

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 \geq 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・停留精巣の遺伝要因－異物代謝酵素の遺伝子多型

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

尿道下裂・停留精巣児およびその母の薬物代謝酵素の遺伝子多型を疾病の発生との関連を明らかにするために、①尿道下裂の手術を受けた児64人、停留精巣の手術を受けた児27人を症例群、尿道下裂・停留精巣を持たない健康男性96人を対照群とし、②尿道下裂児の母31人、停留精巣の母9人を症例群、奇形を持たない男児を出産した経産婦61人を対照群としCYP1A1、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型を解析した。③母親の遺伝子多型と妊娠中の喫煙と、疾病発生の関連を調べた。今回の研究では、尿道下裂の母親のCYP1A1遺伝子の3'側のMspI多型のHeterozygoteで、尿道下裂のオッズ比が有意に低下した。また、有意はないが、停留精巣の母親のCYP1A1Heterozygoteでもオッズ比の低下傾向が見られた。各遺伝子多型と喫煙との有意な関連は見られなかった。また、今回の症例の母の対照群では、CYP1A1の少なくとも1つ変異型アリルを持つ割合が、70.5%と高かった。今後もサンプル数を増やし、解析を継続する必要がある。

【研究協力者】

笠井 世津子、倉橋 典絵

（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）

多田 実

（埼玉県立小児医療センター泌尿器科）

辻 克和

（社会保険中京病院泌尿器科）

黒川 泰史

（徳島大学医学部泌尿器科）

関連が報告されている。

停留精巣の発症原因として、低出生体重児、早産との関連の他に、妊娠中の母親の農薬曝露(4,6)、妊娠中の喫煙(7)など化学物質の胎内曝露との関連が示唆されている。また、Hosie(8)らが、ドイツにおいて、脂肪中における有機塩素化合物26種類の蓄積量を、停留精巣患者とコントロールで計測し、比較したところ、停留精巣患者においてヘプタクロルエポキシド Heptachlore-epoxide(HCE) (P=0.009)、ヘキサクロロベンゼン Hexachlorobenzene(HCB) (P=0.012)が高濃度に蓄積されていた、との報告があり、内分泌攪乱物質との関連が示唆されている。

尿道の形成、陰囊の下降は、テストステロンが関与することから、発症の一因として、内分泌攪乱物質との関連が疑われているが、いまだ成因は明らかではない。

妊娠中の器官形成期に化学物質曝露を受けて、尿道下裂や停留精巣を発生させる可能性は、①妊娠中の母親が化学物質に曝露されることによる経

A. 研究目的

近年、欧米で、尿道下裂・停留精巣の発生率の増加が報告されている(1)。尿道下裂は、低出生体重児、子宮内発育遅延といった個体要因とは別に、妊娠中のプロゲステロン製剤投与との関連(2,3)、妊娠中の農薬曝露(4)、居住地がゴミ処理場から近いこと(ダイオキシン汚染の間接指標)(5)、との

胎盤性による曝露 ②妊娠中の母親が化学物質に曝露されることにより、妊婦のホルモン濃度が変化することによるエストロゲン曝露 ③妊娠中の母親の代謝酵素遺伝子多型の変異により酵素活性の変化の有無による影響 ④児の代謝酵素遺伝子多型の変異により酵素活性の変化の有無による影響、が考えられる。

そこで、本研究では、児および母のダイオキシン等の化学物質代謝に関与する第1相の代謝酵素 CYP1A1 と第2相の代謝酵素 GSTT1、GSTM1 の遺伝子多型と、尿道下裂・停留精巣との関連を明らかにするために分子遺伝疫学的検討を行った。

B. 研究方法

①尿道下裂・停留精巣児

北海道大学医学部附属病院泌尿器科・埼玉県立小児医療センター泌尿器科、社会保険中京病院泌尿器科・徳島大学医学部附属病院泌尿器科で、尿道下裂の手術を受けた男児 64 人と、停留精巣の手術を受けた男児 27 人を症例群とし、尿道下裂・停留精巣などの泌尿生殖器系先天異常をもたないボランティア健常男性 96 人を対照群とした。

②尿道下裂・停留精巣児を出産した母親

北海道大学医学部附属病院泌尿器科・社会保険中京病院泌尿器科で尿道下裂の手術を受けた男児の母親 31 人、停留精巣の手術を受けた 9 人を症例群とし、北海道大学産婦人科で、奇形を持たない男児を出産した経産婦 61 人を対照群とした。

③妊娠中の母親の喫煙と遺伝子多型との関連

②の対象者のうち、妊娠中の生活習慣に関する調査票に回答した尿道下裂・停留精巣児の母親 29 人（有効回答率 72.5%）、奇形を持たない男児を出産した経産婦 48 人（有効回答率 78.7%）を対象として、喫煙の有無と遺伝子多型との関連を調べた。

対象者の末梢血から通常の方法で DNA を抽出し、シトクロム P450 のアイソザイムである CYP1A1、グルタチオン転移酵素のアイソザイムである GSTM1、GSTT1 の遺伝子多型を解析した。CYP1A1 は 3' 側の Msp I 多型を

PCR-RFLP法により対象者の遺伝子型を判定し、GSTM1、GSTT1 は PCR 法により、欠損の有無を判定した。

統計解析方法は、ロジスティック回帰分析を用い、野生型 homozygote および野生型 homozygote+非喫煙群を reference として、オッズ比を求めた。喫煙との関連については、児出生時の世帯収入と、母親の学歴を調整因子とした。

（倫理面への配慮）

本研究は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委員会に従って実施し、インフォームドコンセントは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言に基づいて行った。研究への参加・中止は自由意志により、不参加・中止によって不利益を被らないように配慮した。対象者のプライバシーの保持は厳格に管理された。

C. 研究結果

症例群及び対照群の児の CYP1A1、GSTT1、GSTM1 遺伝子多型における遺伝子の頻度を表 1 に示した。CYP1A1 の変異型 Homozygote、Heterozygote をもつ停留精巣児で、オッズ比の低下傾向が見られたが、有意ではなかった。

症例群及び対照群の母親の CYP1A1、GSTT1、GSTM1 遺伝子多型における遺伝子の頻度を表 2 に示した。尿道下裂の母親では、CYP1A1 の Heterozygote で有意なオッズ比の低下が見られた。また、停留精巣の母親では、CYP1A1 の変異型 Homozygote、Heterozygote でオッズ比の低下傾向が見られたが、有意ではなかった。

症例群及び対照群の母親の CYP1A1、GSTT1、GSTM1 遺伝子多型と喫煙との関連を表 3 に示した。CYP1A1 野生型で喫煙群、GSTT1 欠損型で喫煙群でオッズ比の上昇が見られたが、95%信頼区間は広がった。

表 1：児の CYP1A1・GSTT1・GSTM1 遺伝子多型の頻度

| 尿道下裂児 | 症例群 (%) | 対照群 (%) | OR (95%CI) |
|-------------------------------------|---------|---------|---------------|
| CYP1A1 | | | |
| Homozygous | 12.4 | 14.7 | 0.8 (0.5-1.9) |
| Heterozygous | 43.8 | 43.2 | 1.0 (0.5-2.2) |
| Wild type | 43.8 | 42.1 | 1 |
| CYP1A1 Hetero&Homozygous | | | |
| | 56.3 | 57.9 | 0.9 (0.5-1.7) |
| Wild type | 43.7 | 42.1 | 1 |
| GSTT1 | | | |
| Null | 40.6 | 41.7 | 1.0 (0.5-1.8) |
| Present | 59.4 | 58.3 | 1 |
| GSTM1 | | | |
| Null | 46.9 | 47.9 | 1.0 (0.5-1.8) |
| Present | 53.1 | 52.1 | 1 |
| 停留精巣児 | | | |
| CYP1A1 | | | |
| Homozygous | 11.1 | 14.7 | 0.6 (0.2-2.4) |
| Heterozygous | 37.0 | 43.2 | 0.7 (0.3-1.8) |
| Wild type | 51.9 | 42.1 | 1 |
| CYP1A1 Hetero&Homozygous | | | |
| | 48.1 | 57.9 | 0.7 (0.3-1.6) |
| Wild type | 51.9 | 42.1 | 1 |
| GSTT1 | | | |
| Null | 48.1 | 41.7 | 1.3 (0.6-3.1) |
| Present | 51.9 | 58.3 | 1 |
| GSTM1 | | | |
| Null | 48.1 | 47.9 | 1.0 (0.4-2.4) |
| Present | 51.9 | 52.1 | 1 |

表 2：母の CYP1A1・GSTT1・GSTM1 遺伝子多型の頻度

| 尿道下裂児の母 | 症例群 (%) | 対照群 (%) | OR (95%CI) |
|-------------------------------------|---------|---------|----------------|
| CYP1A1 | | | |
| Homozygous | 22.6 | 14.8 | 0.9 (0.3-3.1) |
| Heterozygous | 29.0 | 55.7 | 0.3 (0.1-0.9) |
| Wild type | 43.3 | 29.5 | 1 |
| CYP1A1 Hetero&Homozygous | | | |
| | 51.6 | 70.5 | 0.4 (0.2-1.1) |
| Wild type | 48.4 | 29.5 | 1 |
| GSTT1 | | | |
| Null | 38.7 | 42.9 | 0.8 (0.3-2.1) |
| Present | 61.3 | 38.7 | 1 |
| GSTM1 | | | |
| Null | 58.1 | 53.6 | 1.2 (0.5-2.9) |
| Present | 41.9 | 46.4 | 1 |
| 停留精巣児の母 | | | |
| CYP1A1 | | | |
| Homozygous | 11.1 | 14.8 | 0.4 (0.04-4.0) |
| Heterozygous | 33.3 | 55.7 | 0.3 (0.1-1.5) |
| Wild type | 55.6 | 29.5 | 1 |
| CYP1A1 Hetero&Homozygous | | | |
| | 44.4 | 70.5 | 0.3 (0.1-1.4) |
| Wild type | 55.6 | 29.5 | 1 |
| GSTT1 | | | |
| Null | 44.4 | 42.9 | 1.1 (0.3-4.4) |
| Present | 55.6 | 57.1 | 1 |
| GSTM1 | | | |
| Null | 22.2 | 53.6 | 0.2 (0.04-1.3) |
| Present | 77.8 | 46.4 | 1 |

表3：母の妊娠中喫煙と遺伝子多型との関連

| 尿道下裂児または 停留精巣児の母 | 症例群 (%) | 対照群 (%) | OR (95%CI) |
|------------------------------|------------|------------|-------------------|
| CYP1A1 | | | |
| Homo/Hetero & smoking | 6.9 | 8.3 | 0.6 (0.1-4.0) |
| Homo/Hetero & non-smoking | 41.4 | 60.4 | 0.4 (0.2-1.3) |
| Wild& smoking | 10.3 | 4.2 | 1.7 (0.2-12.8) |
| Wild & non-smoking | 41.4 | 27.1 | 1 |
| GSTT1 | | | |
| Null & smoking | 10.0 | 2.3 | 3.7 (0.3-40.2) |
| Null & non-smoking | 30.0 | 40.9 | 0.6 (0.2-1.8) |
| Present & smoking | 6.7 | 11.4 | 0.5 (0.1-3.2) |
| Present & non-smoking | 53.3 | 45.5 | 1 |
| GSTM1 | | | |
| Null & smoking | 6.7 | 6.8 | 1.4 (0.2-10.6) |
| Null & non-smoking | 46.7 | 47.7 | 1.4 (0.5-4.0) |
| Present & smoking | 10.0 | 6.8 | 1.8 (0.3-10.7) |
| Present & non-smoking | 36.7 | 38.6 | 1 |

D. 考 察

ダイオキシンなどの多環芳香族炭化水素やベンゾ[a]ピレンなどは、Ah レセプターに結合し、CYP1A1(P4501A1)を誘導することが知られている。シトクロム P450 酵素による代謝の第1相反応で反応性の化合物が形成され、グルタチオン転移酵素(GST)による第2相反応で抱合されて解毒される。

今回の研究では、CYP1A1 の Msp I 多型を調べたところ、尿道下裂の母親の CYP1A1Heterozygote で、尿道下裂のオッズ比が有意に低下した。また、有意はないが、停留精巣の母親の CYP1A1Heterozygote でもオッズ比の低下傾向が見られた。

日本人健康男性で、CYP1A1 の Msp I 多型と

芳香族炭化水素水酸化酵素 aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)の誘導性の関連を調べたところ、ホモ接合体遺伝子多型で AHH の誘導性が高い、との報告(9)や、AHH と同様、CYP1A1 で誘導される ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)も、CYP1A1 変異型で誘導性が高い、との報告(10)があり、活性を持つ化合物が生産される生体への悪影響が予測された。しかし、Tsuchiya(11)らは、人の血中のダイオキシンや PCB 濃度と、CYP1A1 多型との関連を調べ、CYP1A1Heterozygote で、野生型と比較して、non-ortho-PCB が高濃度であることを報告しており(ダイオキシンは有意差無し)、また、TCDD を投与されたアカゲザルの血中エストロゲン濃度、プロゲステロン濃度が減少すること(12)や、エストロゲンの代謝が増加すること(13)などが報告されており、CYP1A1Heterozygote をもつ妊婦が受ける抗エストロゲン作用の影響が強くていて可能性が示唆された。

男児生殖器奇形と代謝酵素の遺伝子多型との関連についての報告はないが、Iris(14)らは、母親の環境因子と遺伝子多型(CYP1A1,GSTT1,GSTM1)と、口蓋裂の発生との関連について、GSTT1 欠損型で妊娠初期に喫煙をしている母親は、野生型で喫煙をしていない母親と比較すると、口蓋裂の発生のリスクが3倍高くなることを報告している。口蓋裂と遺伝子多型のみについては有意な関連は見られていない。今回の研究では、遺伝子多型と喫煙についての有意な関連は見られなかった。

日本人と Caucasian の遺伝子多型の頻度には違いがあり、Sugawara(15)らは、少なくとも一つの CYP1A1 変異型をもつ女性の割合は 51.6% で、Caucasian よりも多い、と報告している。しかし、今回の対照者の CYP1A1 の少なくとも1つ変異型アリルを持つ割合は 70.5%と高かった。今回の対照者は、健常男児を出産した女性に限っているために選択バイアスの可能性や、サンプル数が小さいことも変異型アリルが多い原因かもしれない。

今後も、サンプル数を増やして解析を継続することが必要である。

E. 結 論

今回の研究では、尿道下裂の母親の CYP1A1 Heterozygote で、尿道下裂のオッズ比が有意に低下した。また、有意はないが、停留精巢の母親の CYP1A1 Heterozygote でもオッズ比の低下傾向が見られた。各遺伝子多型と喫煙との有意な関連は見られなかった。また、今回の対照群では、CYP1A1 変異型の少なくとも1つ変異型アリルを持つ割合が、70.5%と高かった。今後もサンプル数を増やし、解析を継続する必要がある。

参考文献

- (1) Paulozzi JL. International Trends in Rates of Hypospadias and Cryptorchidism ;*Environ Health Perspect.* 1999(107)4:297-302
- (2) Aarskog D. Clinical and cytogenetic studies in hypospadias. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1970;203:1-62
- (3) 榭原 尚行 他. 尿道下裂の臨床的、内分泌学的検討 日泌尿会誌 1985;76:716-722
- (4) Kristensen P et al. Birth defects among offspring of Norwegian Farmers;1967-1991. *Epidemiology.*1997 Sep;8(5):537-44
- (5) Dolk H, et al. Risk of congenital anomalies near hazardous-waste landfill sites in Europe: the EUROHAZACON study. *Lancet* 1998; 352: 423-427
- (6) Weidner, IS, Moller, H. Cryptorchidism and Hypospadias in Sons of Gardeners and Farmers; *Environ Health Perspect.* 1998;106:793-796
- (7) Mary LB, et al. Maternal, Delivery, and Perinatal Characteristics Associated with Cryptorchidism: A population-Based Case-Control Study among Births in Washington State *Epidemiology* 2002;13:197-204
- (8) Hosie, S, Loff, S. Is There a Correlation Between Organochlorine Compounds and Undescended Testes? ;*Eur J Pediatr Surg* 2000(10)304-309
- (9) Kiyohara C, et al. The relationship between aryl hydrocarbon hydroxylase and polymorphisms of the CYP1A1 gene. *Jpn J Cancer Res* 1996;87:18-24
- (10) Landi, MT. et al. Association between CYP1A1 genotype, mRNA expression and enzymatic activity in humans. *Pharmacogenetics* 1994;4:242-246
- (11) Tsuchiya et al. Effects of dietary habits and CYP1A1 polymorphisms on blood dioxin concentrations in Japanese men. *Chmosphere* 2003;52:213-219
- (12) Barsotti DA, et al. Hormonal alteration in female Rhesus monkeys fed a diet containing 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Bull Environ Contam Toxicol* 1977;21:463-469
- (13) Spink DC, et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes an extensive alteration of 17- β -estradiol metabolism in MCF-7 breast tumor cells. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:6917-21
- (14) Iris A.L.M.van Rooij, et al. Smoking, Genetic Polymorphism in Biotransformation Enzyme, and Nonsyndromic Oral Clefting: A Gene-Environment Interaction *Epidemiology* 2001;12:502-507

- (15) Sugawara T. et al. CYP1A1 polymorphism and risk of gynecological malignancy in Japan. Int J Gynecol Cancer 2003;13:785-790

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

「停留精巣と異物代謝酵素の遺伝子多型」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 2004年3月
衛生学会

H. 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

尿道下裂術後長期例における精巣容積に関する研究

分担研究者 野々村克也 北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科学分野 教授

研究要旨

われわれはこれまでに尿道下裂患児の内分泌環境に関する症例対照研究を行い、尿道下裂症例では思春期前の段階から既に何らかの程度の精巣機能障害が存在することを明らかにしてきた。今回は尿道下裂術後長期例の精巣容積について検討し、本邦における精巣容積曲線と比較した。

1983年以後の20年間に当科で尿道形成術を施行した447例中、術後7～17年経過した14例（術後平均11.8年）において精巣容積を計測した。精巣容積評価時の年齢は11～22歳で、精巣容積は9～20mlであった。本邦における精巣容積曲線の-2SD以下の萎縮精巣が14例中1例、28精巣中2精巣（7.1%）で認められた。今後は尿道下裂術後の成人例を対象として、精巣機能や射精機能について調査し、尿道下裂における男性機能の長期予後を検討して行く必要があると思われる。

【研究協力者】

柿崎 秀宏

（北海道大学腎泌尿器外科 助教授）

柴田 隆

（北海道大学病院泌尿器科 講師）

古野 剛史

（北海道大学腎泌尿器外科 大学院生）

A. 研究目的

尿道下裂は男子外性器異常の中で頻度が高い疾患のひとつである。尿道下裂の成因については未だ不明の点が多く、近年では内分泌かく乱物質の関与も推測されている。尿道下裂発生の背景因子を解析する目的で、われわれはこれまでに尿道下裂患児の内分泌環境に関する症例対照研究を行い、尿道下裂症例では思春期前の段階から既に何らかの程度の精巣機能障害が存在することを明らかにしてきた。今回は尿道下裂術後長期例の精巣容積を計測し、本邦における精巣容積曲線と比較することで、精巣の発育に関する長期経過について検討した。

B. 研究方法

1983年以降当科で尿道形成術を施行された447名の患者のリストを作成した。患者カルテの調査とともに、術後長期での観察を呼び掛ける手

紙を郵送し、外来受診を促した。

精巣容積の測定は、オルキオメーターを用いて行った。本邦における精巣容積曲線[1]を用いて、-2SD以下を萎縮精巣と判定した。

（倫理面への配慮）

精巣容積の計測は、精巣機能評価の点から重要な診察項目のひとつであることを十分に説明した。その上で本研究への参加は本人の自由意思、あるいは患者が未成年者の場合には両親の自由意思によるものであること、もし研究への参加に同意しない場合でも、今後診療上のいかなる不利益も受けないこと、を外来担当医から十分に説明し、インフォームドコンセントを得てから診察を行った。

C. 研究結果

術後7～17年経過した14例（術後平均11.8年、中央値11年）において精巣容積を計測した。この14例における尿道下裂の程度は、近位型7例、遠位型7例であった。14例中2例において合併する停留精巣に対し、精巣固定術が施行されていた（両側1例、片側1例）。精巣容積評価時の年齢は11～22歳（平均15.3歳、中央値14歳）で、精巣容積は9～20mlであった。本邦における精巣容積曲線の-2SD以下の萎縮精巣が14例中1例、28精巣中2精巣（7.1%）で認められた。

萎縮精巣を認めた1例は近位型尿道下裂例で、片側停留精巣に対し精巣固定術の既往があり、22歳時で患側精巣は10 ml、対側精巣は9 mlであった。

D. 考 察

陰茎勃起時の陰茎索変形、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1回の手術で高率に解決されるようになり、外見的にも満足いく外陰が形成可能となった。しかし幼小児期の尿道下裂例では、精巣機能に何らかの障害、特にテストステロン分泌に関係するライディヒ細胞の機能障害が存在することが指摘されており、これらの精巣機能障害は尿道下裂の程度が高いものほど顕著であるとされている。一方、尿道下裂症例の思春期後の内分泌環については国内外を問わず報告がなく、尿道下裂症例の術後長期経過観察が現実的に極めて困難であることを物語っている。尿道下裂に伴う潜在的男性機能障害の長期予後については、術後の特に成人例を対象とした調査により明らかにされる必要がある。今後は、手術時に長期経過観察の必要性を両親によく説明し、思春期以降は本人にもその重要性を理解させて、前向きに術後長期経過を調査する必要があると考えられる。

尿道下裂症例の約27%に未熟児あるいは低出生体重児が認められるが、出生後の発育・成長という面から尿道下裂症例を観察すると、手術時には年齢相当の健常児と比較し、身長、体重とも有意差を認めないことから、尿道下裂症例は全身的発育という面では基本的に障害が無いことが確認されている。これが精巣機能を含めた男性機能にもあてはまるかどうかは不明であり、今回は術後長期での段階における精巣容積に関する検討を行った。長期経過観察の困難性を反映して、調査しえた症例は14例に過ぎなかったが、14例中13例、93%では精巣容積の明らかな減少は観察されなかった。しかし精巣容積の減少がないということは精巣機能障害がないことを保障しないため、精巣機能の評価のためには、血中テストステロン

濃度、hCG 刺激に対するテストステロンの反応性、造精能など詳細な検査が必須である。今後は、前向きに研究を重ね、尿道下裂症例における男性機能の長期予後を明らかにする必要があると思われる。

一方、今回の検討で精巣萎縮が観察された1例はもともと高度の尿道下裂があり、かつ片側ながら停留精巣を合併した例であった。このような精巣機能障害のリスクの高い症例においては、陰茎の発育自体も影響を受ける可能性も憂慮される。精巣機能障害のハイリスク例に対しては、思春期前後を通じて経過をよく観察し、必要に応じてホルモン補充を行うなど治療面でも配慮することが重要であろう。

E. 結 論

過去20年間に当科で尿道形成術を施行した447例中、術後7～17年経過した14例において精巣容積を計測した。本邦における精巣容積曲線の-2SD以下の萎縮精巣が14例中1例、28精巣中2精巣(7.1%)で認められた。今後は尿道下裂術後の成人例を対象として、精巣機能や射精機能について調査し、尿道下裂における男性機能の長期予後を検討して行く必要があると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

野々村克也、柿崎秀宏、柴田 隆、守屋仁彦：
混合型生殖腺形成異常症。日本臨床 62(2): 313, 2004

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

H. 参考文献

- [1] 中村 享:日本人男子の性器系の発育と成熟。
日泌尿会誌 52: 172, 1961

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関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・性機能（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、proxymal 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の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

1. 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？ | | |
|---|-------|--------------------|--------------|------|
| | | 症 例 | 対 照 | N.S. |
| あ | る | 63.3%(14/22) | 42.1%(16/38) | |
| 小 | さ | 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 | | 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？ | | |
|---|-------|-----------------|---------------|------|
| | | 症 例 | 対 照 | N.S. |
| あ | る | 40.9% (9/22) | 34.2% (13/38) | |
| 小 | さ | 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

妊娠期における母体側の遺伝的感受性－不育症例における遺伝子多型解析

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 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

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

北海道大学附属病院産婦人科を受診した不育症の症例対照研究により、不育症例ではIL6遺伝子のプロモーター領域のBsrBI多型で少なくとも1本のアリルに変異型を持つ頻度が有意に低く（オッズ比0.5, 95%信頼区間0.2-0.9）、CYP17遺伝子のプロモーター領域のMspAI多型で少なくとも1本のアリルに変異型（A2）を持つ頻度が有意に高く（オッズ比1.8, 95%信頼区間1.1-3.2）、IL1b遺伝子のプロモーター領域のAvaI多型で少なくとも1本のアリルに変異型を持つ頻度が有意に低かった（オッズ比0.8, 95%信頼区間0.3-1.0）。また、CYP1A2遺伝子DdeI多型の変異型ホモ接合の頻度が不育症例で低かったが、統計学的にはボーダーラインであった（オッズ比0.2, 95%信頼区間0.0-1.0）。現在、質問紙調査により環境的要因との関連を検討している。今後、先天異常に対する母体側の遺伝的感受性の検討も行う予定である。

【研究協力者】

山田 秀人

（北海道大学大学院医学研究科生殖・
発達医学講座周産期医学分野助教授）

西條 泰明、近藤 朋子、玉置 淳子

眞 英彦

（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）

平山 恵美、片山 宙門

（北海道大学医学部附属病院産科婦人科）

あり、有用な解析結果が得られる可能性が極めて高いと考えられる。

内分泌かく乱物質の代謝に関与する異物代謝酵素、ステロイド代謝酵素及びサイトカインの遺伝子多型とヒト生殖機能との関連を明らかにすることを目的として本研究を行った。

B. 研究方法

北海道大学医学部附属病院を受診した不育症の患者および少なくとも1度正常分娩を経験した流産の既往のない性、年齢、居住地を合わせた健康女性を対象とした。対象者の末梢血から通常の方法でDNAを抽出した。Ah受容体、シトクロムP450のアイソザイムであるCYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、CYP17、グルタチオン転移酵素のアイソザイムであるGSTM1、GSTT1、GSTP1、およびサイトカインのインターロイキンの1種のIL1bとIL6の遺伝子多型を解析した。PCR-RFLP法またはReal-time PCR法により、各遺伝子の遺伝子型を判定し、ロジスティック回帰分析により、オッズ比と95%信頼区間を求めた。同時に、質問紙調査を実施し、生活習慣、食

A. 研究目的

難治性不育症（習慣流産）においては、精査を実施しても約半数はその原因が不明である。原因不明の習慣流産においては、近年、免疫学的異常や凝固能異常がその発症機構に関与していることを示唆する研究報告が散見できるが、根本的な原因解明は未だなされていない。内分泌かく乱物質や遺伝的素因が不育症の発症機構に関与している可能性も存在する。

したがって、難治性不育症に対して内分泌かく乱物質の関与の有無を調べることは斬新な手法で

事、居住地、職業等の環境要因の検討も行った。

（倫理面への配慮）

本研究は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委員会に従って実施し、インフォームドコンセントは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言に基づいて行った。研究への参加は自由意志により、自発的に中止しても不利益を被らないよう配慮した。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払った。以上のように、本研究は、倫理面の十分な配慮のうえ行った。

C. 研究結果

不育症例および対照となる健常女性のGSTM1、GSTT1、GSTP1、AhR、CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、CYP17、IL1b、IL6 遺伝子多型における遺伝子型の頻度を表1に示した。GSTM1 遺伝子欠損型の頻度は不育症例で高く、不育症のリスクを高めることが示唆された（オッズ比 2.2、95 %信頼区間 1.4-3.7）。

今回新たに、不育症例ではIL6 遺伝子のプロモーター領域のBsrBI多型で少なくとも1本のアリルに変異型を持つ頻度が有意に低いこと（オッズ比 0.5、95%信頼区間 0.2-0.9）、CYP17 遺伝子のプロモーター領域の MspAI 多型で少なくとも1本のアリルに変異型（A2）を持つ頻度が有意に高いこと（オッズ比 1.8、95%信頼区間 1.1-3.2）、IL1b 遺伝子のプロモーター領域の Aval 多型で少なくとも1本のアリルに変異型を持つ頻度が有意に低いこと（オッズ比 0.8、95%信頼区間 0.3-1.0）から、これらの遺伝子多型と不育症との関連が示唆された。また、CYP1A2 遺伝子 DdeI 多型の変異型ホモ接合の頻度が不育症例で低かったが、統計学的にはボーダーラインであった（オッズ比 0.2、95%信頼区間 0.0-1.0）。現在、質問紙調査により環境的要因との関連および遺伝子同士の関連を検討している。

表1 不育症例における各遺伝子型の頻度

| | 症例 人数(割合) | 対照 人数(割合) | オッズ比 (95%信頼区間) |
|--|---|--|--|
| GSTM1 present null | 115 40 (35%) 75 (65%) | 160 87 (54%) 73 (46%) | 1.0 2.2 (1.4-3.7) |
| GSTT1 present null | 115 61 (53%) 54 (47%) | 160 81 (51%) 79 (49%) | 1.0 1.0 (0.6-1.6) |
| GSTP1 (Ile105Val) Ile/Ile Ile/Val | 116 90 (78%) 26 (22%) | 182 141 (78%) 41 (22%) | 1.0 1.0 (0.6-1.7) |
| AhR (Arg554Lys) Arg/Arg Arg/Lys Lys/Lys | 116 24 (21%) 55 (47%) 37 (32%) | 162 32 (20%) 84 (52%) 46 (28%) | 1.0 0.9 (0.5-1.7) 1.1 (0.5-2.2) |
| CYP1A1 (MspI) m1/m1 m1/m2 m2/m2 | 118 46 (39%) 50 (42%) 22 (19%) | 162 56 (35%) 78 (48%) 26 (17%) | 1.0 0.8 (0.4-1.3) 0.9 (0.5-1.8) |
| CYP1A2 (DdeI) G/G G/A A/A | 107 68 (64%) 37 (34%) 2 (2%) | 165 100 (61%) 52 (31%) 13 (8%) | 1.0 1.0 (0.6-1.7) 0.2 (0.0-1.0) |
| CYP1B1 (L432V) Leu/Leu Leu/Val Val/Val | 118 87 (74%) 27 (23%) 4 (3%) | 188 152 (81%) 33 (18%) 3 (1%) | 1.0 1.4 (0.6-2.8) 2.3 (0.5-10) |
| CYP17 (MspAI) A1/A1 A1/A2 A2/A2 A1/A2+ A2/A2 | 117 24 (20%) 64 (55%) 29 (25%) 93 (80%) | 165 53 (32%) 84 (51%) 28 (17%) 112 (68%) | 1.0 1.7 (0.9-3.0) 2.3 (1.1-3.2) 1.8 (1.1-3.2) |
| IL1β (-511C/G) C/C C/G G/G C/G + G/G | 97 29 (30%) 42 (43%) 26 (27%) 68 (70%) | 169 33 (20%) 61 (36%) 75 (44%) 136 (80%) | 1.0 0.8 (0.4-1.4) 0.4 (0.2-0.7) 0.8 (0.3-1.0) |
| IL6 (-634C/G) C/C C/G+G/G | 76 58 (76%) 18 (24%) | 93 56 (64%) 37 (36%) | 1.0 0.5 (0.2-0.9) |
| IL6 (-174G/C) G/G | 76 76 (100%) | 93 93 (100%) | - |

D. 考 察

不育症は妊娠女性の2～3%に発生すると推定され、子宮奇形や染色体異常などの基礎疾患がなく原因不明のものも半数近くをしめる。そのなかで、妊娠中のTh1/Th2バランスの影響が想定され、インターロイキン-6 (IL-6) はIL-10等とともに妊娠時に増加し、妊娠の維持に重要な働きをしていると考えられる¹。これまでのサイトカイン関連の遺伝子多型と不育症についての報告ではIL-10やTNF- α やIFN- γ の関連はみられていない²。今回検討したIL-634G carrierは野生型に比べIL-6濃度が上昇しやすいことが想定される（特に妊娠時などの免疫学的に刺激を受けたとき）。不育症例でIL-6-634G carrierの頻度が低く、-634G型は妊娠の継続に保護的な影響を及ぼすことが示唆された。今後、妊娠時のIL-6濃度と遺伝子多型の検討が必要である。

これまでにCYP17遺伝子多型と不育症との関連を示した報告はないが、CYP17遺伝子のA2アリルが乳がん、卵巣がん、多嚢胞性卵巣症候群などのリスクを高めるという報告があり、エストロゲン代謝の何らかの変化がヒト生殖系疾患のリスク要因となる可能性が考えられる³。変異型のA2アリルはSp-1型配列CCACCを持つが、*in vitro*実験では、従来考えられていた転写活性の上昇は認められず、A2アリルがリスク要因となる機序は明らかでない⁴。A2アリルを持つ人の血清エストロゲンレベルが、持たない人よりも高値であるという報告もあるが、そうでないという報告もあり、一致した結果は得られていない^{4,5}。不育症との関連を明らかにするには、全身や血清レベルだけでなく、子宮脱落膜内などの局所的なエストロゲン濃度を調べることも必要であると考えられる。A2アリルのホルモン合成系での働きを解明することにより、将来A2アリル保持者への介入研究や化学予防などの対策が可能になるかもしれない。

先天異常の場合も、母親または児の遺伝素因に環境的な要因が加わり、児が発症する可能性が考えられている。これまでに食事、喫煙などの環境

的要因と代謝酵素の遺伝子多型などの遺伝的要因に関して研究されてきた。特に、神経管欠損、口蓋裂、口唇裂などの先天異常に関して、葉酸やビタミン摂取と葉酸、メチオニン、ホモシステインの代謝酵素の遺伝子多型との関連が数多く報告されている。Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)には遺伝子多型(677C/T)があり、TアリルはMTHFRの稼働効率が悪いために、ホモシステインの血中濃度が高くなる。とくに葉酸の濃度が低いとさらにこの傾向が強くなり、先天異常の原因になると考えられている。尿道下裂、停留精巣に関しては、ステロイド代謝酵素、受容体など、口蓋裂、口唇裂に関しては、母親の喫煙と関連して異物(薬物)代謝酵素の遺伝子多型も検討されているが、低出生体重もこのような異物代謝酵素の遺伝子多型と関連があるという報告が最近出された(表2)。来年度には、このような代謝酵素の遺伝子多型と産科異常、先天異常との関連を詳細に解析したいと考えている。

E. 結 論

不育症例ではIL6遺伝子のプロモーター領域のBsrBI多型で少なくとも1本のアリルに変異型を持つ頻度が有意に低く(オッズ比0.5, 95%信頼区間0.2-0.9)、CYP17遺伝子のプロモーター領域のMspAI多型で少なくとも1本のアリルに変異型(A2)を持つ頻度が有意に高く(オッズ比1.8, 95%信頼区間1.1-3.2)、IL1b遺伝子のプロモーター領域のAvaI多型で少なくとも1本のアリルに変異型を持つ頻度が有意に低かった(オッズ比0.8, 95%信頼区間0.3-1.0)。また、CYP1A2遺伝子DdeI多型の変異型ホモ接合の頻度が不育症例で低かったが、統計学的にはボーダーラインであった(オッズ比0.2, 95%信頼区間0.0-1.0)。環境要因との交互作用を検討するとともに、今後、先天異常に対する母体側の遺伝的感受性の検討も行う予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Sata F, Yamada H, Kondo T, Gong Y, Tozaki S, Kobashi G, Kato EH, Fujimoto S, Kishi R: Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2003; 9(3): 165-169.
2. Saijo Y, Sata F, Yamada H, Kondo T, Kato EH, Kataoka S, Furuta I, Minakami H, Kishi R: Single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the interleukin-6 gene and the risk of recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2004;81(2):374-378.
3. Sata F, Yamada H, Yamada A, Kato EH, Kataoka S, Saijo Y, Kondo T, Tamaki J, Minakami H, Kishi R. A polymorphism in the CYP17 gene relates to the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2003; 9(11): 725-728.

2) 学会発表

1. Sata F, Yamada H, Kondo T, Gong YY, Kobashi G, Kato EH, Fujimoto S, Kishi R. Polymorphisms in xenobiotic-metabolizing enzymes and risk of recurrent spontaneous abortion. XVI IEA World Congress of Epidemiology, Montreal, August 18-22, 2002.
2. Sata F, Kondo T, Gong YY, Saijo Y, Sasaki S, Yamagishi H, Tsuge M, Nagase S, Kato EH, Mikuni M, Yamada H, Fujimoto S, Kishi R. Genetic Polymorphisms and human female reproductive toxicity. 14th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations, Sapporo, July 22-26, 2002.

3. 西條泰明, 佐田文宏, 山田秀人, 近藤朋子, 平山恵美, 古田伊都子, 片岡宙門, 水上尚典, 岸 玲子: インターロイキン-6 遺伝子多型と不育症、第13回日本疫学会、福岡、2003年1月24-25日。
4. 佐田文宏, 山田秀人, 山田彩子, 平山恵美, 片岡宙門, 西條泰明, 近藤朋子, 玉置淳子, 水上尚典, 岸 玲子: CYP17 遺伝子多型と不育症リスク、第73回日本衛生学会、大分、2003年3月26-29日。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. Clark DA, Arck PC, Chaouat G. Why did your mother reject you? Immunogenetic determinants of the response to environmental selective pressure expressed at the uterine level. *Am J Reprod Immunol* 41:5-22, 1999.
2. Babbage SJ, Arkwright PD, Vince GS, Perrey C, Pravica V, Quenby S, Bates M, Hutchinson IV. Cytokine promoter gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 51:21-27, 2001.
3. Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8:843-54, 1999.
4. Kristensen VN, Haraldsen EK, Anderson KB, Lonning PE, Erikstein B, Karesen R, Gabrielsen OS, Borresen-Dale, AL. CYP17 and breast cancer risk: the polymorphism in the 5'-flanking area of the gene does not influence binding to Sp-1. *Cancer Res*