

表 1 基本的属性

		N (%)
出産経歴	初産	249 (46.8)
	経産	283 (53.2)
教育歴 (年)	9	33 (6.2)
	12	251 (47.2)
	14~15	201 (37.8)
	16	45 (8.5)
喫煙習慣	非喫煙群	453 (85.2)
	喫煙群	79 (14.8)
新生児性別	男児	254 (47.7)
	女児	278 (52.3)
出産時年齢	35歳以上	80 (15.3)
	35歳未満	452 (84.7)
妊娠前BMI(kg/m ²)	BMI25以上	80 (15.0)
	BMI25未満	438 (82.3)
新生児体重(g)	2500g以上	498 (93.6)
	2500g未満	34 (6.4)
在胎週数 (週)	37週以上	502 (94.4)
	37週未満	30 (5.6)

表 2. 児の出生時体重に影響を及ぼす要因

	B(標準誤差)	β	P
血清葉酸値 (ng/ml)			
2.8~5.7	-84 (41)	-.103	.042
5.8~7.0(Ref.)			
7.1~8.3	-35 (40)	-.042	.379
8.4~29	-53 (44)	-.059	.222
出産歴	155 (32)	.212	.000
出産時年齢 (才)	-9 (4)	-.116	.009
妊娠前BMI(kg/m ²)	10 (5)	.095	.024
喫煙	-140 (43)	-.135	.001
教育歴 (年)			
9(Ref.)			
12	-71 (67)	-.097	.286
14~15	-97 (69)	-.128	.163
16	-23 (84)	-.018	.778
在胎週数 (週)	112 (11)	.415	.000
児性別	-97 (29)	-.133	.001
遺伝子多型			
677CC(Ref.)			
677CT	43 (33)	.059	.195
677TT	65 (55)	.055	.241
1298AA(Ref.)			
1298AC	-9 (34)	.012	.772
1298CC	90 (64)	.059	.171

(B:偏回帰係数, β :標準偏回帰係数)

妊娠中の母親の喫煙が乳児の身体的成長に及ぼす影響に関する研究

主任研究者	岸 玲子	北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授
分担研究者	水上 尚典	北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野 教授
	櫻木 範明	北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座婦人科学分野 教授
	遠藤 俊明	札幌医科大学産婦人科学講座 助教授
	石川 睦男	旭川医科大学産婦人科学講座 教授
	佐田 文宏	北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授

研究要旨

妊娠中の母親の喫煙は、児の出生時の身長、体重等に影響を与えることが知られているが、そうした児は成人期、思春期に肥満、過体重となりやすいことが報告されている。母親の妊娠中の喫煙が、その後、児の身体的成長に影響を及ぼすかどうかを調査しているが、その途中経過として、母親の妊娠中の喫煙が児の出生時の身体的特徴（身長、体重、頭囲、胸囲）に及ぼす影響について調べた。対症妊婦550名中、喫煙群は68名、禁煙群は92名、非喫煙群は390名であった。非喫煙群の児と比べて、喫煙群の児は、身長、体重、頭囲、胸囲すべてにおいて、出産年齢、在胎週数、出産回数、児性別、母親BMI、母親学歴で調整してもなお、有意に小さかった。一方、禁煙群の児と非喫煙群の児を比較したところ、有意な差はみられなかった。今後、10ヶ月時、18ヶ月時、それ以降も継続的に調査を続けていく予定である。

【研究協力者】

山田 秀人

北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学
講座産科・生殖医学分野

林 卓宏、斉藤 豪

札幌医科大学産婦人科学講座

田熊 直之

旭川医科大学附属病院周産母子センター

宮本 敏伸、佐々木 慎仁

旭川医科大学産婦人科学講座

西條 泰明、近藤 朋子、森 ゆうこ、

倉橋 典絵、森岡 三果、鈴木 佳奈、

小池 晶、田中 亜美、宮崎美代乃、

山岡 ゆう

北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公
衆衛生学分野

【研究協力機関】

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、旭川
医科大学附属病院、旭川赤十字病院、岩見沢こ

ども・産婦人科クリニック、遠軽厚生病院、え
んどう桔梗マタニティクリニック、王子総合病
院、帯広協会病院、帯広厚生病院、北見赤十字
病院、北見レディースクリニック、勤医協札幌
病院、釧路赤十字病院、釧路労災病院、慶愛病
院、幌南病院、公立芽室病院、五輪橋産科婦人
科小児科病院、札幌医科大学附属病院、札幌厚
生病院、札幌徳州会病院、市立札幌病院、市立
士別総合病院、市立函館病院、市立稚内病院、
白石産科婦人科病院、新日鐵室蘭総合病院、手
稲溪仁会病院、天使病院、道立紋別病院、中標
津町立病院、中村病院、名寄市立総合病院、日
鋼記念病院、函館五稜郭病院、函館中央病院、
はしもとクリニック、朋佑会札幌産科婦人科、
北海道大学附属病院

（平成17年3月現在）

A. 研究目的

文部科学省「学校保健統計調査」、厚生労働省「国民栄養調査」等によると、成人同様、この20年間で、肥満傾向にある子供は増加している。

妊娠中の母親の喫煙は、早産や低出生体重児、子宮内発育遅延等を引き起こしやすいことが知られているが、そうした児は、その後、成人、思春期に肥満、過体重となりやすいことが報告されている(1,2)。Ongらによれば、0-2歳までに catch-up した子供は、しなかった子供に比べて、幼児期に肥満傾向にある(3)。

しかし、妊娠初期から継続的に児の身体的成長を追跡している調査は少ない。また、北海道は女性の喫煙率が全国平均 13.6%と比較して 27.5%と高い。そこで本調査では、妊娠中の母親の喫煙が児の身体的成長にどのような影響を及ぼすかを調べ、その途中経過として妊娠中の母親の喫煙状況と、児の出生児の身体的特徴（身長、体重、頭囲、胸囲）について検討を行ったので、ここに報告する。

B. 研究方法

北海道の 38 産科施設に通院中で、本調査に同意を得た全妊婦を対象とした。平成 16 年 8 月までに調査協力が得られた妊婦 613 名のうち、除外基準として、双生児、先天異常のある児、調査票の記入が不完全な者、63 名を除き、550 名を対象とした。

喫煙に関しては、非喫煙群（一度も喫煙をしたことがない人）、禁煙群（妊娠初期にやめた人）、喫煙群（妊娠中も喫煙をしていた人）に分けて解析を行った。

解析は SPSS ver.11.0 を用いて一元配置分散分析を行い、その後多重比較をおこなった。

（倫理面への配慮）

本研究は、産科病院または代表研究機関の倫理委員会にて、すべて承認されている。本研究のデータ保管は、個人情報管理者を置き、厳格な管理が行われ、調査結果の公表に際しては、個人名を

公表したり、個人を特定できる形にはせず、妊婦のプライバシーは厳重に保護されている。

C. 研究結果

対象の内訳は、喫煙群 68 名、禁煙群 92 名、非喫煙群 390 名であった。

非喫煙群の児と比べて、喫煙群の児は、身長、体重、頭囲、胸囲すべてにおいて、出産年齢、在胎週数、出産回数、児性別、母親 BMI、母親学歴で調整してもなお、有意に小さかった。一方、禁煙群の児と非喫煙群の児を比較したところ、有意な差はみられなかった。

	喫煙群	非喫煙群	P 値
身長	48.4(2.0)	48.8(1.9)	0.02
体重	3050.2(359.2)	2946.9(364.9)	0.009
頭囲	32.8(1.4)	33.2(1.8)	0.03
胸囲	31.7(1.7)	31.3(1.6)	0.03

D. 考 察

非喫煙群と喫煙群では、喫煙群の児は有意に、身長、体重、頭囲、胸囲が小さかった。これは多くの先行研究と一致する (4,5)。

非喫煙群と禁煙群の児との間には、有意な差がみられなかった。禁煙群の母親の多くは、妊娠初期に禁煙しているため、児の成長に影響を与えなかったためだと考えられる (6)。

E. 結 論

非喫煙群の児と比べて、喫煙群の児は、身長、体重、頭囲、胸囲において、有意に小さかった。今後、児の成長に違いがあるかを調査していく予定である。

F. 参考文献

- (1) Toschke AM, et al. Childhood obesity is associated with maternal smoking in pregnancy. Eur J Pediatr 2002; 161: 445-8
- (2) Ken KL, et al. Size at Birth and Early Childhood Growth in Relation to Maternal

- Smoking, Parity and Infant Breast-Feeding:
Longitudinal Birth Cohort Study and
Analysis. Pediatrics Research 2002; 52:863-7
- (3) Ong KK, et al. Association between
postnatal catch-up growth and obesity in
childhood: prospective cohort study. BMI
2000; 320: 967-71
- (4) Toschke AM, et al. Childhood obesity is
associated with maternal smoking in
pregnancy. Eur J periate, 2002; 161: 445-8
- (5) Karin Kallen.. Maternal smoking during
pregnancy and infant head circumference at
birth. Early Human Development 2000; 58:
197-204
- (6) Ohmi H, et al. Fetal growth and the
timing of exposure to maternal smoking.
Pediatrics International 2002; 44: 55-59

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

I. 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

停留精巣と環境化学物質曝露との関連についての症例対照研究

主任研究者 岸 玲子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授
分担研究者 野々村克也 北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野 教授
佐田 文宏 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授

研究要旨

近年、欧米で停留精巣の発生率の増加が指摘されており、内分泌攪乱物質との関連が疑われている。そこで、我々は、症例の母および父の内分泌攪乱物質（有機塩素系殺虫剤、PCB、医薬品、食物性エストロゲンなど）への曝露の有無、種類などを調査し、その因果関係を明らかにすることを目的として、症例対照研究を行った。1990年以降に停留精巣の手術を受けた男児94名を症例とし、停留精巣・尿道下裂をもたない男児116名を病院対照とした。その結果、異常分娩（帝王切開・吸引分娩・鉗子分娩）(OR=2.2 95%CI:1.1-4.4)、妊娠初期・妊娠中の父の職業性ディーゼル暴露(各OR=1.9 95%CI:1.0-3.4, OR=1.9 95%CI:1.1-3.5)、妊娠初期・妊娠中の父の喫煙(OR=2.4 95%CI:1.1-5.6, OR=2.4 95%CI:1.0-5.6)でオッズ比の上昇がみられた。今回の調査からは、父親の喫煙などの化学物質との関連が示唆された。食物由来の化学物質やエストロゲン曝露との関連について、魚の摂取、植物エストロゲン摂取について解析したが、有意な差はみられなかった。

【研究協力者】

倉橋 典絵、笠井世津子
北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野
柿崎 秀宏、柴田 隆
北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野

Hexachlorobenzene(HCB)との関連を報告している。

今回、我々は、症例の母および父が、患児の出生前、特に生殖器が分化形成する時期に、内分泌攪乱物質（有機塩素系殺虫剤、PCB、医薬品、食物性エストロゲンなど）への曝露の有無、種類などを調査し、その因果関係を明らかにすることを目的として、本調査を行った。

A. 研究目的

近年、欧米で停留精巣の発生率の増加が指摘されており(1)、内分泌攪乱物質との関連が疑われている。停留精巣は、胎児期に腹部にある精巣が、出生時に陰嚢まで下降していない疾患で、男児泌尿生殖器奇形で最も頻度が高い。精巣の下降には、テストステロンが関与しており、胎児期における内分泌攪乱物質の曝露との関連が考えられている。停留精巣と化学物質の関連を調べた疫学研究は、Kristensen(2)、Weider(3)らが、農業や造園業による農薬曝露との関連を、Hosie(4)らが、停留精巣患児の脂肪中の有機塩素化合物を調べ、Heptachlorepoxyde(HCE)

B. 研究方法

1. 対象

症例は、1990年以降、札幌市の泌尿器科3施設（大学病院：1、一般病院：2）で停留精巣の手術の既往のある児96名を対象とした（回収率71%）。

病院対照として、札幌市の小児科4施設（大学病院：1、一般病院：4）入院および外来中の停留精巣・尿道下裂をもたない男児とその両親を対象とし、116名から回答を得た（回収率79%）。

2. 方法

質問紙調査法を用い、過去に手術を受けた男児については質問紙を患児の保護者宛に郵送した。

調査票の主な内容は、以下の通りである。

I. 児要因

- ① 出生時体重
- ② 在胎期間
- ③ 先天奇形合併

II. 産科要因

- ① 妊娠経過
- ② 妊娠時・出産時における問題（妊娠中の出血・切迫流産・帝王切開・異常分娩・妊娠悪阻・子癩前症）

- ③ 過去の妊娠歴・出産歴

III. 母親の要因

- ① 母親の病歴・薬剤服用歴
- ② 母親の喫煙・飲酒
- ③ 母親の食事

IV. 父親の要因

- ① 父親の病歴（不妊治療、泌尿器系疾患）
- ② 父親の喫煙・飲酒

1 父親の食事

V. 化学物質曝露

- ① 内分泌攪乱物質の職業性曝露・食物からの摂取
- ② 農作業・家庭菜園での作業における農薬への曝露等である。

3. 解析方法

児出生年、母親の児出生時年齢、世帯収入を調整因子として、ロジスティック回帰分析を行った。

（倫理面への配慮）

停留精巣の成因を調査するための医学的研究であること、研究への参加は両親、本人の自由意志であること、もし研究への参加に同意しない場合でも今後の診療上のいかなる不利益を設けないこと、等を主治医から十分に説明し、インフォームドコンセントを得た上で調査に参加していただいた。

C. 研究結果

1. 症例と対照の児の出生年の分布に大きな差はみられなかった。

2. 児要因（表1）

平均在胎週数、平均出生時体重について差はみられなかった。症例で在胎週数37週未満が多い傾向であったが有意差はみられなかった。出生時体重2500g未満も有位な差は認められなかった。第1子にも有意差は認められなかった。

表1 児の特性と要因

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
在胎週数 37週未満	19.5	12.0	2.1	0.9-4.6
出生時体重 2500g未満	20.2	13.9	1.6	0.8-3.3
第1子	44.1	38.1	1.5	0.8-2.6

3. 母の特性と要因（表2）

母親の出産時年齢、母親の肥満、不妊や子宮内膜症によるホルモン療法の既往に有意な差はみられなかった。

表2 母の特性と要因

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
出生時年齢 35才以上	7.4	15.6	0.4	0.2-1.1
不妊でホルモン療法の既往	5.3	3.6	2.0	0.6-6.3
子宮内膜症でホルモン療法の既往	3.4	3.6	1.5	0.4-5.7

3. 妊娠経過と分娩転帰（表3）

妊娠中のつわりは、症例で高い傾向にあった。妊娠中の膣出血に有意な差はなく、切迫流産、妊娠中毒症（浮腫、高血圧、蛋白尿のいずれかあり）は症例群で比較的多くみられたが、有位な差は認められなかった。帝王切開でリスクの上昇傾向、異常分娩（帝王切開、吸引分娩、鉗子分娩）では有意にリスクの上昇を認めた。

表3 妊娠経過と分娩転帰

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
つわり	77.7	66.1	1.8	0.9-3.3
膣出血	12.4	13.4	1.0	0.4-2.2
切迫流早産	19.4	17.0	1.1	0.5-2.3
妊娠中毒症	15.1	10.7	1.5	0.6-3.4
帝王切開	26.3	14.0	1.9	0.9-4.0
異常分娩	34.7	17.5	2.2	1.1-4.2

4. 化学物質曝露（表4）

児の両親が農業従事者と、それ以外に家庭菜園での農薬使用者を加えた農薬曝露には差がみられなかった。一方、職業性の化学物質曝露については、症例で、父親の妊娠初期のディーゼル曝露のオッズ比が高い傾向にあった。母親の職業性化学物質曝露では有意な関連は無かった。

喫煙については、父の妊娠初期、妊娠中の喫煙で有意なオッズ比の上昇が認められた。また、同居人の喫煙でもオッズ比の上昇が認められた。母の喫煙に関しては、差はみられなかった。

表4 化学物質曝露

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
妊娠初期の父のディーゼル曝露	18.0	9.0	2.5	1.1-5.6
妊娠中の父のディーゼル曝露	17.0	8.0	2.5	1.0-6.2
妊娠初期：父の喫煙	73.4	59.6	1.9	1.0-3.5
妊娠中：父の喫煙	71.7	56.6	2.0	1.1-3.6
妊娠初期：母の喫煙	33.3	29.6	1.2	0.6-2.1
妊娠中：母の喫煙	20.4	19.1	1.0	0.5-2.1
同居人の喫煙	71.6	50.0	2.4	1.3-4.5

5. 食事との関連

PCB、ダイオキシン曝露の可能性として、魚の摂取に関しては、近海魚（さんま、にしん、さば等）を週1-2回以上摂取する割合が、症例で低かったが有意ではなかった。遠洋魚（まぐろ、さけ、かつお等）に関しては、ほとんど差はなかった。

そのほか、豆腐、納豆、牛乳について解析を行った。いずれも、有意な差はみられなかったが、

「牛乳を毎日飲む」群で、「ほとんど飲まない」と比較してオッズ比の上昇傾向 (OR=1.6 95%CI=0.9-2.9)が見られた。

6. ロジスティックモデル（表5）

有意なオッズ比の上昇を認めた、「人中の父の職業性ディーゼル曝露」「妊娠中の父の喫煙」「異常分娩」を同一モデルに投入したところ、それぞれ、独立したリスク要因であった。

表5 ロジスティックモデル

	OR	95%CI
妊娠中：父ディーゼル曝露	2.4	1.0-5.8
妊娠中：父の喫煙	1.9	1.1-3.6
異常分娩	2.6	1.3-5.0

D. 考 察

精巣下降は機械的因子とホルモン因子の相互作用によって生まれる結果と考えられる。詳細な下降メカニズムは不明であるが、第1相の腹腔内下降 transabdominal phase と第2相の鼠径陰嚢部下降 inguinoscrotal phase の2段階に分かれていると考えられている。機械的因子としては、精巣導体の収縮による牽引説、発達した精巣上体による圧迫説、胎児の発育に伴う相対的下降説、腹圧による押し出し説、などがある。ホルモン因子としては、Sertoli 細胞から分泌されるミュラー管発育阻止物質 (MIS)、Leidig 細胞から分泌されるテストステロンが重要と考えられている。精巣下降の第1相は、アンドロゲンの関与は少なく非アンドロゲンのホルモンや、胎児の精巣から分泌されるミュラー管発育阻止物質 (MIS) が腹腔内精巣下降をコントロールしていると考えられている。第2相は、胎児のLeidig 細胞から分泌されるアンドロゲン依存性だと考えられている(5)。

母親の妊娠中の内外からのエストロゲン曝露が、精巣下降第1相において関係するといわれるMISの作用を阻害し、また、胎児のLeidig 細胞の前駆細胞を抑制することで第2相に関係するといわれるテストステロンの分泌を阻害し、停留精巣の発生に関与すると考えられた。

過去の国外の疫学研究によると、停留精巣のり

スク要因の主なものとして、児要因としては、低出生体重児(6)・早産児(7)、妊娠中の要因としては、つわり(8)・帝王切開(9)などが報告されている。停留精巣は胎児の成長に伴い下降し、出生時に下降していても1才までの下降が期待できる。そのため、低出生体重児、早産児では高率に停留精巣がみられる(6,7)。今回の調査では、低出生体重児、早産児にもいずれも有位な差は示さなかった。これは、過去の疫学研究が、出生時に停留精巣の既往のある症例を対象としているのに対し、今回の調査では、手術例に限ったためと考えられる。化学物質蓄積の影響を最も受けやすいとされる第1子についても有位な差はみられなかった。

妊娠中のリスク要因と考えられる妊婦のエストロゲン高値の状態を反映すると言われるつわりについては、有意ではないがオッズ比の上昇傾向が見られた。

今回の調査では、職歴を詳細に聞き、職業性の化学物質との関連を調べた。過去に報告されている農薬との関連は認められなかったが、父親の妊娠初期・妊娠中のディーゼル曝露では、母親の喫煙よりも、オッズ比の上昇を認めた。ディーゼル排気粒子・煙草には、ベンゾ [a] ピレンや、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)が含まれていることから、内分泌攪乱物質との関連も示唆された。

Tsutsumiらは、日本人のダイオキシン類の1日摂取量の53.9%は魚介類よりの摂取であると報告(10)し、Arisawaらは、日本人でも、魚の摂取頻度が高い人ほど、血中のPCB,ダイオキシン濃度が高い、と報告している(11)。今回の調査では、魚の摂取頻度、種類による、オッズ比の上昇は認められなかったが、今後は、生体資料を用いて、直接的な曝露評価もさらなる検討課題である、と思われた。

植物エストロゲン曝露の可能性として、豆腐、納豆の摂取で、いずれも有意な差は認められなかった。Northらは、ベジタリアンの母親から出生した児に、尿道下裂児が多かったことを報告している(12)。一方、牛乳を毎日飲む妊婦でオッズ比

の上昇がみられたことから、牛乳にはエストロゲンが含まれている(13)。母親の外因性エストロゲン曝露と停留精巣の関連が示唆された。

今回の調査では、停留精巣と喫煙など化学物質曝露との関連が示唆された。今後、生体資料を用いた直接的な曝露評価も重要である、と考えられた。

E. 結 論

停留精巣の症例対照研究を行い、父親の喫煙、職業性化学物質曝露、異常分娩によるオッズ比の上昇を認め、関連が示唆された。今後、生体資料を用い、直接的な化学物質の曝露評価も必要である、と考えられた。

F. 参考文献

- (1) Paulozzi.JL, et al. International Trends in Rates of Hypospadias and Cryptorchidism Environ Health Perspect. 1999(107)4:297-302
- (2) Kristensen P, et al. Birth defects among offspring of Norwegian Farmers:1967-1991. Epidemiology.1997 Sep;8(5):537-44
- (3) Weidner.IS, et al. Cryptorchidism and Hypospadias in Sons of Gardeners and Farmers Environl Health Perspect. 1998(12)106:793-796
- (4) Hosie.S, et al. Is There a Correlation Between Organochlorine Compounds and Undescended Testes? Eur J Pediatr Surg 2000(10)304-309
- (5) 生野 猛 他 精巣下降のメカニズム. 小児外科 1998;6:568-573
- (6) Berkowitz.GS, et al. Maternal and Neonatal Risk Factors for Cryptorchidism. Epidemiology 1995(6)2:127-131
- (7) Jones.ME, et al. Prenatal risk factors for cryptorchidism:a record linkage study Paediatr Perinat Epidemiol.1998(12)383-396
- (8) McBride.ML, et al. Maternal and

Gestational Factors in Cryptorchidism. *Int J Epidemiology* 1991(20):964-970

- (9) M.Mori, et al. Maternal and Other Factors of Cryptorchidism-A Case control study in Japan. *Kurume med J* 1992(39):53-60
- (10) Tsutsumi T, et al. Update of dairy intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs from food in Japan. *Chemosphere* 2001(45):1129-1137
- (11) Arisawa K, et al. Fish intake, plasma ω -3 polyunsaturated fatty acids, and polychlorinated dibenzo-p-dioxins/polychlorinated dibenzo-furans and co-planar polychlorinated biphenyls in the blood of the Japanese population. *Int Arch Occup Environ Health* 2003(76):205-215
- (12) North K. et al. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. The ALSPAC Study Team. *Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. BJU Int.* 2000;85:107-13.
- (13) Ganmaa et al. Is milk responsible for male reproductive disorders? *Med Hypotheses.* 2001;57:510-4.

G. 研究発表

1. 学会発表

倉橋典絵、笠井世津子、柴田隆、柿崎秀宏、野々村克也、佐田文宏、岸玲子：停留精巣のリスク要因に関する症例対照研究。平成16年1月 日本疫学会

2. 論文発表

Kurahashi N, Kasai S, Shibata T, Kakizaki H, Nonomura K, Sata F, Kishi R. Parental and neonatal risk factors for cryptorchidism. *Med Sci Monit*, in press.

尿道下裂リスクと母親のCYP1A1, GSTM1, GSTT1遺伝子多型との関連

主任研究者	岸 玲子	北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授
分担研究者	野々村克也	北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野 教授
	水上 尚典	北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野 教授
	佐田 文宏	北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授

研究要旨

尿道下裂は比較的頻度の高い先天異常の一つである。尿道の形成はアンドロゲン依存性であるので、環境要因（内分泌攪乱物質や喫煙）への曝露の増加や母親の内因性エストロゲンと尿道下裂との関連が疑われている。さらに、喫煙や他の化学物質には遺伝要因との交互作用があることが報告されている。CYP1A1は環境化学物質のみならずエストロゲンも代謝し、Glutathione-S-transferase(GSTs)は解毒酵素でありグルタチオン抱合により細胞を保護する働きをする。そこで我々は、CYP1A1 (MspI), GSTM1, GSTT1と尿道下裂との関連を調べるために、尿道下裂症例の母31例と対照の母64人で症例対照研究を行った。血液からのDNAを用いてPCR法で解析した。この研究において、CYP1A1変異型ヘテロ、変異型ヘテロ+ホモが、野生型と比較して有意なオッズ比の減少を示した（各 Adjusted OR=0.17, 95%CI=0.04-0.74、OR=0.28, 95%CI=0.08-0.97）。遺伝子多型と喫煙との交互作用は見られなかった。CYP1A1は、エストロゲン活性不活性の2-OHエストロゲンを関わっている。本研究では、尿道下裂と母親のエストロゲン代謝との関連が示唆された。

【研究協力者】

倉橋 典絵、笠井世津子
北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野
柿崎 秀宏、柴田 隆、守屋 仁彦
北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野
山田 秀人
北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野

エストロゲンも代謝し、Glutathione - S - transferase (GSTs) は解毒酵素でありグルタチオン抱合により細胞を保護する働きをする。そこで我々は、CYP1A1 (MspI), GSTM1, GSTT1 と尿道下裂との関連を調べるために症例対照研究を行った。

B. 研究方法

1. 対象

症例は、2000-2004年に札幌市と名古屋市の泌尿器科2施設（大学病院：1、一般病院：1）で尿道下裂の手術の既往のある児の母31名を対象とした。

対照として、札幌市の大学病院で出産を終えた、停留精巣・尿道下裂を持たない男児の母64名を対象とした。

A. 研究目的

尿道下裂は比較的頻度の高い先天異常の一つである。尿道の形成はアンドロゲン依存性であるので、環境要因（内分泌攪乱物質や喫煙）への曝露の増加や母親の内因性エストロゲンと尿道下裂との関連が疑われている。さらに、喫煙や他の化学物質には遺伝要因との交互作用があることが報告されている。CYP1A1は環境化学物質のみならず

2. 方法

- ① 自記式質問紙票を用いて、母親の出産時年齢、妊娠中の喫煙、教育歴、時の出生児体重、合併奇形について調べた。
- ② 手術をした泌尿器科医が、尿道下裂の重症度分類を行った。診断基準は、軽症（遠位）は龟头、冠状溝、陰茎部の開口とし、重症（近位）は陰茎陰囊部、陰囊部の開口とした。
- ③ 両群の母より2mlの末梢血を採取し、DNA抽出を行い、GSTM1, GSTT1はPCR法にて、CYP1A1 MspI多型はPCR-RLFP法にて解析を行った。

3. 解析方法

母親の児出生時年齢、出生児体重、母親の妊娠中の喫煙を調整因子として、ロジスティック回帰分析を行った。

（倫理面への配慮）

尿道下裂の成因を調査するための医学的研究であること、研究への参加は両親、本人の自由意志であること、もし研究への参加に同意しない場合でも今後の診療上のいかなる不利益を設けないこと、等を主治医から十分に説明し、インフォームドコンセントを得た上で調査に参加していただいた。

C. 研究結果

1. 基本的属性（表1）

低出生体重児で有意なオッズ比の上昇が見られた。症例で在胎週数37週未満が多かった。妊娠中の喫煙も有意な関連は見られなかった。

表1 基本的属性

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
低出生体重	62.5	18.8	7.2	2.6-20.4
出産時年齢≥35	33.3	14.3	3.0	0.97-9.3
妊娠中の喫煙	12.5	12.0	1.1	0.2-4.6

2. 遺伝子多型オッズ比（表2）

GSTM1, GSTT1 に有意な関連は見られなかったが、CYP1A1 野生型と比較して、変異型ヘテロ、変異型ヘテロ+ホモで有意なオッズ比の上昇が見られた（各 OR=0.31, 95%CI=0.1-0.8 OR=0.4 95%CI=0.2-1.0）。

表2 母の特性と要因

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
GSTM1 null	58.1	50.8	1.3	0.6-3.2
GSTT1 null	61.3	54.2	0.8	0.3-1.8
CYP1A1 heterozygous	29.0	54.7	0.3	0.1-0.8
CYP1A1 hetero+homozygous	51.6	71.9	0.4	0.2-1.0

3. 調整後の遺伝子多型オッズ比（表3）

母親の出産時年齢、出生児体重、妊娠中の喫煙で調整しても、GSTM1, GSTT1 に有意な関連は見られなかったが、CYP1A1 野生型と比較して、変異型ヘテロ、変異型ヘテロ+ホモで有意なオッズ比の上昇が見られた（各 OR = 0.2, 95%CI = 0.04-0.7 OR = 0.3 95%CI = 0.1-0.97）。

表3 妊娠経過と分娩転帰

	症例 (%)	対照 (%)	Adjusted OR	95%CI
GSTM1 null	58.1	50.8	1.1	0.3-3.6
GSTT1 null	61.3	54.2	1.1	0.3-3.8
CYP1A1 heterozygous	29.0	54.7	0.2	0.04-0.7
CYP1A1 hetero+homozygous	51.6	71.9	0.3	0.1-0.97

4. 母親の喫煙と遺伝子多型オッズ比

喫煙群と非喫煙群を、GSTM1, GSTT1, CYP1A1 の遺伝子多型で分けたところ、有意な関連は見られなかった。

5. 重症度と遺伝子多型オッズ比

各遺伝子群を重症度別に解析したが、有意な関連は見られなかった。

D. 考 察

本研究では、低出生体重児で尿道下裂のリスクが上昇し、CYP1A1 変異型ヘテロまたは、変異型ヘテロ+ホモで有意なリスク減少が認められた。

近年、尿道下裂の疫学研究にて、Gatti ら(1)は NICU の SGA 児における尿道下裂発生率は、一般人口の 10 倍であった、と報告している。また、一般人口と比べて、尿道下裂児の平均出生体重は低いこと(2)や、子宮内発育遅延との関連(3)も指摘されている。本研究は、これらの先行研究を支持し、尿道下裂と胎児発育との関連を示唆するものであった。

CYP1A1 は aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)活性に関わっている(4,5)。また、エストロゲン不活性の 2-OH エストロゲンの代謝を産生することでエストロゲン代謝に関わっている(6)。先行研究では、CYP1A1 変異型が、ホルモン依存性腫瘍である乳がんのリスクを低下する(7,8,9)ことや、上昇すること(10,11,12)が報告され、また、CYP1A1 はプロゲステロン、デヒドロエピアンドロステロンの水酸化に関わっている(13)ことも指摘されている。これらのことから、正常な尿道の発達はホルモンのバランスによることから、CYP1A1 によるエストロゲン代謝が尿道下裂の発生に関与している可能性が示唆された。

先行研究により、CYP1A1 MspI 変異型と GSTT 欠損型を持ち、かつ喫煙している母親から出生した児の体重は有意に低かった(14)ことや、GSTT 欠損型を持ち、かつ喫煙している母親における口蓋裂のリスク上昇(15)が報告されており、喫煙と遺伝子多型との交互作用による児への異常との関連が指摘されている。本研究では、尿道下裂と喫煙と遺伝子多型の交互作用は見られなかった。このことより、本研究では、サンプルサイズが小さく関連が見られなかった可能性もあるが、尿道下裂の発生において、CYP1A1 は、化学物質代謝の作用よりもエストロゲン作用の働きの方が大きいことが示唆された。

Kaloo (16)らは、アンドロゲンレセプターの発現がペニスの部位により異なっていることを報告

している。尿道下裂の開口部の位置は、内分泌攪乱物質や内因性エストロゲンへの感受性を反映している可能性があるが、本研究では、重症型による有意な差は見られなかった。

本研究により、尿道下裂と CYP1A1 の関連が示唆され、疾患感受性遺伝子の一つであることが示された。

E. 結 論

本研究では、CYP1A1 と尿道下裂リスクとの関連が明らかにされた。母親の生体内変換酵素やエストロゲン代謝が尿道下裂のリスクに影響を与える可能性がある。

F. 参考文献

- (1) Gatti JM. et al. Increased incidence of hypospadias in small-for-gestational age infants in a neonatal intensive-care unit. *BJU. Int.*, 2001;87:548-550.
- (2) Hughes IA. et al. Reduced birth weight in boys with hypospadias: an index of androgen dysfunction? *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.*, 2002;87:150-151.
- (3) Hussain, N. et al. Hypospadias and early gestation growth restriction in infants. *Pediatrics*, 2002;109:473-478.
- (4) Landi MT. et al. Association between CYP1A1 genotype, mRNA expression and enzymatic activity in humans. *Pharmacogenetics*, 1994;4:242-246.
- (5) Kiyohara C. et al. The relationship between aryl hydrocarbon hydroxylase and polymorphisms of the CYP1A1 gene. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1996; 87:18-24.
- (6) Taioli E. et al. A CYP1A1 restriction fragment length polymorphism is associated with breast cancer in African-American women. *Cancer Res.*, 1995;55:3757-3758.
- (7) da Fonte de Amorim, L. et al. CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms and

- breast cancer risk in Brazilian women. *Cancer Lett.*, 2002;181:179-186.
- (8) Miyoshi Y. et al. Breast cancer risk associated with CYP1A1 genetic polymorphisms in Japanese women. *Breast J* 2002;8:209-215.
- (9) Hefler LA. et al. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms in the assessment of breast carcinoma risk and fibroadenoma risk in Caucasian women. *Cancer* 2004;101:264-269.
- (10) Taioli, E. et al. Role of estradiol metabolism and CYP1A1 polymorphisms in breast cancer. *Cancer Detec. Prev.*, 1999;23:232-237.
- (11) Ishibe N. et al. Cigarette smoking, cytochrome P450 1A1 polymorphisms, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Res.*, 1998;58:667-671.
- (12) Huang CS. et al. Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: a multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Res.*, 1999;59:4870-4875.
- (13) Niwa T. et al. Contribution of human hepatic cytochrome P450 isoforms to regioselective hydroxylation of steroid hormones. *Xenobiotica* 1999;28:539-547.
- (14) Wang X. et al. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* 2002;287:195-202.
- (15) van Rooij IA. et al. Smoking, genetic polymorphisms in biotransformation enzymes, and nonsyndromic oral clefting: a gene-environment interaction. *Epidemiology* 2001;12:502-507.
- (16) Kalloo NB. et al. Sexually dimorphic expression of estrogen receptors, but not of androgen receptors in human fetal external genitalia. *J Clin Endocrinol Metab*

1993;77:692-698.

G. 研究発表

論文発表

Kurahashi N, Sata F, Kasai S, Shibata T, Moriya K, Yamada H, Kakizaki H, Minakami H, Nonomura K, Kishi R. Maternal genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 and the risk of hypospadias. *Mol Hum Reprod.* 2005;11:93-98.

尿道下裂症例の長期予後に関する研究

分担研究者 野々村克也 北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野 教授

研究要旨

目的：尿道下裂は男児の外陰異常としては停留精巣について頻度の高い疾患であるものの、その長期予後、特に性的予後に対する調査は非常に少なく、諸外国から僅かな報告があるのみである。今回は尿道下裂症例の性的長期予後の検討を、質問表を用いた症例対照研究にておこなった。

対象および方法：1983年以降に6歳以下で初回手術を施行し現在18歳以上となった症例のうち、現在連絡可能で了解が得られた33例の尿道下裂症例を症例群とした。対照群は尿道下裂既往のない18歳以上の男性50例とした。方法は自己記入式質問表を用いて陰茎の状態、性機能、性行動について質問した。

結果：返却率は症例群で22/33例(66.7%)、対照群で38/50例(76.0%)であり、返却時年齢は症例群：平均20.6±2.1歳、対照群：平均21.0 ±1.9歳であった。

陰茎外観に対する不満の頻度は、症例群、対照群ともに4割前後であり、ともに最も頻度が高かったのは小さいことであった。しかしながら、尿道下裂症例のうち、不満を訴えた症例全例で小さいことをあげていたが、対照群では不満を訴えた症例のうち7割が小さいこと、5割が包茎、2割が屈曲と様々な訴えを認めた。

性機能に関する質問では勃起の強さ・性欲に関しては両群に差を認めなかったものの、陰茎の屈曲の訴えは対照群のほうに有意に多く認められ、屈曲の方向は症例群では下向きが最多であったのに対し、対照群では左向きが最多であった。勃起時の問題を訴えたのは有意に症例群で多く、その最も多かった答えは小さいことであった。射精に関しては尿道形成術後に見られるmilking, dribblingを訴えた症例が3例あったものの、症例群の約90%、対照群の100%が問題なしとの回答であった。性交を経験した症例のうち両群ともに15%前後が問題ありと答えたが、症例群では問題ありとした症例は全例小さいことをあげていた。

性行為に関する質問では、自慰に関しては2群ともにほぼ全例で経験しており、開始年齢もともに13歳程度であった。性交に関してもともに5割以上が経験しており、経験者の性交開始年齢も約17歳、現在sexual partnerのいる割合も35%程度とほぼ同様であった。

結語：尿道下裂術後の性的長期予後は、陰茎の状態については陰茎のサイズに不満が強く、性機能については、射精に関しては尿道形成術後特有の症状が一部に見られるものの、射精機能や性交機能に關しての満足度は対照群と同程度で、性的活動性もほぼ同様であった。

【研究協力者】

柿崎 秀宏 北海道大学大学院医学研究科外科
治療学講座腎泌尿器外科学分野
助教授

守屋 仁彦 北海道大学大学院医学研究科外科
治療学講座腎泌尿器外科学分野
助手

A. 研究目的

尿道下裂は、尿道口の位置異常および索変形を呈する疾患で、男児の外陰異常としては停留精巣の次に多い疾患である。

このような病態により、放置すれば立位排尿や性行為が困難となり、陰茎の外観へのコンプレックスにより精神心理的な発達にも影響が懸念されるとされているが、尿道下裂症例の治療後の長期

予後、特に性的予後に対する調査は非常に少なく、諸外国から僅かな報告があるのみである。本邦における報告は見られておらず、性行動に対する認識や文化の異なる諸外国からの報告が本邦の症例に当てはまるのかはいまだ不明である。

今回の検討では、当科で治療を行った尿道下裂症例の長期予後を、性的予後に着目して検討を行った。

B. 研究方法

尿道下裂症例は、1983年以降に6歳以下で初回手術を施行し、現在18歳以上となった症例で、現在連絡可能であり、了解が得られた33例を症例群とした。対照群は、尿道下裂既往のない18歳以上の男性50例とした。

方法は症例群と対照群に、自己記入式質問表を記入してもらい、郵送にて返却とした。質問表では、現在の陰茎の状態・性功能（勃起の状態・性欲・射精・性交時の問題点）・性行動（自慰行為、性交）に対して、質問した。

解析はT検定、カイ自乗検定を行い、 $p < 0.05$ にて有意とした。

（倫理面への配慮）

本研究の質問票の結果や個人識別情報は厳重に管理・保管し、研究成果を公表に際しては、個人名を公表したり、個人を特定できる形にはせず、患者のプライバシーは厳重に保護されている。

C. 研究結果

返却率は尿道下裂症例22/33例(66.7%)、対照群で38/50例(76.0%)であった。返却時年齢は症例群で18～25歳（平均 20.6 ± 2.1 歳）、対照群で18～26歳（平均 21.0 ± 1.9 歳）であり、両群間に差は見られなかった($p < 0.05$)。

質問表を返却した症例群22例の尿道下裂の程度はdistal type 6例、middle type 5例、proximal type 9例、不明2例と比較的程度の強い症例が多かった。

1. 陰茎の状態

他の人との違いがあるか？という質問に関して

は、症例群で約6割、対照群で約4割が“ある”と答えていた。その内訳は症例群では小さいことが最も頻度が高かったのに対し、対照群では一番は包茎で、小ささは2番目であった(表1)。

次いで陰茎に対する不満を聞いてみると、症例群、対照群ともに4割前後が“ある”と答えており、ともに最も頻度が高かったのは小さいことであった。しかしながら、症例群のうち、不満のある9例は全例で小さいことを訴えていたが、対照群では小さいことが7割、包茎が5割、曲がり角が2割と様々な訴えを認めた(表2)。

2. 性機能

勃起の強さについては、“強い”、“普通”、“弱い”、“全くない”と4段階で質問をしたが、両群とも全例普通以上の勃起をしていると回答した。

性欲については“非常に強い”“強い”、“普通”、“弱い”、“非常に弱い”の5段階で質問した。“弱い”、“非常に弱い”と答えたのは症例群で5% (1/22)、対照群で8%(3/38)であり、ともに90%以上の症例が普通以上の性欲を有していると回答した。

勃起時の陰茎の屈曲があるとの答えは対照群に多く認められた（症例群：23%、対照群：50%）。屈曲の方向は症例群では下向きが最多であったのに対し、対照群では左向きが最多であった。

勃起時の問題を訴えたのは有意に症例群で多く（症例群：73%、対照群：45%、 $p < 0.05$ ）、その最も多かった問題点は小さいことであった。

射精に関しては症例群で尿道形成術後に見られるmilking, dribblingを訴えた症例を3例(14%)認めたが、症例群の86%、対照群の100%が問題なしと回答した。

性交に関しては両群とも性交経験者の15%前後が問題ありと回答したが(症例群：18%(2/11)、対照群：14%(3/21))、症例群では問題ありとした2例とも小さいことをあげていた。

3. 性行動

自慰に関しては両群ともにほぼ全例で経験しており、開始年齢もともに13歳程度であった。

一週間の回数については対照群で多かったが

（症例群：2.2回、対照群：3.0回、 $p<0.05$ ）、現在のsexual partnerの有無で分けるとpartnerのいない群ではほぼ同等であった（症例群：2.3回、対照群：2.8回）。

性交に関してもともに5割以上が経験しており（症例群：52%、対照群：55%）、経験者の性交開始年齢も17歳（症例群：17.0±2.2歳、対照群：17.3±1.4歳）、現在sexual partnerのいる割合も35%程度とほぼ同様であった（症例群：36%、対照群：35%）。これまでのpartnerの数に関しては2対3.3とやや対照群で多いものの有意差は認めなかった。

D. 考 察

現在当科の方針として、尿道下裂に対しては1歳前後に手術を施行し、良好な結果が得られれば、思春期までの経過観察としている。しかしながら乳幼児期に手術を施行するために経過観察期間が長く、その間に転居などもあるために、実際は思春期までの経過観察が困難である場合が多い。今回の検討で症例群となった患者の手術時年齢は、時代背景もあり現在の適応からするとやや高齢ではあるものの、初回手術後10年以上が経過しており連絡不能な症例や連絡がついても協力の得られなかった症例が多かった。このような経過観察や調査の困難さもあり、思春期を迎えた症例の長期予後、特に性的予後に関する報告は、これまで本邦では見られていない。

陰茎勃起時の索変形や立位排尿困難などの尿道下裂に伴う諸問題は、尿道下裂に対する尿道形成術の進歩により、一回の手術で効率的に解決されるようになり、医療者側としての視点では満足いく外陰の形成が可能となっている。しかしながら、乳幼児期に手術を受けた患児が、思春期以降の自らの視点で手術結果を評価する場合、医療者側には気づかない問題点を提起してくれる可能性がある。今回の検討では、我々の施設で治療を行った尿道下裂症例が、陰茎外観、特にサイズに不満はあるものの、性機能・性行動は対照群と差がないとの結果であり、我々の行ってきた尿道形成術の結

果としては良好であったものの、新たな問題が認められた。

散見される諸外国の報告を見てみると、我々の検討と同様に学童期までに手術を行った症例の検討では、外観等の認識に差があるものの、性的活動性は対照群と同様で、おおむね通常の性生活を送っているという報告がなされている。興味深いことに、それらの報告の中では、最終手術時年齢が上昇すると性行為への躊躇が強くなるとされている^{1),2)}。確かに、手術時年齢が比較的高い報告を見てみると、性的機能や外観は差がないものの、性的活動性の低下があるといういささか自験例とは異なった結果となっている³⁾。

今回の検討で認められた結果は、自己記入式質問表によるものであり、実際の陰茎のサイズが非尿道下裂例と比較して本当に小さいのかについては今後検討が必要な点である。これまで長期にわたって経過観察した報告がほとんどないため、尿道下裂症例の他覚所見の自然経過は不明な点が多い。今回の結果をふまえて、尿道下裂を治療する立場にある小児泌尿器科医としては、今後は前向きに研究を重ね、尿道下裂症例における男性外陰部の発育や性的予後に関して更なる研究が必要と考えられる。

E. 参考文献

1. Mureau MA, Slijper FM, Nijman RJ, van der Meulen JC, Verhulst FC, Slob AK. Psychosexual adjustment of children and adolescents after different types of hypospadias surgery: a norm-related study. *J Urol* 154(5): 1902-7 1995
2. Aho MO, Tammela OK, Somppi EM, Tammela TL. Sexual and social life of men operated in childhood for hypospadias and phimosis. A comparative study. *Eur Urol*. 37(1):95-100 2000
3. Bubanj TB, Perovic SV, Milicevic RM, Jovicic SB, Marjanovic ZO, Djordjevic MM. Sexual behavior and sexual function of adults

after hypospadias surgery: a comparative study. J Urol 171(5): 1876 -1879 2004

F. 結 論

小児期に尿道形成術を行った症例の思春期以後の性的予後を質問表を用いた症例対照研究で行った。尿道下裂症例は陰茎外観、特にサイズに不満を抱いていたものの、射精機能や性機能に対する満足度は対照群と同様であり、性的活動性も同等であった。

G. 健康危険情報

なし。

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第49回日本不妊学会および第22回日本受精着床学会 2004.9.2-4 旭川
尿道下裂症例の生殖予後
守屋仁彦 古野剛史 柿崎秀宏 野々村克也

I. 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

表 1

		他の人と違うと思うことがありますか？		N.S.
		症 例	対 照	
あ	る	63.3% (14/22)	42.1% (16/38)	
小	さい	71.4% (10/14)	37.5% (6/16)	
傷	跡	21.4% (3/14)	12.5% (2/16)	
包	茎	14.3% (2/14)	50.0% (8/16)	
屈	曲	14.3% (2/14)	12.5% (2/16)	
包皮がない		7.1% (1/14)		
尿道口の位置		7.1% (1/14)		
全体の形		7.1% (1/14)		
色		7.1% (1/14)		
亀頭の形			12.5% (2/16)	
大きい			6.3% (1/16)	
その他			12.5% (2/16)	

複数回答あり

表 2

		自分の陰茎に不満がありますか？		N.S.
		症 例	対 照	
あ	る	40.9% (9/22)	34.2% (13/38)	
小	さい	100% (9/9)	69.2% (9/13)	
包	茎	11.1% (1/9)	46.2% (6/13)	
屈	曲	11.1% (1/9)	23.1% (3/13)	
尿道口の位置		11.1% (1/9)		
全体の形		11.1% (1/9)	7.7% (1/13)	
亀頭の形		11.1% (1/9)		
傷跡			15.4% (2/13)	
色			7.7% (1/13)	
発毛			7.7% (1/13)	

複数回答あり

妊娠維持機構および免疫学的生殖不全病態の解明

分担研究者 水上 尚典 北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座周産期医学分野 教授

研究要旨

マウスモデルおよびヒト材料を用いて、妊娠維持機構および免疫学的生殖不全、特に不育症（習慣流産）における、NK細胞、NKT細胞、Th1/Th2サイトカインバランス、Mφの役割を解明することを目的とした。

その結果、新たな習慣流産の原因として、Th diminution (immunodystrophism) が存在すること、および染色体正常の自然流産原因として、NK細胞抑制受容体低下が関与することを新発見した。

Poly(I:C) 誘導免疫学的生殖不全マウスモデル実験では、intact型免疫グロブリンでは流産抑止効果が認められたが、Fab型では流産率は変化しなかった。MACS法でT細胞、B細胞、NK細胞を除去して養子移入しても、流産率は各22%、10%、23%と流産抑止効果は残存したが、Mφを除去した場合、流産率49%と流産抑止効果が消失した。一方、免疫グロブリン投与非妊娠donorマウスにCL2MDP-liposome i.p.投与し、Mφを完全除去した脾細胞を分離して養子移入実験を行った結果、流産抑止効果は消失した。免疫グロブリンは、Mφを介して流産抑止効果を発揮することを世界で初めて証明した。

免疫学修飾療法を用いた習慣流産の治療方法開発がさらに展開可能となった。

【研究協力者】

山田 秀人 北海道大学大学院医学研究科

A. 研究目的

生殖医学領域において、遺伝的要因と後天的環境要因が交絡して発症する生活習慣病が存在する。特に不育症（習慣流産）は、その発症機構に遺伝的因子、環境因子が関与し、さらに何らかの免疫学的異常が強く関与することが強く示唆されている。また近年、各種サイトカインやTh1/Th2細胞、NK・NKT細胞、Mφ異常が習慣流産など免疫学的生殖不全に関与することが明らかになりつつある。これらの免疫学的異常を惹起する環境因子として、内分泌攪乱物質が注目されている。

本研究の目的は、正常の妊娠維持機構および免疫学的生殖不全、特に習慣流産における、NK細胞、NKT細胞、Th1/Th2サイトカインバランス、Mφの役割を解明することを目的とした。

B. 研究方法

1) 前方視的コホート研究として、自然流産の脱落膜中CD3-CD56+NK細胞のperforin, CD94, CD161, CD158a, CD158b, CD244発現を、およびCD8陽性T細胞のperforin発現をフローサイトメトリー法で解析し、同時に絨毛染色体核型分析を行った。染色体正常流産、異常流産、人工中絶間で比較検討した。

2) Poly(I:C) 誘導の免疫学的生殖不全マウスモデルを作成した。CBA/J×DBA/2J妊娠マウスにPoly(I:C) 60~200 μ g をi.p. (Day7) して胎仔吸収率（流産率）をDay13に調べた結果、Poly(I:C)用量依存性に流産率が上昇し、200 μ g i.p.によってプラトーに達し、コントロールの流産率20%から55 \pm 5 (M \pm SD) %に上昇した (p<0.01)。

このマウスモデルを用いて、免疫グロブリン投与によって、流産率変化を解析した。

（倫理面への配慮）

インフォームドコンセントは、研究実施時点で北海道大学で通例行われている方法に則り、患者または家族が研究への参加を自発的に中止しても不利益にならないよう配慮する。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払い、対象者が研究に参加することによって不利益を被ることがないように配慮する。

C. 結 果

- 1) 中絶群や染色体異常流産に比し、染色体正常流産では脱落膜中NK細胞では、CD158a+細胞やCD94+細胞が減少し、NK細胞とT細胞のperforin発現が有意に増加していた。またNK細胞におけるCD158a とCD94発現には、負の相関関係が認められた。NK細胞抑制型レセプターの減少と細胞障害性perforinの増加が、染色体正常流産と関連することが初めて明らかとなった（投稿中）。
- 2) Poly(I:C) 誘導免疫学的生殖不全マウスモデルにPoly(I:C) i.p.後、intactないしFab型ヒト免疫グロブリン 0.8g/kgを3日間i.p.したところ、intact型では流産率が8%に減少し、流産抑止効果が認められたが、Fab型では流産率は変化しなかった。この流産抑止効果はFc部分を介するものと考えられた。

免疫グロブリン投与非妊娠donorマウスからの脾細胞を分離し、Poly(I:C) 投与妊娠recipientマウスに尾静脈から注入して、未分画脾細胞、Thy1.2陽性T⁺、B220陽性B⁻、DX5陽性NK細胞、F4/80陽性Mφの流産抑止効果を調べた（養子移入実験）。この養子移入実験の結果、未分画脾細胞の移入によって、流産率は13±3%に抑制された（ $p<0.0001$ ）。MACS法でT細胞、B細胞、NK細胞を除去して移入しても、流産率は各22%、10%、23%と流産抑止効果は残存したが、Mφを除去した場合、流産率49%と流産抑止効果が消失した。一方、免疫グロブリン投与非妊娠donorマウスにCL2MDP-liposome i.p.投与し、Mφを完全除去

した脾細胞を分離して養子移入実験を行った結果、流産抑止効果は消失した。

以上の一連の研究結果から、マウスモデルでPoly(I:C) 誘導流産作用が、免疫グロブリンのMφを介した作用機構によって、完全にうち消されることが明らかとなった。免疫グロブリンには、流産抑止効果があることを世界で初めて証明した（投稿中）。

D. 考 案

現在、習慣流産の発症機構に種々の免疫学的異常が関与していることが明らかとなりつつある。今回の研究によって、染色体正常の自然流産脱落膜では、NK細胞抑制型レセプターが減少していることを明らかになった。孤発性の自然流産においても、免疫学的異常が関与することを初めて解明した。

また、Poly(I:C)誘導流産マウスモデルにおいては、NK細胞が胎仔吸収に介在することが知られている。免疫グロブリンには、流産抑止効果があり、Mφ機能修飾を介して、この効果が発現することを世界で初めて証明した。

これらの成果が、生殖免疫学領域の学究に与える影響は極めて大きいと考えられる。

E. 結 論

新たな習慣流産の原因として、Th diminution (immunodystrophism) が存在すること、および染色体正常の自然流産原因として、NK細胞異常が関与することが明らかとなった。免疫グロブリンは、Mφを介して流産抑止効果を発揮すると考えられる。

今後、免疫学修飾療法を用いた習慣流産の治療方法開発がさらに展開可能となった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamada H, Morikawa M, Furuta I, Kato EH, Shimada S, Sata F, Kishi R, Minakami H: Circulating cytokines during early pregnancy