された文献の書誌情報のみを表示すること (Citation) を指すものではありません。後者に関する詳しい説明は、Wikipedia:出典を明記するを参照してください。

5 結論

この文書は、著作権の対象となっている文章を、ウィキペディア日本語版において引用する際に守るべき事項を定めたものです。なお、この文書において「引用」とは、参考文献に掲載されている文章等を抜粋し、転載すること (Quotation) をいい、執筆者独自の文章に対し、その文章の作成において参照された文献の書誌情報のみを表示すること (Citation) を指すものではありません。後者に関する詳しい説明は、Wikipedia:出典を明記するを参照してください。

6 参考文献

1. Komatsu, Y. *et al.* Associations between Maternal Diet, Human Milk Macronutrients, and Breast-Fed Infant Growth during the First Month of Life in the SMILE Iwamizawa in Japan. *Nutrients* **15**, 654 (2023).
2. Van Niekerk, E. *et al.* Human Milk Oligosaccharides Differ between HIV-Infected and HIV-Uninfected Mothers and Are Related to Necrotizing Enterocolitis Incidence in Their Preterm Very-Low-Birth-Weight Infants. *The Journal of Nutrition* **144**, 1227–1233 (2014).
3. Koda, Y., Soejima, M., Liu, Y. & Kimura, H. Molecular Basis for Secretor Type Alpha(1,2)-Fucosyltransferase Gene Deficiency in a Japanese Population: A Fusion Gene Generated by Unequal Crossover Responsible for the Enzyme Deficiency. *Am J Hum Genet* **59**, 343–350 (1996).

7 図表

表 1 研究参加者の母子特性

母親の特徴量	値 (n=121)
年齢 (歳) ^{*1}	31.4 ± 4.7
身長 (cm) ^{*1}	158.9 ± 5.5
妊娠初期の体重 (kg) ^{*1}	55.0 ± 10.1
妊娠初期の BMI ^{*2} (kg/m ²) ^{*1}	21.6 ± 3.3
妊娠中の体重増加量 ^{*3} (kg) ^{*1}	9.7 ± 4.1
妊娠期間 (週) ^{*1}	39.0 ± 1.2
妊娠回数 [n (%)]	2.21 ± 1.4
初産婦 [n (%)]	25 (20.7)
帝王切開 [n (%)]	16 (13.2)
新生児の特徴量	値 (n=119)
性別 (男の子) [n (%)]	66 (55.4)
出生体重 ^{*1} (g)	3149.6 ± 412.8
出生身長 ^{*1} (cm)	49.0 ± 2.1
低出生体重児分娩 ^{*4} [n (%)]	6 (5.04)
早産分娩 ^{*5} [n (%)]	1 (0.84)

*1 平均値 ± 標準偏差。

*2 body mass index、初回臨床受診時に得られた情報に基づき算出。

*3 初回臨床受診時と分娩直前の体重の差。

*4 2500 g 未満。

*5 37 週未満。

表2 サンプル採取時期とサンプル数

採取時期	母乳	母親糞便	乳児糞便
出産前 24 週	-	113	-
出産直後	136	122	106
生後 1 ヶ月	136	102	78
生後 4-5 ヶ月	98	106	85
生後 8 ヶ月	-	-	106
生後 1 年半	-	-	88
生後 3 年	-	-	50
生後 5 年	-	-	15

- はサンプル未採取を示す。

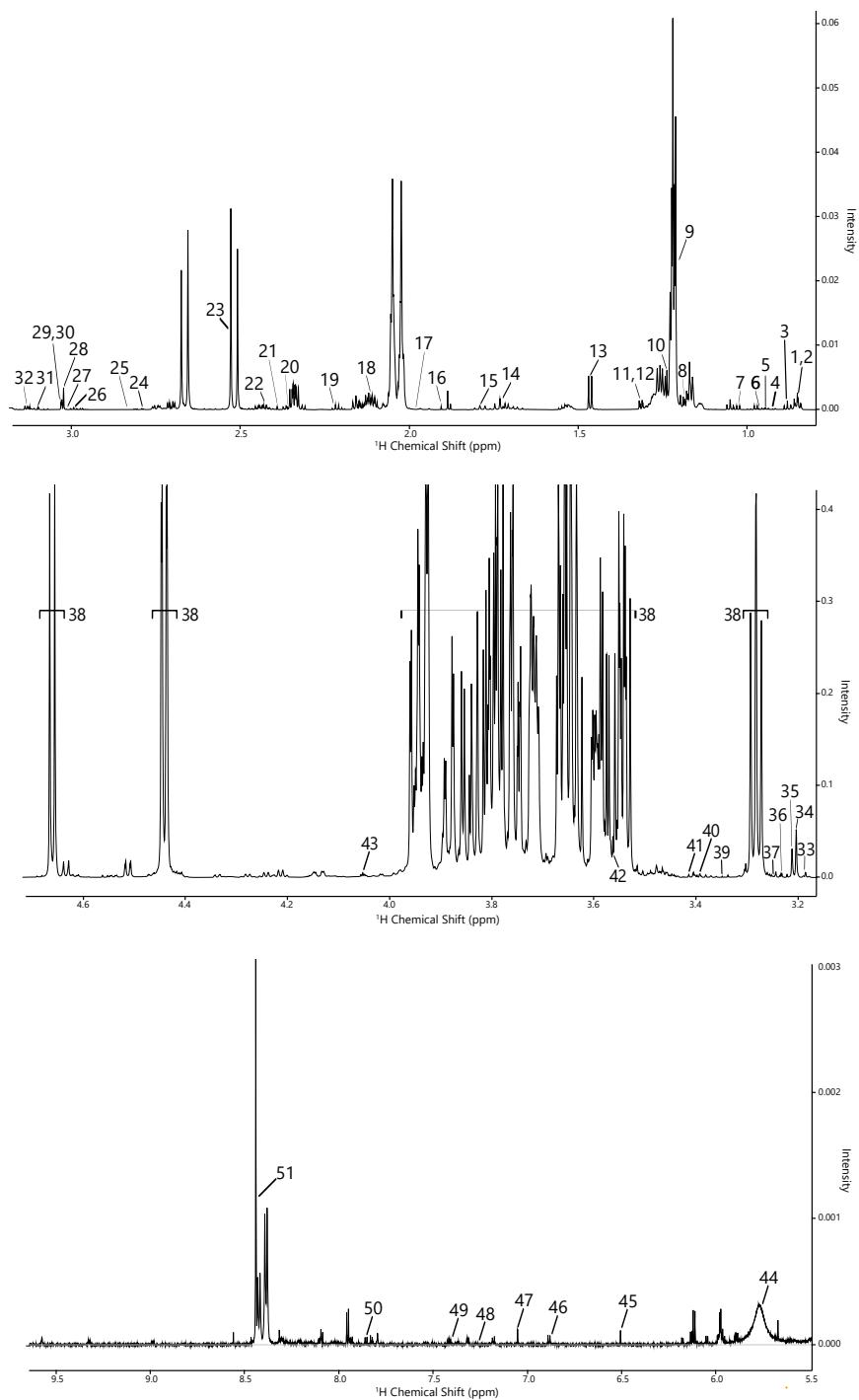


図1 母乳のNMRスペクトル。図中の番号は同定された代謝物を示す。

1, Caprate; 2, Caprylate; 3, Butyrate; 4, Isoleucine; 5, Leucine; 6, 2-Aminobutyrate; 7, Valine; 8, 3-fucosyllactose; 9, 2'-fucosyllactose; 10, fucose; 11, Threonine; 12, Lactate; 13, alanine; 14, 6'-sialyllactose; 15, 3'-sialyllactose; 16, acetate; 17, proline; 18, Glutamate; 19, acetate; 20, pyruvate; 21, succinate; 22, glutamine; 23, citrate; 24, aspartate; 25, asparagine; 26, 2-oxoglutarate; 27, lysine; 28, creatine; 29, Creatine phosphate; 30, Creatinine; 31, cis-aconitate; 32, ethanolamine; 33, choline; 34, O-phosphocholine; 35, sn-Glycero-3-phosphocholine; 36, glucose; 37, betaine; 38, lactose; 39, methanol; 40, taurine; 41, fucose; 42, glycine; 43, myo-Inositol; 44, Urea; 45, fumarate; 46, tyrosine; 47, histidine; 48, tryptophan; 49, phenylalanine; 50, uridine; 51, formate.

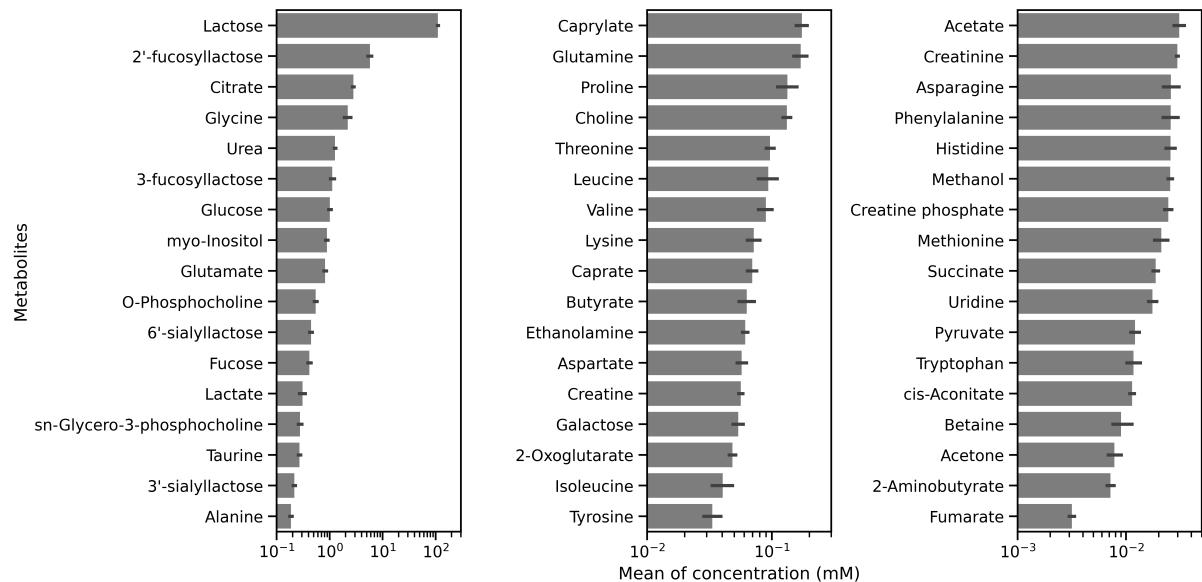
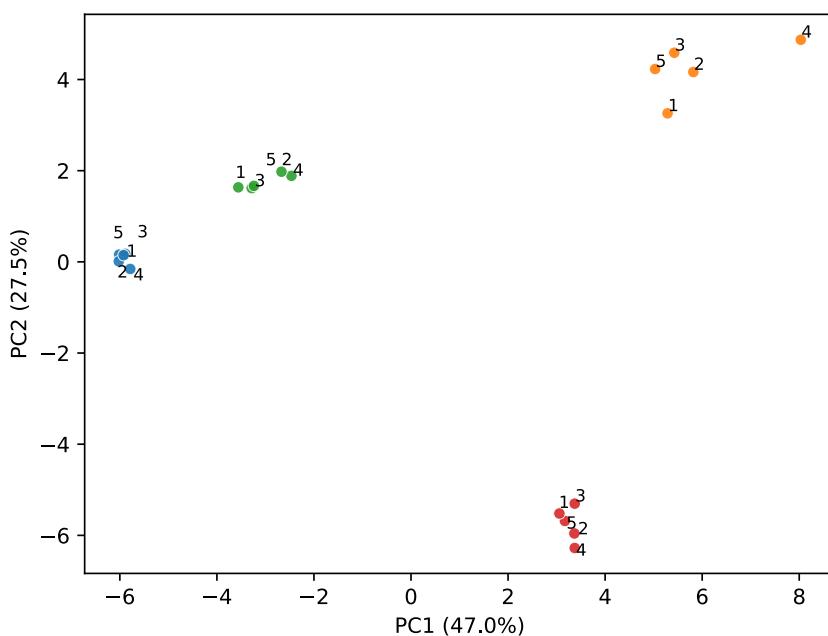


図2 同定できた化合物の平均濃度。エラーバーは標準偏差を示す。

A



B

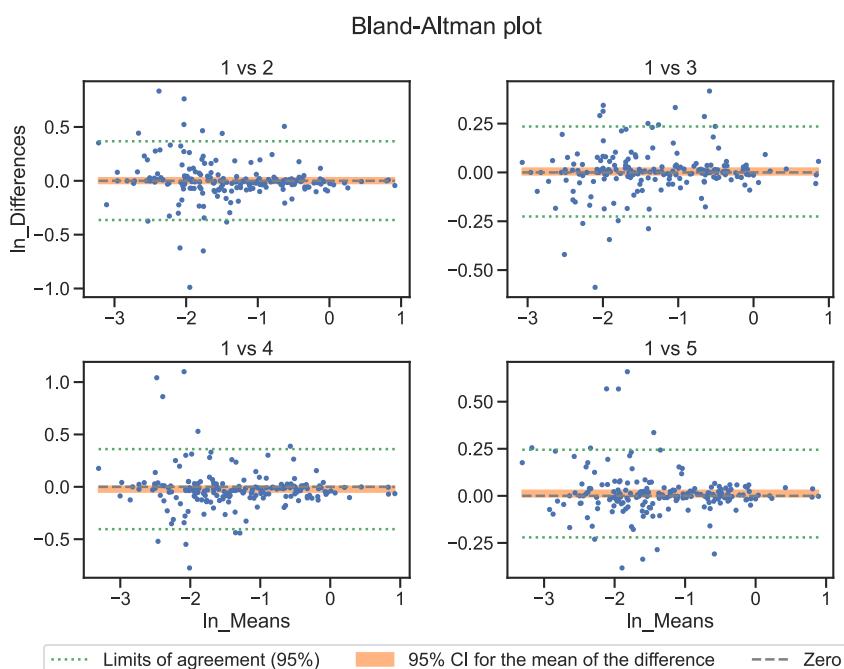


図 3 母乳中代謝物の濃度定量における解析者間の系統誤差の評価

A: 主成分分析 (PCA) スコアプロット。5人の解析者が同一試料セット ($n=4$) を解析した結果を示す。B: Bland-Altman 分析。各代謝物について、5人の解析者が得た濃度定量値の平均値と、各解析者の定量値と平均値との差をプロットした。橙線は平均差の95%信頼区間を、緑線は2つの測定方法の誤差の許容範囲 (limits of agreement; LOA) を示し、「差の平均値 $\pm 1.96 \times$ 差の標準偏差」で表される。

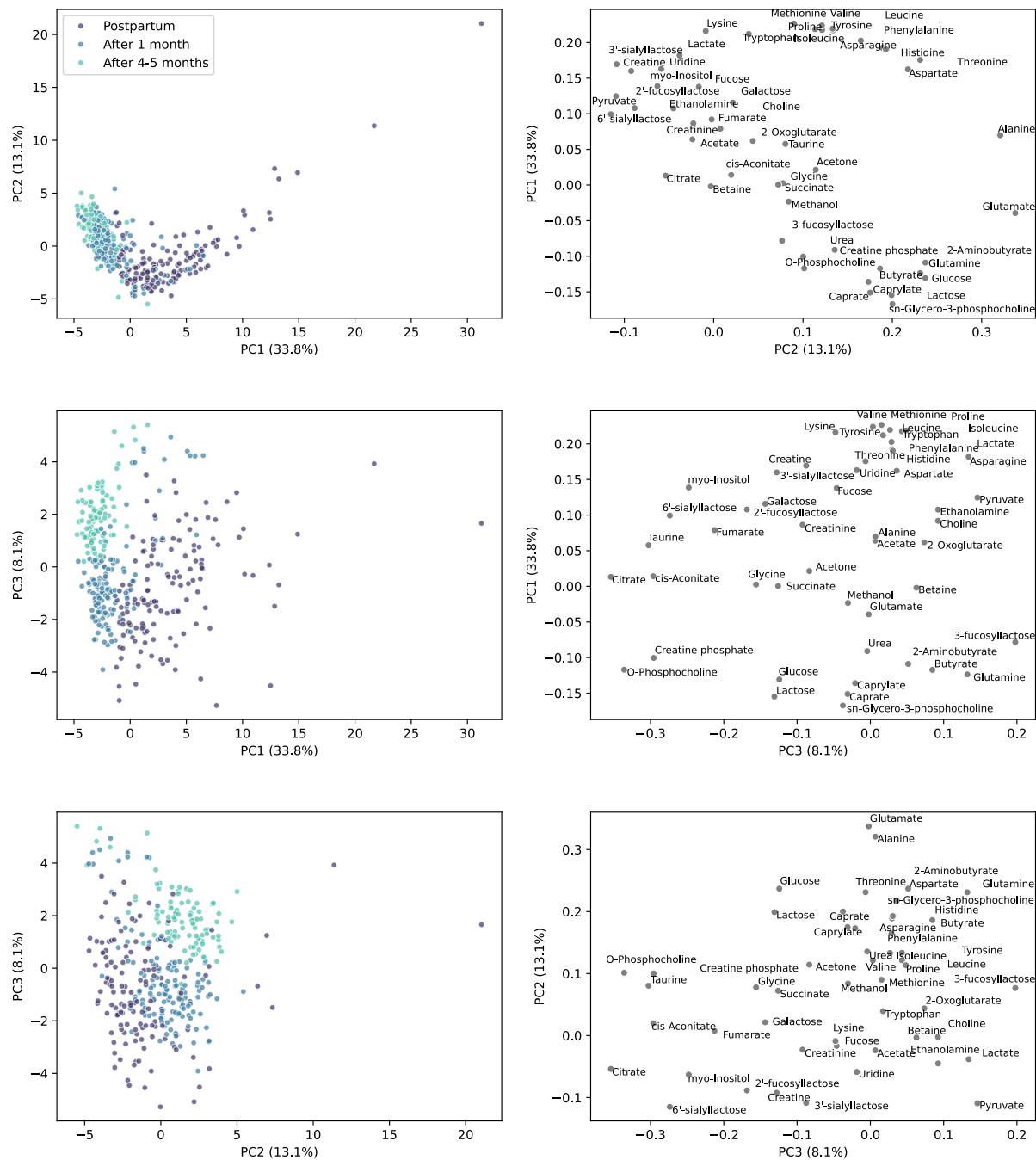


図4 母乳中代謝物のPCA結果。

左：スコアプロット。右：ローディングプロット。

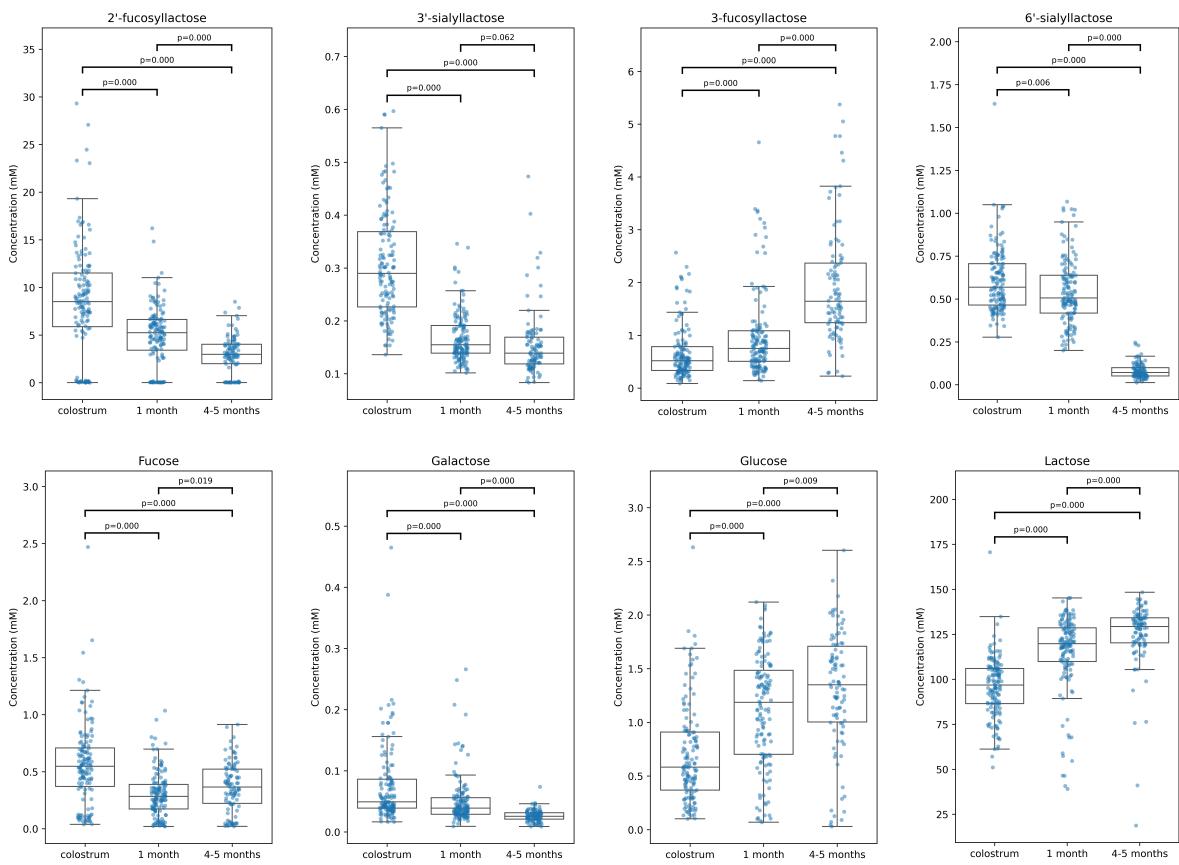


図5 糖類の経時変化による母乳中代謝物濃度の比較。

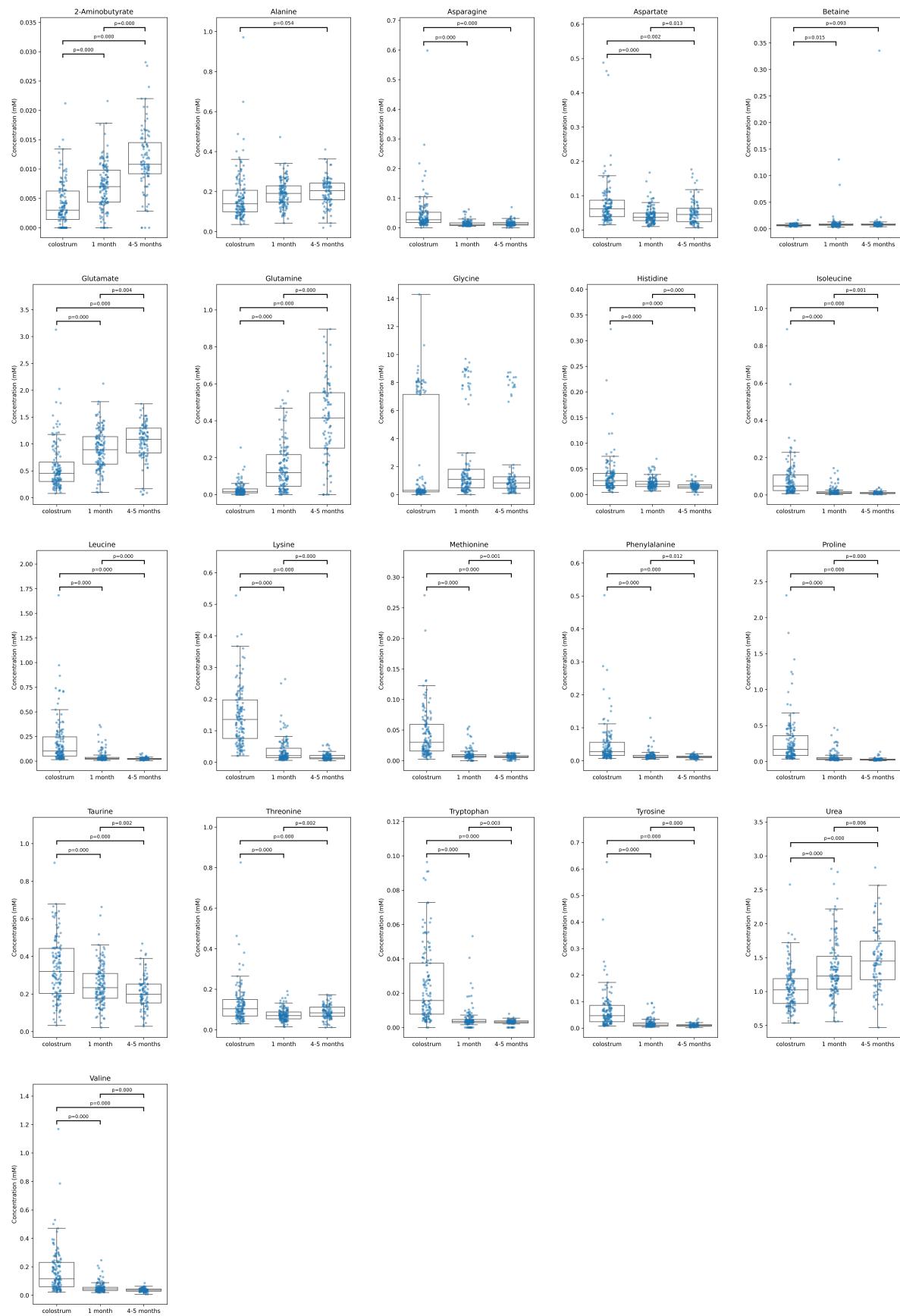


図 6 アミノ酸及びその関連代謝物の経時変化による母乳中代謝物濃度の比較。

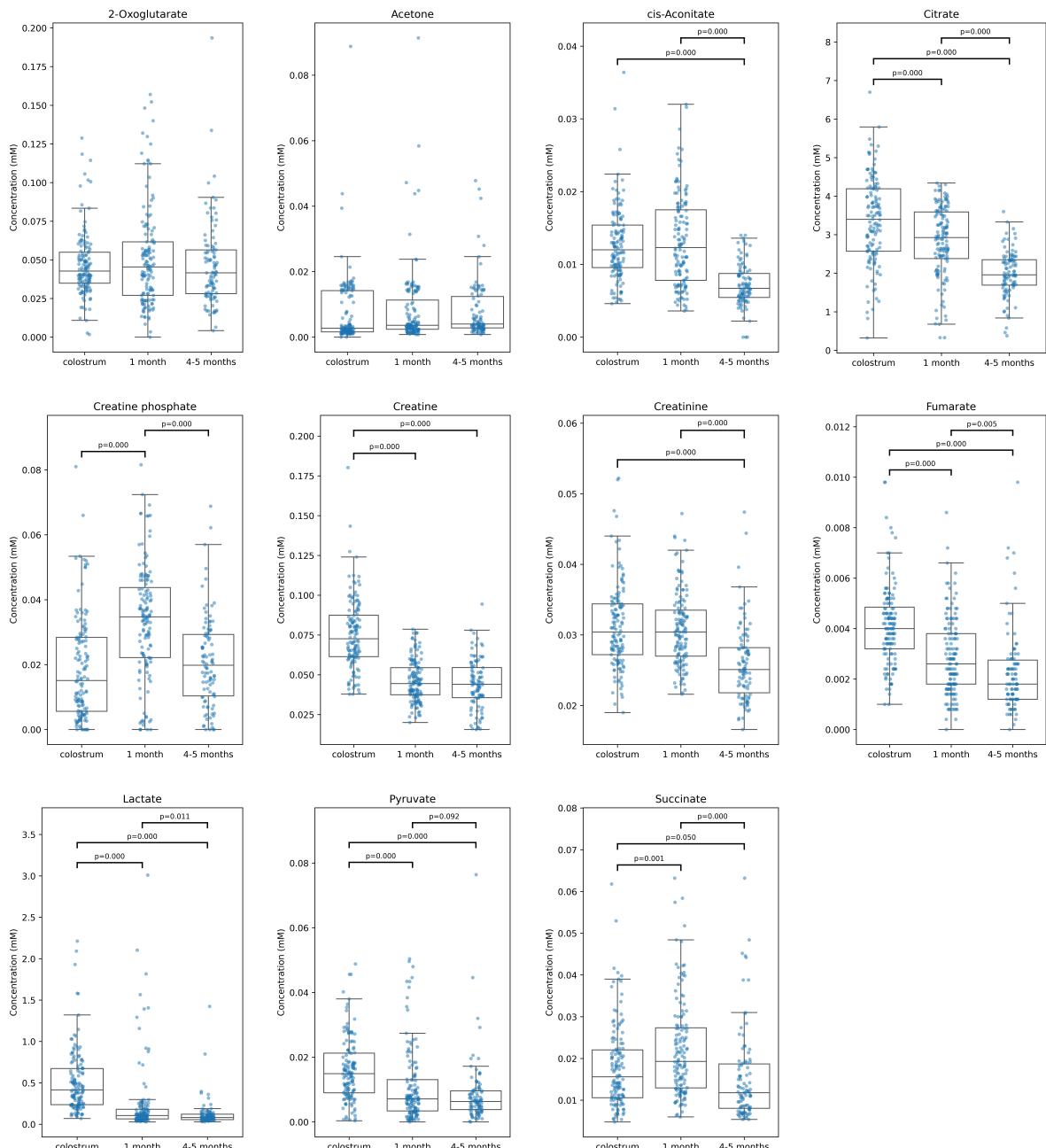


図 7 エネルギー関連代謝物の経時変化による母乳中代謝物濃度の比較。

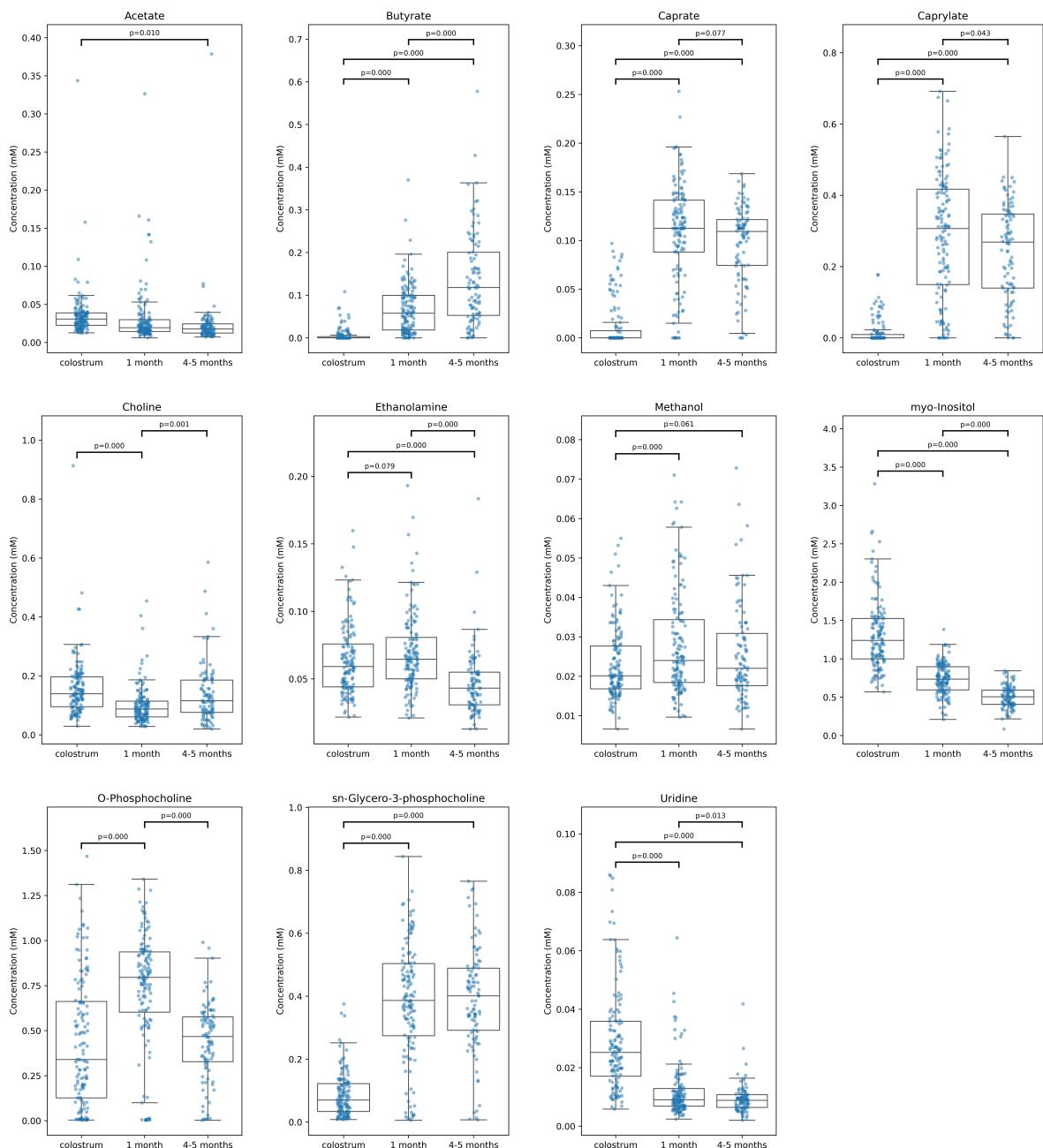


図 8 脂肪酸及びその他代謝物の経時変化による母乳中代謝物濃度の比較。

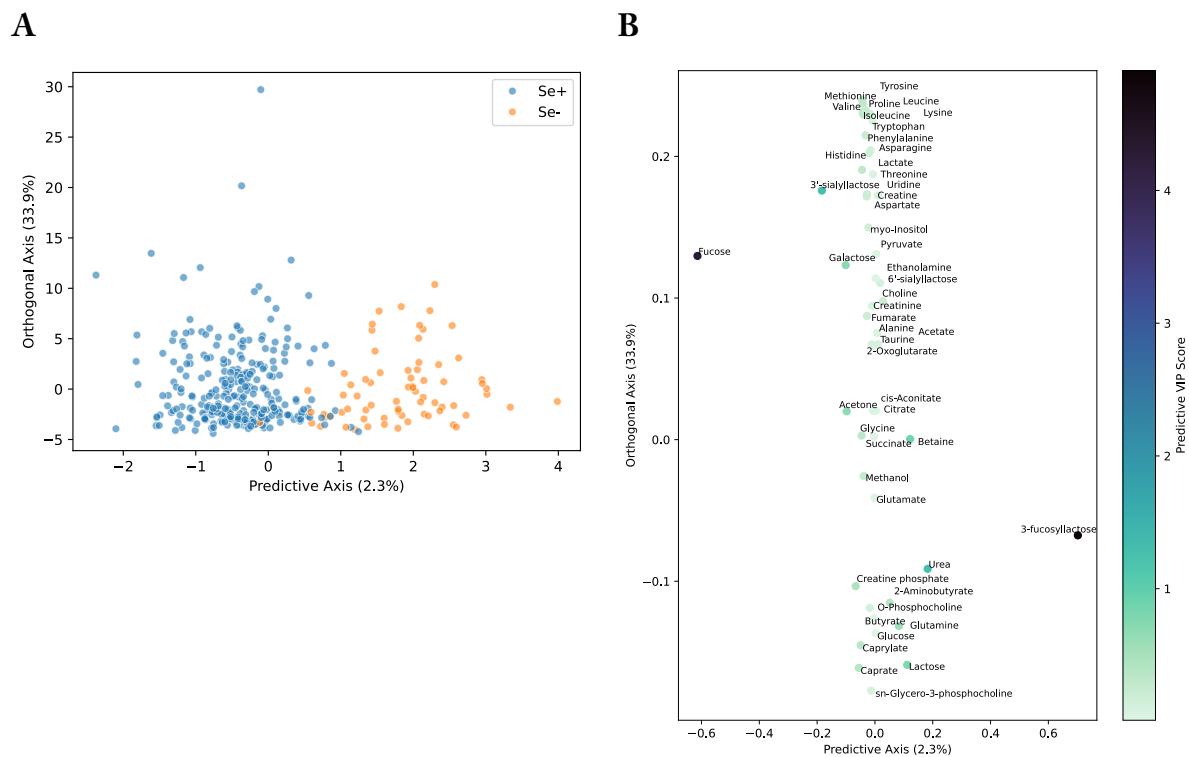


図9 母乳中代謝物の 2'-FL 分泌型による OPLS-DA 結果。

A: スコアプロット。Se+（青色）は 2'-FL 分泌型個体、Se-（橙色）は 2'-FL 非分泌型個体を示す。B: ローディングプロット。図中点の色は、VIP の値により色分けされている。（R_{2Y}: 0.678, Q₂: 0.606）

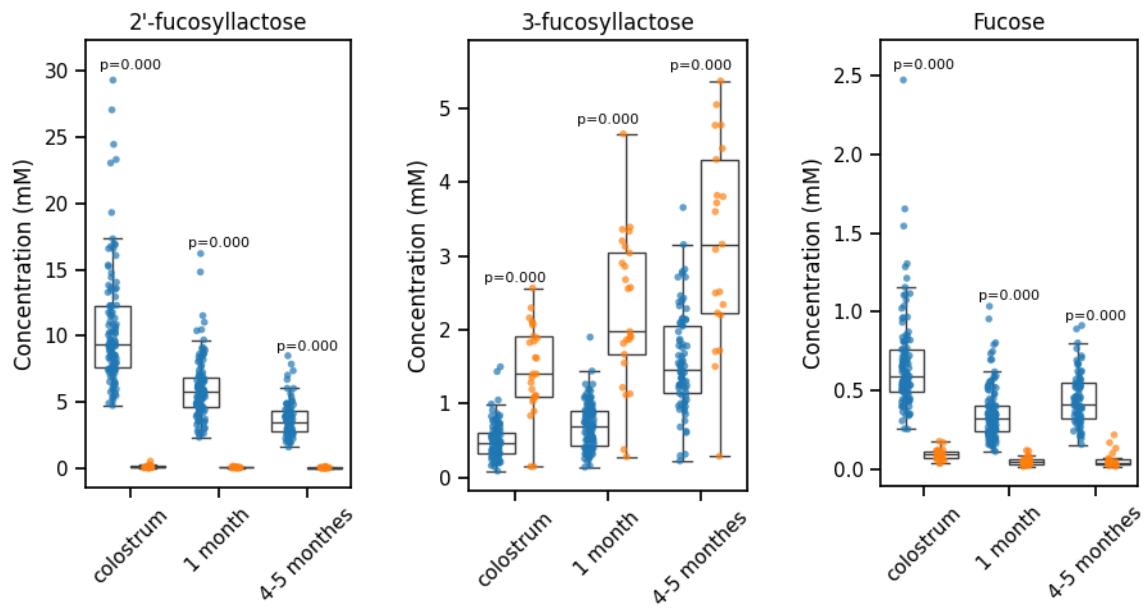


図 10 2'-FL 分泌型個体・非分泌型個体間で、優位な濃度差が見られた代謝物。
青色は Se+ (2'-FL 分泌型個体)、橙色は Se- (2'-FL 非分泌型個体) を示す。

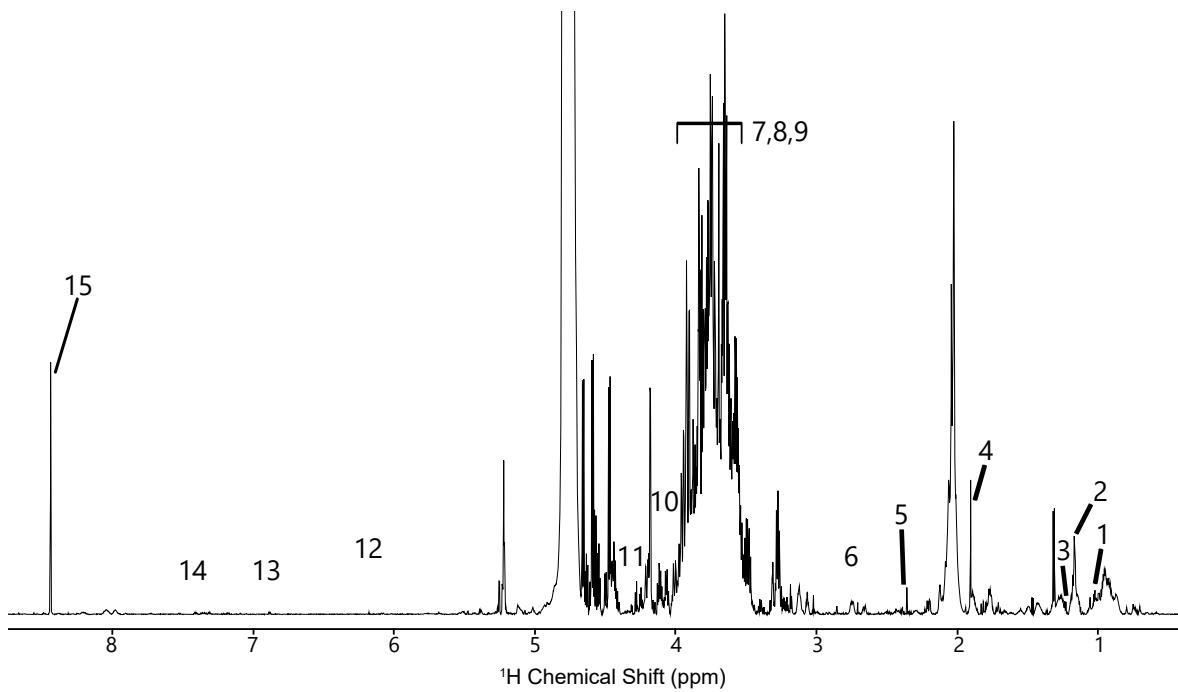
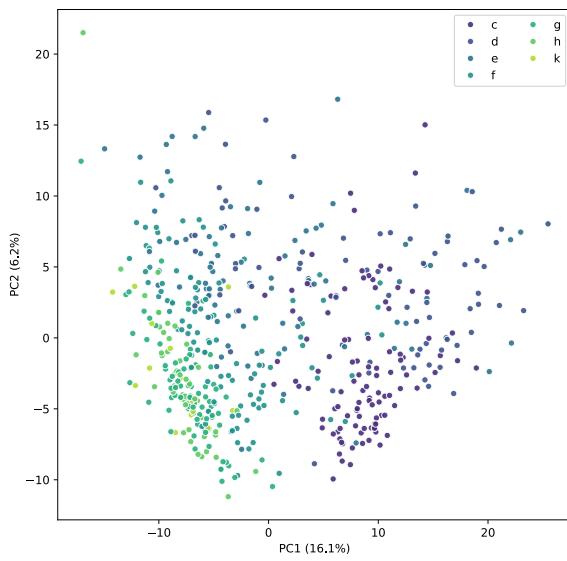


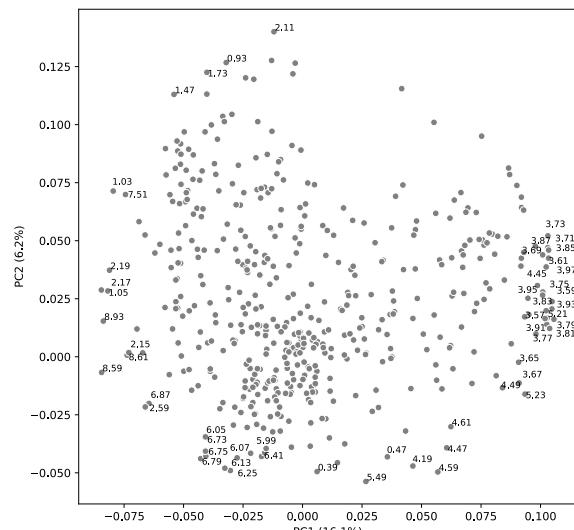
図 11 母子糞便の NMR スペクトルの一例。

図中の番号は同定された一部の代謝物を示す。1, lactate; 2, 3-fucosyllactose; 3, 2'-fucosyllactose; 4, acetate; 5, succinate; 6, 3'-sialyllactose; 7, galactose; 8, glucose; 9, lactose; 10, myo-inositol; 11, lactulose; 12, fumarate; 13, tyrosine; 14, phenylalanine; 15, formate

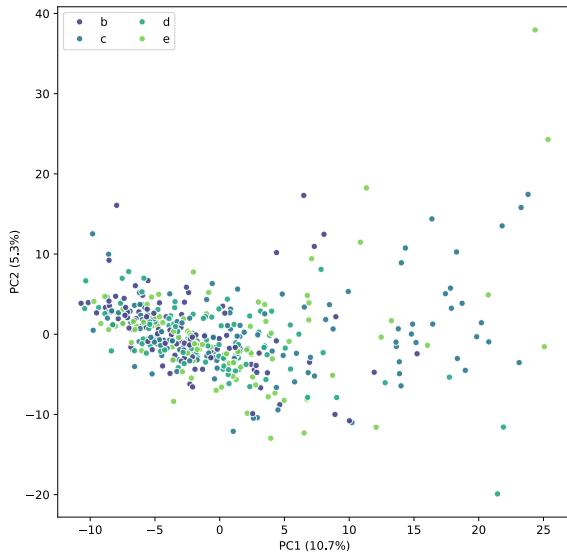
A



B



C



D

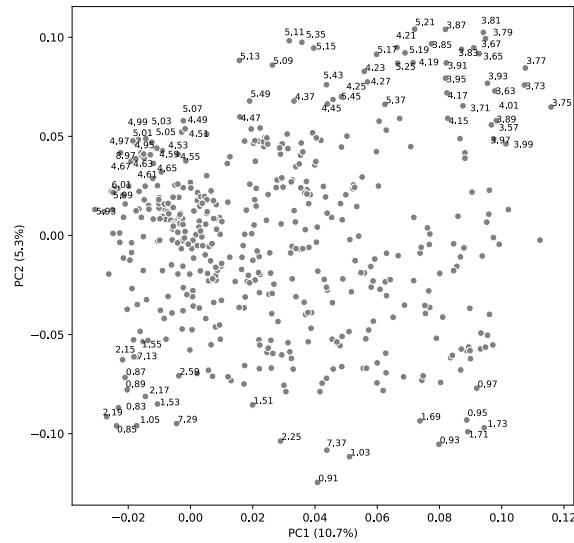


図 12 母子糞便の PCA 結果。

A: 子糞便の PCA スコアプロット。B: ローディングプロット。(R2Y: 0.907, Q2: 0.866) C: 親糞便の PCA スコアプロット。D: ローディングプロット。(R2Y: 0.396, Q2: 0.118) スコアプロットは時期により色分けされている。b, 出産前 24 週; c, 出産直後; d, 生後 1 ヶ月; e, 生後 4-5 ヶ月; f, 生後 8 ヶ月; g, 生後 1 年半; h, 生後 3 年; k, 生後 5 年。

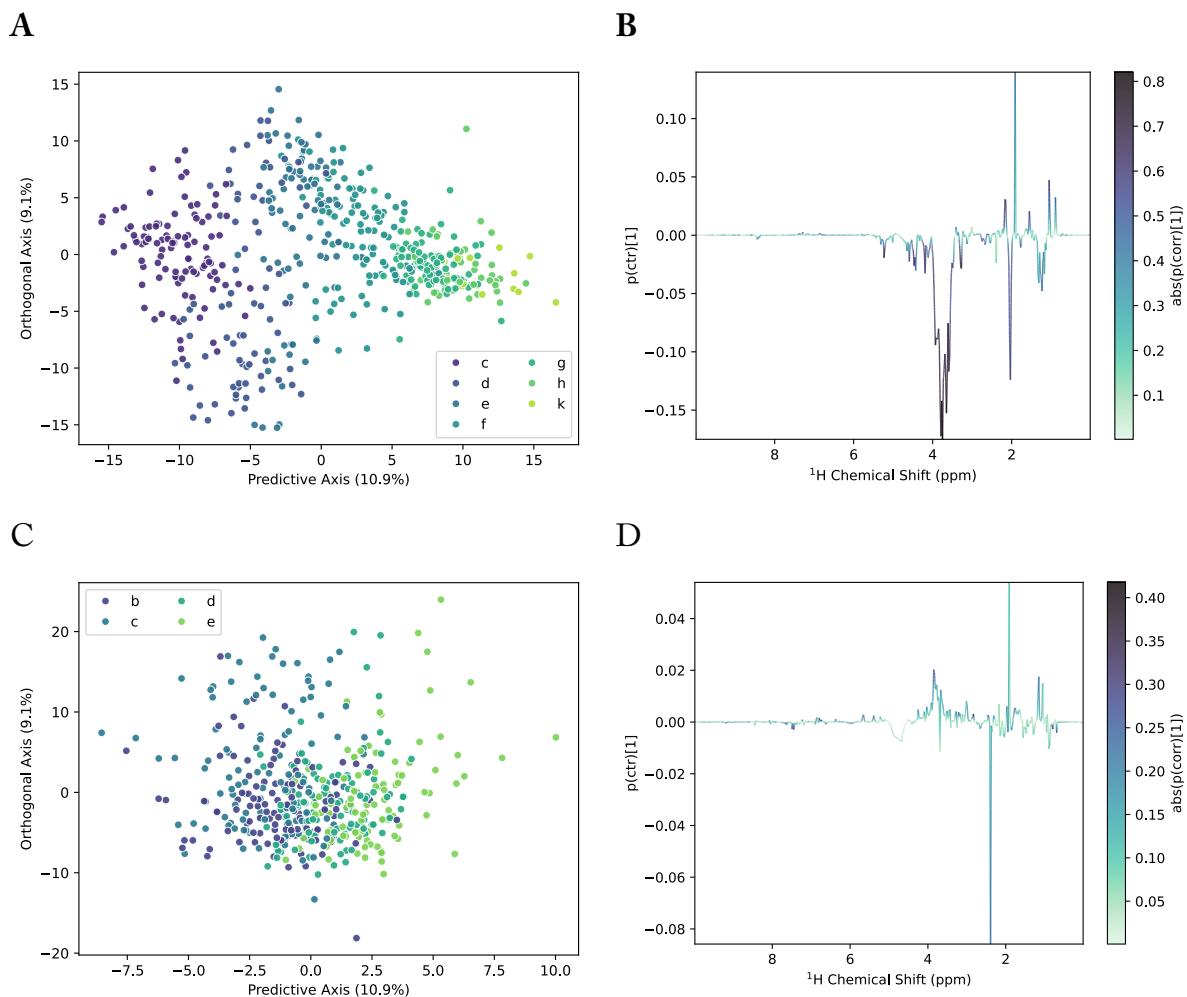


図 13 母子糞便の時期別 OPLS-R 解析。

A,C: スコアプロット (A: 子,C: 親)。スコアプロットは時期により色分けされている (b, 出産前 24 週; c, 出産直後; d, 生後 1 ヶ月; e, 生後 4-5 ヶ月; f, 生後 8 ヶ月; g, 生後 1 年半; h, 生後 3 年; k, 生後 5 年)。B,D: S-line プロット (B: 子,D: 親)。横軸は¹H-NMR のケミカルシフト、縦軸はビン積分値の変動量を示し、ピーク強度が大きいほど絶対値は大きくなる。色分けはグループ間スコアとの相関係数を示し、高いほど群分けに寄与すること示す。

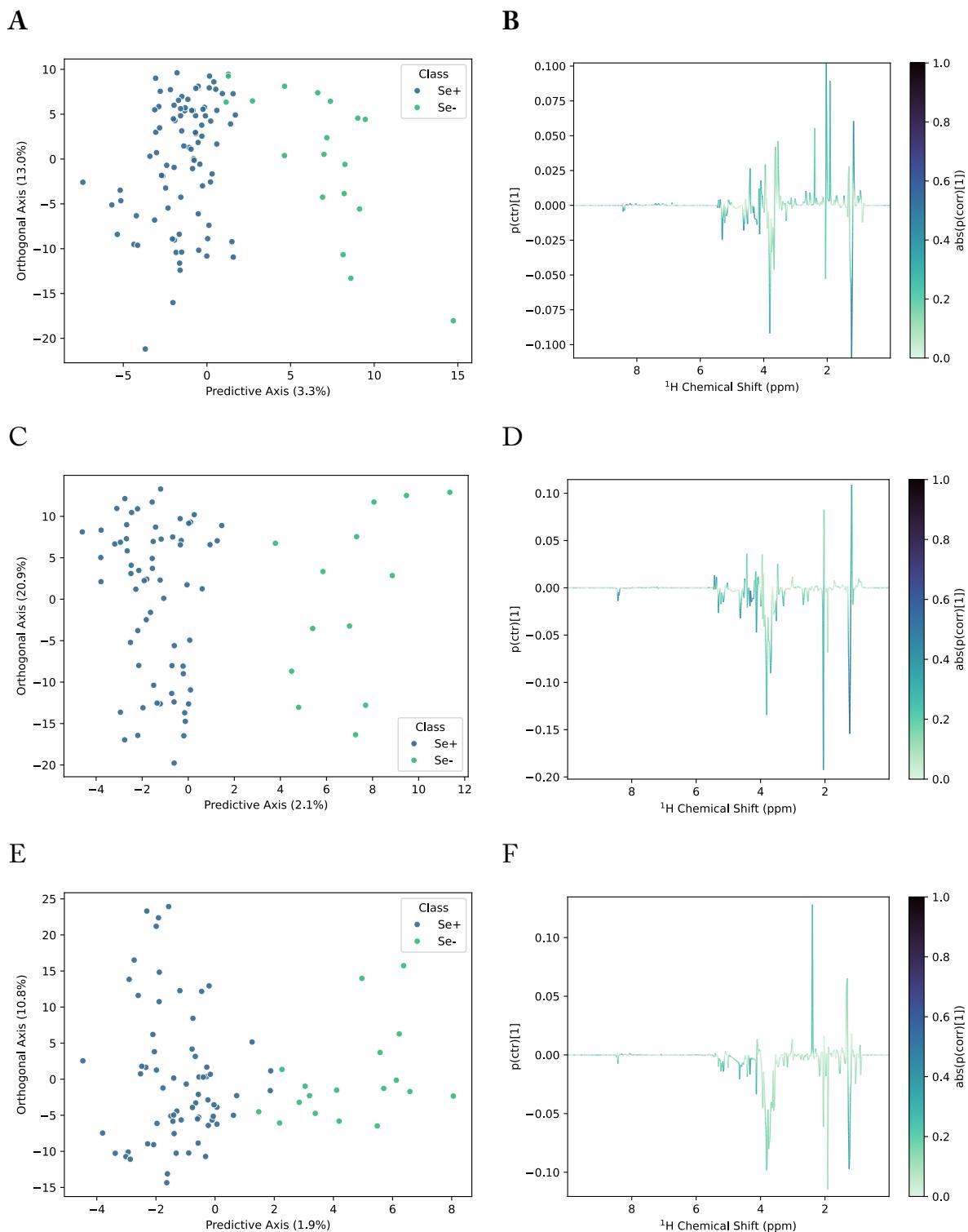


図 14 子糞便の OPLS-DA。

A,C,E: スコアプロット (Se+ vs Se- (上部))。A: 出産直後、C: 産後 1 ヶ月、E: 産後 4-5 ヶ月。

B,D,F: S-line プロット (Se+ (下部) vs Se- (上部))。B: 出産直後、D: 産後 1 ヶ月、F: 産後 4-5 ヶ月。

8 謝辞

本研究を進めるにあたり熱心にご指導くださった、北海道大学 大学院先端生命科学研究院 蛋白質科学研究室の相沢智康教授、新井達也助教、並びに副査として貴重なご意見を頂きました自然免疫研究室の中村公則教授、生物情報解析科学研究室の菊川峰志准教授に心より御礼申し上げます。

NMR 実験に関して多くのサポートをしていただきました久米田博之博士、熊木康裕博士、大西裕季博士、また実験手法や考察において多くのお力添えをいただきました森永乳業株式会社の和泉裕久様、田畠風華様に深く感謝申し上げます。

本研究を進めるにあたり、研究デザインや試料提供の調整などでご尽力いただきました、北海道大学医学研究院社会医学分野公衆衛生学教室の玉越暁子教授をはじめとした、岩見沢市母子健康調査研究グループの皆さんに厚く御礼申し上げます。並びに、本研究にご協力いただきました岩見沢市の皆様に心より感謝申し上げます。

様々な助言をいただいた蛋白質科学研究室の皆さん、研究室での生活において数々のご支援をいただきました技術補佐員の大貫しのぶ様に感謝の意を表します。