

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

フォームドコンセントを得た後に血液からDNAを抽出し、また大学の倫理委員会の承認を得た後に解析が開始された。3つの遺伝子における全ての coding region において mutation 解析を施行した。

C. 研究結果

解析の結果、coding region 内においてヒト HOP2 遺伝子で1箇所、CDK2 遺伝子で1箇所さらに、MEISEZ 遺伝子で計11箇所の single nucleotide polymorphism (SNP)を検出した。これらの SNP において正常コントロール群とそのアレル、ゲノタイプの出現頻度を比較検討したところ、HOP2 及び CDK2 遺伝子では患者群とコントロール群で有意な差を認めなかった。しかしながら、ヒト MEISEZ 遺伝子においては今回検出された11の SNPのうちその2箇所において患者群とコントロール群でそのアレルおよびゲノタイプの出現頻度において統計学的な有意差を認めた ($p < 0.05$)。

D. E 考察及び結論

本研究により、ヒト MEISEZ 遺伝子がヒト無精子症特にその精子形成過程における減数分裂に関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Sasaki Y, Jinno Y, Ishikawa M. GATM, The human ortholog of the mouse imprinting Gatm gene, escapes genomic imprinting in placenta. *Genet Mol Biol* 28 (1): 44-45. 2005.
- 2) 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 in human? *Cell Mol Biol Lett* 11(4): 557-569. 2006.
- 3) 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.
- 4) Sasaki Y, Miyamoto T, Hidaka Y, Satoh 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(2):201-3. 2006

- 5) Kikuchi R, Tsuda H, Kanai Y, Kasamatsu T, Sengoku K, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I. Promoter hypermethylation contributes to frequent inactivation of a putative conditional tumor suppressor gene connective tissue growth factor in ovarian cancer. *Cancer Res*. 67(15):7095-105. 2007
- 6) 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*.;49(3):334-6. 2007.
- 7) Inaoka T, Sugimori H, Sasaki Y, Takahashi K, Sengoku K, Takada N, Aburano T. VIBE MRI for evaluating the normal and abnormal gastrointestinal tract in fetuses. *AJR Am J Roentgenol*. 189(6):W303-8. 2007.

2. 学会発表

- 1) 宮本 敏伸、佐久川 直子、佐藤 恒、堀川道晴、千石 一雄 [ヒト無精子症原因候補遺伝子であるヒトFKBP6 遺伝子の解析] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 2) 片山 英人、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄 [子宮頸癌Sentinel nodeにおける微小転移検索について] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 3) 横浜 祐子、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄 [子宮体癌におけるホメオボックス遺伝子HOXの過剰発現と浸潤転移能の解析] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 4) 佐藤 恒、佐久川 直子、宮本 敏伸、堀川道晴、千石 一雄 [ヒト無精子症の原因遺伝子であるヒトMEI1 の同定および無精子症例における解析] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 5) 佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、堀川道晴、千石 一雄 [男性不妊症に対する精巣内精子採取術 (TESE-ICSI) についての検討] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 6) 佐々木 禎仁、北 香、日高 康弘、田熊直之、千石 一雄 [胎児消化管異常における3D-MRIによる評価] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 7) 田熊 直之、北 香、佐々木 禎仁、日高 康弘、千石 一雄 [非典型的な子宮破裂3症例の検討] 第57回日本産科婦人科学会学術講演会
- 8) 荻野元子、渡邊まり子、加藤育民、片山英人、西脇邦彦、山下剛、千石一雄 [成熟嚢胞性奇形腫摘出術における体内法と体外法の比較] 第13回北海道婦人科内視鏡学会
- 9) 片山英人、渡邊まり子、荻野元子、加藤育

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

民、西脇邦彦、山下剛、千石一雄〔早期子宮
体癌症例において腹腔鏡下手術は成立する
か〕第13回北海道婦人科内視鏡学会

10) 荻野元子、山下剛、千石一雄〔主治医が
苦慮する終末期患者の精神的サポート（緩和
ケアチームに依頼した4症例の検討）〕第1
9回日本サイコオンコロジー学会

11) 佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、
堀川 道晴、千石 一雄〔男性不妊症に対す
る精巣内精子採取術-卵細胞質内精子注入法
（TESE-ICSI）についての検討〕第4回北海道
生殖医療カンファレンス

12) 菊池 良子、千石 一雄〔CGHアレイによ
る卵巣癌の網羅的ゲノム解析〕第40回日本
婦人科腫瘍学会

13) 安達 かおり、金井 麻子、北 香、日
高 康弘、伊藤 秀行、田熊 直之、千石 一
雄〔当科における術式を統一した最近2年間
の前置胎盤症例の検討 第4回周産期談話会
他合計 76回

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・生殖内分泌科准教授

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。また、候補遺伝子の多型が、インスリン抵抗性やBMI、男性ホルモン値などの臨床パラメーターにどのように影響するのかを明らかにする。

研究協力者

馬場 剛

札幌医科大学産婦人科講師

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： $HOMA-IR = FPG \text{ (mg/dl)} \times IRI \text{ (}\mu\text{ IU/ml)} \div 405$ 。

また、ホルモン値など臨床パラメーターの比較のため、出産例以外の健常者を新コントロール群として抽出し、PCOS群と非出産健常コントロール群とで新たに検討することとした。

（倫理面への配慮）

全対象者に文書による説明を行い、

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に関与することも明らかにされつつあり、メタボリック症候群のリスク群としても認識されている。従って、本疾患の解明は厚生行政においても有意義であると考えられる。

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、インスリン抵抗性に関与するInsulin Receptor Substrate-1 (IRS-1)、Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (ENPP1)、Resistin (RETN)、Adiponectin (apM1)について、SNPとPCOSとの関連を検討した。

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

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、ENPP1、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。

PCOS 群と非妊娠健常コントロール群との各種パラメーターの比較に関しては、現在コントロールの症例を蓄積中でまだデータは得られていない。

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。

今回の検討では、出産症例をコントロールとして用いたため、排卵障害の影響を極力排除することが可能であったが、BMI 値が非妊時のデータを用いることが困難だった点、また妊娠の影響のため各種ホルモン値の比較が困難だった点が問題となり、現在前述した新コントロール群の症例を蓄積中である。

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。

G. 研究発表

1. 論文発表

Life Sci. 2007 Aug 16;81(10):850-4.
Epub 2007 Aug 7

2. 学会発表

第 59 回日本産科婦人科学会（2007 年 4 月）。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

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

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・発達医学講座周産期医学分野教授

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
准教授
山田 俊 北海道大学病院
周産母子センター 助教
長 和俊 北海道大学病院
周産母子センター 准教授

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

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

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 (札幌ジェネティックラボ) 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. 研究発表

1. 論文発表

Yamada H, Sata F, Saijo Y, Kishi R, Minakami H. (2005) Genetic factors of fetal growth restriction and miscarriage. *Semin Thromb Hemost* 31(3), 334-345.

Yamada H, Shimada S, Morikawa M, Iwabuchi K, Kishi R, Onoé K, Minakami H. (2005) Divergence of natural killer cell receptor and related molecule in the decidua from sporadic miscarriage with normal chromosome karyotype. *Mol Human Reprod* 11(6), 451-457.

Yamada H, Cho K, Yamada T, Minakami H. (2005) Early-onset group B streptococcal neonatal infection in the Hokkaido University Hospital during the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Journal of the Hokkaido Obstetrical and Gynecological Society* 48(1), 20-22.

Kataoka S, Yamada T, Chou K, Nishida R, Morikawa M, Minami M, Yamada H, Sakuragi N, Minakami H. (2006) Association between preterm birth and vaginal colonization by mycoplasma in early pregnancy. *J Clin Microbiol* 44(1), 51-55.

森川 守, 山田秀人, 平山恵美, 片岡宙門, 島田茂樹, 渡利道子, 山田 俊, 長和俊, 森本裕二, 水上尚典 (2005) 脊髄損傷合併妊娠の 1 例. *周産期医学* 35, 427-430.

森川 守, 山田秀人, 山田 俊, 平山恵美, 島田茂樹, 片岡宙門, 長和俊, 水上尚典 (2005) 胎児尿膜管遺残の 1 例. *周産期医学* 35, 875-877.

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.

Sata F, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamada T, Minakami H, Kishi R. (2006) Maternal functional catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenetics (Pharmacogenetics Genomics)* 16, 775-781.

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, 神藤巳佳, 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.

Tamrakar R, Yamada T, Furuta I, Cho K, Morikawa M, Yamada H, Sakuragi N, Minakami H. (2007) The association between *Lactobacillus* species and bacterial vaginosis-related bacteria, and bacterial vaginosis scores in pregnant Japanese women. *BMC Infect Dis* 7(1):128

Baba T, Endo T, Sata F, Honnma H, Manase K, Kanaya M, Yamada H, Minakami H, Kishi R, Saito T. (2007) Polycystic ovary syndrome is associated with genetic polymorphism in the insulin signaling gene *IRS-1* but not *ENPP1* in

a Japanese population. *Life Sci* 81(10), 850-854.

Takeda M, Yamada H, Iwabuchi K, Shimada S, Sakuragi N, Minakami H, Onoé K. (2007) Administration of high-dose intact immunoglobulin has an anti-miscarriage effect in a mouse model of reproductive failure. *Mol Hum Reprod* 13(11):807-814

山本智宏, 西平 順, 西脇森衛, 西川 鑑, 太田智佳子, 山田 俊, 菅原正樹, 西川 聡, 神藤巳佳, 水江由佳, 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: II. Multiplex-Nested PCR 法によるトキソプラズマゲノム DNA の検出.

産婦人科の実際 56(2), 253-256.

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, 西平 順, 水江由佳, 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: III. これまでの前方視的症例解析の結果.

産婦人科の実際 56(3), 477-481.

西川 鑑, 両坂美和, 北島義盛, 菅原正樹, 山田秀人 (2007): 北海道における妊婦のトキソプラズマ抗体保有率, 北海道産科婦人科学会会誌 51(1), 20-22.

山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会 (2007): 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, ウイルス感染症セミナー 9, 7-12.

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

2. 学会発表

Yamada H. (2005) Immunologic/ Genetic Background and Immunoglobulin Therapy in Recurrent Miscarriage. 3rd Annual Meeting of Youngnam Infertility Society. April 23, Daegu, Korea (招請特別講演).

Yamada H. (2005) Genetic/ Immunologic Background and Immunoglobulin Therapy in Recurrent Miscarriage. 1st International symposium on declining birthrate and aging society. October 14-16, Sapporo, (シンポジウム)

山田秀人, 山田 俊, 長 和俊, 水上尚典 (2005) 早産と前期破水のオーバービュー「早産をめぐる諸問題」. 第 18 回実地医家と助産師のための周産期セミナー (シンポジウム). 7 月 31 日, 札幌.

山田秀人 (2005) 免疫グロブリンを用いた先天性 CMV 感染症と先天性パルボ B19 ウイルス感染症の治療経験. 第 1 回免疫グロブリン胎児医療研究会, 7 月 29 日, 小樽

山田秀人, 松田秀雄, 上塘正人, 丸山有子, 佐藤 朗, 松岡 隆, 古谷健一, 八重樫信生, 水上尚典 (2005) 免疫グロブリンを用いた胎児治療、特に母子ウイルス感染治療の可能性. 第 3 回北海道周産期談話会. 9 月 17 日, 札幌

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

山田秀人, 出口圭三, 南真志穂, 涌井之雄, 峰松俊夫 (2007) 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン胎児治療症例と予防研究の展開. 第 25 回日本産婦人科感染症研究会「サイトメ

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

「ガロウイルスと母子感染」(シンポジウム), 6月16日, 東京

山田秀人, 西川 鑑, 菅原正樹, 太田智佳子, 山田 俊, 馬場 剛, 神藤巳佳, 山本智宏, 水江由佳, 西平 順, 斉藤 豪, 水上尚典 (2007) IgG avidity と Nested PCR を用いた先天性トキソプラズマ症の管理: 前方視的研究のこれまでの結果. 第25回日本産婦人科感染症研究会, 6月16日, 東京

山田秀人, 西川 鑑, 菅原正樹, 太田智佳子, 山田 俊, 馬場 剛, 神藤巳佳, 山本智宏, 水江由佳, 西平 順, 水上尚典 (2007) IgG avidity と Nested PCR を用いた先天性トキソプラズマ症の管理: 前方視的研究. 第47回日本先天異常学会, 7月7-9日, 名古屋

山田秀人, 出口圭三, 南真志穂, 涌井之雄, 峰松俊夫, 水上尚典 (2007) 免疫グロブリンによる CCMVI 予防研究. 第3回免疫グロブリン胎児医療研究会, 7月10日, 東京

Yamada H. (2007) Recurrent miscarriage, genetic/immunologic factor and immunoglobulin therapy. 5th European Congress of Reproductive Immunology. August 30-September 2, Berlin, Germany (招請講演).

Yamada H, Atsumi T, Kobashi G, Ota C, Kato H.E, Tsuruga N, Ohta K, Koike T, Minakami H (2007) Antiphospholipid antibody increased risks of adverse pregnancy outcomes in a prospective

study. 8th World Congress of Perinatal Medicine September 9-13, Florence, Italy.

山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会 (2007) 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55回日本産科婦人科学会北日本連合地方部会「New Knowledge in Perinatology」(シンポジウム), 10月5-6日

山田秀人, 島田茂樹, 武田真光, 森川 守, 水上尚典 (2007) 難治性習慣流産に対する妊娠初期免疫グロブリン大量療法. 第52回日本生殖医学会学術講演会「免疫からみた不妊・不育」(シンポジウム), 10月25-26日, 秋田

山田秀人, 山田崇弘, 北海道大学病院臨床遺伝子診療部 (2007) 北大病院における出生前遺伝子診断の現況. 第10回北海道出生前診断研究会. 11月10日, 札幌

山田秀人, 渥美達也, 小橋 元, 太田智佳子, 敦賀律子, 平山恵美, 太田薫里, 小池隆夫, 水上尚典 (2007) 抗リン脂質抗体の妊婦スクリーニングによる産科異常の前方視的関連解析. 第22回日本生殖免疫学会学術講演会「妊娠高血圧症候群と免疫」(シンポジウム), 11月30日, 12月1日, 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

免疫学的生殖不全病態の解明と治療方法の開発

分担研究者 櫻木 範明 北海道大学大学院医学研究科
生殖・発達医学講座生殖内分泌腫瘍学分野教授

研究要旨

ヒト材料およびマウスモデルを用いて、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、M ϕ 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 deviation (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。

免疫グロブリン(Ig)薬理作用機構の解明を目的として、poly(I:C)誘導の流産マウスモデル(CBA/J \times DBA/2J)を作成した。流産マウスモデルへのインタクト型Ig投与(0.8g/kgを3日間i.p)によって、流産率は55%から10%に抑制された。しかし、Fab型Igの投与では、この流産抑制効果は認められなかった。流産抑制効果は、IgのFc部分を介するものと考えられた。この0.8g/kg、3日間の投与方法では、ヒトIg治療に用いられる投与量に近似する。また、流産マウスモデルにIg負荷非妊娠マウスから得られた脾細胞を養子移入することによって、この流産抑制効果が再現できたことから、Igにより刺激を受けた脾細胞分画が流産抑制効果に介在することが判明した。次に、胎盤のRT-PCR解析により、poly(I:C)刺激により上昇したIFN- γ ならびにTNF- α mRNAが正常レベルまでに抑制されることが明らかとなった。

(研究協力者)

山田秀人 北海道大学大学院医学研究科
准教授

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、M ϕ の役割を解明することを目的とした。

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、M ϕ 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

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. 研究結果

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。

2) 免疫グロブリン(Ig)薬理作用機構の解明を目的として、poly(I:C) 誘導の流産マウスモデル (CBA/J×DBA/2J) を作成した。流産マウスモデルへのインタクト型 Ig 投与 (0.8g/kg を 3 日間 i. p) によって、流産率は 55%から 10%に抑制された。しかし、Fab 型 Ig の投与では、この流産抑制効果は認められなかった。流産抑制効果は、Ig の Fc 部分を介するものと考えられた。この 0.8g/kg, 3 日間の投与方法では、ヒト Ig 治療に用いられる投与量に近似する。また、流産マウスモデルに Ig 負荷非妊娠マウスから得られた脾細胞を養子移入することによって、この流産抑制効果が再現できたことから、Ig により刺激を受けた脾細胞分画が流産抑制効果に介在することが判明した。次に、胎盤の RT-PCR 解析により、poly(I:C) 刺激により上昇した IFN- γ ならびに TNF- α mRNA が正常レベルまでに抑制されることが明らかとなった。したがって、流産マウスモデルにおける Ig の流産抑制効果は、局所での炎症性サイトカイン産生の抑制によると考えられる。

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、局所での炎症性サイトカイン産生の抑制により、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術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 deviation (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。免疫グロブリンには、流産抑止効果があると考えられる。

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, Sata F, Saijo Y, Kishi R, Minakami H. (2005) Genetic factors of fetal growth restriction and miscarriage. *Semin Thromb Hemost* 31(3), 334-345.

Yamada H, Shimada S, Morikawa M, Iwabuchi K, Kishi R, Onoé K, Minakami H. (2005) Divergence of natural killer cell receptor and related molecule in the decidua from sporadic miscarriage with normal chromosome karyotype. *Mol Human Reprod* 11(6), 451-457.

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.

Takeda M, Yamada H, Iwabuchi K, Shimada S, Sakuragi N, Minakami H, Onoé K. (2007) Administration of high-dose intact immunoglobulin has an anti-miscarriage effect in a mouse model of reproductive failure. *Mol Hum Reprod* 13(11):807-814

2. 学会発表

Yamada H. (2005) Immunologic/ Genetic Background and Immunoglobulin Therapy in Recurrent Miscarriage. 3rd Annual Meeting of Youngnam Infertility Society. April 23, Daegu, Korea (招請特別講演).

Yamada H. (2005) Genetic/ Immunologic Background and Immunoglobulin Therapy in Recurrent Miscarriage. 1st International symposium on declining birthrate and aging society. October 14-16, Sapporo, (シンポジウム)

Yamada H. (2007) Recurrent miscarriage, genetic/immunologic factor and immunoglobulin therapy. 5th European Congress of Reproductive Immunology. August 30-September 2, Berlin, Germany (招請講演).

山田秀人, 島田茂樹, 武田真光, 森川 守, 水上尚典 (2007) 難治性習慣流産に対する妊娠初期免疫グロブリン大量療法. 第52回日本生殖医学会学術講演会「免疫からみた不妊・不育」(シンポジウム), 10月25-26日, 秋田

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. 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
Refat NAGA, Ibrahim ZS, Moustafa GG, Sakamoto KQ, Ishizuka M, Fujita S	The Induction of Cytochrome P450 1A1 by Sudan Dyes.	Journal of Biochemi cal and Molecular Toxicology			in press
Sasaki N, Sakai N, Ikenaka Y, Kamiya T, Heewon M, Sakamoto K, Ishizuka M, Fujita S	Antibiotic Furazolidone Induces CYP1A But Not CYP2E1 Subfamily in Rat Liver.	The Journal of Veterinary Medical Science			in press
山田秀人, 免疫グロブリン胎児 医療研究会	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	ウイルス感 染症セミナ ー	9	7-12	2007
西川鑑, 両坂美和, 北島義盛, 菅原正樹, 山田秀人	北海道における妊婦のト キソプラズマ抗体保有率	北海道産科 婦人科学会 会誌	51(1)	20-22	2007
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, 西平順, 水江由佳, 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: III. これ までの前方視的症例解析 の結果	産婦人科の 実際	56(3)	477-481	2007
山本智宏, 西平順, 西脇森衛, 西川鑑, 太田智佳子, 山田俊, 菅原正樹, 西川聡, 神藤已佳, 水江由佳, 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: II. Multiplex-Nested PCR 法 によるトキソプラズマゲ ノム DNA の検出	産婦人科の 実際	56(2)	253-256	2007
Takeda M, Yamada H, Iwabuchi K, Shimada S, Sakuragi N, Minakami H, Onoé K	Administration of high-dose intact immunoglobulin has an anti-miscarriage effect in a mouse model of reproductive failure.	Molecular human reproducti on	13(11)	807-814	2007

Baba T, Endo T, Sata F, Honnma H, Manase K, Kanaya M, Yamada H, Minakami H, Kishi R, Saito T	Polycystic ovary syndrome is associated with genetic polymorphism in the insulin signaling gene IRS-1 but not ENPP1 in a Japanese population.	Life Sciences	81(10)	850-854	2007
Tamrakar R, Yamada T, Furuta I, Cho K, Morikawa M, Yamada H, Sakuragi N, Minakami H	The association between Lactobacillus species and bacterial vaginosis-related bacteria, and bacterial vaginosis scores in pregnant Japanese women.	BMC infectious diseases	7(1)	128	2007
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
Baba T, Endo T, Honnma H, Kitajima Y, Hayashi T, Ikeda H, Masumori N, Kamiya H, Moriwaka O, Saito T	Association between polycystic ovary syndrome and female-to-male transsexuals.	Human Reproduction	22	1011-1016	2007
Kitajima Y, Endo T, Hayashi T, Ishioka S, Baba T, Honnma H, Saito T	A successful IVF-pregnancy in a patient who underwent conservative surgery followed by a regimen of cisplatin, vinblastin and pepleomycin to treat an advanced mixed germ cell tumor: a case report.	Human Reproduction	22	850-852	2007
Ishioka S, Ezaka Y, Umemura K, Hayashi T, Endo T, Saito T	Proteomic analysis of mechanisms of hypoxia-induced apoptosis in trophoblastic cells.	International Journal of Medical Sciences	4	36-44	2007
Ishioka S, Endo T, Hayashi T, Baba T, Umemura K, Saito T	Pregnancy-related complications after vaginal radical trachelectomy for early-stage invasive uterine cervical cancer.	International Journal of Clinical Oncology	12	350-355	2007

Ishioka S, Hayashi T, Endo T, Baba T, Honma H, Saito T	Advanced epithelial ovarian carcinoma during pregnancy.	International Journal of Clinical Oncology	12	375-378	2007
Kikuchi R, Tsuda H, Kanai Y, Kasamatsu T, Sengoku K, Hirohashi S, Inazawa J, Imoto I	Promoter hypermethylation contributes to frequent inactivation of a putative conditional tumor suppressor gene connective tissue growth factor in ovarian cancer.	Cancer research	67(15)	7095-7105	2007
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.	The Turkish journal of pediatrics	49(3)	334-336	2007
Inaoka T, Sugimori H, Sasaki Y, Takahashi K, Sengoku K, Takada N, Aburano T	VIBE MRI for evaluating the normal and abnormal gastrointestinal tract in fetuses.	AJR. American journal of roentgenology	189(6)	W303-308	2007
Moriya K, Kakizaki H, Tanaka H, Mitsui T, Furuno T, Kitta T, Higashiyama H, Sano H, Nonomura K	Long-term patient reported outcome of urinary symptoms after hypospadias surgery: norm related study in adolescents.	The Journal of urology	178	1659-1662	2007
Moustafa GG, Ibrahim ZS, Hashimoto Y, Alkelch AM, Sakamoto KQ, Ishizuka M, Fujita S	Testicular toxicity of profenofos in matured male rats.	Archives of toxicology	81(12)	875-881	2007
Ban S, Kondo T, Ishizuka M, Sasaki S, Konishi K, Washino N, Fujita S, Kishi R	Using Microarray Analysis to Evaluate Genetic Polymorphisms Involved in the Metabolism of Environmental Chemicals.	Fukuoka Acta Medica	89	208-214	2007
Ishizuka M, Nagai S, Sakamoto KQ, Fujita S	Plasma pharmacokinetics and CYP3A12-dependent metabolism of c-kit inhibitor imatinib in dogs.	Xenobiotica	37(5)	503-513	2007
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	62-66	2007

Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S	Di-(2-ethylhexyl)phthalate suppresses tamoxifen-induced apoptosis in GH3 pituitary cells.	Archives of toxicology	81	27-33	2007
中澤裕之、伊藤里恵、岩崎雄介、中田彩子、斉藤貢	「内分泌かく乱化学物質とリスク評価への応用」	分析化学	56	1005-1018	2007
Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R, Iida T, Furue M	Concentration of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan.	Chemosphere	69	1228-1237	2007
Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R, Iida T, Furue M	Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan.	Organohalogen Compounds	69	789-792	2007
Inoue S, Hori T, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R	Congener specific determination of PCBs in human breast milk collected from Hokkaido, Japan.	Organohalogen Compounds	69	1997-2000	2007
Ban S, Kondo T, Sasaki S, Konishi K, Washio N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Ishizuka M, Fujita S, Kishi R	Correlations among serum PCB/dioxin levels, smoking status, and gene polymorphisms in mothers from Hokkaido, Japan.	Organohalogen Compounds	69	2039-2041	2007
Washino N, Saijo Y, Konishi K, Kato S, Sasaki S, Ban S, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Inoue S, Kishi R	The effect of prenatal exposure to dioxins on cord serum Ige.	Organohalogen Compounds	69	2106-2108	2007
Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Inoue S, Kishi R	Effects of prenatal exposure to dioxins and methyl mercury on birth weight.	Organohalogen Compounds	69	2109-2112	2007

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
Sata F, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamada T, Minakami H, Kishi R	Maternal functional catechol- <i>O</i> methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. Pharmacogenetics.	Pharmacog enet Genomics	16	775-781	2006
Yamada H, Shimada S, Nishida R, Yakubo K	Topological factors in placental surface arteries correlate with neonatal birth weight.	The Hokkaido journal of medical science	81(5)	365-370	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
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.	Journal of medical virology	78	757-759	2006
Kataoka S, Yamada T, Chou K, Nishida R, Morikawa M, Minami M, Yamada H, Sakuragi N, Minakami H	Association between preterm birth and vaginal colonization by mycoplasma in early pregnancy.	Journal of clinical microbiolo gy	44(1)	51-55	2006
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 in human?	Cellular & molecular biology letters	11(4)	557-569	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.	Journal of human genetics	51	533-540	2006