

岸 玲子：尿道下裂リスクと葉酸代謝酵素
Methylenetetrahydrofolate reductase
(MTHFR)遺伝子多型との関連. 平成 17 年
1 月 日本疫学会

唇裂口蓋裂リスク要因に関する文献研究

分担研究者 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

研究要旨

唇裂口蓋裂は先天奇形のなかで頻度の高い疾患のひとつで日本人の発症頻度は約 2.1 人/1000 出生である。この疾患は環境要因および遺伝要因の多因子によって発症すると考えられているが、近年の人間を取り巻く環境の変化や遺伝学的研究の進歩に伴ってこの疾患の原因における見解は変化している。そこでこれまでの文献をレビューしリスク要因を整理した。本疾患では、以前は環境要因それぞれの発症リスク評価、染色体異常や奇形症候群の一症状としての検討が研究の中心であった。しかし最近の 10 年で本疾患の候補遺伝子が次々に明らかにされ、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。

用語：唇裂口蓋裂（Orofacial cleft : OFC）、唇裂（Cleft lip : CL）、口蓋裂（Cleft palate : CP）、喫煙（smoking）、葉酸（folic acid）

【研究協力者】

松澤重行、佐田文宏、西條泰明、坂 晋、
竹田誠、戸屋真吾、鷺野考揚、小西香苗、
鈴木佳奈、東 倫子、金澤文子、小池 晶、
田中亜美

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

唇裂口蓋裂（Orofacial Cleft : OFC）は先天奇形のなかで頻度の高い疾患のひとつである。この疾患の発生原因として、以前からいくつかの環境要因、および遺伝的要因が指摘されてきた。しかし、近年、人体に影響を及ぼす環境化学物質として内分泌かく乱物質をはじめいくつかの新しい物質の存在が指摘されている。また遺伝学的研究の進歩もあって、この疾患の原因について見解が変化しつつある。我々はこの点に注目し、1966 年からの疫学研究を MEDLINE により検索し、レビューする。

B. 研究方法

OFC のリスク要因に関する疫学研究を 1966 年にさかのぼって PubMed を利用して検索した。フィールド限定検索を用いてヒトを対象とする文献のみを対象とした。

検索用語には以下の MeSH (Medical Subject Headings) 用語を用いた：“cleft palate”、“cleft lip”、“smoking”、“alcohols”、“folic acid”、“vitamins”、“epilepsy”。また、次に示す 2 つの方法で文献を検索した。

(1) MeSH 用語の階層構造を利用した検索：MeSH データベースで“cleft palate（または cleft lip）”を選択し、さらに副項目を選択して文献を収集した（検索式は“cleft palate/副項目”[MeSH]）。副項目には chemically induced、genetics、epidemiology の 3 項目を使用した。

(2) MeSH 用語の論理積（AND）による検索：検索式を“cleft palate (lip)”[MeSH] AND “主なリスク要因”[MeSH]として検索した。主なリスク要因として smoking、alcohol、folic acid、vitamins、epilepsy の各 MeSH 用語を用いた。

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言われている。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 発症リスクを低下せるとする意見があるが一貫しない。

v. 職業曝露

移動、およびコミュニケーションに関連した職業は児の OFC 発症と関連がある。

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

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に見出されている。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。

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の発症を担うのではなく、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について述べた。

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。このことによっ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っ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っ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っ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っ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。

妊婦の血清葉酸値が児の子宮内発育遅延などの発育に及ぼす影響

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
分担研究者 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 遠藤 俊明 札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科准教授
分担研究者 石川 睦男 旭川医科大学付属病院病院長
分担研究者 千石 一雄 旭川医科大学医学部産婦人科学講座教授

研究の要旨

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】

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

【研究協力機関】

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、
旭川医科大学病院、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、札幌東豊病
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、朋佑会札幌産科婦人科、北海道
大学病院、公立芽室病院、道立紋別病院、
市立稚内病院

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。

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）。

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%CI1.3-5.0）と有意にリスクが上昇した（表 3）。

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。Ronnenber(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

- (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

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)

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

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

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
分担研究者 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 遠藤 俊明 札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科准教授
分担研究者 石川 睦男 旭川医科大学付属病院病院長
分担研究者 千石 一雄 旭川医科大学医学部産婦人科学講座教授

研究の要旨

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】

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

【研究協力機関】

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、旭川医科大学病院、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、札幌東豊病院、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、朋佑会札幌産科婦人科、北海道大学病院、公立芽室病院、道立紋別病院、市立稚内病院

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 週末満）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。

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。

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）

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。

D. 考察

今回対象となった妊婦の血清葉酸値は、 $7.3 \pm 2.4 \text{ ng/ml}$ 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 $3.6 \sim 12.9 \text{ ng/ml}$ 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、C677T 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

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)

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	CC	ref
	CT	-0.007
	TT	-0.014
<i>MTHFR</i> A1298C	AA	ref
	AC	0.007
	CC	-0.014

重回帰分析

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

妊婦の血清葉酸値が児の体重に及ぼす影響

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
分担研究者 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 遠藤 俊明 札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科准教授
分担研究者 石川 睦男 旭川医科大学付属病院病院長
分担研究者 千石 一雄 旭川医科大学医学部産婦人科学講座 教授

研究要旨

これまでの研究により葉酸欠乏状態は神経管閉鎖不全などの先天奇形や、子宮内発育遅延を引き起こすことが知られている。しかし、日本人女性における、母体血中葉酸値と出生時体重における関連はほとんど知られていない。

本研究では、北海道における妊婦の妊娠初期の血清葉酸値が新生児の体格に及ぼす影響に関して検討を行った。

本研究は、北海道大学、札幌医科大学、旭川医科大学と各大学の関連病院（計 39 病院）に通院する妊婦を対象とする“環境と子どもの健康に関する北海道スタディ”参加者のうち、平成 15 年 11 月から平成 16 年 12 月までの葉酸サプリメントを摂取していない単胎児を出産した 3295 人を対象とした。

全妊婦の血清葉酸値を 4 分位にわけ、全妊婦の血清葉酸値の平均である 7.3ng/ml を含む群を基準とし、重回帰分析を行ったところ、血清葉酸値 5.6ng/ml 以下の群で児の出生時体重との関連がみられた（ $\beta=-0.062, p=0.004$ ）。在胎週数、児性別、出産歴、母親の妊娠前 BMI、出産時年齢、母親の教育歴、母親の妊娠初期喫煙状況を調整してもなお、血清葉酸値 5.7ng/ml 以下の群で児の出生時体重と有意な関連がみられた（ $\beta=-0.042, p=0.02$ ）。

【研究協力者】

佐田 文宏、吉岡 英治、坂 晋、
金澤 文子、鷺野 考揚、小西 香苗、
鈴木 佳奈、東 倫子、松澤 重行
北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野

【研究協力機関】

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、
旭川医科大学病院、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、
札幌東豊病院、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、朋佑会札幌産科婦
人科、北海道大学病院、公立芽室病院、道
立紋別病院、市立稚内病院

A. 研究目的

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。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、葉酸摂取不足が拡大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して葉酸摂取の必要性を認識させることは重要な検討課題と考えられる。本研究では、北海道における妊婦の妊娠初期の血清葉酸値が新生児の体重に及ぼす影響に関して検討を行った。

B. 研究方法

本研究は、北海道大学、札幌医科大学、旭川医科大学と各大学の関連病院（計 39 病院）に通院する妊婦を対象とする“環境と子どもの健康に関する北海道スタディ”参加者のうち、平成 15 年 11 月から平成 16 年 12 月までに、血液検体が溶血していた者（57 人）、先天異常を持つ児を出産した者（96 人）、内分泌障害の既往歴がある者（42 人）、データ不足の者（426 人）、葉酸代謝にかかわるサプリメントを服用している者（466 人）を除外し最終的に 3295 人を解析対象とした。

妊婦の血清葉酸値測定は妊娠初期（13 週未満）の血清 800 μ l を用いて、化学発光免疫測定法（CLIA 法）で測定した（(株) エスアールエル）。

妊娠初期（13 週未満）に自記式質問票により質問紙調査を行った。質問項目は、妊婦の基本的属性（出産時年齢、妊娠前身長、妊娠前体重、教育歴、世帯収入、既往歴、出産歴、葉酸サブ

リメントの摂取、妊娠初期の喫煙習慣）である。児の属性（新生児性別、在胎週数、出産時体重、奇形の有無）については、出産時に医療機関で記載された新生児個票から情報を得た。

妊娠初期の血清葉酸値が児の出生時体重に及ぼす影響を検討するために、児の出生時体重を従属変数とし、在胎週数、児性別、出産時年齢、母親の教育歴、出産歴、妊娠前 BMI、妊娠初期喫煙状況、血清葉酸値（4 分位にわけたもの）を独立変数とし、変数固定法で重回帰分析を行った。統計解析には The Statistical Package for Social Science (SPSS) for Windows ver. 12.0 (SPSS Inc.) を用いて行い、有意水準はいずれも $p < 0.05$ とした。

（倫理面への配慮）

本研究は、研究協力機関または代表研究機関の倫理委員会において承認のうえ実施している。インフォームドコンセントは「疫学研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」に基づいて行っている。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、対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払っている。

C. 研究結果

（1）対象者の基本的属性（table 1）

対象妊婦の血清葉酸値の中央値は 6.8ng/ml であった。低出生体重児（出生時体重が 2500g 未満）は 196 人（5.9%）であった。

（2）妊娠初期の血清葉酸値が児の出生時体重に及ぼす影響（table 2）

全妊婦の血清葉酸値を 4 分位にわけ、全妊婦の血清葉酸値の平均である 7.3ng/ml を含む群を基準とし、重回帰分析を行ったところ、血清葉酸値 5.6ng/ml 以下の群で児の出生時体重との関連がみられた（ $\beta = -0.062, p = 0.004$ ）。在胎