

厚生労働科学研究
(子ども家庭総合研究事業)

日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と
先天異常(神経管欠損症およびダウン症候群等)
の発生予防効果に関する基礎的研究

平成14年度研究報告書

平成15年 3月

主任研究者 鈴 森 薫

目 次

I. 総括研究報告書

日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と先天異常（神経管欠損症および
ダウン症候群等）の発生予防効果に関する基礎的研究

鈴森 薫 387

II. 分担研究報告書

1. 日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と先天異常

（神経管欠損症およびダウン症候群等）の発生予防に関する基礎的研究

大橋博文 391

2. 神経管形成異常、各種染色体異常症例等の集積及び

異常の起源と遺伝子多型に関する研究

孫田信一 393

3. 日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と先天異常（神経管欠損症

およびダウン症候群等）の発生予防効果に関する基礎的研究

羽田 明 396

4. 葉酸による先天異常発生予防効果の検討と

予防的葉酸投与の実施・現状調査・啓蒙

種村光代 398

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
総括研究報告書

日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と先天異常
（神経管欠損症およびダウン症候群等）の発生予防効果に関する基礎的研究

主任研究者 鈴森 薫 名古屋市立大学大学院医学研究科
生殖・遺伝医学講座生殖・発生医学分野教授

研究要旨

欧米諸国では、母体への葉酸投与が神経管欠損症やダウン症などの先天異常の発生を減少させることが疫学的調査により報告されているが、日本においては未だ何ら疫学研究、基礎的研究が進行していない。本研究事業では、神経管欠損症、ダウン症候群およびその他の先天異常児を出産した日本人女性の血中葉酸、葉酸代謝関連酵素群遺伝子多型を対照群（一般日本人女性）と比較検討することにより、我が国で葉酸がこれらの先天異常の発症の一次予防薬となる可能性があるかを検討する。本年度は、ダウン症出産既往のある母親 68 人を対象として、葉酸代謝に関与する Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T、Methionine synthase reductase (MTRR) A60G、Thymidylate synthase (TS) 5' UTR の遺伝子多型頻度を検討した。このうち症例群で MTRR 遺伝子の GG 型は対照群に比べ有意に頻度が少ないことがわかった (P=0.03)。この結果は Caucasian 集団の結果とは逆であり、さらに検討を続ける必要がある。神経管欠損症に関しては発生頻度が低くまだ解析に十分な症例が集積していない。そのため日本産科婦人科学会のホームページ内に（神経管欠損症を含む）遺伝性先天性疾患に関するホームページ「周産期遺伝子診療のためのサポート」の掲載を開始し、医療従事者からの相談や症例情報を受け付ける窓口として企画した。既に当施設では、神経管欠損症児分娩既往のある 4 例の妊婦が、次妊娠前より葉酸 (2.5~5mg) を内服し、1 例は既に健児を分娩している。3 例は現在妊娠継続中であるが、超音波検査上、胎児に明らかな異常所見は認められていない。次年度以降には、流産や他の先天異常に関しても同様の遺伝子多型の調査を行うとともに、予防的葉酸投与の実施状況の調査も行う予定である。

A. 研究目的

神経管欠損症（無脳症や二分脊椎）、ダウン症候群（母体の高齢化が関与していない若年齢層からの症例）、およびその他の先天異常児を出産した日本人女性の血清葉酸及びビタミン B12 濃度、葉酸代謝関連酵素群遺伝子多型を、一般女性の対照群と比較検討することにより、日本人女性において、葉酸がこれらの先天異常の発症の一次予防薬となる可能性があるかを検討する。さらに、実際に予防的葉酸投与を施行して追跡調査を行うとともに、全国的なアンケ

ー調査や教育啓蒙を行い、日本における葉酸摂取啓蒙活動の浸透度を明らかにして、その現状を医療行政に提言してゆく。

B. 研究方法

本研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針」を遵守し、さらに日本産科婦人科学会、人類遺伝学会をはじめとする日本医学会分科会、及び関連組織の倫理規定の元に実施される。研究計画、インフォームドコンセント書式については所属施設の倫理委員会に提出し、承認を得てから

研究を開始する。

1. 神経管欠損症患者（流産・死産児も含む）を分娩した症例の母親より検体を採取する。患者が解析結果の告知を希望する場合に備え、検体、臨床情報は検体採取機関で連結可能匿名化し ID 番号のみとする。さらに、葉酸代謝の関連が推定される他の先天異常児出産母体、および原因不明流産母体の検体も収集する。症例の収集は、“遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク”（厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「家族性遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク構築に関する研究」主任研究者：鈴木薫）にて構築したネットワークシステムを基盤として、産科婦人科拠点施設に症例情報と検体の集積を依頼する。
2. 埼玉県立小児医療センターにて、ダウン症分娩の既往がある母親に研究の趣旨を説明し同意を得る。正常対照の母親として、同様に説明し同意を得て収集した検体の中から年齢と経産回数をマッチさせた 175 例を使用した。
3. 愛知県コロニーでは、トリソミー等の異常を有する症例及び染色体異常の流産を反復する症例由来の組織・細胞の集積、各症例の染色体構成の詳細な解析、各症例における葉酸関連酵素群遺伝子の多型解析を行う。
4. 日本人一般女性 100 例を目標として感染症や子宮筋腫など妊娠とは無関係の主訴にて当科を受診した若年女性のうち、採血の機会のある者、また、女性医師、看護スタッフ、医学部女子学生、看護学生も対象に含め、連結不可能匿名化し、日本人一般女性の血中葉酸値、遺伝子多型を解析する。
5. 遺伝子多型としては、Caucasian で関

連が報告された MTHFR C677T 多型、MTRR A66G 多型に加えて、今回新たに血中葉酸値、ホモシステイン値に関連するとの報告がある、Thymidylate synthase (TS) のプロモーター領域にある 28bp のリピート回数の多型（2回または3回）との関連を検討する。また、血中葉酸値、ビタミン B₁₂ 値も測定する。

6. 当施設の遺伝カウンセリング専門外来で予防的葉酸投与を施行して症例の追跡調査を行う。
7. 予防的葉酸投与の実施状況調査は、日本産科婦人科学会のホームページ内に、神経管欠損症を含む遺伝性先天性疾患に関するホームページを立案し、これらの症例に関しての医療従事者からの情報や相談を受け付ける窓口として利用する。また、葉酸についての啓蒙や現状調査を薦める。

C. 研究結果と考察

前述の、“遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク”システムについては、葉酸に関する研究も含め、名古屋市立大学医学部ヒト遺伝子解析研究倫理審査委員会に再審議を依頼し、平成 14 年 8 月 7 日によりやく再承認を得たが、神経管欠損症に関しては発生頻度が低くまだ解析に十分な症例が集積していない。そのため、現存する日本産科婦人科学会のホームページ内に、神経管欠損症を含む遺伝性先天性疾患に関するホームページ「周産期遺伝子診療のためのサポート」の掲載を開始し、これらの症例に関して医療従事者からの相談を受け付ける窓口として企画した。既に日本産科婦人科学会理事会へその原案を提出して承認も受けており、近日中に開設される予定である。

ダウン症に関しては、MTHFR 遺伝子の

C677T 多型では、C アレル頻度が症例 65%、対照 61%、TS 遺伝子の 2 回リピートアレル頻度は症例 18%、対照 15%といずれも有意差は認められなかった。一方、MTRR 遺伝子の A66G 多型ではアレル頻度に有意差は認められなかったものの、症例において GG 遺伝子型は対照に比べて有意に低頻度であった(p=0.03)。血中葉酸および B₁₂ 濃度に両群で有意差は認められなかった。

Caucasian 集団でダウン症出生と MTHFR および MTRR の両遺伝子多型の関連があると報告されているが、今回の日本人集団では同様の結果は見いだせなかった。今回 MTRR の GG 遺伝子型の頻度が p 値が 0.03 と 5%水準以下では有意となった。しかし、Caucasian 集団では症例群で有意に高いと報告しているため、いわば逆の結果である。日本人集団で追試が必要であると思われる。いずれにしても Caucasian 集団と日本人集団では遺伝的背景は異なる事が示された。

なお、日本人一般女性の血中葉酸値および遺伝子多型の研究に関しては、倫理委員会申請の準備中であり、承認が得られ次第、採血と解析を開始する予定である。

最後に、当施設ではネットワーク内外の症例を含め、神経管欠損症児分娩既往のある 4 例の妊婦が、次の妊娠前より葉酸 (2.5 ~5mg) を内服し、うち 1 例は既に健児を分娩、3 例は現在妊娠継続中である。超音波検査上、現在までに胎児に明らかな異常所見は認められていない。

D. 結論

日本人集団では Caucasian 集団で見られた母親の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型とダウン症発生には有意な関連が認められなかった。MTRR 多型の GG 型を持つ頻度が症例群で有意に頻度が低かったが、この解釈については判断が難しい。

神経管欠損症は稀な先天異常で全国レベ

ルでの症例収集が必要であり、次年度も前述のネットワークシステム等を利用して症例の集積につとめる。日本では、予防的葉酸投与については医療サイドにも患者サイドにも普及しているとは言い難く、今後ホームページを通じて教育と啓蒙をすすめてゆく。特に次年度は、現状調査のために産婦人科医で遺伝カウンセリング専門医の資格も有する医師を対象にアンケート調査を考慮しており、日本における葉酸摂取啓蒙活動の浸透度を明らかにして、その現状を医療行政に提言してゆく。葉酸投与症例に関しては登録制度などにより追跡調査を行い、長期的な効果判定や副作用報告を行ってゆく必要があるだろう。神経管欠損症に関しては発生頻度が低くまだ解析に十分な症例が集積していない。そのため、現存する日本産科婦人科学会のホームページ内に、神経管欠損症を含む遺伝性先天性疾患に関するホームページ「周産期遺伝子診療のためのサポート」の掲載を開始し、これらの症例に関して医療従事者からの相談を受け付ける窓口として企画した。

なお、倫理委員会での承認が得られ次第、一般女性の葉酸摂取状況と遺伝子多型の解析を開始する予定である。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

現在、投稿準備中。

2. 学会発表

月城沙美、近藤裕子、種村光代、杉浦真弓、鈴森 薫、孫田信一：自然流産に見られた片親性ダイソミーの 2 例。日本産婦人科学会、2002. 4. 9 (東京)。

孫田信一、月城沙美、近藤裕子、小野教夫、種村光代、杉浦真弓、千葉喜英、鈴森 薫：ヒトの発生異常に関わる片親性ダイソ

ミー. 日本先天異常学会、2002. 7. 12 (浜松).

月城沙美、佐藤 剛、青山和史、種村光代、鈴木佳克、鈴森薫、孫田信一: 14 番染色体の paternal uniparental disomy の一例. 日本人類遺伝学会、2002. 11. 13 (名古屋).

孫田信一、月城沙美、近藤裕子、種村光代、杉浦真弓、千葉喜英、鈴森 薫: 自然流産に発見された片親性ダイソミーの起源解析. 日本人類遺伝学会、2002. 11. 13 (名古屋).

船水真紀子、蒔田芳男、大森博之、大橋博文、小橋 元、種村光代、鈴森 薫、羽田 明. 日本人集団におけるダウン症発生と葉酸代謝酵素遺伝子多型の関連. 第 47 回 日本人類遺伝学会、2002. 11. 13 (名古屋).

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と先天異常（神経管欠損症およびダウン症候群等）の発生予防に関する基礎的研究

分担研究者 大橋 博文 埼玉県立小児医療センター遺伝科医長

研究要旨

葉酸の代謝経路に関わる遺伝子 MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase) あるいは MTRR (methionine synthase reductase) の多型と 21 トリソミー (ダウン症) の原因である染色体不分離の起こり易さとの関連性が示唆されているが結論が出ていない。この関連性の有無を検討するため、ダウン症児の母親と一般女性の上記両遺伝子の多型分析を行い、遺伝子多型とダウン症の発生との関連性を検討する。そのために、分担研究者は母親への説明文書を作成し倫理委員会の承認を得、その文書を用いて説明し同意を得た後に採血を行い、70 例の検体を匿名化した上で分析研究に供した。

A. 研究目的

葉酸の代謝経路に関わる遺伝子 MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase) あるいは MTRR (methionine synthase reductase) の多型と 21 トリソミー (ダウン症) の原因である染色体不分離の起こり易さとの関連性が示唆されているが結論が出ていない。この関連性の有無を検討するため、ダウン症児の母親と一般女性の上記両遺伝子の多型分析を行い、遺伝子多型とダウン症の発生との関連性を検討する。そのために、分担研究者は分析研究に供する検体を得るために、ダウン症児の母親への説明文書を作成し倫理委員会の承認を得、その文書を用いて説明し同意を得た後に採血を行う。

B. 研究方法

血液検体を採取するにあたり、文書による説明と同意を得るために、説明文書と同意書を作成し、倫理委員会での承認を得る。その文書を用いてダウン症児の母親に説明を行い、同意を得た後で採血を行って検体を得る。
(倫理面への配慮)

個人あるいは家族の遺伝情報を扱う検体収集となるため、倫理委員会に諮ってその妥当性を検討した上で検体収集を進めることとする。

C. 研究結果

埼玉県立小児医療センターの倫理委員会において当研究における説明文書と同意文書の妥当性を審議し承認された。以下に説明文書と同意文書を示す。

1. 説明文書

“染色体不分離に関する葉酸代謝関連遺伝子 (MTHFR, MTRR) 多型分析について。

葉酸の代謝に関わる MTHFR (methylene-tetrahydrofolate reductase) あるいは MTRR (methionine synthase reductase) の多型 (遺伝情報を司る設計図の文字配列の役目をする 4 種類の塩基が決まった順番で並んでいます。その塩基の配列が一部で変わるもので、一般の人にも見られ、直接に疾患と結びつくような異常とは考えられていないものを多型と呼びます) が、ダウン症の原因である 21 トリソミーを起こす染色体の不分離に関連性があるのではないかと報告がなされています。一般の全ての女性の卵子において約 2 割で染色体異常がみられることから考えても染色体の不分離というものは通常の出来事として起こっているわけですので、この両遺伝子の多型が直接的に 21 トリソミーと結びついているのではないことは明らかです。しかし、不分離をおこしやすくするリスクファクター (非常に少ない影響しかないかもしれませんが) の一つであるかもしれないという意味です。ダウン症候群のお子さんのお母さんの MTHFR あるいは MTRR 遺伝子の多型の有無を調査集積して、この可能性を検討する研究を名古屋市立大学医学部産婦人科教室と旭川医科大学公衆衛生学教室との共同研究として行いたいと思います。具体的には 3-5ml の採血をさせていただき、旭川医科大学衛生学教室へ送付して遺伝子多型の分析をします。一定数の分析が終わった時点で遺伝子の多型の頻度が一般集団とくらべて差があるかどうかを調べます (一般女性の調査は名古屋市立大学医学部産婦人科教室で行います)。この研究はダウン症候群の直接の原因を調べるものではありませんし、もし多型がみられた場合でもそれが直接お子様の染色体異常の原因とは考えられません。染色体異常は人間がもってい

る普遍的なできごとと思われませんが、それに関与するファクターの一つを知るといふ研究になると思われまふ。従つて、ご家族に個別に還元できる研究というよりは染色体異常の発生に関する基礎的な研究の面が大きいと思ひます。しかし、このような基礎的な研究も染色体異常の発生を理解する上で大変重要であることも事実です。別紙の遺伝子検査に関する承諾書の中で、遺伝子検査を受けるか受けないか、また、検体は一定期間（永久保存は保証できません）は分析後施設に保存されることになりまふが、その扱いについても選択をお願ひします。また、その扱いを今後変更したいときには、検体の保存条件及び結果の告知の変更願ひによつて申し出ていただくことが可能です。主旨をご理解の上、ご協力をいただけまふと幸ひです。“

2. 遺伝子検査に関する同意書

以下の同意内容を確認。

1) 遺伝子の分析結果の告知を受けるか否か、2) 遺伝子検査の余剰検体 DNA を保存することを許すか否か、3) 遺伝医学的研究の目的のみのために、DNA が使用されることがあること、4) 遺伝医学的研究の目的のためのみに、プライバシーの保護を目的として個人を同定する情報とは切り離した上、検体の一部が他の施設に送られ使用されることがあること、5) 検体供与者あるいはその代理人が DNA の保存の中止を希望するときは、埼玉県立小児医療センター遺伝検査室に文書で通知すること（検体の保存条件及び結果の告知の変更願ひの文書をあらかじめ手渡している）。

3. 検体採取

上記の説明文書を用いてダウン症児の母親に外来受診時に説明し、70名の母親から承諾が得られ、採血を行った。

D. 考察

遺伝的解析にあたり、十分な説明と同意、また、結果告知の有無、一旦承諾した内容の変更といった選択肢の提示などの配慮もなされるべきである。本研究でも検体採取時に、個別に上記文書を用いて説明し同意を得た。本研究は基礎的なものであり、直接に研究協力者（検体提供者）に還元できる結果が得られない。しかし、この研究への協力を通して、染色体異常のこゝを中心にして遺伝的知識をより深く知つてもらう良いチャンスとしても生かせるよう、結果の報告研修会などといった機会を今後作つていき、研究に協力した家族への還元の一つともしたいと考へている。

E. 結論

葉酸の代謝経路に関わる遺伝子 MTHFR と MTRR 多型と 21 トリソミー（ダウン症）の原因としての染色体不分離の起こりやすさとの関連性の検討のためにダウン症児の母親の 70 名から採血を行った。それにあたり、説明と同意を十分に行うための文書を作成し倫理委員会にて検討後に運用した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 船木真紀子、蒔田芳男、大森博之、大橋博文、小橋元、種村光代、鈴木薫、羽田明：日本人集団におけるダウン症発生と葉酸代謝酵素遺伝子多型の関連。第 47 回日本人類遺伝学会（名古屋）2002 年 11 月 13 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

神経管形成異常、各種染色体異常症例等の集積及び異常の起源と遺伝子多型
に関する研究

分担研究者 孫田信一 愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所
遺伝学第一研究室長

研究要旨 神経管形成異常児及びダウン症候群を含む染色体異常児等の出生歴のある日本人女性における葉酸代謝関連の酵素群遺伝子の多型を解析し、これら疾患との関連を明らかにすることを目的にして研究を実施している。本年度は特にトリソミー等の異常を有する症例及び染色体異常の流産を反復する症例由来の組織・細胞の集積、各症例の染色体構成の詳細な解析、各症例における葉酸関連酵素群遺伝子の多型解析とその偏りに関する調査を開始した。これらの研究をとおして染色体異常及び神経管形成異常等に関わる遺伝子異常または遺伝子多型を明らかにしていく。

A. 研究目的

葉酸投与により二分脊椎や無脳症などの神経管形成異常を減少させる可能性があることと、染色体異常の代表例の一つであるダウン症候群を出産した母親の葉酸代謝に異常がある可能性が指摘されている。実際にこれらの患児出産歴のある母親に葉酸代謝に関連する2つの酵素の遺伝子多型に高い偏りが見られることが最近報告された。しかし、日本人におけるこれらのデータはほとんどない。そこで、本研究では神経管形成異常児及びダウン症候群児の出生歴のある日本人女性における葉酸代謝関連酵素群遺伝子の多型を解析して、これらの異常との関連を調査することにある。分担課題では、染色体異常を示す日本人の患児とその家族由来の細胞の細胞株化と、染色体異

常を反復する多数の流産症例について集積を図る。また、これらの症例において葉酸関連酵素の遺伝子多型調査により、染色体異常及び神経管形成異常に関わる遺伝子異常または遺伝子多型を明らかにすることを目的として研究を進める。

B. 研究方法・対象

以下の方法により研究を実施した。①神経管形成異常、及び各種染色体異常を示す日本人症例とその家族由来の細胞の集積を図った。②染色体異常を伴う自然流産について特に重点的に集積を行った。流産症例について絨毛組織及びその夫婦の血液細胞を集積した。血液細胞についてはEBV形質転換による細胞株化して保存した。③これらの症例全てについて詳細な染色体解析を

行った。末梢血培養または絨毛の組織培養を速やかに行い、細胞増殖を確認して染色体標本作製し、バンド法で解析した。④染色体異常を伴う児を有する症例及び自然流産の症例において葉酸関連酵素群遺伝子の多型を調査し、対照群と比較して多型パターンを解析する。⑤de novo 染色体構造異常等の切断点遺伝子の検索を実施し、それらと葉酸関連酵素群遺伝子との共通性について検討していく。これらの研究をとおして染色体異常及び神経管形成異常に関わる遺伝子異常あるいは遺伝子多型を明らかにしていく。

(倫理面への配慮)

本研究では三省合同で纏められた「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針」を遵守すると共に、日本人類遺伝学会をはじめとする日本医学会分科会等の倫理規定に基づいて実施している。研究者は研究対象者の人権擁護に配慮し、研究対象者としてあらかじめ十分な説明を行い同意を得る。本研究計画、及びインフォームドコンセント書式については所属機関の倫理委員会において承認を得て実施している。

C. 研究結果

①神経管形成異常及び染色体異常を示す症例とその家族由来の組織・細胞について集積した。本年度は特に自然流産について重点的に集積を図った。自然流産の場合は絨毛組織及びその夫婦の血液細胞を集積した。血液細胞については EBV 形質転換による細胞株として保存した。②染色体解析を実施して de novo の染色体異常が認められた 31 例の自然流産についてはそれぞれの絨毛及び末梢血細胞を保存した。これらに

は 16 トリソミー (5 例)、21 トリソミー (3 例)、9 トリソミー (2 例)、18 トリソミー (2 例)、X モノソミー (2 例) などが含まれていた。またトリソミーを示す流産を反復する症例も多数含まれており、貴重な研究対象になると考えられる。③de novo 均衡型転座を有する多数の症例から流産に関わる遺伝子の発見を目指して共通する切断点の情報を収集し、今回焦点を当てている遺伝子との関連性を検討した。④これらの症例において葉酸関連酵素群遺伝子の多型について系統的な調査を行うための準備を整えた。

D. 考察

これまでの報告から葉酸投与により二分脊椎や無脳症などの神経管形成異常を減少させる可能性があること、またダウン症候群などの染色体異常児を出産した母親の葉酸代謝に異常がある可能性が指摘されている。これらの患児の出産歴のある母親に葉酸代謝関連の酵素群遺伝子の多型パターンに高い偏りが見られることがこの可能性を強く示唆している。一般に遺伝子多型には人種等により偏りがあるが、日本人のこれらの遺伝子に関する情報は極めて少ない。本研究では神経管形成異常児及びダウン症候群出生歴のある日本人女性において葉酸代謝関連酵素群遺伝子の多型を解析して、各疾患とこれらの異常や変異との関連を明らかにすることは意義がある。

今年度の分担課題として神経管形成異常、及び染色体異常を示す症例とその家族由来の組織・細胞の集積を重点的に進めた。実際に自然流産の症例において、de novo 染色体異常を有する多数の症例を集積するこ

とができたが、この中にはトリソミーを反復する自然流産の症例が多数含まれており、染色体異常と葉酸関連酵素群遺伝子との関係を明らかにするための貴重な研究対象になると考えられる。今後これらの研究をとおして染色体異常及び神経管形成異常に関わる遺伝子あるいは遺伝子多型を明らかにしていく。

E. 結論

本研究では神経管形成異常児及び各種染色体異常児等の出生歴のある日本人女性において葉酸代謝に関連する酵素群遺伝子の異常または多型とこれら疾患との関連を明らかにするため、特にトリソミー等の異常を有する症例及び染色体異常を有する流産症例の組織・細胞を集積した。各症例における葉酸関連酵素群遺伝子の多型解析とその偏りの調査を開始し、染色体異常及び神経管形成異常等に関わる遺伝子異常または遺伝子多型を明らかにする。

(謝 辞)

研究対象の症例の集積に多大な援助をいただいた名古屋市立大学医学部産婦人科、杉浦真弓助教授、及び各種解析に援助頂いた愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所遺伝学部研究助手、中川千玲、主任研究員、武藤宣博、名古屋市立大学大学院医研究科、月城沙美、李 青英の各氏に深謝申し上げます。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

発表準備中。

2. 学会発表

月城沙美、近藤裕子、種村光代、杉浦真弓、鈴木 薫、孫田信一：自然流産に見られた片親性ダイソミーの2例。日本産婦人科学会、2002. 4. 9 (東京)。

孫田信一、月城沙美、近藤裕子、小野教夫、種村光代、杉浦真弓、千葉喜英、鈴木 薫：ヒトの発生異常に関わる片親性ダイソミー。日本先天異常学会、2002. 7. 12 (浜松)。

月城沙美、佐藤 剛、青山和史、種村光代、鈴木佳克、鈴木 薫、孫田信一：14 番染色体の paternal uniparental disomy の一例。日本人類遺伝学会、2002. 11. 13 (名古屋)。

孫田信一、月城沙美、近藤裕子、種村光代、杉浦真弓、千葉喜英、鈴木 薫：自然流産に発見された片親性ダイソミーの起源解析。日本人類遺伝学会、2002. 11. 13 (名古屋)。

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

該当事項なし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

日本人女性の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型と先天異常
(神経管欠損症およびダウン症候群等)の発生予防効果に関する基礎的研究

分担研究者 羽田 明 千葉大学大学院医学研究院教授

研究要旨

葉酸代謝関連酵素として、Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) の C677T 多型, Methionine synthase reductase (MTRR) の A66G 多型, Thymidylate synthase (TS) のプロモーター領域にある 28bp のリピート回数多型 (2 回または 3 回) の合計 3 種類の多型を検討した。ダウン症出産経験のある 68 名の母親と、妊娠、分娩をとおして母子ともに特に問題の無かった年齢と経産回数をマッチさせた 175 例の母親を対象として関連解析をおこなった。また、血中葉酸および B₁₂ 濃度も測定した。その結果、MTHFR と TS の遺伝子多型頻度に有意差はなかったが、MTRR では症例群では GG 遺伝子型の頻度が有意に低かった (p=0.04)。しかし、この結果は Caucasian 集団の結果とは逆であり、さらに検討を続ける必要がある。血中葉酸および B₁₂ 濃度に両群で有意差は認められなかった。

A. 研究目的

トリソミー型ダウン症では、症例の 93% において過剰 21 番染色体は母親由来である。卵子形成の減数分裂における染色体不分離が原因であるが、その発生メカニズムはわかっていない。また、ダウン症発生の危険因子として妊娠時の母親の高年齢がよく知られているが、他の要因は不明である。葉酸は DNA 合成の前駆体整合性に必須のビタミンである。これまで *in vivo* および *in vitro* で慢性的な欠乏状態では、DNA メチル化の異常、DNA 鎖の破断、染色体組み換え異常、染色体分離の異常などがおこることが知られている。James et al. (1999) は、母親の葉酸欠乏状態が染色体不分離の危険因子となりダウン症発生が増加するという仮説の基に 57 人のダウン症出生の母親と対照 50 人を比較し、前者では血中ホモシステイ

ン値の軽度上昇と葉酸代謝に係る Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 酵素の遺伝子多型 677T が有意に高いことを見いだした。その後、Hobbs et al. (2000)、O'Leary et al. (2002) は MTHFR に加え、Methionine synthase reductase (MTRR) 酵素の遺伝子多型 (A66G) の 66G も有意に高く、両者は独立の危険要因であると報告している。そこで、本研究では日本人集団において同様の検討をおこない、葉酸投与による先天異常発生予防の可能性を探ることを目的とした。

B. 研究方法

倫理委員会の承認後、ダウン症出産の既往がある母親に研究の趣旨を説明したところ、68 名の母親から同意が得られた。正常対照の母親として、同様に説明し収集した

検体の中から年齢と経産回数をマッチさせた 175 例を使用した。遺伝子多型として、Caucasian で関連が報告された MTHFR C677T 多型, MTRR A66G 多型に加えて、今回新たに血中葉酸値, ホモシステイン値に関連するとの報告がある, Thymidylate synthase (TS)のプロモーター領域にある 28bp のリピート回数の多型 (2 回または 3 回) との関連を検討した。また, 血中葉酸値, ビタミン B₁₂ 値も測定した。

C. 研究結果

MTHFR 遺伝子の C677T 多型では, C アレル頻度が症例 65%, 対照 61%, TS 遺伝子の 2 回リピートアレル頻度は症例 18%, 対照 15%といずれも有意差は認められなかった。一方, MTRR 遺伝子の A66G 多型ではアレル頻度に有意差は認められなかったものの, 症例において GG 遺伝子型は対照に比べて有意に低頻度であった($p=0.03$)。血中葉酸および B₁₂ 濃度に両群で有意差は認められなかった。

D. 考察

Caucasian 集団で, ダウン症出生と MTHFR および MTRR の両遺伝子多型の関連があると報告されているが, 今回の日本人集団では同様の結果は見いだせなかった。今回, MTRR の GG 遺伝子型の頻度が p 値が 0.03 と 5%水準以下では有意となった。しかし, Caucasian 集団では症例群で有意に

高いと報告しているのので, いわば逆の結果である。日本人集団で追試が必要であると思われる。いずれにしても, Caucasian 集団と日本人集団では遺伝的背景は異なる事が示された。

E. 結論

日本人集団では Caucasian 集団で見られた母親の葉酸代謝関連酵素遺伝子多型とダウン症発生には有意な関連が認められなかった。MTRR 多型の GG 型を持つ頻度が症例群で有意に頻度が低かったが, この解釈については判断が難しい。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

現在, 投稿準備中。

2. 学会発表

船水真紀子, 蒔田芳男, 大森博之, 大橋博文, 小橋 元, 種村光代, 鈴森 薫, 羽田明. 日本人集団におけるダウン症発生と葉酸代謝酵素遺伝子多型の関連. 第 47 回 日本人類遺伝学会 (名古屋) 2002 年

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

葉酸による先天異常発生予防効果の検討と
予防的葉酸投与の実施・現状調査・啓蒙

分担研究者 種村光代 名古屋市立大学大学院医学研究科
生殖・遺伝医学講座生殖・発生医学分野講師

研究要旨

葉酸による先天異常（神経管欠損症およびダウン症候群等）の発生予防効果に関する検討を目的として、症例収集、予防的葉酸投与の実施・現状調査・啓蒙を行う。さらに日本人一般女性の血中葉酸値、遺伝子多型に基づく薬剤有用性に関して検討を行う。本年度は、既存の“遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク”システムについて所属施設のヒト遺伝子解析研究倫理審査委員会より再承認を得て症例の収集を開始した。神経管欠損症の発生頻度は低くまだ解析に十分な症例が集積していないため、日本産科婦人科学会のホームページ内に、神経管欠損症を含む遺伝性先天性疾患に関するホームページ「周産期遺伝子診療のためのサポート」を掲載し、これらの先天異常症例に関して医療従事者からの相談を受け付ける窓口とした。当施設では神経管欠損症児分娩既往のある4例の妊婦が、次の妊娠前より葉酸（2.5~5mg）を内服し、うち1例は既に健児を分娩、3例は現在妊娠継続中である。超音波検査上、現在までに胎児に明らかな異常所見は認められていない。しかし全国的には葉酸に関しての認知度が低く、今後の啓蒙活動が期待される。日本人一般女性の血中葉酸値および遺伝子多型の研究に関しては、倫理委員会からの承認が得られ次第、採血と解析を開始する予定である。

A. 研究目的

先天異常の一次予防は重要な課題であり、その関与因子の同定が望まれている。諸外国の疫学研究で明らかになった唯一の例は、葉酸投与が二分脊椎症や無脳症を減少させることであり、日本においても葉酸摂取の啓蒙が始まったが、我が国では、未だ何ら疫学研究が進行していない。葉酸の予防的投与は望ましいものと期待されるが、近年の日本人一般女性と先天異常児を出産した日本人女性の血中葉酸値、遺伝子多型に基づく薬剤有用性も比較検討した上で、その必要性を明確にしてゆく必要がある。

葉酸による先天異常（神経管欠損症およ

びダウン症候群等）の発生予防効果に関する検討を目的として、これらの症例の収集と葉酸代謝関連酵素遺伝子多型の解析、予防的葉酸投与の実施・現状調査・啓蒙を行う。さらに日本人一般女性の血中葉酸値、遺伝子多型に基づく薬剤有用性に関する検討を行う。

B. 研究方法

本研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針」を遵守し、さらに日本産科婦人科学会、人類遺伝学会をはじめとする日本医学会分科会、及び関連組織の倫理規定の元に実施される。研究計画、インフ

ホームド Consent 書式については所属施設の倫理委員会に提出し、承認を得てから研究を開始する。

*** 先天異常（神経管欠損症およびダウン症候群等）の症例収集**

神経管欠損症患児（流・死産児も含む）を分娩した症例の母親より検体を採取する。患者が解析結果の告知を希望する場合に備え、検体、臨床情報は検体採取機関で連結可能匿名化し ID 番号のみとする。さらに、口唇口蓋裂などの葉酸代謝の関連が推定される先天異常児出産母体、および原因不明流産母体の検体も収集する。症例の収集は、“遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク”（厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「家族性遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク構築に関する研究」主任研究者：鈴木薫）にて構築したネットワークシステムを基盤として、産科婦人科拠点施設に症例情報と検体の集積を依頼する。

*** 予防的葉酸投与の実施と現状調査**

前述のネットワークシステムへの登録症例のみならず、当施設産科婦人科では遺伝カウンセリング専門外来を設けており、先天異常児の出生に関する相談に対応している。これらのうち、妊娠前より予防的葉酸投与を施行した症例の追跡調査を行う。予防的葉酸投与の実施状況調査は、日本産科婦人科学会のホームページ内に、神経管欠損症を含む遺伝性先天性疾患に関するホームページを立案し、これらの症例に関しての医療従事者からの相談を受け付ける窓口として利用するとともに、さらに葉酸についての啓蒙や現状調査を薦めてゆく。

*** 日本人一般女性の血中葉酸値、遺伝子多型**

日本人一般女性 100 例を目標とする。感染症や子宮筋腫など妊娠とは無関係の主訴にて受診した若年女性で、採血の機会のある場合とする。また、女性医師、看護ス

タッフ、医学部女子学生、看護学生も対象に含め、連結不可能匿名化とする。

C. 研究結果および考察

前述の、“遺伝性疾患の解析のための情報・検体の集積分配ネットワーク”システムについては、葉酸に関する研究も含め、名古屋市立大学医学部ヒト遺伝子解析研究倫理審査委員会に再審議を依頼し、平成 14 年 8 月 7 日によりやく再承認を得たが、神経管欠損症に関しては発生頻度が低くまだ解析に十分な症例が集積していない。そのため、現存する日本産科婦人科学会のホームページ内に、神経管欠損症を含む遺伝性先天性疾患に関するホームページ「周産期遺伝子診療のためのサポート」の掲載を開始し、これらの症例に関して医療従事者からの相談を受け付ける窓口として企画した。既に日本産科婦人科学会理事会へその原案を提出して承認も受けており、近日中に開設される予定である。

当施設では、ネットワーク内外の症例を含め、神経管欠損症児分娩既往のある 4 例の妊婦が、次の妊娠前より葉酸 (2.5~5mg) を内服し、うち 1 例は既に健児を分娩、3 例は現在妊娠継続中である。超音波検査上、現在までに胎児に明らかな異常所見は認められていない。

日本人一般女性の血中葉酸値および遺伝子多型の研究に関しては、現在、倫理委員会申請の準備中であり、承認が得られ次第、採血と解析を開始する予定である。

D. 結論

神経管欠損症は稀な先天異常で全国レベルでの症例収集が必要であり、次年度も前述のネットワークシステム等を利用して症例の集積につとめる。日本では、予防的葉酸投与については医療サイドにも患者サイドにも普及しているとは言い難く、今後ホ

ームページを通じて教育と啓蒙をすすめてゆく。特に次年度は、現状調査のために産婦人科医で遺伝カウンセリング専門医の資格も有する医師を対象にアンケート調査を考慮しており、日本における葉酸摂取啓蒙活動の浸透度を明らかにして、その現状を医療行政に提言してゆく。葉酸投与症例に関しては登録制度などにより追跡調査を行い、長期的な効果判定や副作用報告を行ってゆく必要があるだろう。

なお、倫理委員会での承認が得られ次第、一般女性の葉酸摂取状況と遺伝子多型の解析を開始する。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

船水真紀子, 蒔田芳男, 大森博之, 大橋博文, 小橋 元, 種村光代, 鈴木 薫, 羽田 明.
日本人集団におけるダウン症発生と葉酸代謝酵素遺伝子多型の関連. 第 47 回日本人類遺伝学会 (名古屋) 2002 年 11 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし