

C. 研究結果

1. 文献数および内容の推移

Cleft palate[MeSH]では10261件、Cleft palate[MeSH]では7719件の文献が検索された。表1に1966年から2005年までの検索文献を最近10年間とそれ以前に分けて文献数の推移を示した。

表1-AにOFCの文献を環境科学的、遺伝学的、疫学的に検討した文献に分けて示した（2つ以上の分野にまたがる文献あり）。経時的な文献数の変化から一定の傾向を導くことはできなかった。遺伝学的研究を行った文献をみると、1966～1995年（文献数1465）ではOFCを染色体異常や奇形症候群の中に位置づけて論じるものが多かったが、1996～2005年（文献数510）になると遺伝子レベル（多型など）で研究した文献が中心になっており、疾患の原因検討がより具体的になっていることがうかがわれた。

表1-BではOFCのリスク要因ごとに文献数の経時的変化を示した。喫煙に関連した文献数は以前に比べてこの10年で増加していた。また研究の目的、方法にも変化がみられる。例えば口蓋裂の発症における喫煙を扱った文献は58あったが、1966～1995年の20文献のうち喫煙の有無と発症との関連を疫学的に検討したものが18、遺伝学的な検討を行っているものが2であるに対し、1996～2005年の38文献では前者が17、後者が15（レビュー6）で、この10年に遺伝要因の検討、および環境要因と遺伝要因の相互作用を検討した文献が増加していた。このことは唇裂に関しても同じであった。これとは逆に、アルコール摂取に関連した文献はこの10年では非常に少なく、遺伝要因との関連を論じたものはなかった。

OFCと栄養の関連に注目した文献では葉酸を扱ったものがこの10年で増加していた。口蓋裂の発症における葉酸を扱った文献は全部で39検索されたが、1966～1995年の6文献すべてが葉酸摂取の有無とOFC発症との関連を疫学的に評価していたのに対し、1996～2005年の33文献では疫学的研究が22、遺伝要因の検討を含む研究が

11、さらに、疫学的研究22の中でサプリメントを含む葉酸摂取の予防的検討を行っているものが15あった。この傾向は唇裂においても同様であり、この10年に、遺伝要因を含めた検討、さらに、サプリメントを用いたOFC発症予防に関する研究が増加したことが特徴であった。

2. OFCの発症率

先天奇形の中でOFCは頻度の高い疾患であるとされる。地域、人種によってその程度は異なっており、一般にアジアは発症率が高く（約2/1000出生）、黒人は低い（約0.25）。日本産婦人科医会先天異常モニタリング調査（JAOG、1997-2001）によれば、日本人の発症率は唇裂0.54、口蓋裂0.46、唇裂+口蓋裂1.13、OFC全体では2.1であった。

経年的な発症率の変化について、デンマーク（1962～1987年：1.4-1.5、1988～2001年：1.44）、カナダ（1994～1998年：1.15、1999～2001年：1.21）のデータをみる限り、経時的変化はみられていない。

3. OFCのリスク要因

OFCのリスク要因は、妊娠成立～2か月の口腔形成期に作用して正常の器官形成に影響を及ぼすと考えられている。

① 環境要因

i. 喫煙

妊娠中の妊婦の喫煙とそのこどものOFCの発症との関連を扱った研究は多いが、結果は一貫していない。多くは関連ありとしているが、統計学的な関連の強さにばらつきがあり、これらを総合すると関連があるが統計学的には弱いものと考えられる。

最近5、6年で遺伝要因や遺伝要因と環境要因の相互作用を扱う研究が増えつつある。症例対照研究によって、喫煙によりリスクが増加する遺伝子多型（NOS3やGSTT1、GSTM1）、喫煙の影響を受けない多型（TNFA、MTHFR）などが報告されている。

ii. アルコール

妊娠中の妊婦のアルコール摂取とこどもの OFC の発症との関連についての研究は少ないが、いずれも関連があると報告している。しかしこれらの研究ではアルコール摂取量を順序変数化して解析し、摂取量が最も多い群の妊婦に OFC 発症リスクが高いとしており、直接的に用量-効果の関連を証明しているわけではない。

iii. 栄 養

葉酸と OFC の発症との関連についての文献はこの 10 年でかなり増加したが、葉酸値を測定している研究は非常に少なく、ほとんどが葉酸サプリメントやマルチビタミンの使用の有無によって体内葉酸量を代用していた。

文献の多くが葉酸を含むマルチビタミンの予防効果に焦点を当てていた。このうち動物実験や症例対照研究では、妊娠初期の葉酸摂取は OFC の発症リスクを抑えるとするものが多かった（ただしその効果は葉酸によるものではなく他のビタミンである可能性はある）。しかし前向きコホート研究およびランダム化比較試験では葉酸摂取は OFC の発症を予防しなかった。また複数の生態学的研究においても、葉酸摂取推奨のアナウンスが普及し妊娠適齢期女性の喫煙率が下がったにもかかわらず OFC 発症率には変化がみられないことから、葉酸摂取は発症にほとんど関連していないとした。

これらに対し、葉酸の予防効果は用量依存性であるとの仮説で葉酸の多量摂取が発症リスクを軽減した研究もみられる（ただしこれは症例対照研究である）。さらに近年、遺伝要因と葉酸摂取の有無の相互作用を述べた文献がみられるようになり、例えば TGFA 遺伝子を検討した研究では、胎児が A2 アリルを持つ場合に母が葉酸を摂取していないと発症リスクが高くなる、としている。

神経管欠損症の発症予防目的もあって、適齢期女性における葉酸の必要性はすでに世界的に認められている。しかし実際には、食事、あるいは葉酸サプリメントによる葉酸摂取を行っている女性は多くない。

iv. 薬 物

抗てんかん薬の服用、とくに diphenylhydantoin、phenobarbital、多剤併用治療は OFC の発症と関連があり、妊娠中も服用を続けるとリスクはおよそ 2 倍になる。Benzodiazepines と OFC 発症の関連は見解が一定しない。

副腎皮質ステロイドは OFC 発症リスクを低下させるとする意見がある。

v. 職業曝露

移動、および通信に関連した職業は児の OFC 発症と関連があるとの報告がある。

溶剤への曝露と OFC 発症との関連について、症例対照研究で OFC の母親は対照群の母親に比べて溶剤、とくに脂肪族および芳香族炭化水素を扱っている人が多かったとする報告、妊娠初期の有機溶剤への曝露により OFC 発症のオッズ比が上昇するが、溶剤毎のサブグループ解析では脂肪族ハロゲン溶剤のみ関連があったとの報告がある。

vi. 環境化学物質

環境化学物質の測定の困難さ、因果の証明の難しさなどのため研究は多くないが、妊娠初期の殺虫剤や除草剤、症候群性 OFC に対する農薬、劣悪な環境下におけるシアン化合物や無機化合物などが発症リスクを高める可能性があるとされている。

② 遺伝要因

この 10 年の間に OFC のリスク要因と考えられる候補遺伝子が次々と見出されている。表 4 に OFC の候補遺伝子のうちでヒトを対象とした研究が行われている主なものを示した。この他に、環境要因に関連する遺伝子（たとえばタバコの中の化学物質の代謝にあたる Glutathione S-transferases を規定する GSTT1、GSTM1）も OFC の発症に関与しうる。動物実験レベルの検討を含めるとさらに多くの遺伝子が考えられている。また、単一奇形としての OFC 以外に、症候群の一症状として唇裂や口蓋裂がみられることがある。

しかも症状が唇裂や口蓋裂のみの場合もあるので、これらの症候群の発症に関与しうる遺伝子も考慮しなければならない。

表4 OFCの主な候補遺伝子

| 遺伝子 | 染色体部位 |
|--------------|---------------|
| IRF6 | 1q32 |
| <i>MTHFR</i> | 1p36 |
| TGFA | 2p13 |
| MSX1 | 4p16 |
| FGFR1 | 8p11.2-8p11.1 |
| PVRL1 | 11q23 |
| TGFB3 | 14q24 |
| GABRB3 | 15q11.2-15q12 |
| RARA | 17q21 |
| BCL3 | 19q13 |
| TBX22 | Xq21 |

遺伝要因の解析方法においても、当初は相関解析を用いて遺伝子と発症の関連を検討されていたものが、さらに連鎖解析、ハプロタイプ解析などのより複雑な解析法を用いて要因の強さを検討する文献がみられるようになってきた。

ただし、いずれの遺伝要因も単独でOFCをおこすのではなく、複数の遺伝要因の相乗作用、あるいは遺伝要因と環境要因の相互作用によってOFCが発症するものと考えられている。喫煙、葉酸の項において、この遺伝と環境の相互作用についての研究の一部を示した。

D. 考 察

OFCのリスク要因としてはかなり以前からいくつもの環境因子があげられていたが、1990年代前半までは症例対照研究によって個々の要因の発症リスクを推定することが中心であった。また遺伝学的には染色体異常や多発奇形症候群といった疾患概念のなかの一症状として検討されてきた。

しかし、この10年間（1996年～2005年）にOFCの研究は大きく変化した。そのひとつは遺伝要因に関する研究の進歩で、これは主に遺伝学的

知識、研究技術が進んだことによる。このことによつて原因遺伝子の追求だけでなく、遺伝要因と環境要因の相互作用についての研究が可能となった。妊婦の喫煙はそれ自身リスク要因としては弱いと考えられてきたが、新しい研究により、遺伝要因との相互作用によつてリスクが上昇することが示唆された。妊婦の葉酸欠乏はOFCのリスク要因としては単独では強いとはいえないが、遺伝要因があるときに葉酸摂取によつて発症を予防できる可能性が示された。OFCは発症要因がそれぞれ単独に効くのではなく、複合して作用することによつて発症するものと考えられていることから、今後、さらに複数の要因の相互作用を解明する研究が積み重ねられていくことが望ましいと思われる。

変化のもうひとつは葉酸摂取による発症予防を研究した文献の増加である。これは葉酸を含むビタミンが補助食品として普及したこと、医療の視点が治療から予防、健康増進にシフトしつつあることなどの社会的背景が影響していると思われる。しかしこれらの研究の結論は一致していない。また、症例対照研究で葉酸値を測定した研究は非常に少なく、ほとんどがサプリメントの使用の有無によつて体内葉酸の充足度を代用していた。発症頻度の低い疾患、複数の診療科が関わる研究の難しさを反映しているものと思われた。また臓器形成期の感受性は成人や小児のそれとは異なっているとも言われており、葉酸の発症予防効果を検証する上では効果が用量依存性であるかどうかを明らかにすることも大切であろう。

比較的発症頻度の低いOFCにおいてこれらの課題を解決していくためには、症例対照研究の症例数を多くし情報の正確性をなるべく保つこと、また規模の大きい前向きコホートを行い必要な情報を正確に収集することが肝要と思われた。

また、妊娠適齢期女性の葉酸摂取コンプライアンスが良くないことに対しては、対象者の状況を把握し、対象者の受け入れ状況に適した情報提供の時期、方法などを研究して行動変容を促すことも重要であると思われた。

さらに今後も環境の変化に伴い新たな環境要因が出現する可能性はあり、臨床現場の情報収集、地域ベースの発症率調査や生態学的研究などにより折々の事実の把握に努める必要があると思われた。

E. 結 論

唇裂口蓋裂リスク要因についての文献レビューを行った。本疾患の候補遺伝子が報告され、環境要因と遺伝要因の相互作用への研究が進み始めており、喫煙、葉酸などの環境要因の発症リスクはそれぞれ単独では弱いと考えられているが、特定の遺伝子多型の存在下で発症を左右する可能性が示唆されている。また葉酸を含むサプリメントの開発、普及に伴って、これを用いた発症予防の可能性についての研究がさかんになっている。

表 1-A 検索された文献数（副項目別に分類）

| 検索式 | 1966-1995 | 1996-2005 | All |
|--|-----------|-----------|-------|
| "cleft palate" [MeSH] | 7426 | 2835 | 10261 |
| "cleft palate/chemically induced" [MeSH] | 151 | 42 | 193 |
| "cleft palate/genetics" [MeSH] | 955 | 510 | 1465 |
| "cleft palate/epidemiology" [MeSH] | 494 | 232 | 726 |
| "cleft lip" [MeSH] | 5464 | 2255 | 7719 |
| "cleft lip/chemically induced" [MeSH] | 109 | 28 | 137 |
| "cleft lip/genetics" [MeSH] | 718 | 373 | 1091 |
| "cleft lip/epidemiology" [MeSH] | 443 | 206 | 649 |

表 1-B 検索された文献数（主なリスク要因別に分類）

| 検索式 | 1966-1995 | 1996-2005 | All |
|-------------------------|-----------|-----------|-----|
| "cleft palate" [MeSH] | | | |
| AND "smoking" [MeSH] | 20 | 38 | 58 |
| AND "alcohols" [MeSH] | 21 | 5 | 26 |
| AND "folic acid" [MeSH] | 6 | 33 | 39 |
| AND "vitamins" [MeSH] | 15 | 15 | 30 |
| AND "epilepsy" [MeSH] | 75 | 16 | 91 |
| "cleft lip" [MeSH] | | | |
| AND "smoking" [MeSH] | 15 | 35 | 50 |
| AND "alcohols" [MeSH] | 13 | 3 | 16 |
| AND "folic acid" [MeSH] | 8 | 32 | 40 |
| AND "vitamins" [MeSH] | 15 | 16 | 31 |
| AND "epilepsy" [MeSH] | 62 | 13 | 75 |

表2 唇裂口蓋裂のリスク要因を調査した最近の主な文献（1）喫煙

| 文 献 | 研究デザインと対象、測定 | 結 果 | その他 |
|---|--|--|--|
| Shaw GM (2005, USA) Am J Epidemiol. 162:1207-14 | <ul style="list-style-type: none"> ・コホート内症例対照研究 ・OFC731名、対照734名 ・電話インタビュー（出産後）：妊娠前～中の喫煙、妊娠前～中のビタミン内服の有無 ・NOS3 遺伝子多型（児血液）：G894T、A(-922)G、C(-690)T | <ul style="list-style-type: none"> ・母の喫煙+ビタミン使用なし+児に少なくともひとつのNOS3 遺伝子変異アレルの存在、によってCLのリスクが増加（OR>4） | <ul style="list-style-type: none"> ・ビタミン摂取量不明 ・葉酸値測定なし ・インタビュー調査が後ろ向き |
| Lammer EJ (2005, USA) Epidemiology. 16:698-701 | <ul style="list-style-type: none"> ・症例対照研究 ・OFCの小児423名 ・GSTT1、GSTM1 遺伝子解析 ・調査：妊娠中の喫煙 | <ul style="list-style-type: none"> ・CL：GSTT1 遺伝子のヌル変異ホモ接合の児+母親の妊娠中喫煙ありでOR=2.9、GSTM1 遺伝子のヌル変異ホモ接合の児+母親の妊娠中喫煙ありでOR=6.9、GSTT1 とGSTM1 とともに欠損している場合OR=6.3 ・CP：GSTM1 遺伝子欠損では唇裂とほぼ同様、GSTT1 遺伝子欠損では差なし | |
| Werler MM (2003, Australia) Aust N Z J Obstet Gynecol.43:443-7 | <ul style="list-style-type: none"> ・症例対照研究 ・先天奇形の児の母親への出産後調査：妊娠第1三半期のステロイド、葉酸代謝拮抗薬、血管作動薬の使用、同時期の喫煙 | <ul style="list-style-type: none"> ・喫煙または血管作動薬のOR=3.0 ・葉酸代謝拮抗薬使用のOR=2.3 | <ul style="list-style-type: none"> ・先天奇形がアウトカム ・葉酸値やサプリメント摂取の有無には触れていない |
| Jugessur A (2003, Norway) Genet Epidemiol. 25:367-74 | <ul style="list-style-type: none"> ・CP児88名とその母（case-parent triad） ・アンケート（生後3か月）：喫煙、アルコール摂取、葉酸摂取 ・TGFA、MTHFRの多型（児血液） | <ul style="list-style-type: none"> ・TGFA 遺伝子のA2ホモ接合を有する児では、母の葉酸摂取なしでRR=4.5、ありでRR=1.4 ・喫煙、アルコールは発症に関連なし | <ul style="list-style-type: none"> ・葉酸値測定なし ・後ろ向き調査 ・喫煙、アルコールの量的評価なし |
| Little J (2003, UK) Cleft Palate Craniofac J. 41:381-6 | <ul style="list-style-type: none"> ・症例対照研究 ・190名のOFCのこども、対照248名 ・後ろ向きインタビュー：妊娠中の喫煙、受動喫煙 | <ul style="list-style-type: none"> ・妊娠初期の喫煙は発症と関連あり（CL±CP：OR1.9、95%CI 1.1-3.1、CP：2.3、1.3-4.1） ・喫煙と発症に用量反応関係あり ・受動喫煙と発症に関連がありそうだが検出力不足であった | |
| Shaw GM (2002, USA) Epidemiology. 13:625-30 | <ul style="list-style-type: none"> ・コホート内症例対照研究 ・先天奇形（うちOFC265名） ・電話インタビュー（出産後）：妊娠前～中の喫煙、ビタミン摂取、妊娠時前後の発熱 | <ul style="list-style-type: none"> ・ビタミン摂取+発熱あり群で奇形発生リスク上昇（CL：OR=2.9、CP：OR=1.3） ・ビタミン摂取なし群で喫煙があるとリスク上昇 ・アルコールは影響していない | <ul style="list-style-type: none"> ・ビタミン摂取量不明 ・葉酸値測定なし ・インタビュー調査が後ろ向き |
| Lieff S (1999, USA) Am J Epidemiol. 150:683-94 | <ul style="list-style-type: none"> ・症例対照研究 ・OFC1479名を6群に分類（合併奇形の有無、CL/CP/CL+CP） ・後向きインタビュー調査：母の喫煙、食事やサプリメントによる葉酸摂取、家族歴 | <ul style="list-style-type: none"> ・CL+CP+他の奇形あり群にのみ喫煙との関連が認められた（light smoker: OR=1.09, moderate: OR=1.84, heavy: OR=1.85） | |

OFC：唇裂口蓋裂、CL：唇裂、CP：口蓋裂

表3 唇裂口蓋裂のリスク要因を調査した最近の主な文献（2）葉酸

| 文 献 | 研究デザインと対象、測定 | 結 果 | その他 |
|---|--|---|--|
| Bille C (2005, Denmark) Cleft Palate Craniofac J. 42:255-9 | <ul style="list-style-type: none"> 生態学的研究 デンマーク国内の唇裂口蓋裂（すべて登録されている） | <ul style="list-style-type: none"> 1962～1987年および1988～2001年の発生率に差なし（1.4-1.5 vs. 1.44/1000 birth） 葉酸の必要性のアナウンス、妊婦喫煙率の減少にも関わらず発生率が下がらないことから、葉酸摂取コンプライアンスが悪い、そして葉酸、喫煙は発症との関連が弱い | <ul style="list-style-type: none"> 因果の関係を明らかにできない 葉酸、喫煙は一般的傾向からの類推であり、対象群での検討を行っているわけではない |
| Carinci F (2005, Italy) J Craniomaxillofac Surg. 33:91-4 | <ul style="list-style-type: none"> 後ろ向き研究 OFC126名の種類と部位で亜分類 質問票調査（後ろ向き）：妊娠中の喫煙、葉酸摂取、DMの有無 | <ul style="list-style-type: none"> OFCの種類と部位に男女差がある サブクラスによっては葉酸摂取の有無、DMの有無が発症に関連する | <ul style="list-style-type: none"> 後ろ向き研究 対照なし 喫煙や葉酸の量的検討なし 葉酸値測定なし |
| Jugessur A (2003, Norway) Genet Epidemiol. 25:367-74 | <ul style="list-style-type: none"> CP児88名と母（case-parent triad） アンケート（生後3か月）：喫煙、アルコール摂取、葉酸摂取 TGFA、MTHFRの多型（児血液） | <ul style="list-style-type: none"> TGFA遺伝子のA2ホモ接合を有する児では、母の葉酸摂取なしでRR=4.5、ありでRR=1.4 喫煙、アルコールは発症に関連なし | <ul style="list-style-type: none"> 葉酸値測定なし 後ろ向き調査 喫煙、アルコールの量的評価なし 葉酸摂取により遺伝学的な問題を予防する可能性 |
| Rooij IA (2003, Netherland) Am J Obstet Gynecol. 189:1155-60 | <ul style="list-style-type: none"> 症例対照研究 非症候群性OFC児96名とその母 母の血液：血清・赤血球葉酸、血清vit. B6 (PLP)、vit. B12、血漿ホモシステイン測定 インタビュー調査 | <ul style="list-style-type: none"> 母のvit. B12 185pmol/L以下、vit. B6 44nmol/L以下は児のOFC発症リスクを高める（OR=3.1, 2.9） OFC児の血清葉酸値が対照群に比較して15%低かった | <ul style="list-style-type: none"> 採血時期が妊娠成立時に近いわけではない 喫煙の影響には触れていない |
| Ray JG (2003, Canada) J Pediatr. 143:805-7 | <ul style="list-style-type: none"> 生態学的研究 336963名の妊婦 1994～1998年と1999～2001年に分けてOFCの発生率を比較（カナダでは1998年以降シリアルに葉酸を添加したことから1998年を境にした） | <ul style="list-style-type: none"> 1994～1998年と1999～2001年の発生率に差はなかった（1.15 vs. 1.21） 葉酸摂取は発症を軽減しなかった | <ul style="list-style-type: none"> 対象者の食事状況は不明 |
| Padmaja R (2001, USA) Teratology 63:79-86 | <ul style="list-style-type: none"> 症例対照研究 非症候性OFC児309名、対照3029名 | <ul style="list-style-type: none"> 受精前後に妊婦のマルチビタミンを摂取することによりOFCの発症OR=0.52、CPの発症OR=0.82と減少 第2、第3三半期にマルチビタミンを摂取しても発症リスクは軽減しない 葉酸摂取によって発症が軽減した | <ul style="list-style-type: none"> 葉酸摂取により発症が軽減した |
| Loffredo LC (2001, Brazil) Cleft Palate Craniofac J. 38:76-83 | <ul style="list-style-type: none"> 症例対照研究 非症候群性OFC450例、対照 出産後1年間以内のインタビュー：妊娠第1三半期のサプリメントの摂取状況など | <ul style="list-style-type: none"> 妊娠成立前後にサプリメントを摂取した母親のこどもにはOFCが少なかった 多変量解析でも同じ結果であった 葉酸摂取によって発症が軽減した | <ul style="list-style-type: none"> インタビューの時期（平均）が対象生後約4か月、対照は約40日でずれがある（recall bias） 葉酸摂取により発症が軽減した |
| Wong WY (1999, Netherland) Teratology 60:253-7 | <ul style="list-style-type: none"> 症例対照研究 非症候群性OFC児35名の母、対照 経口メチオニン負荷試験（ビタミン依存性のホモシステイン代謝の検討）を行い、早期相、後期相の血漿総ホモシステイン、血清および赤血球葉酸、血清vit. B12、全血vit. B6を測定 | <ul style="list-style-type: none"> 疾患群の母は対照群に比較して両相のホモシステインが高く（高ホモシステイン血症（負荷試験のホモシステイン値が97.5%ile以上）が15.6% vs 3.6%）、血清および赤血球葉酸が高く、vit. B6が低かった | |
| Czeizel AE (1999, Hungary) Pediatrics 104:e66 | <ul style="list-style-type: none"> 前向きコホート研究、症例対照研究 前向きコホート：葉酸（0.8mg）を含むサプリメント摂取あり（5488名）、なし（5821名）の2群で出生後の奇形を確認 症例対照研究：ハンガリーのデータベースの先天奇形22865名（うちCL±CP1368名、CP596名）、対照38151名。高容量（6mg）葉酸摂取の有無、期間を調査 | <ul style="list-style-type: none"> 前向き研究：サプリメント摂取5488名から児のCL±CP6名、CP1名、非摂取5821名からCL±CP4名、CP3名 症例対照研究：(1)高用量（6mg）の葉酸を、対照群のほうが有意に摂取していた。(2)高用量葉酸の発症予防はCL±CP群では妊娠1～2か月時に（12.4% vs 9.1%）、CL群で妊娠4か月まで摂取した場合（39.9% vs 32.2%）にのみみられる | <ul style="list-style-type: none"> 通常生理的な量の葉酸の摂取では予防効果なし 妊娠早期の高用量葉酸摂取でOFCの一部に予防効果あり（症例対照研究） 効果と副作用の観点で考える必要あり |

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

| 文 献 | 研究デザインと対象、測定 | 結 果 | その他 |
|---|---|---|---|
| Shaw GM (1998, USA) Cleft Palate Craniofac J. 35:366-70 | <ul style="list-style-type: none"> ・コホート内症例対照研究 ・OFC731名、対照734名 ・電話インタビュー（出産後）：妊娠前～中の喫煙、ビタミン摂取 ・TGFA/Taq1多型（児血液） | <ul style="list-style-type: none"> ・「母ビタミン使用+児TGFA common genotype」に比べて「母ビタミン不使用+児TGFαA2 genotype」ではOFCのリスクが増加（OR=2.4~8.1） ・TGFAがA2 genotypeでも母がビタミンを使用しているとリスクが小さい | <ul style="list-style-type: none"> ・ビタミン使用量不明 ・葉酸値測定なし ・インタビュー調査が後ろ向き ・葉酸摂取により遺伝学的な問題を予防する可能性 |
| Shaw GM (1995, USA) Lancet. 346:393-6 | <ul style="list-style-type: none"> ・コホート内症例対照研究 ・OFC児731名の母、対照734名 ・電話インタビュー（出産後）：妊娠成立前1か月～成立後2か月の葉酸を含むマルチビタミン内服の有無 | <ul style="list-style-type: none"> ・マルチビタミン摂取により25~50%リスク軽減（OR=0.50~0.73） ・葉酸を含むシリアルを食べていた妊婦もリスク減少と関連があった | <ul style="list-style-type: none"> ・葉酸摂取により発症が軽減した ・マルチビタミンに含まれる他のビタミンの影響、選択バイアス（ビタミンを摂取しようとする妊婦の行動特性）の可能性あり |
| Czeizel AE (1993, Hungary) BMJ 306:1645-8 | <ul style="list-style-type: none"> ・ランダム化比較試験・妊婦4156名、その児3713名（生後8か月） ・0.8mg葉酸を含むマルチビタミンまたは微量元素（コントロール）を妊娠前1か月～後2か月まで摂取 ・種々の大奇形の発生率をアウトカムとした | <ul style="list-style-type: none"> ・マルチビタミン摂取群と微量元素摂取群の間にOFCの発症率の有意な差なし | <ul style="list-style-type: none"> ・葉酸投与量の評価なし・検出力不足の可能性 |

OFC：唇裂口蓋裂、CL：唇裂、CP：口蓋裂

妊婦の血清葉酸値が胎児の発育に及ぼす影響について

主任研究者 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

研究要旨

葉酸はホモシステインをメチオニンに転換する過程で不可欠であり、欠乏すると、ホモシステインが高値となり、胎児発育遅延や低出生体重のリスクが高まることが報告されている。周産期疾患の予防の観点からも、葉酸は重要な栄養素であると考えられる。しかし、葉酸値と出生時体重、子宮内発育遅延の関連を報告したものは少ない。そこで本研究では、妊婦の血清葉酸値と出生時体重との関連を検討した。妊婦を対象にした前向きコホート研究の一環で、平成15年1月から平成16年年12月までに本調査に同意された全妊婦2233人を対象として、妊娠13週未満の血清を用いてCLIA法で葉酸値の測定を行った。母親の出産時年齢、妊娠前BMI、教育歴、新生児性別、在胎週数、出産経歴、喫煙で調整した場合、葉酸値が5.7ng/ml以下であると出生時体重との間に負の関連が見られた。また葉酸値が5.7ng/ml以下であると子宮内発育遅延のオッズ比が2.6（95%CI1.3-5.0）と有意に上昇した。葉酸値が低値になると、出生時体重に影響を及ぼす可能性があり、周産期における葉酸摂取の必要性が示唆された。

【研究協力者】

岸 玲子、佐田 文宏、鈴木 佳奈、
西條 泰明、坂 晋、近藤 朋子、
森 ゆうこ、倉橋 典絵、森岡 三果、
小池 晶、田中 亜美、宮崎美代乃
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
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
石川 睦男、田熊 直之、千石 一雄
旭川医科大学病院・周産母子センター・産婦人科学講座
遠藤 俊明、林 卓宏、斉藤 豪
札幌医科大学産婦人科学講座

【研究協力機関】

青葉産婦人科病院、秋山記念病院、旭川医科大学病院、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、五輪橋産科婦人科小児科病院、市立札幌病院、札幌医科大学附属病院、札幌厚生病院、札幌徳州会病院、市立土別総合病院、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、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、市立函館病院、函館五稜郭病院、函館中央病院、はしもとクリニック、美幌国保病院、朋佑会札幌産婦人科病院、北海道社会保険病院、北海道大学病院、公立芽室病院、道立紋別病院、稚内市立病院（平成18年3月まで）

A. 研究目的

葉酸は生体内ではDNA合成の際の補酵素として重要であり、またアミノ酸であるホモシステインをメチオニンに転換する過程で重要である。葉酸が欠乏すると高ホモシステイン血症になり、高ホモシステイン血症は流産や胎児発育遅延、胎児奇形の発生との関連も報告されており、周産期疾患

予防の観点からも、葉酸は重要であると考えられる。近年、欧米を中心とした疫学調査によって妊娠前から妊娠初期の葉酸の十分な摂取が神経管欠損症（NTD）やその他の先天異常（先天性心疾患）に対しての予防効果が報告されたことや、葉酸欠乏状態は早産や低出生体重になるリスクが上昇することが報告されている。また妊婦を対象とした調査によると喫煙によって葉酸値が低下することや葉酸代謝酵素である *MTHFR* が変異型ホモ 677TT をもつ妊婦では、葉酸値がより低くなることを報告している。一方、日本では欧米諸国と比較して二分脊椎の発症率が低いことなどの理由から、これまで関連する疫学調査は行われていなかったが、ICBDMS（国際先天異常監視機構）によると、わが国の二分脊椎の発症率が増加傾向にあることが報告されたことや、今後、わが国の食生活の多様化により、食物摂取の個人格差が大きくなり、葉酸摂取量が減少していく可能性があることから、日本においても妊娠可能な女性に対しての葉酸摂取は、検討すべき課題であると考えられる。そこで本研究では、妊婦の妊娠初期の葉酸値が胎児の発育（出生時体重、子宮内発育遅延）に及ぼすについて検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象

前向きコホート研究を設定し、平成 15 年 1 月から平成 16 年年 12 月までに北海道の 39 産科施設に通院中で、本調査に同意を得た妊婦 2233 人のうち除外基準として、内分泌障害、葉酸サプリメントの服用者、先天異常をもつ児を出産した母である妊婦 233 人、さらに在胎週数や出生時体重などの情報が不足している者 211 人を除き、1789 人を解析対象とした。

2. 方法

- ① 妊婦の血清葉酸値の測定は、妊娠初期（13 週未満）の血清 800 μ l を用いて CLIA 法で測定した。
- ② 自記式質問紙票を用いて、母親の属性（母親

の出産時年齢、妊娠前身長、体重、教育歴、既往歴、妊娠初期の喫煙、葉酸サプリメントの摂取）を調べた。さらにまた児の属性については、出産後に医療機関で記載された新生児個票から（新生児性別、在胎週数、出生時体重、奇形の有無）の情報を得た。

3. 解析方法

統計解析は、SPSS ver.12.0 を用い、出生時体重と血清葉酸値に関連する因子である、母親の出産時年齢、妊娠前 BMI、出産経歴、新生児性別、在胎週数、喫煙、教育歴および妊婦の血清葉酸値（四分位）、を独立変数として重回帰分析を行った。さらに子宮内発育遅延を従属変数とし、母親の出産時年齢、妊娠前 BMI、喫煙、教育歴および妊婦の血清葉酸値（四分位）を共変量として、ロジスティック回帰分析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、参加病院または代表研究機関の倫理委員会にて、全て承認されている。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

1. 基本的属性（表 1）

初産、経産婦の割合は、ほぼ同じであった。喫煙群は 16.0% を占めていた。低出生体重児（出生時体重が 2500g 未満）は、1789 人中 128 人（7.2%）であり、早産（在胎週数 37 週未満の出産）の児は、70 人（3.9%）、子宮内発育遅延児（mean-1.5SD、厚生労働省ハイリスク母児管理研究班、1983 年）は、94 人（5.3%）であった。

表 1. 基本的属性

| | | Mean±SD(Range) |
|------------------------------|--------|----------------------------------|
| 出生時体重 (g) | | 3034±387 (756-4454) |
| 在胎週数 (週) | | 39.0±1.4 (27-42) |
| 出産時年齢 (才) | | 29.0±4.6 (15-44) |
| 妊娠前 BMI (kg/m ²) | | 20.4±3.3 (14.9-38.7) |
| 血清葉酸値 (μg/ml) | | 7.3±2.4 (2.5-22.0) median 7.0 |
| | | N(%) |
| 児性別 | 男児 | 884 (49.4) |
| | 女児 | 905 (50.6) |
| 出産歴 | 0 | 816 (45.6) |
| | ≥1 | 973 (54.4) |
| 母教育歴 | ≤9年 | 89 (5.0) |
| | 10-12年 | 870 (48.6) |
| | 14-15年 | 702 (39.2) |
| | ≥16年 | 128 (7.2) |
| 喫煙歴 | 非喫煙 | 1130 (63.2) |
| | 禁煙 | 372 (20.8) |
| | 喫煙 | 287 (16.0) |

2. 血清葉酸値と出生時体重との関連について

出生児体重を従属変数とし、妊婦の血清葉酸値（四分位）、母親の出産時年齢、妊娠前 BMI、教育歴、新生児性別、在胎週数、出産経歴、喫煙を独立変数として、変数固定法で重回帰分析を行った。その結果、喫煙、新生児性別、在胎週数、出産経歴、妊娠前 BMI において出生時体重との関連が見られたが、それらの変数を調整しても、葉酸値が 5.7ng/ml 以下の群と出生時体重との間に負の関連が見られた（表 2）。

表 2. 妊婦の血清葉酸値が児の出生時体重に及ぼす

| | 標準化係数 (β) | p |
|---------------|-----------|-------|
| 血清葉酸値 | | |
| 2.5- 5.7 | -0.057 | 0.03 |
| 5.8- 7.0 | -0.042 | 0.11 |
| 7.1- 8.5 | ref | ref |
| 8.6-22.0 | -0.043 | 0.10 |
| 在胎週数 | 0.403 | <0.01 |
| 児性別 (女 0 男 1) | 0.139 | <0.01 |
| 出産歴 (初 0 経 1) | 0.133 | <0.01 |
| 妊娠前 BMI | 0.161 | <0.01 |
| 出産時年齢 | -0.058 | 0.01 |
| 喫煙 | -0.092 | <0.01 |

重回帰分析

*母教育歴で調整

子宮内発育遅延を従属変数とし、母親の出産時年齢、妊娠前 BMI、喫煙、教育歴および妊婦の血

清葉酸値（四分位）を共変量としてロジスティック回帰分析を行った。

その結果、葉酸値が 5.7ng/ml 以下の群で子宮内発育遅延のオッズ比 2.6 (95%CI 1.3-5.0) と有意にリスクが上昇した（表 3）。

表 3. 妊婦の血清葉酸値が子宮内発育遅延に及ぼす影響

| | OR | 95%CI | p |
|--------------|-----|-----------|-------|
| 血清葉酸値(ng/ml) | | | |
| 2.5-5.7 | 2.6 | 1.3-5.0 | <0.01 |
| 5.8-7.0 | 2.0 | 1.0-4.1 | 0.05 |
| 7.1-8.5 | ref | ref | ref |
| 8.6-22.0 | 2.0 | 0.97-4.1 | 0.10 |
| 妊娠前 BMI | 0.9 | 0.85-0.98 | 0.02 |
| 出産時年齢 | 1.1 | 1.0-1.1 | 0.02 |
| 喫煙 | 1.6 | 1.2-2.0 | <0.01 |

ロジスティック回帰分析

*母教育歴で調整

D. 考 察

本研究では、妊婦の妊娠初期の血清葉酸値が低いと、児の出生時体重が減少し、子宮内発育遅延のリスクが上昇した。

Malinow(1)らや Ek(2)らは出産時の母体血の血清葉酸値が低いと児の出生時体重が有意に小さくなると報告している。また、Sram(3)らや Tamura(4)らは出産時の母体血の血清葉酸値が高いと子宮内発育遅延のリスクが減少すると報告している。しかし、妊婦の血清葉酸値は児の出生時体重に影響を与えないという報告もある(5,6)。こうした結果の違いは、サンプルサイズの違いや先行研究の対象集団の特異性に加え、血清葉酸値を測定する時期によるものと考えられる。Ronnember(5)らは妊娠前の母体血の血清葉酸値は、早産、低出生体重、子宮内発育遅延のリスクと有意な関連がみられないと報告している。血清葉酸値は比較的短期間の食事摂取量に影響されるため、血清葉酸値と児の発育の関連がみられなかったのではないかと考えられる。従って、妊娠前よりも妊娠中の葉酸値が低値になると、出生時体重に影響を及ぼす可能性があり、妊娠中における葉酸摂取の必要性が示唆された。

E. 参考文献

- (1) Malinow MR, Rajkovic A, Duell PB, Hess DL, Upson BM. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocyst(e)ine suggests a potential role for maternal homocyst(e)ine in fetal metabolism. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 ;178(2):228-33.
- (2) Ek J. Plasma and red cell folate in mothers and infants in normal pregnancies. Relation to birth weight. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1982 ; 61(1):17-20.
- (3) Sram RJ, Binkova B, Lnenickova Z, Solansky I, Dejmek J. The impact of plasma folate levels of mothers and newborns on intrauterine growth retardation and birth weight. *Mutat Res.* 2005 ; 591(1-2):302-10. Epub 2005 Aug 15.
- (4) Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Cliver SP, Hoffman HJ. Serum concentrations of zinc, folate, vitamins A and E, and proteins, and their relationships to pregnancy outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl.* 1997 ; 165:63-70.
- (5) Ronnenberg AG, Goldman MB, Chen D, Aitken IW, Willett WC, Selhub J, Xu X. Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese women. *Am J Clin Nutr.* 2002 ; 76(6):1385-91.
- (6) de Weerd S, Steegers-Theunissen RP, de Boo TM, Thomas CM, Steegers EA. Maternal periconceptional biochemical and hematological parameters, vitamin profiles and pregnancy outcome. *Eur J Clin Nutr.* 2003 ; 57(9):1128-34.

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- ・森岡三果、倉橋典絵、鈴木佳奈、近藤朋子、森ゆうこ、西條泰明、佐田文宏、岸玲子：「妊婦の葉酸値と出生時体重との関連」、第75回日本衛生学会総会、新潟（2005.3.27-30）
- ・鈴木佳奈、森岡三果、倉橋典絵、西條泰明、佐田文宏、岸玲子：「妊婦の血清葉酸値が児の出生時体重に及ぼす影響」、第64回日本衛生学会総会、札幌（2005.9.14-16）
- ・鈴木佳奈、坂晋、小西香苗、鷺野考揚、東倫子、倉橋典絵、森岡三果、西條泰明、佐田文宏、岸玲子：「妊婦の血清葉酸値が胎児の発育に及ぼす影響」、第65回日本衛生学会総会、山口（2006.3.25-3.28）

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

3. その他

なし

妊婦の血清葉酸値を低下させる要因について

主任研究者 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

研究要旨

葉酸は、ホモシステインをメチオニンに転換する過程で不可欠であり、欠乏すると、ホモシステインが高値となり、胎児発育遅延や低出生体重のリスクが高まることが報告されており、周産期疾患の予防の観点からも、葉酸は重要な栄養素であると考えられる。しかし、妊婦の血清葉酸値を分析した報告は少ない。そこで本研究では、妊婦の血清葉酸値を低下させる要因を明らかにし、さらに出生時体重との関連を検討することを目的とした。妊婦を対象にした前向きコホート研究の一環で、平成 15 年 1 月から平成 16 年 2 月月までに本調査に同意された全妊婦 2233 人を対象として、妊娠 13 週未満の血清を用いて CLIA 法で葉酸値の測定を行った。さらに葉酸代謝酵素である *MTHFR* の C677T 及び A1298C 多型の遺伝子型を、リアルタイム PCR 法で解析した。妊婦の血清葉酸値は喫煙群と *MTHFR* C677T 多型の変異型 T アリルを持つ群では血清葉酸値と有意な負の関連がみられた。また、出産時年齢及び母親の教育歴と血清葉酸値はそれぞれ有意な正の関連がみられた。喫煙と *MTHFR* C677T 多型と A1298C 多型の組み合わせでは両多型とも遺伝的要因よりも喫煙が強い影響を及ぼしていた。

【研究協力者】

岸 玲子、佐田 文宏、鈴木 佳奈、
西條 泰明、坂 晋、近藤 朋子、
森 ゆうこ、倉橋 典絵、森岡 三果、
小池 晶、田中 亜美、宮崎美代乃
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
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
石川 睦男、田熊 直之、千石 一雄
旭川医科大学病院・周産母子センター・産婦人科学講座
遠藤 俊明、林 卓宏、斉藤 豪
札幌医科大学産婦人科学講座

【研究協力機関】

青葉産婦人科病院、秋山記念病院、旭川医科大学病院、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、五輪橋産科婦人科小児科病院、市立札幌病院、札幌医科大学附属病院、札幌厚生病院、札幌徳州会病院、市立士別総合病院、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、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、市立函館病院、函館五稜郭病院、函館中央病院、はしもとクリニック、美幌国保病院、朋佑会札幌産婦人科病院、北海道社会保険病院、北海道大学病院、公立芽室病院、道立紋別病院、稚内市立病院（平成 18 年 3 月まで）

A. 研究目的

葉酸は生体内では DNA 合成の際の補酵として重要であり、またアミノ酸であるホモシステインをメチオニンに転換する過程で重要である。葉酸が欠乏すると高ホモシステイン血症になり、高ホ

モシステイン血症は流産や胎児発育遅延、胎児奇形の発生との関連も報告されており、周産期疾患予防の観点からも、葉酸は重要であると考えられる。近年、欧米を中心とした疫学調査によって妊娠前から妊娠初期の葉酸の十分な摂取が神経管欠損症（NTD）やその他の先天異常（先天性心疾患）に対しての予防効果が報告されたことや、葉酸欠乏状態は早産や低出生体重になるリスクが上昇することが報告されている。また妊婦を対象とした調査によると喫煙によって葉酸値が低下することや葉酸代謝酵素である *MTHFR* が変異形ホモ 677TT をもつ妊婦では、葉酸値がより低くなることを報告している。一方、日本では欧米諸国と比較して二分脊椎の発症率が低いことなどの理由から、これまで関連する疫学調査は行われていなかったが、ICBDMS（国際先天異常監視機構）によると、わが国の二分脊椎の発症率が増加傾向にあることが報告されたことや、今後、わが国の食生活の多様化により、食物摂取の個人格差が大きくなり、葉酸摂取量が減少していく可能性があることから、日本においても妊娠可能な女性に対しての葉酸摂取は、検討すべき課題であると考えられる。そこで本研究では、妊娠初期の葉酸値を低下させる要因を明らかにすること、さらに喫煙と *MTHFR* 多型のくみあわせが児の出生時体重に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

前向きコホート研究を設定し、平成 15 年 1 月から平成 16 年年 12 月までに北海道の 39 産科施設に通院中で、本調査に同意を得た妊婦 2233 人のうち除外基準として、内分泌障害、葉酸サプリメントの服用者、先天異常をもつ児を出産した母である妊婦 233 人、さらに在胎週数や出生時体重などの情報が不足している者 211 人を除き、1789 人を解析対象とした。

2. 方法

① 妊婦の血清葉酸値の測定は、妊娠初期（13 週

未満）の血清 800 μ l を用いて CLIA 法で測定した。

② 自記式質問紙票を用いて、母親の属性（母親の出産時年齢、妊娠前身長、体重、教育歴、既往歴、妊娠初期の喫煙、葉酸サプリメントの摂取）を調べた。さらにまた児の属性については、出産後に医療機関で記載された新生児個票から（新生児性別、在胎週数、出生時体重、奇形の有無）の情報を得た。

3. 解析方法

統計解析は、SPSS ver.12.0 を用い解析を行った。妊婦の血清葉酸値を低下させる要因を明らかにするために、血清葉酸値を従属変数とし、出産歴、妊娠前 BMI、出産時年齢、母教育歴、*MTHFR* C677T と A1298C を独立変数とし、重回帰分析を行った。さらに、喫煙と *MTHFR* の組み合わせが児の出生時体重に及ぼす影響については、児の出生時体重と関連する、在胎週数、児性別、出産歴、妊娠前 BMI で調整し重回帰分析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、参加病院または代表研究機関の倫理委員会にて、全て承認されている。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

1. 基本的属性（表 1）

初産、経産婦の割合では、やや経産婦の割合が高かった。また喫煙群は、16.0%を占めていた。*MTHFR* C677T 多型と A1298C 多型はハーディー・ワインバーグ平衡に従っていた。

表 1. 基本的属性

| | | Mean±SD(Range) |
|------------------------------|--------|----------------------------------|
| 出生時体重 (g) | | 3034±387 (756-4454) |
| 在胎週数 (週) | | 39.0±1.4 (27-42) |
| 出産時年齢 (才) | | 29.0±4.6 (15-44) |
| 妊娠前 BMI (kg/m ²) | | 20.4±3.3 (14.9-38.7) |
| 血清葉酸値 (μg/ml) | | 7.3±2.4 (2.5-22.0) median 7.0 |
| | | N(%) |
| 児性別 | 男児 | 884 (49.4) |
| | 女児 | 905 (50.6) |
| 出産歴 | 0 | 816 (45.6) |
| | ≥1 | 973 (54.4) |
| 母教育歴 | ≤9年 | 89 (5.0) |
| | 10-12年 | 870 (48.6) |
| | 14-15年 | 702 (39.2) |
| | ≥16年 | 128 (7.2) |
| 喫煙歴 | 非喫煙 | 1130 (63.2) |
| | 禁煙 | 372 (20.8) |
| | 喫煙 | 287 (16.0) |
| <i>MTHFR</i> C677T | CC | 676 (37.8) |
| | CT | 845 (47.2) |
| | TT | 268 (15.0) |
| <i>MTHFR</i> A1298C | AA | 1161 (64.9) |
| | AC | 545 (30.5) |
| | CC | 83 (4.6) |

2. 妊婦の血清葉酸値を低下させる要因 (表 2)

妊婦の血清葉酸値は喫煙群と *MTHFR* C677T 多型の変異型 T アリルを持つ群では血清葉酸値と有意な負の関連がみられた。また、出産時年齢及び母親の教育歴と血清葉酸値はそれぞれ有意な正の関連がみられた。

表 2. 血清葉酸値を低下させる要因

| | 標準化係数β | P |
|---------------------|--------|--------|
| 出産歴 | -0.025 | 0.28 |
| 妊娠前 BMI | -0.035 | 0.13 |
| 出産時年齢 | 0.129 | 0.048 |
| 母教育歴 | 0.070 | <0.01 |
| 喫煙 | -0.070 | <0.01 |
| <i>MTHFR</i> C677T | ref | ref |
| | CT | <0.01 |
| | TT | <0.01 |
| <i>MTHFR</i> A1298C | ref | ref |
| | AC | 0.57 |
| | CC | -0.014 |

重回帰分析

3. 喫煙と *MTHFR* 多型の組み合わせが児の出生時体重に及ぼす影響について (表 3)

MTHFR C677T 多型の野生型ホモ接合非喫煙群と比較して、変異型 T アリルを持つ群では非喫煙群、禁煙群、喫煙群いずれにおいても児の出生時体重と有意な関連が見られた。交絡要因と考えられる (児の出生時体重と有意な関連があった)、在胎週数、児性別、出産歴、母親の妊娠前 BMI で調整すると、T アリルを持つ群では非喫煙群では正の、喫煙群では負の有意な関連がみられた。*A1298C* 多型では、遺伝子型よりも喫煙が強い影響を及ぼしていた。

表 3. *MTHFR* 多型と喫煙が児の出生時体重に及ぼす影響

| <i>MTHFR</i> | 喫煙状況 | n | 調整後β | 調整後 p | |
|--------------|-------|-----|------|--------|-------|
| C677T | CC | 非喫煙 | 358 | ref | ref |
| | | 禁煙 | 210 | 0.034 | 0.17 |
| | | 喫煙 | 108 | -0.046 | 0.047 |
| C677T | CT/TT | 非喫煙 | 616 | 0.090 | <0.01 |
| | | 禁煙 | 318 | 0.051 | 0.05 |
| | | 喫煙 | 179 | -0.056 | 0.02 |
| A1298C | AA | 非喫煙 | 633 | ref | ref |
| | | 禁煙 | 332 | -0.024 | 0.31 |
| | | 喫煙 | 196 | -0.012 | <0.01 |
| A1298C AC/CC | | 非喫煙 | 341 | -0.023 | 0.32 |
| | | 禁煙 | 196 | 0.017 | 0.45 |
| | | 喫煙 | 91 | -0.074 | <0.01 |

重回帰分析

*在胎週数、児性別、出産歴、妊娠前 BMI で調整

D. 考察

今回対象となった妊婦の血清葉酸値は、7.3±2.4ng/mlであった。欧米と比較して神経管欠損症の発症率が低い本邦では、今まで葉酸は十分に摂取されていたと考えられていたためか、妊婦を対象とした血清葉酸値についての分析報告は少ない。近藤らが、18歳以上の女性 194 人を対象とし血漿葉酸値を測定したが、平均値は 8.1 ng/mlであり、大きな差はみられなかった(1)。基準値である 3.6~12.9ng/mlの中にほとんどの妊婦が分布しているが、基準値の幅が広く、またこの下限値未満の葉酸値を示す妊婦は、1.4%であった。

妊婦の血清葉酸値は喫煙群と *MTHFR* C677T

多型の変異型Tアリルを持つ群では血清葉酸値と有意な負の関連がみられた。また、出産時年齢及び母親の教育歴と血清葉酸値はそれぞれ有意な正の関連がみられた。前者に関しては、妊婦の年齢や教育歴によって食生活を含む生活習慣の違いがあり、それが有意な差として現れた可能性がある。後者については外国の先行研究の結果と一致しており(2,3,4,5)、喫煙やC677T遺伝子多型の影響は多人種間に共通する問題である可能性が示唆された。

妊婦の葉酸代謝酵素 *MTHFR* の遺伝子多型と喫煙と児の出生時体重との関連について、重回帰分析を行ったところ、遺伝子多型に関わらず、喫煙と児の出生時体重との間に有意な負の関連がみられ、遺伝子型よりも喫煙が強い影響をおよぼしていることが示唆された。従って、C677 多型では禁煙者で変異型 T アリルを持つ妊婦の群で、児の出生時体重との間に正の関連がみられたが、これが遺伝的要因によるものであるかは、今後さらに検討する必要がある。

遺伝子多型と喫煙 の組み合わせの影響については、この他にも早期産や低出生体重を目的変数としてそれぞれ出生週数 37 週、出生時体重 2500g をカットオフ値としたロジスティック回帰分析を行ったが、いずれも有意な関連はみられなかった。

以上の結果は、わが国においても葉酸欠乏は胎児発育に問題を生じうること、葉酸による胎児への影響の観点からも喫煙は良くないことを示しており、適齢期の女性に対する禁煙指導と栄養バランスのとれた食生活や葉酸摂取の指導を進めていくことが重要であると考えられる。

E. 参考文献

- (1) Kondo A, Kamihira O, Shimosuka Y, Okai I, Gotoh M, Ozawa H. Awareness of the role of folic acid, dietary folate intake and plasma folate concentration in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2005 ; 31(2):172-7.
- (2) McDonald SD, Perkins SL, Jodouin CA, Walker MC. Folate levels in pregnant

women who smoke: an important gene/environment interaction. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 ;187(3):620-5.

- (3) van Wersch JW, Janssens Y, Zandvoort JA. Folic acid, Vitamin B(12), and homocysteine in smoking and non-smoking pregnant women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002 ; 103(1):18-21.
- (4) Hiraoka M, Kato K, Saito Y, Yasuda K, Kagawa Y. Gene-nutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 ; 316(4):1210-6.
- (5) Ek J. Plasma and red cell folate in mothers and infants in normal pregnancies. Relation to birth weight. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1982 ; 61(1):17-20.

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- (1) 森岡三果、倉橋典絵、鈴木佳奈、近藤朋子、森ゆうこ、西條泰明、佐田文宏、岸玲子：「妊婦の葉酸値と出生時体重との関連」、第 75 回日本衛生学会総会、新潟（2005.3.27-30）
- (2) 鈴木佳奈、森岡三果、倉橋典絵、西條泰明、佐田文宏、岸玲子：「妊婦の血清葉酸値が児の出生時体重に及ぼす影響」、第 64 回日本衛生学会総会、札幌（2005.9.14-16）
- (3) 鈴木佳奈、坂晋、小西香苗、鷲野考揚、東倫子、倉橋典絵、森岡三果、西條泰明、佐田文宏、岸玲子：「妊婦の血清葉酸値が胎児の発育に及ぼす影響」、第 65 回日本衛生学会総会、山口（2006.3.25-3.28）

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

3. その他

なし

葉酸の経口摂取状況に関する文献研究

主任研究者 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

研究要旨

葉酸は、ホモシステインをメチオニンに転換する過程で不可欠である。欠乏すると、ホモシステインが高値となり、胎児発育遅延や低出生体重のリスクが高まることが報告されている。このことから、周産期疾患の予防の観点からも、葉酸は重要な栄養素であると考えられている。しかし、国内において、妊婦における葉酸値の疫学調査はほとんど行われていない。日本では2000年に厚生労働省から葉酸摂取の勧告と摂取基準が発表された。疫学研究から血中葉酸値への影響は、遺伝子多型と喫煙の影響が示唆されている。人間の主な葉酸の経口摂取源は、食品か栄養補助食品である。そこで葉酸の経口摂取量と血中葉酸値の関係を明らかにするために、疫学調査を計画している。そのため、1950年からの疫学研究をMEDLINEにより検索し、文献レビューにした。今回の文献研究では、食品、栄養補助食品の両方の葉酸経口摂取で、血中葉酸値への影響が見られた。本邦における葉酸への既存知識は低く、今後は、妊婦や適齢期の女性に対する葉酸摂取の指導及び、知識の伝達が重要であると考えられる。

【研究協力者】

岸 玲子、東 倫子、鈴木 佳奈、
松澤 重行、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

A. 研究目的

葉酸は生体内ではDNA合成の際の補酵として重要である。またアミノ酸であるホモシステインをメチオニンに転換する過程で重要である。葉酸が欠乏すると、高ホモシステイン血症になり、高ホモシステイン血症は流産や胎児発育遅延、胎児奇形の発生との関連も報告されており、周産期疾患予防の観点からも、葉酸は重要であると考えられる。近年、欧米を中心とした疫学調査により、妊娠前から妊娠初期の葉酸の十分な摂取が神経管欠損症（NTD）やその他の先天異常（先天性心疾患）に対し、予防効果が報告された。また、葉酸欠乏状態は早産や低出生体重になるリスクが上昇することが報告されている。また妊婦を対象とした調査によると喫煙によって葉酸値が低下することが報告されている。一方、日本では欧米諸国と

比較して、二分脊椎の発症率が低いことなどの理由から、これまで関連する疫学調査は行われていなかった。ICBDMS（国際先天異常監視機構）によると、わが国の二分脊椎の発症率が増加傾向にあることが報告された。今後、わが国の食生活の多様化により、食物摂取の個人格差が大きくなり、葉酸摂取量が減少する可能性があることから、日本においても妊娠可能な女性に対する葉酸摂取は、検討すべき課題であると考えられる。そこで本研究では、食事調査および、サプリメントによる葉酸の経口摂取量、血液中の葉酸値に注目し、さらに喫煙による食生活への影響を明らかにすることを目的とし、1950年からの葉酸摂取に関する疫学研究をMEDLINEにより検索し、文献レビューする。

B. 研究方法

1. 文献研究

食事調査および、サプリメントによる葉酸の経口摂取量、血液中の葉酸値及び喫煙の食生活に対する影響に注目し、1950年にさかのぼり、MEDLINEにて検索し、まとめた。

C. 研究結果・考察

葉酸の経口摂取量と血中濃度の関係についての研究は世界各国で行われている。葉酸の不足により、神経管欠損症(NTD)発症率が上昇することはこれまでの研究で報告されている。

食事調査による葉酸の経口摂取量と血中葉酸値の分析に関する先行研究を表1に示す。先行研究の対象者の食品による葉酸経口摂取量は 51.4 $\mu\text{g}/\text{d}$ ～356 $\mu\text{g}/\text{d}$ であった(1, 2)。これら対象者の血清・血漿葉酸濃度は 2.1 ng/ml ～11.9 ng/ml であった。血清葉酸値は食事による葉酸経口摂取量が多い方が、血中葉酸値濃度の上昇が見られた(1, 3, 4, 5)。インド人の妊婦を対象とした研究では、妊婦の年齢や教育歴により、食生活を含む生活習慣の違いがあり、それが葉酸経口摂取量の差として見られた可能性があることが示唆された(1)。

葉酸サプリメント摂取と血中葉酸値の分析に関する結果を表2に示す。サプリメント投与群の血清・血漿葉酸値は 7.4 ng/ml ～11.24 ng/ml であった(6, 7)。葉酸サプリメントを投与した群において、血中葉酸値濃度の上昇が見られた(6, 7, 9)。

Hininger らによると、妊婦を対象とした血中葉酸値の測定の結果、継続的なサプリメントの投与により、血中濃度を保つことが可能であると報告している(6)。この結果については、日本人が対象である場合も同じことが言える(8)。

欧米と比較して本邦では、神経管欠損症の発症率が今までは低かったため、葉酸は十分に摂取されていたと考えられていたためか、妊婦を対象とした血清葉酸値についての分析報告は少ない。葉酸に対する知識は諸外国に比べ、国内ではあまり広まっていない、一日の推奨量を満たしている対象者も少なかった(2)。

以上の結果より、本邦においても、早期に葉酸に対する認識を高める必要があると思われる。適齢期の女性に対する栄養バランスのとれた食生活や、葉酸摂取の指導を進めていくことが重要であると考えられる。

D. 結 語

近年、食生活の欧米化による葉酸摂取量の減少が指摘されている。葉酸値の低下は、神経管欠損症(NTD)やその他の先天性異常などへの影響が大きいことが示唆されている。今後、葉酸の経口摂取量と血中葉酸値及び栄養補助食品の使用状況などの調査から、妊婦の葉酸摂取状況を明らかにすることが必要であると思われる。さらに、妊婦の葉酸に対する既存知識や態度についての調査も必要性であると思われる。

E. 参考文献

- (1) Pathak Priyali, Kapil Umesh, Kapoor Suresh Kumar, Saxwina Renu, Kumar Anand, Gupta Nandita, Dwivedi Sada Nand, Singh Rajvir, Singh Preeti: Prevalence of multiple micronutrient deficiencies amongst pregnant women in a rural area of Haryana. SYMPOSIUM ON MICRONUTRIENT DEFICIENCY DISORDERS 2004;71(11)1007-1014
- (2) Kondo A, Kamihira O, Shimosuka Y, Okai I, Gotoh M, Ozawa H.: Awareness of the role of folic acid, dietary folate intake and plasma folate concentration in Japan. J Obstet Gynaecol Res. 2005; 31(2):172-7.
- (3) Georgios Petrakos, Perikles Panagopoulos, Ioannis Koutras, Avraam Kazis, Dimosthenis Panagiotakos, Apostolos Economou, Nikolaos Kanellopoulos, Emmanouil Salamalekis, Antonios Zabelas: A comparison of the dietary and total intake of micronutrients in a group of pregnant Greek women with the Dietary Reference Intakes. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 2005; Nov8, online
- (4) Synnove F. Knutsen, Gary E. Fraser, Kristian D. Linsted, W. Lawrence Beeson, and David J. Shavlik: Comparing Biological

- Measurements of Vitamin C, Folate, Alpha-Tocopherol and Carotene with 24-Hour Dietary Recall Information in Nonhispanic Blacks and Whites. *Ann Epidemiol* 2001(11);406-416. Nutr. 1998;128:1665-1671.
- (5) Maria Pufulete, Peter W. Emery, Michael Nelson and Thomas A. B. Sanders: Validation of a short food frequency questionnaire to assess folate intake: *British Journal of Nutrition* 2002(887) 383-390.
- (6) I Hininger, M Favier, J Arnaud, H Faure, JM Thoulon, E Hariveau, A Favier and AM Rooussel: Effect of a combined micronutrient supplementation on maternal biological status and newborn anthropometrics measurements: a randomized double-blind, placebo-controlled trial in apparently healthy pregnant women. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2004 ;58(3):52-59.
- (7) Jong-Im Lee, Jeong-A Lee and Hyeon-Sook Lim: Effect of time of initiation and dose of prenatal iron and folic acid supplementation on iron and folate nutriture of Korean women during pregnancy. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005 ;82(4):843-849.
- (8) 近藤厚生、木村恭祐、磯部安朗、上平修、松浦治、後藤百万、岡井いくよ：二分脊椎症と葉酸：葉酸経口摂取量と葉酸血清濃度。日泌尿会誌、2003、94(5)551-559.
- (9) Timothy J. Green, O. Brian Allen and Deborah L. O'Connor: A Three-Day Weighed Food Record and a Semiquantitative Food-Frequency Questionnaire Are Valid Measures for Assessing the folate and Vitamine B-12 Intakes of Women Aged 16 to 19 Years. *J.*