

3. 宮本敏伸：ヒト無精子症原因遺伝子群
（第24回日本受精着床学会 シンポジウム）軽井沢，2006年

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
特記すべきことなし

多嚢胞性卵巣症候群における遺伝子多型に関する研究

分担研究者 遠藤 俊明 札幌医科大学産科・周産期科／生殖内分泌科 助教授

研究要旨

インスリン感受性ならびに性ステロイド代謝に関与する遺伝子の多型を解析し、多嚢胞性卵巣症候群に関連のある疾患候補遺伝子を探索する。

研究協力者 馬場 剛
札幌医科大学産婦人科
助手

A. 研究目的

多嚢胞性卵巣症候群（以下 PCOS）は生殖年齢女性の 5～10%程度に存在するとされ、その特徴として①卵巣の多嚢胞状形態、②月経不順、③高アンドロゲンがある。また、その病態にインスリン抵抗性が関与することも明らかにされつつある。

高アンドロゲン、インスリン抵抗性に関しては、生活習慣としての環境因子はもとより遺伝的因子が大きく関与している可能性が考えられている。これらは複数の遺伝的要因があるため、従来の遺伝子病のような疾患遺伝子の単離は不可能である。近年、一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism: 以下 SNP）が注目されており、PCOS においても多数の遺伝子について SNP の報告がある。

そこで、アンドロゲン産生に関与する遺伝子である、17 α , 20-hydroxylase ならびに 17, 20-lyase (CYP17)、aromatase (CYP19)、17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 5 (HSD17B5) について、またインスリン抵抗性に関与する Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1)、Glycoprotein PC-1 (PC-1)、Resistin (RETN)、Adiponectin (apM1) について、SNP と PCOS との関連を検討した。

B. 研究方法

症例は札幌医科大学附属病院婦人科で診断された PCOS 症例 123 例、対象は北海道大学医学部附属病院を受診した正常産後症例 380 例とした。EDTA を含んだ採血管に末梢血を採血した全血から DNA を抽出し、TaqMan PCR 法で SNP を検出した。PCOS 症例については、身長と体重計測に加え、月経 3-5 日目に採血して Follicle stimulating hormone (FSH)、Luteinizing hormone (LH)、Estradiol、Prolactin、Total-testosterone、Free-testosterone、Androstenedione、Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS)、Fasting plasma glucose (FPG)、Fasting insulin (IRI)、Adiponectin 値を測定した。インスリン抵抗性の診断は、homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) を用い、 $HOMA-IR \geq 2.0$ をインスリン抵抗性ありと診断した。なお、HOMA-IR の計算式は以下となる： $HOMA-IR = FPG (mg/dl) \times IRI (\mu IU/ml) \div 405$ 。

（倫理面への配慮）

全対象者に文書による説明を行い、同意を得た。研究対象者の人権は最大限に保護されなければならないので、個人名及び個人のデータの公表はいかなる形でも行わない。また、研究者からの個人データの漏洩については、データの管理保

管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部のものに触れられないように厳重に保管するものとする。そのために、研究者とは別に個人情報管理者を置く。

C. 研究結果

CYP17、CYP19、HSD17B5 のアンドロゲン産生関連遺伝子の genotype 頻度は PCOS と正常コントロールにおいて有意差のないことが判明した。インスリン抵抗性関連遺伝子のうち、IRS-1 に関しては PCOS 症例で有意に variant allele 陽性例が多いことが判明した (10.6% vs. 4.8%, OR:3.31, 95% CI:1.49-7.35)。RETN に関しては、homozygous variant genotype が PCOS 症例において有意に多いことが判明した (15.4% vs. 8.4%, OR:2.03, 95% CI:1.05-3.92)。一方、PC-1、apM1 の genotype 頻度に関しては、PCOS 症例とコントロール症例において、有意差は認められなかった。

PCOS 症例において、IRS-1、RETN genotype と BMI、FPG、IRI、Adiponectin、Total-testosterone、DHEAS、Androstenedione の値について検討したところ、RETN homogeneous variant genotype において有意に BMI 高値、IRI 高値、HOMA-IR 高値、Adiponectin 低値であったが、IRS-1 genotype による差異は認められなかった。

D. 考察

本邦の PCOS 患者における predisposing factor として、インスリン抵抗性に関与する遺伝子である IRS-1 と Resistin の遺伝子多型が同定された。このことは、インスリン抵抗性改善薬が PCOS の排卵障害や高アンドロゲン血症の

治療のひとつであることを裏付ける知見といえる。

一方、性ステロイド特にアンドロゲン産生に関わる遺伝子である、CYP17、CYP19、HSD17B5 の遺伝子多型が PCOS と関連のないことが判明し、PCOS の病因においてインスリン抵抗性がより重要な因子であることが考えられる。

E. 結論

本邦の PCOS 患者背景に IRS-1、Resistin 遺伝子の多型が関与していることが示唆された。また、PCOS 患者における Resistin 遺伝子多型は BMI、FPG、HOMA-IR、Adiponectin 値に関与していることが判明した。

F. 健康危険情報

特になし。

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

G. 研究発表

1. 論文発表

現在投稿中。

2. 学会発表

第 6 回日本内分泌学会北海道地方会
(2006 年 10 月)。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定
を含む。）

1. 特許取得

予定なし。

2. 実用新案登録

予定なし。

3. その他

特になし。

IgG avidity と PCR 法を用いた先天性トキソプラズマ症の管理

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

研究要旨

先天性トキソプラズマ症では、胎児・新生児の水頭症、網脈絡膜炎、脳内石灰化、精神神経・運動障害などをきたす。本研究の目的は、トキソプラズマ IgG avidity 検査とトキソプラズマ PCR 検査法を確立し、先天性トキソプラズマ症の管理方針を新たに作成することである。前方視的研究として、妊娠初期にトキソプラズマ抗体（HA）が陽性で、かつ IgM 抗体が陽性の妊婦に対して、同意を得て母体血トキソプラズマ IgG avidity を測定した。また、母体血、羊水、出生時の臍帯血を採取し、Nested PCR 法でトキソプラズマの有無を検討し新生児感染の有無を調べた。

これまで、HA 陽性かつ IgM 陽性の 48 妊婦がエントリーし、IgG avidity 値は 3～80% を示した。母体血 3/48 人、羊水 2/32 人、臍帯血 0/36 人で PCR が陽性であった。1 症例で、出生前および分娩時羊水中でトキソプラズマ PCR が陽性だった。児に脳内石灰化を認めたが、臍帯血 PCR と IgM は陰性、髄液 PCR も陰性であった。本症例妊婦の IgG avidity 値は、23%（28 週）であった。以上の結果から、トキソプラズマ IgG avidity 値が 25%未満で急性感染症が疑われる。また、羊水 PCR 陽性は先天性トキソプラズマ症の診断マーカーとして有用と考えられた。したがって、トキソプラズマ感染疑いの妊婦において、IgG avidity と PCR を用いた妊娠・新生児管理は有用と考えられる。

（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

長 和俊、山田 俊

北海道大学病院周産母子センター

染では、通常、胎児感染は認められず、妊娠 14 週以前では、10%以下の胎児感染率であるが、流死産や重度な症状を呈する。妊娠 15～30 週では、20%の胎児感染率で、不顕性や軽度症状が多い。妊娠 31 週以降では、65%の胎児感染率だが、不顕性が多い。不顕性感染児では、出生時血清学的異常のみが認められるが、その 82%が小児期から 20 歳までに網脈絡膜炎を発症する。

今日まで、母体血中トキソプラズマ IgM の有無によって初感染時期が判断されてきた。しかしながら、近年、数ヶ月から数年間も IgM が陽性な persistent IgM の症例が存在することが知られてきたため、必ずしも IgM の有無によって感染時期を正確に推定することはできないと言える。また、国内では、PCR 法によるトキソプラズマ検査が可能な施設は極めて限られている。

本研究の目的は、初感染時期を判断するために有用とされるトキソプラズマ IgG avidity 検査とトキソプラズマ PCR 検査法

A. 研究目的

先天性トキソプラズマ症は、妊婦が原虫の *Toxoplasma gondii* をシストないしオーシストの形態で経口摂取し経胎盤性に児に感染することによって発症する。生肉・レバー摂食、ネコ科動物の糞便、土いじりなどが感染リスクである。母体は時に、慢性感染にいたり、脳や筋肉内にシストが形成される。

先天性トキソプラズマ症では、胎児・新生児の水頭症、網脈絡膜炎、脳内石灰化、精神神経・運動障害が、典型的な 4 大症状とされる。感染時期により、胎児への感染率と症状が異なる。妊娠 6 ヶ月以前の初感

を新たに確立し、臨床応用することによって、先天性トキソプラズマ症の管理方針を新たに作成することである。

B. 研究方法

前方視的研究として、妊娠初期にトキソプラズマ抗体（HA）が陽性で、かつ IgM 抗体が陽性の妊婦に対して、同意を得て母体血トキソプラズマ IgG avidity を測定（IDL）した。また、母体血、羊水、出生時の臍帯血を採取し、PCR 法（Nested PCR）でトキソプラズマの有無を検討（札幌ジェネティクスラボ）した。新生児感染の有無を調べた。

（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において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. 研究結果

現在まで、HA 抗体陽性かつ IgM 陽性の 48 妊婦がエントリーし、うち 36 人で分娩が終了した。トキソプラズマ IgG avidity 値は、3～80%を示した。初感染とされる 25%未満が 12 人（25%）、判定保留とされる 25～35%が 9 人、慢性感染とされる 35%以上は 27 人であった。

Nested PCR 法では、検体あたり数～10 ゲノムコピーで診断が可能で、30 例の陰性コントロールでは、すべて陰性であった。母体血 3/48 人、羊水 2/32 人、臍帯血 0/36 人で PCR が陽性であった。1 症例で、出生前および分娩時羊水中でトキソプラズマ PCR が陽性だった。その新生児は、脳内石灰化を認めたが、臍帯血 PCR と IgM は陰性で、髄液 PCR も陰性であった。本症例妊婦の IgG avidity 値は、23%（28 週）であった。IgG avidity 値 25%以上の 36 人中、胎内感染

が認められた症例はいなかった。

D. 考案

以上の結果から、トキソプラズマ IgG avidity 値が 25%未満で、急性感染症が強く疑われると考えられた。

また、羊水 PCR 陽性は、先天性トキソプラズマ症の診断マーカーとして有用と考えられた。IgG avidity 高値でかつ母体血 PCR 陽性が 2 例存在した。これは、トキソプラズマの慢性（持続）感染を示唆する結果かもしれない

したがって、トキソプラズマ感染疑いの妊婦において、IgG avidity と PCR を用いた妊娠・新生児管理は有用と考えられた。

E. 結論

これまでの結果から、トキソプラズマ感染スクリーニング法として、HA 抗体陽性者で IgM 陽性者は、IgG avidity 測定を実施し、25%未満では初感染が強く疑われるため、アセチルスピラマイシン治療が必要と考えられる。35%以上では、既往（慢性）感染が疑われる。

また、母体血ないし羊水 PCR 陽性者においてもアセチルスピラマイシンやファンシダールを用いた治療が必要と推察された。PCR 法はさらに、新生児感染症の診断に有用である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka K, Yamada H, Minami M, Kataoka S, Numazaki K, Minakami H, Tsutsumi H. (2006) Screening for vaginal shedding of cytomegalovirus in healthy pregnant women using real-time PCR: correlation of CMV in vagina and adverse outcome of pregnancy. *J Med Virol* 78, 757-759.

Shimada S, Nishida R, Takeda M, Iwabuchi K, Kishi R, Onoé K, Minakami H, Yamada H. (2006) Natural killer, natural killer T, helper and cytotoxic T cells in the decidua from sporadic miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 56, 193-200.

Yamada H, Shimada S, Nishida R, Yakubo K. (2006) Topological factors in placental surface arteries correlate with neonatal birth weight. *Hokkaido J Med Sci* 81(5), 365-370.

山田秀人, 松田秀雄, 上塘正人, 丸山有子, 平野秀人, 松岡 隆, 山田 俊, 妹尾匡人, 古谷健一, 八重樫伸夫, 水上尚典 (2006) 免疫グロブリンを用いた先天性サイトメガロウイルス感染症に対する胎児治療: 多施設研究の提案. *産婦人科の実際* 55(2), 257-265.

水江由佳, 西平 順, 西川 鑑, 太田智佳子, 山田 俊, 菅原正樹, 西川 聡, 神藤已佳, 山本智宏, 斎藤 豪, 水上尚典, 山田秀人 (2007) IgG avidity と PCR 法を用いた先天性トキソプラズマ感染症の管理: I. トキソプラズマ IgG avidity 測定系の確立. *産婦人科の実際* 56(1), 85-89.

2. 学会発表

山田秀人 (2006) 先天性ウイルス・トキソプラズマ感染症に対する新たな出生前医療の試み. 第 5 回東北出生前医学研究会 (特別講演) 3月4日, 仙台.

山田秀人 (2006) 先天性感染症に対する新たな出生前医療の試み. 道北産婦人科医学会 学術講演会 (特別講演), 11月16日, 旭川

山田秀人, 西川 鑑, 菅原正樹, 太田智佳子, 山田 俊, 西川 聡, 神藤已佳, 西平順 (2006) IgG avidity と PCR 法を用いた先天性トキソプラズマ感染症の管理. 第 46 回日本先天異常学会. 6月29-30日, 山形

山田秀人 (2006) 免疫グロブリンによる CCMVI 予防研究の紹介. 第 2 回免疫グロブリン胎児医療研究会, 7月11日, 宮崎

山田秀人, 山田 俊, 水上尚典 (2006) 妊婦抗リン脂質抗体スクリーニングによる産科異常の前方視的関連解析. 第 42 回日本周産期新生児医学会, 7月9-11日, 宮崎

山田秀人 (2006) 免疫グロブリンを用いた先天性サイトメガロウイルス感染症に対する胎児治療. 第 9 回北海道ウイルス感染症セミナーの会, 9月9日, 札幌

Yamada H, Shimada M, Takeda M, Minakami H, Nishida R (2006) Immunoglobulin stimulated macrophages carry anti-miscarriage effects in a mouse model. XVIII FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics. November 5-10, Kuala Lumpur, Malaysia

H. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
	なし						

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
岸玲子、中島そのみ、加藤静恵、小西香苗	「内分泌攪乱物質による小児の健康への影響—特に神経行動発達について—」	ホルモンと臨床	54 (3)	73-82	2006
Sasaki S, Kondo T, Sata F, Saijo Y, Katoh S, Nakajima S, Ishizuka M, Fujita S, Kishi R	Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1 and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subjects.	Mol Hum Reprod	12 (2)	77-83	2006
Nakajima S, Saijo Y, Kato S, Sasaki S, Uno A, Kanagami N, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Todaka T, Nakamura Y, Yanagiya S, Sengoku Y, Iida T, Sata F, Kishi R	Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age.	Environ Health Perspect	114 (5)	773-778	2006
Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Iida T, Washino N, Konishi K, Matuzawa S, Ban S, Sata F, Kishi R and Yoshimura T	Dioxin and related chemicals concentration in human milk.	Organohalogen Compounds	68	1608-1610	2006
守屋仁彦、田中博、三井貴彦、野々村克也	内分泌症候群(第2版) II - その他の内分泌疾患を含めて・ VII性分化、発育 その他 尿道下裂と類縁疾患.	別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ	No.2	610-613	2006

Moriya K, Kakizaki H, Tanaka H, Furuno T, Higashiyama H, Sano H, Kitta T and Katsuya Nonomura	Long-term cosmetic and sexual outcome of hypospadias surgery: Norm-related study in adolescent.	J Urol	176	1889-1992	2006
Moriya K, Kakizaki H, Tanaka H, Furuno T, Higashiyama H, Sano H, Kitta T and Katsuya Nonomura	Long-term patient-reported outcome of urinary symptoms after hypospadias surgery: Norm-related study in adolescent.	J Urol			in press
Ishizuka M, Nagai S, Sakamoto QK, Fujita S.	Plasma pharmacokinetics and CYP3A12-dependent metabolism of c-kit inhibitor imatinib in dogs.	Xenobiotica			in press
Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S	Di-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses tamoxifen-induced apoptosis in GH3 pituitary cells.	Arch Toxicol			in press
Ishizuka M, Okajima F, Tanikawa T, Min H, Tanaka KD, Sakamoto KQ, Fujita S	Elevated warfarin metabolism in warfarin-resistant roof rats (<i>Rattus rattus</i>) in Tokyo.	Drug Metab Dispos.	35	62-6.	2007
Muzandu K, Ishizuka M, Sakamoto KQ, Shaban Z, El Bohi K, Kazusaka A, Fujita S	Effect of lycopene and beta-carotene on peroxy-nitrite-mediated cellular modifications.	Toxicol Appl Pharmacol	215	330-340	2006
Jinno A, Maruyama Y, Ishizuka M, Kazusaka A, Nakamura A, Fujita S	Induction of cytochrome P450-1A by the equine estrogen equilenin, a new endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand.	J Steroid Biochem Mol Biol	98	48-55	2006
Miyamoto T, Yu YS, Sato H, Hayashi H, Sakugawa N, Ishikawa M, Sengoku K	Mutational analysis of the human MBX gene in four Korean families demonstrating microphthalmia with congenital cataract.	Turk J Pediatr			in press
Miyamoto T, Sato H, Yogev L, Kleiman S, Namiki M, Koh E, Sakugawa N, Hayashi H, Ishikawa M, Lamb DJ, Sengoku K	Is a genetic defect in FKBP6 a common cause of azoospermia?	Cell Mol Biol Lett	11	567-569	2006

Sato H, Miyamoto T, Yogev L, Namiki M, Koh E, Hayashi H, Sasaki Y, Ishikawa M, Lamb DJ, Matsumoto N, Birk OS, Niikawa N, Sengoku K	Polymorphic alleles of the human MEI1 gene are associated with human azoospermia by meiotic arrest.	J Hum Genet	51	533-540	2006
Sasaki Y, Miyamoto T, Hidaka Y, Sato H, Takuma N, Sengoku K, Sugimori H, Inaoka T, Aburano T.	Three-dimensional magnetic resonance imaging after ultrasonography for assessment of fetal gastroschisis.	Magn Reson Imaging	24	201-203	2006
山田秀人, 松田秀雄, 上塘正人, 丸山有子, 平野秀人, 松岡 隆, 山田 俊, 妹尾匡人, 古谷健一, 八重樫伸夫, 水上尚典	免疫グロブリンを用いた先天性サイトメガロウイルス感染症に対する胎児治療: 多施設研究の提案	産婦人科の実際	55(2)	257-265	2006
水江由佳, 西平 順, 西川 鑑, 太田智佳子, 山田 俊, 菅原正樹, 西川 聡, 神藤巳佳, 山本智宏, 斎藤 豪, 水上尚典, 山田秀人	IgG avidity と PCR 法を用いた先天性トキソプラズマ感染症の管理: I. トキソプラズマ IgG avidity 測定系の確立	産婦人科の実際	56(1)	85-89	2007
Tanaka K, Yamada H, Minami M, Kataoka S, Numazaki K, Minakami H, Tsutsumi H	Screening for vaginal shedding of cytomegalovirus in healthy pregnant women using real-time PCR: correlation of CMV in vagina and adverse outcome of pregnancy.	J Med Virol	78	757-759	2006
Shimada S, Nishida R, Takeda M, Iwabuchi K, Kishi R, Onoé K, Minakami H, Yamada H	Natural killer, natural killer T, helper and cytotoxic T cells in the decidua from sporadic miscarriage.	Am J Reprod Immunol	56	193-200	2006