

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Yamamoto T, Murase T, Kuno S, Ichikawa G, Chisima F.	Leukocyte Subpopulation in Ascites of Women with Pre-Eclampsia.	<u>Am J Reprod Immunol.</u>	60(4)	318-324	2008
Tomohiro Nakayama, Tatsuo Yamamoto	Comparison between essential hypertension and pregnancy-induced hypertension:a genetic perspective	Endocrine Journal,	56(8)	921-934	2009
市川 剛、山本樹生	抗β2グリコプロテインI抗 体による絨毛障害	臨床免疫・ アレルギー科	52巻2号	188-189	2009
山本 樹生、青木 洋一、 中村 晃和	Ⅲ 不育症の検査・診断 B免疫 因子【抗リン脂質抗体】	臨床婦人科産科	第63巻 第4号	629-631	2009
山本樹生、市川 剛、 千島史尚	抗β2GPI抗体とその作用 機序	医学のあゆみ	233(2)	163-167	2010
Go Ichikawa, Tatsuo Yamamoto, Fumihisa Chishima , Akikazu Nakamura, Souichirou Kuno, Takayuki Murase, Manami Suzuki	Effects of anti β2-GPI antibody on PIGF ,VEGF and sVEGFR1 production from cultured choriocarcinoma cell line	J Obstet Gynecol Reseach			in press

総合分担研究報告 28

## 分担課題: 化学妊娠の発生頻度と患者背景に関する前方視的検討

研究分担者 藤井俊策 むつ総合病院産科婦人科  
福井淳史 弘前大学産科婦人科学助教

### 研究要旨

化学妊娠の発生頻度と患者背景を、生殖補助医療(ART)周期において後方視的に検討するとともに、不妊外来の通院患者を対象として前方視的に検討した。化学妊娠となった患者の背景には流産の既往、原因不明不妊、抗リン脂質抗体症候群、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)が認められ、母体側の要因も関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

化学妊娠は、血中に hCG が検出されたにもかかわらず臨床的妊娠徴候を確認できずに月経をみたものである。その多くは染色体異常など胚の異常が原因と考えられるが、反復する患者もあり、母体側の要因が関与する可能性がある。しかし、化学妊娠は臨床的妊娠からは除外されているため、原因や発生頻度の詳細は明らかにされていない。

そこで、化学妊娠の発生頻度や背景について、平成 20 年度は妊娠成立までのタイムテーブルが厳密に規定されている生殖補助医療(ART)周期を対象として後方視的に検討し、平成 21 年度～平成 22 年度は自然周期において前方視的に検討した。

### B. 研究方法

#### 1) ART 周期における後方視的検討

弘前大学医学部附属病院で施行した ART のうち、黄体補充に hCG を使用しなくなった平成 17 年以降の治療周期を対象とし、化学妊娠の発生頻度と患者の背景を後方視的に分析した。

#### 2) 自然周期における前方視的検討

当院不妊外来に定期的に通院し、タイミング指導または AIH を行っている患者のうち、原因不明不妊、排卵因子以外は正常な多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)および不育症を対象とした。月経発来予定日に尿 hCG 高感度定性試薬の自己検査を実施し、化学妊娠の発生頻度を検討した。月経発来予定日は、LH サージあるいは hCG 投与の 15 日後、または基礎体温の高温相 14 日目と

し、陽性例は尿および血清の hCG を定量して妊娠を確認した。なお、黄体補充に hCG は用いなかった。

(倫理面への配慮)

本研究は弘前大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得て行った。

### C. 研究結果

#### 1) ART 周期における後方視的検討

化学妊娠は 10 例の 10 周期、移植あたり 1.6% (10/608) で認められた。そのうち、不育症スクリーニング検査の陽性者は 5 例 (50%) で、全例が自己抗体または抗リン脂質抗体のいずれかが陽性であった。また、原因不明不妊と流産の既往も認められた。

一方、稽留流産または IUFD は 26 例の 29 周期で発生し、原因検索が行われた周期のうち不育症スクリーニング検査の陽性者は 4 例 (22.2%) のみで、そのうち 2 例は子宮奇形であった。また、66.7% (12/18) は染色体異常性または明らかな CAM が原因であった。

#### 2) 自然周期における前方視的検討

原因不明不妊 18 例、PCOS 13 例、不育症 14 例の計 45 例の 184 排卵周期について検討した。15 例の 17 周期(周期あたり 9.2%)で妊娠を確認し、うち 4 例の 4 周期(周期あたり 2.2%、妊娠あたり 23.5%)が化学妊娠であり、1 例が原因不明不妊、2 例が PCOS、1 例は抗 PE IgG 抗体陽性不育症であった。また、PCOS の 1 例と抗 PE 抗体陽性例は流産の既往を有した。

#### D. 考察

ART 周期を対象とした後方視的検討では、化学妊娠となった患者の背景には原因不明不妊、流産の既往、抗リン脂質抗体陽性が認められた。不妊症と不育症の病態にオーバーラップが示唆され、原因不明の長期不妊では不育症スクリーニング検査を施行したほうがよいと思われた。

一方、自然周期を対象とした前方視的検討では、血清 hCG が陽性となった周期のうち 30%が化学妊娠に終わり、化学妊娠が高頻度に起こっていることが示された。また、化学妊娠の背景には ART 周期と同様、抗リン脂質抗体陽性、流産の既往が認められ、さらに PCOS も発生に関与していることが示唆された。

#### E. 結論

化学妊娠は ART 周期のみならず自然妊娠周期でも高率に発生している可能性があり、母体側の因子が関与している可能性が示唆された。化学妊娠を臨床的妊娠として取り扱い、今後も引き続き基礎的なデータを集めて病態を検討する必要があると考えられた。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yuzawa E, Fujii S, Fukui A, et al. Retinoic acid-inducible gene-1 is induced by interferon-gamma and regulated CXCL11 expression in HeLa cells. *Life Science* 82: 670-675, 2008
- 2) Fujii S: Biomarkers for embryo quality. *J Mamm Ova Res* 25: 1. 2008
- 3) Wu R, Fujii S, et al. Ovarian leukocyte distribution and cytokine/chemokine mRNA expression in follicular fluid cells in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007;22:527-35.
- 4) Fukuhara R, Fujii S, Fukui A, et al. Erythrocytes counteract the negative effects of female ageing on mouse preimplantation embryo development and blastocyst formation. *Hum Reprod* 2008;23:2080-5.
- 5) Fukui A, Fujii S, et al. Correlation between

natural cytotoxicity receptors and intracellular cytokine expression of peripheral blood NK cells in women with recurrent pregnancy losses and implantation failures. *Am J Reprod Immunol* 62, 371-380, 2009.

- 6) Kimura H, Fukui A, Fujii S, et al. Timed sexual intercourse facilitates the recruitment of uterine CD56(bright) natural killer cells in women with infertility. *Am J Reprod Immunol* 62, 118-124, 2009.
  - 7) 藤井俊策, 福井淳史 他. 着床のメカニズム「NK細胞」. *Hormone Frontier in Gynecology* 16, 60-67, 2009.
  - 8) 福井淳史, 藤井俊策, 他: 受精卵着床不全におけるNK細胞の役割. *臨床免疫・アレルギー科* 52:158-165, 2009.
  - 9) 福井淳史, 藤井俊策, 他. 着床不全症例におけるNK細胞上 natural cytotoxicity receptors 発現とNK細胞産生サイトカイン. *日本受着会誌* 26:341-347, 2009.
  - 10) 福井淳史, 藤井俊策 他. 黄体中期子宮内膜および流産脱落膜 Natural Killer細胞における Natural Cytotoxicity Receptors 発現. *日本受精着床学会雑誌* 27 (1): 369-374, 2010
  - 11) Lee SK, Fukui A, et al. Fluctuation of Peripheral Blood T, B, and NK Cells during a Menstrual Cycle of Normal Healthy Women. *J Immunol*, 185: 756-762, 2010
- ##### 2. 学会発表
- 1) Fukui A, Fujii S, et al. Expression of Natural Cytotoxicity Receptors and a2V-ATPase on endometrial NK cells in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures, *Am J Reprod Immunol*, 59 (6), 509, 2008 (28<sup>th</sup> American Society for reproductive Immunology)
  - 2) Kimura H, Fukui A, Fujii S, et al. Expression of Natural Cytotoxicity Receptors and a2V-ATPase on peripheral blood NK cells in pregnancy women with repeated abortion, *Am J Reprod Immunol*, 59 (6), 510, 2008 (28<sup>th</sup> American Society for reproductive Immunology)
  - 3) Lee S, Fukui A, et al. Immune variables influencing regulatory T cell levels in

peripheral blood of normal healthy women,  
Am J Reprod Immunol, 59 (6), 509, 2008  
(28<sup>th</sup> American Society for reproductive  
Immunology)

- 4) Fukui A, Fujii S, et al. The Expression of Natural Cytotoxicity Receptors and production of NK cell cytokines in pregnant women with pregnancy induced hypertension. Am J Reprod Immunol, 59 (6), 509, 2008 (29<sup>th</sup> American Society for reproductive Immunology)
- 5) Fukui A, et al. The expression of natural cytotoxicity receptors on natural killer cells from midsecretory endometrium and aborted decidua. Reproductive Medicine and Endocrinology, 7 (4): 265, 2010 (20<sup>th</sup> World Congress of Fertility and Sterility)
- 6) Fukui A, et al. The expression of natural cytotoxicity receptors and the NK cell cytokines production in pregnant women with a history of recurrent pregnancy loss and pregnancy induced hypertension. Reproductive Medicine and Endocrinology, 7 (4): 265, 2010 (20<sup>th</sup> World Congress of Fertility and Sterility)
- 7) Fukui A. Uterine and circulating natural killer cells and their roles in women with recurrent pregnancy losses, implantation failures or preeclampsia. J Reprod Immunol, 86 (2): 87, 2010 (8<sup>th</sup> European Society for Reproductive Immunology)
- 8) Fukui A. NK cell and its role in reproduction. Am J Reprod Immunol, 64 Suppl1: 1, 2010 (2<sup>nd</sup> International Conference on reproductive Immunology)

#### 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

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Wu R, Fujii S, et al.	Ovarian leukocyte distribution and cytokine/chemokine mRNA expression in follicular fluid cells in women with polycystic ovary syndrome	Hum Reprod	22	575-35	2007
Yuzawa E, Fujii S, Fukui A, et al.	Retinoic acid-inducible gene-1 is induced by interferon-gamma and regulates CXCL11 expression in HeLa cells	Life Sci	82	670-5	2008
Fukuhara R, Fujii S, Fukui S, et al.	Erythrocytes counteract the negative effects of female ageing on mouse preimplantation embryo development and blastocyst formation	Hum Reprod	23	2080-5	2008
Fujii S	Biomarkers for embryo quality.	J Mamm Ova Res	25	1	2008
Fukui A, Fujii S, et al.	Correlation between natural cytotoxicity receptors and intracellular cytokine expression of peripheral blood NK cells in women with recurrent pregnancy losses and implantation failures.	Am J Reprod Immunol	62	371-380	2009
Kimura H, Fukui A, Fujii S, et al.	Timed sexual intercourse facilitates the recruitment of uterine CD56(bright) natural killer cells in women with infertility.	Am J Reprod Immunol	62	118-124	2009
藤井俊策,福井淳史 他	着床のメカニズム「NK細胞」	Hormone Frontier in Gynecology	16	60-67	2009
福井淳史,藤井俊策,他	受精卵着床不全におけるNK細胞の役割	臨床免疫・アレルギー科	52	158-165	2009
福井淳史,藤井俊策,他	着床不全症例におけるNK細胞上 natural cytotoxicity receptors 発現とNK細胞産生サイトカイン	日本受着会誌	26	341-347	2009

Lee SK, <u>Fukui A</u> , et al.	Fluctuation of Peripheral Blood T, B, and NK Cells during a Menstrual Cycle of Normal Healthy Women	J Immunol	185	756-762	2010
<u>福井淳史</u> , <u>藤井俊策</u> , 他	黄体中期子宮内膜および流産脱落膜Natural Killer細胞における Natural Cytotoxicity Receptors発現	日本受精着床学会雑誌	27 (1)	369-374	2010

総合分担研究報告 29



分担課題: 不育症患者の血小板機能の検討 -レーザー散乱粒子計測法を用いた検討-

研究分担者 杉 俊隆 東海大学医学部産婦人科非常勤教授

研究要旨

Thrombophilia は不育症、血栓症の原因となると考えられており、その治療として抗血小板療法である低用量アスピリン療法が広く行われているが、不育症患者の血小板機能に関する検討はほとんどなされていない。今回我々は、レーザー散乱粒子計測法を用いて不育症患者の血小板凝集能を検討した。我々は新しい不育症のリスクファクターとして抗 phosphatidylethanolamine (PE)抗体と第 XII 因子欠乏症を世界に先駆けて発見し、報告してきた。今回の研究により、これらのリスクファクターが血小板を介して流産を引き起こしている可能性が示唆された。レーザー散乱粒子計測法による血小板凝集能検査は、不育症の risk factor の病原性解明に有用であるのみならず、不育症のスクリーニング検査として有用であると思われた。

A. 研究目的

不育症の原因はいまだ不明の事が多く、これまでのところ不育症例に対するスクリーニング法や治療法の確立には至っていない。我々は、新たな不育症の risk factor として抗 phosphatidylethanolamine (PE)抗体と抗第 XII 因子抗体を既に報告してきたが、これらの自己抗体が不育症の原因であるのかを証明するために、疫学的研究と平行して基礎的研究を施行した。

不育症患者の中で、抗 PE 抗体陽性者の約 1/3 に第 XII 因子活性低下があり、その多くは抗第 XII 因子抗体を持つ事を我々は既に報告した。抗 PE 抗体陽性者の中でも、第 XII 因子活性低下をもつ症例がもっとも流産率が高いと考えられ、抗 PE 抗体と抗第 XII 因子抗体の関係を追求する事が不育症の病原性解明に重要と思われる。

抗 PE 抗体や第 XII 因子欠乏症など thrombophilia は不育症、血栓症の原因となると考えられており、その治療として抗血小板療法である低用量アスピリン療法が広く行われているが、不育症患者の血小板機能に関する検討はほとんどなされていない。我々は、抗 PE 抗体が *in vitro* で血小板凝集能を亢進させることは既に報告したが、従来の aggregometer では感度が悪く、*in vivo* の変化を捉える事が困難であった。今回我々は、レーザー散乱粒子計測法という高感度

の方法を用いて不育症患者の血小板凝集能を検討した。

B. 研究方法

まず、抗 PE 抗体の認識部位である、kininogen D3 の合成ペプチド、LDC27 と、抗第 XII 因子抗体の認識部位である、第 XII 因子 heavy chain の合成ペプチド、IPP30 を作成した。我々は既にこれらの合成ペプチドを抗原に用いて、ELISA 法にて抗 PE 抗体陽性患者血清を用いて epitope mapping を施行したところ、多くの不育症患者の抗 PE 抗体が LDC27 だけでなく、IPP30 を認識する事を報告した。そこで、今回我々は、これらの合成ペプチドをウサギに免疫し、ポリクローナル抗体を作成し、その認識部位を検討した。

さらに、インフォームド Consent のもとでレーザー散乱粒子計測法 (PA-20, KOWA) を用いて不育症患者の血小板凝集能を検討した。レーザー散乱粒子計測法は、フローサイトメーターに応用されている方法であり、従来の aggregometer の 100 倍感度が良いとされている。攪拌のみで生じる血小板の自然凝集を従来の aggregometer で検出することはまれであるが、本方法により多くの不育症患者に自然凝集が見い出された。

(倫理面への配慮)

本臨床疫学研究は、「疫学研究に関する倫理

指針」に基づく倫理的原則を遵守して実施した。疫学研究に関する倫理指針の第 3 インフォームド・コンセント等によれば、本研究は既存資料のみを用いる観察研究に相当するため、口頭のみでの同意とした。また、研究を実施していること・内容・方法などに関する情報を広報し(ポスターの公示)、また、研究に参加したくない場合に拒否できる機会を設けた。

### C. 研究結果

ELISA 上、LDC27 に対するポリクローナル抗体は IPP30 を認識した。また、IPP30 に対する抗体は LDC27 を認識した。これらのデータより、LDC27 を認識する抗 PE 抗体と、IPP30 を認識する抗第 XII 因子抗体は、類似した抗体である事が示唆された。

レーザー散乱粒子計測法を用いた不育症患者の血小板凝集能の検討では、不育症患者 94 人中、自然凝集を認めたのは 40.4%であった。一方、正常対照群では 6.7%に自然凝集を認めた。さらに、自然凝集を中等度以上に認めた 51 人について検討すると、抗 PE 抗体陽性は 39.2%、第 XII 因子欠乏は 37.3%、抗 PE 抗体陽性 and/or 第 XII 因子欠乏は 64.7%に認められ、自然凝集の無い 80 人の各陽性率(それぞれ、28.8%、20.0%、40.0%)に比較して高率であり、抗 PE 抗体陽性 and/or 第 XII 因子欠乏群では、統計学的に有意(64.7% vs 40.0%;  $p=0.006$ )であった。

一方で抗カルジオリピン抗体、プロテイン S 欠乏症、プロテイン C 欠乏症などは、自然凝集との相関は認められなかった。

### D. 考察

今回の研究より、不育症患者の約 40%に *in vivo* での血小板活性化が示唆され、如何に血液凝固系亢進が不育症のバックグラウンドに存在するかが明らかになった。

我々はすでに、不育症患者のもつ抗第 XII 因子抗体の 76.5%が第 XII 因子の heavy chain の N 末端のアミノ酸 1-30(IPP30)を認識する事を報告した。この部位は、第 XII 因子の血小板 glycoprotein Ib  $\alpha$  への結合部位である。高分子キニノーゲンと第 XII 因子は、どちらも glycoprotein Ib  $\alpha$  の細胞外サブユニットである glycolalicin に競合的に結合し、トロンビンによる血小板活性化を阻害する事が報告されている。したがって、抗第 XII 因子抗体は、第 XII 因子が血小板の GP

Ib-IX-V に結合する事を阻害し、血栓や流産を引き起こしている可能性がある。ちなみに、高分子キニノーゲンの血小板への結合部位は、キニノーゲン、ドメイン 3 の Cys333-Lys345 (CNA13)であり、抗 PE 抗体の認識部位と同一である事が分かっている。第 XII 因子欠乏不育症患者の 32.4%に抗 PE 抗体が陽性であり、抗第 XII 因子抗体と抗 PE 抗体は、非常に類似した抗体である事が、今回の合成ペプチドを用いた検討で分かって来た。LDC27 と IPP30 のアミノ酸配列は全く異なるが、同じレセプターに競合的に結合するという事は、立体構造が類似しており、抗原性が似ている事を示唆している。そして LDC27 と IPP30 に対するポリクローナル抗体は、どちらもそれぞれ LDC27 と IPP30 の両方を認識したという今回の結果により、抗 PE 抗体と抗第 XII 因子抗体が類似した、または同一の抗体である事が示唆された。我々は既に、抗 PE 抗体の約 60%が LDC27 を認識し、第 XII 因子活性低下の約 50%が抗第 XII 因子抗体を持つ事を報告した。したがって、どちらも単独では不育症のリスクファクターとしては不十分である。しかしながら、現時点で全員に抗体の epitope mapping を行う事は不可能である。そこで、抗 PE 抗体と第 XII 因子活性の組み合わせで不育症患者を評価する事を提案する。

不育症患者の持つ第 XII 因子とキニノーゲンに対する自己抗体は、第 XII 因子とキニノーゲンが血小板の GP Ib-IX-V に結合してトロンビンによる血小板活性化を防ぐ事を阻害し、血栓や流産を引き起こしている可能性がある。今回、我々は、レーザー散乱粒子計測法を用いて不育症患者の血小板凝集能を調べたところ、抗 PE 抗体陽性 + 第 XII 因子欠乏の患者で最も有意な亢進がみられ、これらの患者で *in vivo* でも血小板が活性化している事が示唆された。一方で、抗カルジオリピン抗体、プロテイン S 欠乏症、プロテイン C 欠乏症などは、自然凝集との相関は認められず、血小板を介さない血液凝固異常である事が示唆された。

以上の様に、不育症患者における抗 PE 抗体と抗第 XII 因子抗体の病原性として、我々は血小板活性化を報告してきた。しかしながら、多くの初期流産は臍帯胎盤循環が始まる前に起こる事もあり、単純に胎盤血栓では流産の説明がつかず、血液凝固系亢進以外の病原性の存在が示唆されている。そこで我々は新たに、抗 PE 抗体の胎盤形成阻害による流産という全く新しい仮説を提唱している。

高分子キニノーゲンは、heavy chain と light chain に分けられ、その間にブラジキニンが存在する。高分子キニノーゲンが分解されると、ブラジキニンを放出し、heavy chain と light chain より成る二本鎖キニノーゲン (HKa)になる。最近の研究で、HKa は血管新生を阻害し、ブラジキニンと一本鎖キニノーゲンは血管新生を促進すると報告されている。高分子キニノーゲンがヘパリン、すなわち肥満細胞由来のグリコサミノグリカンに結合する事は以前より知られていた。最近、高分子キニノーゲンはそのドメイン3の LDC27(Leu331-Met357) およびドメイン5 (His479-His498)を介して血管内皮細胞のグリコサミノグリカンであるヘパラン硫酸とコンドロイチン硫酸に結合する事が解明された。細胞に結合した高分子キニノーゲンは、グリコサミノグリカンが高分子キニノーゲンを分解から守るため、ほとんどが血管新生を促進する一本鎖である。さらに、LDC27 に対する抗体は高分子キニノーゲンがヘパラン硫酸に結合するのを阻害する事が報告された。我々はすでに、抗 PE 抗体が LDC27 を認識する事を報告しているので、この事は、抗 PE 抗体がキニノーゲンのヘパラン硫酸への結合を阻害する事を強く示唆している。高分子キニノーゲンが細胞表面のグリコサミノグリカンから離れると言う事は、高分子キニノーゲンが分解されて HKa とブラジキニンが生じると言う事である。ブラジキニンの半減期は 30 秒、HKa の半減期は9時間であるので、抗 PE 抗体があると結果的に HKa が生じ、胎盤の血管新生を阻害し、流産を引き起こす可能性がある。そして、ヘパリンは高分子キニノーゲンを分解から守る事により、胎盤血管新生を促進し、胎盤形成を助ける事により、流産を防止するという作用機序が考えられる。我々は既に、抗 PE 抗体陽性+第 XII 因子欠乏の不育症患者に対し、低用量アスピリン単独療法を行った場合よりも、低用量アスピリン+ヘパリン併用療法を行った方が、妊娠成功率が高い事を報告した。ヘパリン療法の抗凝固作用以外の作用機序も今後の研究の重要な課題と思われる。

#### E. 結論

不育症のスクリーニング検査として、抗 PE 抗体と第 XII 因子活性の組み合わせで不育症患者を評価する事を提案する。不育症患者の血小板凝集能は *in vivo* でも亢進している傾向が示唆された。中でも、抗 PE 抗体および第 XII 因子欠乏と、血小板凝集能亢進との間に関連が認められた。一方で

抗カルジオリピン抗体やプロテイン S 欠乏症、プロテイン C 欠乏症は、血小板を介さない病原性がある事が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 杉 俊隆. 特集 周産期診療プラクティス、不育症とその対策。産婦人科治療。第 96 巻増刊号。550-554。2008.
- 2) Matsubayashi H, Sugi T, Uchida N, Suzuki T, Izumi S-I, Mikami M. Decreased factor XII activity is associated with recurrent IVF-ET failure. *Am J Reprod Immunol*; 59: 316-322, 2008.
- 3) Inomo A, Sugi T, Fujita Y, Matsubayashi H, Izumi S-I, Mikami M. The antigenic binding sites of autoantibodies to factor XII in patients with recurrent pregnancy losses. *Thromb Haemost*; 99: 316-323, 2008.
- 4) 杉 俊隆. 不育症。産科と婦人科。第 75 巻増刊号。41-46, 2008.
- 5) Sugiura-Ogasawara M, Aoki K, Fujii T, Fujita T, Kawaguchi R, Maruyama T, Ozawa N, Sugi T, Takeshita T, Saito S. Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement. *J Hum Genet*; 53: 622-628, 2008.
- 6) 杉 俊隆. 不育症学級。全65ページ。金原出版。2008.
- 7) Sugi T. Autoantibody associated disruption of kallikrein-kinin system in patients with recurrent pregnancy losses. *Jpn J Obstet Gynecol Neonatal Hematol*; 18: 67-76, 2009.
- 8) 杉 俊隆. 不育症と自己免疫性 thrombophilia (抗リン脂質抗体、抗第 XII 因子抗体、抗キニノーゲン抗体)。血拴止血誌; 20: 510-518, 2009.
- 9) 杉 俊隆. 抗 phosphatidylethanolamine 抗体と抗第 XII 因子抗体。医学のあゆみ; 233: 169-174, 2010.
- 10) 杉 俊隆. 習慣流産と血液凝固阻害薬。産科と婦人科; 77: 925-930, 2010.

- 11) 杉 俊隆。不育症。講義録 産科婦人科学。編集 石原 理、柴原浩章、三上幹男、板倉敦夫。メジカルビュー社。244-245。2010。
  - 12) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群。日産婦誌：62：N150-154，2010。
  - 13) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体。生殖医療ガイドライン 2010。日本生殖医学会編。金原出版。278-280，2010。
  - 14) 杉 俊隆。不育症とは。月刊地域保健。東京法規出版。2010.6.38-43。
  - 15) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群と静脈血栓塞栓症。臨床婦人科産科。(in press)
  - 16) Obayashi S, Ozaki Y, Sugi T, Kitaori T, Katano K, Suzuki S, Sugiura-Ogasawara M. Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be an independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss. J Reprod Immunol; 85: 186-192, 2010.
  - 17) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群の診療。産婦人科治療。2011 年増刊大特集。不妊診療のすべて。(in press)
2. 学会発表
- 1) 杉 俊隆、三上幹男。不育症患者における Leu331-Met357 を認識する kininogen 依存性抗 PE 抗体と第 XII 因子活性との関係。第 60 回日本産科婦人科学会。横浜。2008。
  - 2) 大林伸太郎、尾崎康彦、杉 俊隆、熊谷恭子、中西珠央、杉浦真弓。不育症患者における phosphatidylethanolamine (PE) 結合蛋白を認識する抗 PE 抗体の有用性の検討。第 60 回日本産科婦人科学会。横浜。2008。
  - 3) 熊谷恭子、尾崎康彦、杉 俊隆、大林伸太郎、中西珠央、杉浦真弓。反復流産病態におけるカルパイン・カルパスタチン系の存在と意義及び phosphatidylethanolamine 結合蛋白を認識する抗 PE 抗体との関連。第 60 回日本産科婦人科学会。横浜。2008。
  - 4) Sugi T, Fujita Y. aPE which recognize LDC27 are associated with factor XII deficiency in patients with recurrent pregnancy losses. American Society for Reproductive Immunology -28th Annual Meeting, Chicago, 2008.
  - 5) 杉浦真弓、川口里恵、丸山哲夫、小澤伸晃、杉 俊隆、竹下俊行、斎藤 滋。染色体転座をもつ反復流産患者の生児獲得率に関する多施設共同研究。第 53 回日本生殖医学会。神戸。2008。
  - 6) 大林伸太郎、尾崎康彦、杉 俊隆、熊谷恭子、中西珠央、杉浦真弓。不育症患者における phosphatidylethanolamine (PE) 結合蛋白を認識する抗 PE 抗体の有用性の検討。第 53 回日本生殖医学会。神戸。2008。
  - 7) 大林伸太郎、尾崎康彦、杉 俊隆、熊谷恭子、中西珠央、杉浦真弓。不育症患者における phosphatidylethanolamine (PE) 結合蛋白を認識する抗 PE 抗体の有用性の検討。第 23 回日本生殖免疫学会。富山。2008。
  - 8) 杉 俊隆。不育症の診断と治療 up-to-date。第 443 回横浜産婦人科医会。2008
  - 9) 杉 俊隆。カリクレイン-キニン系と血栓、流産。第 18 回日本産婦人科新生児血液学会。博多。2008。(シンポジウム)
  - 10) 杉 俊隆。不育症診療 up-to-date。厚木市産婦人科医会。特別講演。2008。
  - 11) 杉 俊隆。キニノーゲンを認識する抗 PE 抗体と angiogenesis について。第 23 回日本生殖免疫学会。富山。2008。(シンポジウム)
  - 12) 杉 俊隆。抗体検査、ヘパリン療法。第 117 回日本産科婦人科学会関東連合地方部会。都市センターホテル。2009。(シンポジウム)
  - 13) 杉 俊隆。不育症患者の血小板凝集能の検討—レーザー散乱粒子計測法を用いた検討—。第 24 回日本生殖免疫学会。京王プラザホテル。2009。
  - 14) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群。第 62 回日本産科婦人科学会。生涯研修プログラム。クリニカルカンファレンス4。不育症。東京国際フォーラム。2010。
  - 15) 杉 俊隆。不育症診療 Up To Date。第24回横浜市西部地域産婦人科研究会。特別講演。2010。
  - 16) Sugi T. Spontaneous small platelet aggregate formation in patients with recurrent pregnancy losses and its association with thrombophilia. International symposium for immunology of reproduction. Icho Kaikan, Osaka University. 2010.
  - 17) 杉 俊隆。流産、習慣流産、不育症について。第18回横浜臨床医学会。2010。

## 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
杉 俊隆	不育症学級	杉 俊隆	不育症学級	金原出版	東京	2008	全65ページ
杉 俊隆	不育症	石原 理、 柴原浩章、 三上幹男、 板倉敦夫	講義録 産科 婦人科学	メジカルビ ュー社	東京	2010	244-245
杉 俊隆	抗リン脂質抗体	日本生殖 医学会	生殖医療ガイ ドライン2010	金原出版	東京	2010	278-280

### 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
Matsubayashi H, Sugi T, Uchida N, Suzuki T, Izumi S-I, Mikami M.	Decreased factor XII activity is associated with recurrent IVF-ET failure.	Am J Reprod Immunol	59	316-322	2008
Inomo A, Sugi T, Fujita Y, Matsubayashi H, Izumi S-I, Mikami M.	The antigenic binding sites of autoantibodies to factor XII in patients with recurrent pregnancy losses.	Thromb Haemost	99	316-323	2008
Sugiura-Ogasawara M, Aoki K, Fujii T, Fujita T, Kawaguchi R, Maruyama T, Ozawa N, Sugi T, Takeshita T, Saito S.	Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement.	J Hum Genet	53	622-628	2008
杉 俊隆	不育症	産科と婦人科	75	41-46	2008
杉 俊隆	特集 周産期診療プラクティ ス、不育症とその対策	産婦人科治療	96	550-554	2008
Sugi T	Autoantibody associated disruption of kallikrein-kinin system in patients with recurrent pregnancy losses.	Jpn J Obstet Gynecol Neonatal Hematol	18	67-76	2009
杉 俊隆	不育症と自己免疫性 thrombophilia(抗リン脂質抗 体、抗第XII因子抗体、抗キ ニノーゲン抗体)	血栓止血誌	20	510-518	2009

Obayashi S, Ozaki Y, Sugi T, Kitaori T, Katano K, Suzuki S, Sugiura-Ogasawara M.	Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be an independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss.	J Reprod Immunol	85	186-192	2010
杉 俊隆	抗phosphatidylethanolamine抗体と抗第XII因子抗体	医学のあゆみ	233	169-174	2010
杉 俊隆	習慣流産と血液凝固阻害薬	産科と婦人科	77	925-930	2010
杉 俊隆	抗リン脂質抗体症候群	日産婦誌	62	N150-154	2010
杉 俊隆	不育症とは	月刊地域保健	6	38-43	2010
杉 俊隆	抗リン脂質抗体症候群と静脈血栓塞栓症	臨床婦人科産科			In press
杉 俊隆	抗リン脂質抗体症候群の診療	産婦人科治療			In press

総合分担研究報告 30

分担課題: 不育症に係わる遺伝要因、環境要因及びそれらの交互作用

研究分担者 佐田 文宏 国立保健医療科学院疫学部社会疫学室 室長  
山田 秀人 神戸大学大学院医学研究科産科婦人科学講座 教授

研究要旨

原因不明の不育症は、一種の生活習慣病とみなされ、遺伝要因に環境要因が加わり、交互に影響し合うことにより発症するものと考えられている。環境要因を評価しようとする場合、交絡要因をコントロールするのが難しく、正確な曝露量を評価したデータを取ることが困難であるため、一致した結果は得られていない。しかしながら、喫煙、コカイン服用、中等度の飲酒、カフェイン摂取、肥満は不育症と関連があるという報告がある。本研究では、妊婦の生活習慣、居住環境、ストレス要因等の環境要因及び異物・ステロイド・葉酸・アルコール代謝、サイトカイン等の生活習慣と関連が深いと考えられる遺伝子多型と不育症との関連を症例対照研究の形で検討した。2001～2006年に北海道大学病院産科の不育症外来を受診した女性(不育症、総数 252 例)と産後外来を受診し、流産、子宮内膜症、子宮腺筋症、子宮内胎児発育遅延等の既往のない健常経産婦(対照、総数 349 例)に対し、食事・生活習慣、居住環境、職業、妊娠初期の健康状態、産科既往歴、ストレスと関連した状態-特性不安(STAI)に関する質問紙調査を実施し、採血を行った。ストレスに対する不安を示す状態尺度(A-State)の得点、比較的安定した個人内特性を示す特性尺度(A-Trait)の得点を求めた。生活習慣と関連が深いと考えられる代謝酵素、サイトカイン等の一塩基多型(SNPs)20種を allelic discrimination (TaqMan) assay により、遺伝子型を解析した。

最近の妊娠以前及び妊娠期間中に、症例群のうち各々19.2%、6.4%に喫煙習慣があり、対照群の各々の喫煙者 27.1%、12.8%に比べ、喫煙者の割合は少ない傾向がみられた(各々 $p=0.07$ 、 $p=0.05$ )。症例群の平均睡眠時間(SD)は、6.9(1.0)時間/日、対照群の平均睡眠時間(SD)は、6.6(1.3)時間/日であったが( $p<0.05$ )、睡眠充足感には有意差はみられなかった。また、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感は症例群のほうが少なかった( $p<0.01$ )。ストレスに関しては、症例群の A-State の平均得点(SD)は、39.6(10.1)、対照群の平均得点(SD)は、37.7(9.3)、症例群の A-Trait の平均得点(SD)は、43.2(9.7)、対照群の平均得点(SD)は、41.0(9.9)であり、いずれも症例群が高値を示した( $p<0.05$ )。居住環境に関しては、(1)現在の居住地、(2)住宅の階数、(3)廃棄物(ごみ)処理施設からの距離、(4)製紙工場からの距離及び(5)幹線道路(片道2車線以上)らの距離に関して、症例群と対照群の頻度差を比較したが、いずれも有意ではなかった。遺伝要因に関しては、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の CC 型において、不育症のリスクが上昇した(オッズ比 2.17、95%信頼区間 1.03-4.60)。一方、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 の TT 型(オッズ比 0.17、95%信頼区間 0.04-0.77)、*MTR* 遺伝子 rs1805087 の AG 型(オッズ比



0.17、95%信頼区間 0.04-0.77) 及び *COMT* 遺伝子 rs4680 の AA 型(オッズ比 0.17、95%信頼区間 0.04-0.77)において、不育症のリスクは低下した。

本研究から、不育症患者は、ストレス状況において、不安を喚起させやすい特性を有することが示唆された。一方、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感は、かえって不育症に対して防御的に働くことが示唆された。また、異物・ステロイド・葉酸代謝に係わる個人の体質は、不育症リスクに影響を及ぼすことが示唆された。

## A. 研究目的

不育症の病因としては、転座や子宮形態異常のような原因の明白なものを除けば、一種の生活習慣病とみなされ、遺伝要因に環境要因が加わり、交互に影響し合うことにより発症するものと考えられている。環境要因としては、食事・生活習慣、居住環境およびストレス要因などが不育症のリスクに関与することに関心が持たれている。このような環境要因を評価しようとする場合、交絡要因をコントロールするのが難しく、正確な曝露量を評価したデータを取ることが困難であるため、一致した結果は得られていない(1)。しかしながら、いくつかの環境要因が妊娠アウトカムに影響を与えることは報告されてきた(1-6)。喫煙は、栄養膜機能に悪影響を及ぼし、量依存的に不育症のリスクを上昇させる(2)。コカイン服用は喫煙とともに、不育症のリスクを上昇させる(3)。中等度の飲酒は、妊娠初期の不育症のリスクを上昇させる(4)。カフェイン摂取も量依存的に不育症リスクとの関連が見られ、1日当たり300mg以上の摂取で不育症リスクを有意に上昇させる(5)。BMI 30kg/m<sup>2</sup>を超える肥満は、妊娠初期の流産、不育症のリスクを上昇させる(6)。

本研究では、妊婦の食事・生活習慣、居住環境およびストレス要因等の環境要因及びこれらと関係が深いと考えられる代謝酵素、サイトカイン等の遺伝子多型が不育症に及ぼす影響を明らかにすることを目的に実施した。

## B. 研究方法

### (1) 妊婦の生活習慣、ストレス要因および居住環境

2001~2006年に北海道大学病院産科の不育症外来を受診した女性(不育症、総数 254 例)と産後外来を受診し、流産、子宮内膜症、子宮腺筋症、子宮内胎児発育遅延等の既往のない健常経産婦(対照、総数 349 例)に対し、食事・生活習慣、居住環境、職業、妊娠初期の状態、産科既往歴、ストレスと関連した状態-特性不安(STAI)に関する質問紙調査票を配布し、自己記入してもらった後回収した。ストレスに対する

不安を示す状態尺度(A-State)の得点、比較的安定した個人内特性を示す特性尺度(A-Trait)の得点を算出し、症例群と対照群の平均値、標準偏差を求めた。居住環境に関しては、設問毎に症例群、対照群の割合を求めた。症例-対照群間の平均値の差を独立したt検定により、比率を $\chi^2$ 検定により解析した。

### (2) 代謝酵素、サイトカイン等の遺伝子多型(表1)

異物・ステロイド・葉酸・アルコール代謝、サイトカイン等の生活習慣と関連が深いと考えられる一塩基多型(SNPs)を20種類選定した。即ち、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 (3698T>C)、*GSTP1* 遺伝子 rs1695 (I105V)、*COMT* 遺伝子 rs4680 (V158M)、*NQO1* 遺伝子 rs1800566 (P187S)、*PAPPA* 遺伝子 rs7020782 (Y1224S)、*COASY* 遺伝子 rs615942 (Ser55Tyr)、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 (Ala222Val)、rs1801131 (Glu429Ala)、*MTR* 遺伝子 rs1805087 (Asp919Gly)、*PPARG* 遺伝子 rs1801282 (Pro12Ala)、*ADH1B* 遺伝子 rs1229984 (His48Arg)、*MTRR* 遺伝子 rs10380 (His595Try)、*ADRB3* 遺伝子 rs4994 (Trp64Arg)、*ALDH2* 遺伝子 rs671 (Glu504Lys)、*IL1A* 遺伝子 rs1800587 (-889C>T)、rs17561 (Ala114Ser)、*IL1B* 遺伝子 rs16944 (-511C>T)、rs1143627 (-31C>T)、*IL2* 遺伝子 rs2069762 (-384 T>G) 及び *IL6* 遺伝子 rs1800796 (-634C>G) を allelic discrimination (TaqMan) assay により、遺伝子型を解析した。不育症をアウトカムとして、母親の年齢及び喫煙・飲酒習慣で調整したロジスティック回帰分析により、年齢及び喫煙・飲酒習慣で調整したオッズ比と 95%信頼区間を求めた。統計解析には SPSS 17.0 を用いた。(倫理面への配慮)

本研究は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会及び国立保健医療科学院において承認のうえ実施した。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・遺伝子解析研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言に基づいて行った。研究への参加は自由意志により、自発的に中

止しても不利益を被らないよう配慮した。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払った。以上のように、本研究は、倫理面の十分な配慮のうえ行った。

### C. 研究結果

#### (1) 妊婦の生活習慣、ストレス要因および居住環境 (図1)

症例群の平均年齢(SD)は、34.2(5.6)歳、対照群の平均年齢(SD)は、31.0(5.2)歳であった( $p < 0.01$ )。最近の妊娠以前及び妊娠期間中に、症例群のうち各々19.2%、6.4%に喫煙習慣があり、対照群の各々の喫煙者 27.1%、12.8%に比べ、喫煙者の割合は少ない傾向がみられた(各々 $p = 0.07$ 、 $p = 0.05$ )。症例群の平均睡眠時間(SD)は、6.9(1.0)時間/日、対照群の平均睡眠時間(SD)は、6.6(1.3)時間/日であったが( $p < 0.05$ )、睡眠充足感には有意差はみられなかった。また、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感は症例群のほうが少なかった( $p < 0.01$ )。ストレスに関しては、症例群の A-State の平均得点(SD)は、39.6(10.1)、対照群の平均得点(SD)は、37.7(9.3)、症例群の A-Trait の平均得点(SD)は、43.2(9.7)、対照群の平均得点(SD)は、41.0(9.9)であり、いずれも症例群が高値を示した( $p < 0.05$ )。居住環境に関しては、(1) 現在の居住地、(2) 住宅の階数、(3) 廃棄物(ごみ)処理施設からの距離、(4) 製紙工場からの距離及び(5) 幹線道路(片道2車線以上)からの距離に関して、症例群と対照群の頻度差を比較したが、いずれも有意ではなかった。

#### (2) 代謝酵素、サイトカイン等の遺伝子多型(図2, 3)

症例群例-対照群間の *MTHFR* 遺伝子 rs1801133 及び *ALDH2* 遺伝子 rs671 のアレル頻度に有意差がみられた( $P < 0.05$ )。また、症例群例-対照群間の *MTHFR* 遺伝子 rs1801133、*MTR* 遺伝子 rs1805087、*ALDH2* 遺伝子 rs671 及び *CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の遺伝子型頻度に有意差がみられた( $P < 0.05$ )。

これらの SNPs と不育症リスクとの関連を明らかにするため、交絡因子として年齢、喫煙・飲酒習慣で調整したオッズ比を求めたところ、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の CC 型及び劣性遺伝型モデルでは、不育症のリスクが上昇し、オッズ比は各々2.17(95%信頼区間 1.03-4.60)及び 2.10(95%信頼区間 1.06-4.16)であった。一方、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 の TT 型、優性遺伝型モデル及び劣性遺伝型モデル

では、不育症のリスクが低下し、オッズ比は各々0.23(95%信頼区間 0.07-0.71)、0.51(95%信頼区間 0.27-0.95)及び 0.28(95%信頼区間 0.10-0.83)であった。また、*MTR* 遺伝子 rs1805087 の AG 型及び優性遺伝型モデルでも、不育症のリスクが低下し、オッズ比は各々0.36(95%信頼区間 0.18-0.75)及び 0.44(95%信頼区間 0.23-0.85)であった。さらに、*COMT* 遺伝子 rs4680 の AA 型及び優性遺伝型モデルでも、不育症リスクは低下し、オッズ比は各々0.17(95%信頼区間 0.04-0.77)及び 0.18(95%信頼区間 0.04-0.77)であった。

### D. 考察

流産は、不安、抑うつ、否認、怒り、夫婦関係の崩壊、喪失感、不十分などの顕著な情緒的な反応を引き起こし得る(1)。様々な心理社会要因が免疫系に影響を及ぼし、いわゆる“精神-神経-免疫-内分泌ネットワーク”が流産に関与することが提唱されている(7,8)。特に、免疫系においては、原因不明の流産は Th1/Th2 バランスの不均衡に起因するという仮説が提唱されている(9)。IFN- $\gamma$ などのサイトカインを分泌する Th1 細胞は感染防御とともにマクロファージを活性化する。IL-4、IL-5 のサイトカインを分泌する Th2 細胞は B 細胞から抗体を作らせる。Th1/Th2 バランスが Th1 の方へ傾けば、母体は胎児を異物として認識し、拒絶反応が起き、流産する可能性がある(10)。また、過剰に Th2 の方へ傾くと、今度は抗体産生が盛んになり、抗リン脂質抗体などの自己抗体が産生され、流産を引き起こす可能性がある。このように、Th1/Th2 バランスの不均衡が生じると流産の可能性が高まる。また、症例群において、抑うつ状態が流産を引き起こし得る要因の一つであることが示唆されている(11)。このような見地から、本研究では、不安ストレス、ライフスタイルとともに Th1 と関連の深い炎症性サイトカインの感受性素因を検討した。不安ストレスの尺度として、状態-特性不安(STAI)を用い、症例群と対照群との間のストレスに対する不安を示す状態尺度(A-State)、比較的安定した個人内特性を示す特性尺度(A-Trait)を比較したところ、いずれも症例群の平均スコアは、対照群に比べると高かった。本研究から、症例群は、ストレス状況において、不安を喚起させやすい特性を有することが示唆された。また、炎症性サイトカインの代表的な SNPs において、症例群と対照群との間に有意な頻度差はみられなかった。しかしながら、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感、睡眠時間には差

がみられた。これらは、精神的なストレスと関連する可能性もあり、今後、精神-神経-免疫-内分泌ネットワークの面から、さらに詳細に検討する必要があると考えられた。

遺伝要因に関しては、異物・ステロイド代謝等のこれまでに妊娠アウトカムに影響を及ぼすと報告のある遺伝子多型のうち、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 において、不育症のリスクの上昇が認められ、喫煙により増強することが観察された。*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の変異アリルは、肺がん等の悪性腫瘍のリスクを高めることが知られており(12)、不育症や低出生体重等の妊娠アウトカムに影響を及ぼすことが知られている(13-16)。また、喫煙との相互作用により、疾患リスクが増強することが報告されている(13,16)。*CYP1A1* の活性の高い変異アリルによって、煙草煙に含まれる化学物質から不安定な代謝産物への産生が増加し、細胞内で毒性が増すことが原因と考えられている。本研究において、不育症においても、このような機序により疾患リスクが上昇することが示唆された。

葉酸・アルコール代謝や凝固系に関連する遺伝要因に関しては、これまでに *MTHFR* 遺伝子 rs1801133 と不育症リスクに関して、多くの報告があるが、一致した結果は得られていない(17-21)。Ren らは、メタアナリシスによって、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 は、中国人以外には不育症のリスク要因とはならないことを示した(21)。本邦における先行研究では、日本人においても、rs1801133 は不育症のリスク要因とはならないと報告されている(19, 20)。一方、*MTR* 遺伝子 rs1805087 及び *ALDH2* 遺伝子 rs671 と不育症リスクとの関連に関しては、これまで報告がない。前者は *MTHFR* 遺伝子 rs1801133 とともに、妊婦の血中ホモシステイン濃度の予測変数としての役割を果たしていると報告がある(22)。また、中等度の飲酒は、妊娠初期の不育症のリスクを上昇させると報告がある(4)。今後、メチオニン-ホモシステイン及びアルコール-アルデヒド代謝系等を中心に、生活習慣との関連を含めて詳細に検討する必要があると考えられた。

#### E. 結論

本研究から、不育症患者は、ストレス状況において、不安を喚起させやすい特性を有することが示唆された。一方、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感は、かえって不育症に対して防御的に働くことが示唆された。また、異物・ステロイド・葉酸代謝に係わる体質は、不育症リスクに影響を及ぼす

ことが示唆された。

#### [参考文献]

1. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet*. 2006 Aug 12;368(9535):601-11. Review.
2. Lindbohm ML, Sallmén M, Taskinen H. Effects of exposure to environmental tobacco smoke on reproductive health. *Scand J Work Environ Health*. 2002;28 Suppl 2:84-96.
3. Ness RB, Grisso JA, Hirschinger N, Markovic N, Shaw LM, Day NL, Kline J. Cocaine and tobacco use and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med*. 1999 Feb 4;340(5):333-9.
4. Kesmodel U, Wisborg K, Olsen SF, Henriksen TB, Secher NJ. Moderate alcohol intake in pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *Alcohol Alcohol*. 2002 Jan-Feb;37(1):87-92.
5. Rasch V. Cigarette, alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003 Feb;82(2):182-8.
6. Lashen H, Fear K, Sturdee DW. Obesity is associated with increased risk of first trimester and recurrent miscarriage: matched case-control study. *Hum Reprod*. 2004 Jul;19(7):1644-6.
7. Kaplan HB. Social psychology of the immune system: a conceptual framework and review of the literature. *Soc Sci Med*. 1991;33(8):909-23.
8. Clark DA, Arck PC, Jalali R, Merali FS, Manuel J, Chaouat G, Underwood JL, Mowbray JF. Psycho-neuro-cytokine/endocrine pathways in immunoregulation during pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 1996 Apr;35(4):330-7.
9. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*. 1993 Jul;14(7):353-6.
10. 牧野恒久, 杉 俊隆. 生殖医療の現状と展望 3. 生殖のロス、習慣流産. *産婦人科治療* 1999;79(5): 582-7.
11. Sugiura-Ogasawara M, Furukawa TA, Nakano Y, Hori S, Aoki K, Kitamura T. Depression as a potential causal factor in subsequent miscarriage in recurrent spontaneous aborters. *Hum Reprod*. 2002 Oct;17(10):2580-4.

12. Kawajiri K. CYP1A1. IARC Sci Publ. 1999;(148):159-22.
  13. Wang X, Zuckerman B, Pearson C, Kaufman G, Chen C, Wang G, Niu T, Wise PH, Bauchner H, Xu X. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. JAMA. 2002 Jan 9;287(2):195-202.
  14. Suryanarayana V, Deenadayal M, Singh L. Association of CYP1A1 gene polymorphism with recurrent pregnancy loss in the South Indian population. Hum Reprod. 2004 Nov;19(11):2648-52.
  15. Yamada H, Sata F, Saijo Y, Kishi R, Minakami H. Genetic factors in fetal growth restriction and miscarriage. Semin Thromb Hemost. 2005 Jun;31(3):334-45.
  16. 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. 2006 Feb;12(2):77-83.
  17. Lissak A, Sharon A, Fruchter O, Kassel A, Sanderovitz J, Abramovici H. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss. Am J Obstet Gynecol. 1999 Jul;181(1):126-30.
  18. Unfried G, Griesmacher A, Weismüller W, Nagele F, Huber JC, Tempfer CB. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and idiopathic recurrent miscarriage. Obstet Gynecol. 2002 Apr;99(4):614-9.
  19. Makino A, Nakanishi T, Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N, Suzumori K. No association of C677T methylenetetrahydrofolate reductase and an endothelial nitric oxide synthase polymorphism with recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol. 2004 Jul;52(1):60-6.
  20. Kobashi G, Kato EH, Morikawa M, Shimada S, Ohta K, Fujimoto S, Minakami H, Yamada H. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women. Semin Thromb Hemost. 2005 Jun;31(3):266-71.
  21. Ren A, Wang J. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and the risk of unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. Fertil Steril. 2006 Dec;86(6):1716-22.
  22. Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL, Braga RC, Hirata RD, Hirata MH, Sampaio-Neto LF, Allen RH, Guerra-Shinohara EM. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women. Eur J Clin Nutr. 2008 Aug;62(8):1010-21.
- F. 健康危険情報  
特になし
- G. 研究発表
1. 論文発表
    - 1) Sata F, Toya S, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamazaki A, Minakami H, Kishi R. Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in a Japanese population. Mol Hum Reprod 2009;15(2):121-30.
    - 2) 天野真理子, 森實真由美, 山田秀人. 不育と遺伝因子. 産婦人科の実際 2010;59(12):1969-83.
    - 3) 佐田文宏, 山田秀人. 早産と遺伝因子. 産婦人科の実際 2010;59(12):1991-2000.
  2. 学会発表
    - 1) Sata F, Yamada H, Nakao H, Minakami H, Kishi R, Imai H. Lifestyle, physical burden and anxiety in pregnant women and recurrent pregnancy loss. 21<sup>st</sup> International Conference of Environmental Epidemiology, Dublin, Ireland, August 25-29, 2009.
    - 2) Sata F, Yamada H, Minakami H, Kishi R, Nakao H, Imai H. Maternal smoking and alcohol use during pregnancy, common metabolic polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss. 2010 Joint Conference of International Society of Exposure Science & International Society for Environmental Epidemiology, Seoul, Korea, August 28 - September 1, 2010.
    - 3) 佐田文宏, 今井博久: 妊婦の食事、生活環境お