

## HLA genotypes in Japanese with Type 1A diabetes

Table 2. Haplotype frequencies of HLA-DRB1-DQB1 among Japanese children with Type 1A diabetes

HLA haplotype	Type 1A		Control		p	Type 1A vs. Control		
	n = 860	%	n = 1032	%		Pc	OR	(95% CI)
*09:01-*03:03	275	31.98	138	13.37	2.19E-22	<10 <sup>-20</sup>	3.05	(2.42–3.83)
*04:05-*04:01	222	25.81	134	12.98	1.43E-12	<10 <sup>-10</sup>	2.33	(1.84–2.96)
*08:02-*03:02	83	9.65	20	1.94	1.01E-13	<10 <sup>-11</sup>	5.41	(3.29–8.89)
*04:05-*03:02	35	4.07	0	0.00	7.05E-13	<10 <sup>-11</sup>		
*08:03-*06:01	10	1.16	62	6.01	9.35E-09	<10 <sup>-6</sup>	0.18	(0.09–0.36)
*15:02-*06:01	9	1.05	92	8.91	4.24E-16	<10 <sup>-14</sup>	0.11	(0.05–0.22)
*15:01-*06:02	0	0.00	118	11.43	3.75E-33	<10 <sup>-31</sup>	0.00	
*04:07-*03:02	14	1.63	4	0.39	7.45E-03	NS		
*01:01-*05:01	25	2.91	40	3.88	NS			
*13:02-*06:04	37	4.30	56	5.43	NS			
*15:01-*03:01	4	0.47	2	0.19	NS			
Others	146	16.98	366	35.47				

CI, confidence interval; n, total number of alleles; OR, odds ratio. The control data were obtained from Ref. (22).

C\*12:02 (Pc < 10<sup>-5</sup>; OR, 0.18), C\*14:03 (Pc < 0.05; OR, 0.33), B\*15:01 (Pc < 0.05; OR, 0.34), and B\*52:01 (Pc < 10<sup>-5</sup>; OR, 0.17) (Table 3).

Linkage disequilibrium (LD) between DRB1-DQB1 haplotypes and DPB1, A, C, or B alleles

DPB1\*02:01 and \*03:01 were assessed as susceptible alleles in the case-control study but were not specifically associated with any susceptible DRB1-DQB1 haplotype. The RD values for DPB1\*02:01 to DRB1\*04:05-DQB1\*04:01, DRB1\*09:01-DQB1\*03:03, and DRB1\*08:02-DQB1\*03:02 were 0.246, 0.312, and 0.112, respectively. The RD values for DPB1\*03:01 to DRB1\*04:05-DQB1\*04:01, DRB1\*09:01-DQB1\*03:03, and DRB1\*08:02-DQB1\*03:02 were 0.175, 0.081, and 0.148, respectively. A\*24:02 was assessed as a susceptible allele in the case-control study but was not specifically associated with any susceptible DRB1-DQB1 haplotype. The RD values for A\*24:02 to DRB1\*04:05-DQB1\*04:01, DRB1\*09:01-DQB1\*03:03, and DRB1\*08:02-DQB1\*03:02 were 0.405, 0.310, and 0.286, respectively. However, the susceptible alleles C\*01:02 and B\*54:01 appeared to be associated with the DRB1\*04:05-DQB1\*04:01 haplotype (RD, 0.697). Meanwhile, the susceptible C\*08:01 and B\*40:06 alleles appeared to be associated with the DRB1\*09:01-DQB1\*03:03 haplotype (RD, 0.597).

DPB1\*09:01, C\*12:02, and B\*52:01 were assessed as protective alleles in both the case-control study and the TDT and appeared to be associated with the protective DRB1\*15:02-DQB1\*06:01 haplotype. The RD for the C\*12:02-B\*52:01-DRB1\*15:02-DQB1\*06:01-DPB1\*09:01 haplotype was 0.861 among the Japanese children with Type 1A diabetes in this study. The

protective alleles A\*33:03, C\*14:03, and B\*44:03 were associated with a high LD (RD, 0.842).

Transmission of susceptible and protective alleles from maternal and paternal parents

In the TDT, the transmission of DRB1\*08:02 from the father occurred more frequently than from the mother, but the difference was not significant. The transmission of DRB1\*09:01 from the mother occurred more frequently than from the father, but again the difference was not significant. The DRB1, DQB1, and DPB1 alleles were not transmitted preferentially from the mother or father to the children with Type 1A diabetes (Table 3), and the same was true for the A, C, and B alleles (Table 3).

Comparison of combinations of susceptible haplotypes and protective alleles between children with Type 1A diabetes and their parents

When genetic combinations of HLA-DRB1-DQB1 haplotypes were compared between children with Type 1A diabetes and their parents (149 parent-child trios), 54.4% of the children with Type 1A diabetes and 21.3% of their parents had two susceptible haplotypes. The frequencies of DR9/9 (homozygotes for DRB1\*09:01-DQB1\*03:03) (Pc < 10<sup>-2</sup>; OR, 3.77) in group I (homozygotes for two susceptible haplotypes) and DR4/8 (heterozygotes for DRB1\*04:05-DQB1\*04:01 and DRB1\*08:02-DQB1\*03:02) (Pc < 10<sup>-2</sup>; OR, 4.38) in group II (heterozygotes for two susceptible haplotypes) were significantly higher among the children with Type 1A diabetes. The frequencies of group IV (one susceptible haplotype and a protective allele) (Pc < 10<sup>-10</sup>; OR, 0.16) and group VI (no susceptible haplotypes and a

Table 3. Transmission disequilibrium test (TDT) for HLA-DRB1, DQB, DPB1, A, C, and B alleles in 149 parent-child trios

HLA		Transmitted			Non-transmitted			TDT				Transmission from Maternal vs. Paternal p
		Combined	Parent of origin		Combined	Parent of origin		P	Pc	OR	(95% CI)	
			Maternal	Paternal		Maternal	Paternal					
DRB1	*04:05	85	41	44	30	12	18	2.92E-07	<10 <sup>-5</sup>	2.83	(1.87–4.30)	NS
	*08:02	32	13	19	6	5	1	2.47E-05	<10 <sup>-3</sup>	5.33	(2.23–12.76)	NS
	*09:01	85	47	38	33	13	20	1.69E-06	<10 <sup>-5</sup>	2.58	(1.72–3.85)	NS
	*08:03	6	1	5	23	13	10	1.59E-03	<0.05	0.26	(0.11–0.64)	NS
	*15:01	0	0	0	26	15	11	3.41E-07	<10 <sup>-5</sup>	0.00		NS
	*15:02	3	1	2	39	21	18	2.78E-08	<10 <sup>-6</sup>	0.08	(0.02–0.25)	NS
DQB1	*04:06	2	2	0	10	4	6	2.09E-02	NS			NS
	*04:01	80	38	42	29	12	17	1.03E-06	<10 <sup>-5</sup>	2.76	(1.80–4.22)	NS
	*03:02	49	28	21	17	9	8	8.18E-05	<10 <sup>-3</sup>	2.88	(1.66–5.00)	NS
	*03:03	86	46	40	32	15	17	6.66E-07	<10 <sup>-5</sup>	2.69	(1.79–4.03)	NS
	*03:01	7	4	3	40	17	23	1.48E-06	<10 <sup>-4</sup>	0.18	(0.08–0.39)	NS
	*06:01	8	2	6	62	34	28	1.09E-10	<10 <sup>-9</sup>	0.13	(0.06–0.27)	NS
DPB1	*06:02	0	0	0	25	15	10	5.73E-07	<10 <sup>-5</sup>	0.00		NS
	*02:01	63	30	33	43	17	26	NS				NS
	*03:01	23	12	11	14	8	6	NS				NS
	*09:01	7	3	4	35	18	17	1.56E-05	<10 <sup>-4</sup>	0.20	(0.09–0.45)	NS
	*04:02	21	10	11	24	14	10	NS				NS
	A	*24:02	100	48	52	70	36	34	2.14E-02	NS		
*33:03		9	4	5	28	17	11	1.79E-03	<10 <sup>-2</sup>	0.32	(0.15–0.68)	NS
*11:01		19	11	8	26	15	11	NS				NS
*26:01		14	9	5	20	10	10	NS				NS
C	*01:02	69	30	39	36	18	18	1.28E-03	<10 <sup>-2</sup>	1.92	(1.28–2.87)	NS
	*08:01	43	22	21	20	11	9	3.76E-03	<0.05	2.15	(1.26–3.65)	NS
	*12:02	7	4	3	40	21	19	1.48E-06	<10 <sup>-5</sup>	0.18	(0.08–0.39)	NS
	*14:03	8	4	4	24	14	10	4.68E-03	<0.05	0.33	(0.15–0.74)	NS
B	*15:02	7	4	3	13	8	5	NS				NS
	*54:01	62	27	35	15	7	8	8.50E-08	<10 <sup>-5</sup>	4.13	(2.35–7.26)	NS
	*40:06	28	14	14	12	3	9	1.14E-02	NS			NS
	*07:02	17	7	10	12	5	7	NS				NS
	*15:01	10	6	4	29	14	15	2.35E-03	<0.05	0.34	(0.17–0.71)	NS
	*52:01	7	4	3	42	23	19	5.73E-07	<10 <sup>-5</sup>	0.17	(0.07–0.37)	NS
	*44:03	9	5	4	24	14	10	9.02E-03	NS			NS

CI, confidence interval; OR, odds ratio; TDT, transmission disequilibrium test.

## HLA genotypes in Japanese with Type 1A diabetes

Table 4. HLA-A, C, and B allele frequencies among Japanese children with Type 1A diabetes

HLA	Type 1A		Control		Type 1A vs. Control			
	n = 860	%	n = 1046	%	Pc	OR	(95% CI)	
A	*24:02	390	45.35	382	36.52	<10 <sup>-2</sup>	1.44	(1.20–1.73)
	*26:01	45	5.23	118	11.28	<10 <sup>-4</sup>	0.43	(0.30–0.62)
	*33:03	33	3.84	82	7.84	<10 <sup>-2</sup>	0.47	(0.31–0.71)
	*11:01	58	6.74	112	10.71	<0.05	0.60	(0.43–0.84)
	Others	334	38.84	352	33.65			
C	*01:02	204	23.72	174	16.63	<10 <sup>-2</sup>	1.56	(1.24–1.95)
	*08:01	127	14.77	102	9.75	<0.05	1.60	(1.21–2.12)
	*12:02	29	3.37	116	11.09	<10 <sup>-8</sup>	0.28	(0.18–0.42)
	*14:03	26	3.02	74	7.07	<10 <sup>-3</sup>	0.41	(0.26–0.65)
	*15:02	11	1.28	46	4.40	<10 <sup>-3</sup>	0.28	(0.14–0.55)
	Others	450	52.33	534	51.05			
B	*07:02	71	8.26	38	3.63	<10 <sup>-3</sup>	2.39	(1.59–3.58)
	*40:06	86	10.00	50	4.78	<10 <sup>-3</sup>	2.21	(1.54–3.18)
	*54:01	152	17.67	74	7.07	<10 <sup>-10</sup>	2.82	(2.10–3.78)
	*15:01	26	3.02	98	9.37	<10 <sup>-6</sup>	0.30	(0.19–0.47)
	*52:01	27	3.14	114	10.9	<10 <sup>-9</sup>	0.26	(0.17–0.41)
	*44:03	28	3.26	70	6.69	<0.05	0.47	(0.30–0.73)
	Others	470	54.65	602	57.55			

CI, confidence interval; n, total number of alleles; OR, odds ratio.

The control data was obtained from Ref. (22).

Others for A: \*01:01, \*02:01, \*02:06, \*02:07, \*02:10, \*11:02, \*24:02, \*24:08, \*26:02, \*26:03, \*26:05, \*31:01, \*32:01.

Others for C: \*03:02, \*03:03, \*03:04, \*04:01, \*05:01, \*06:02, \*07:02, \*07:04, \*08:03, \*14:02.

Others for B: \*08:01, \*13:01, \*13:02, \*15:02, \*15:07, \*15:11, \*15:18, \*27:04, \*35:01, \*37:01, \*38:01, \*39:01, \*39:02, \*39:04, \*40:01, \*40:02, \*40:03, \*46:01, \*48:01, \*51:01, \*54:12, \*55:02, \*55:04, \*56:01, \*58:01, \*59:01, \*67:01.

protective allele) ( $P_c < 0.05$ ; OR, 0.20) were significantly lower among the children with Type 1A diabetes than among their parents (Table 5). Of note, the frequency of group III (one susceptible haplotype and no protective allele) was similar between the children with Type 1A diabetes and their parents (Table 5).

GADAb and/or IA-2Ab were positive in 21 (7.1%) of the 296 parents: one in group I, five in group II, six in group III, four in group IV, three in group V, and two in group VI. Three parents (1.0%) had type 1 diabetes mellitus: two in group II and one in group III.

### Comparison between children with Type 1A diabetes and their siblings

When the frequencies of the HLA-DRB1, DQB1, and DPB1 alleles were compared between 66 children with Type 1A diabetes and their 83 healthy siblings, the prevalences of all the alleles except for DQB1\*06:01 were not significantly different. The frequency of the DQB1\*06:01 protective allele was lower ( $P_c < 10^{-2}$ ; OR, 0.13) among the patients than among their siblings.

When genetic combinations of HLA-DRB1-DQB1 haplotypes were compared between children with Type 1A diabetes and their siblings, the frequency of group VI (no susceptible haplotypes and a protective allele) was lower ( $P_c < 10^{-2}$ ; OR, 0.09) among the children with Type 1A diabetes (3.03%) than among the

siblings (25.3%) (Table 6). Of note, 44.6% of the siblings had protective alleles (groups IV + VI), compared with 10.6% of the children with Type 1A diabetes.

GADAb and/or IA-2Ab were positive in 7 (8.4%) of the 83 siblings: three in group II, three in group III, and one in group V. Groups II, III, and V can be characterized as having no protective alleles.

### Onset age and HLA genotype

The DRB1 allele frequencies in four age groups, determined according to the patient's age at the time of Type 1A diabetes onset (0–1, 2–5, 6–9, and 10–16 years), are shown in Fig. 1. The frequency of DRB1\*09:01 was higher ( $P_c < 0.01$ ) in the 2–5-year onset group than in the other age groups, while the frequency of DRB1\*08:02 tended to be higher in the 6–16-year onset group, although the difference was not significant (Fig. 1). The distribution of the DRB1\*04:05 allele was not different among the four age groups. The distributions of other alleles, including DPB1\*02:01, DPB1\*03:01, A\*24:02, C\*01:02, C\*08:01, and B\*54:01, were not different among the four age groups (data not shown).

### Discussion

This study is the first nationwide multicenter collaborative study examining genetic factors associated with

Table 5. Genetic combinations of HLA-DRB1-DQB1 haplotypes in Japanese children with Type 1A diabetes and their parents

Genetic combination of HLA-DRB1-DQB1 haplotype	Type 1A all		Type 1A in trio		Parents in trio		Type 1A in trio vs. Parents			
	n = 430	%	n = 149	%	n = 296	%	p	Pc	OR	(95% CI)
I. Two susceptible haplotypes in homozygote	82	19.07	37	24.83	21	7.09	4.33E-07	<10 <sup>-5</sup>	4.33	(2.43–7.72)
DR4/4 (*04:05-*04:01)	8	1.86	7	4.70	5	1.69	NS			
DR4/4 (*04:05-*03:02)	10	2.33	6	4.03	2	0.68	1.92E-02	NS		
DR9/9 (*09:01-*03:03)	58	13.49	22	14.77	13	4.39	2.68E-04	<10 <sup>-2</sup>	3.77	(1.84–7.72)
DR8/8 (*08:02-*03:02)	6	1.40	2	1.34	1	0.34	NS			
II. Two susceptible haplotypes in heterozygote	143	33.26	44	29.53	42	14.19	1.96E-04	<10 <sup>-2</sup>	2.53	(1.57–4.10)
DR4/9	65	15.12	19	12.75	26	8.78	NS			
DR4/8	61	14.19	18	12.08	9	3.04	4.59E-04	<10 <sup>-2</sup>	4.38	(1.92–10.01)
DR9/8	17	3.95	7	4.70	7	2.36	NS			
III. One susceptible haplotype and no protective allele	135	31.40	44	29.53	66	22.30	NS			
DR4/X	62	14.42	23	15.44	23	7.77	1.99E-02	NS		
DR9/X	64	14.88	18	12.08	32	10.81	NS			
DR8/X	9	2.09	3	2.01	10	3.38	NS			
IV. One susceptible haplotype and a protective allele	43	10.00	15	10.07	121	40.88	2.62E-12	<10 <sup>-10</sup>	0.16	(0.09–0.29)
V. No susceptible haplotype and no protective allele	13	3.02	6	4.03	19	6.42	NS			
VI. No susceptible haplotype and a protective allele	14	3.26	3	2.01	28	9.46	2.66E-03	<0.05	0.20	(0.06–0.66)

CI, confidence interval; OR, odds ratio.

Susceptible haplotype: \*04:05-\*04:01, \*09:01-\*03:03, \*08:02-\*03:02, \*04:05-\*03:02.

Protective allele in DRB1: \*08:03, \*15:01, \*15:02, \*04:06.

Protective allele in DQB1: \*06:01, \*06:02, \*03:01.

X in DRB1: \*01:01, \*03:01, \*04:01, \*04:03, \*04:04, \*04:07, \*04:10, \*07:01, \*10:01, \*11:01, \*11:06, \*12:01, \*12:02, \*13:02, \*16:02.

X in DQB1: \*02:01, \*04:02, \*05:01, \*05:02, \*06:04, \*06:09.

## HLA genotypes in Japanese with Type 1A diabetes

Table 6. Genetic combinations of HLA-DRB1-DQB1 haplotypes in Japanese children with Type 1A diabetes and their siblings

Genetic combination of HLA-DRB1-DQB1 haplotype	Type 1A		Siblings		Type 1A vs. Siblings			
	n = 66	%	n = 83	%	p	Pc	OR	(95% CI)
I. Two susceptible haplotypes in homozygote	16	24.24	11	13.25	NS			
DR4/4 (*04:05-*04:01)	4	6.06	3	3.61	NS			
DR4/4 (*04:05-*03:02)	3	4.55	2	2.41	NS			
DR9/9 (*09:01-*03:03)	9	13.64	6	7.23	NS			
DR8/8 (*08:02-*03:02)	0	0.00	0	0.00	NS			
II. Two susceptible haplotypes in heterozygote	19	28.79	17	20.48	NS			
DR4/9	9	13.64	13	15.66	NS			
DR4/8	8	12.12	2	2.41	2.31E-02	NS		
DR9/8	2	3.03	2	2.41	NS			
III. One susceptible haplotype and no protective allele	20	30.30	15	18.07	NS			
DR4/X	9	13.64	5	6.02	NS			
DR9/X	10	15.15	7	8.43	NS			
DR8/X	1	1.52	3	3.61	NS			
IV. One susceptible haplotype and a protective allele	5	7.58	16	19.28	NS			
V. No susceptible haplotype and no protective allele	4	6.06	3	3.61	NS			
VI. No susceptible haplotype and a protective allele	2	3.03	21	25.30	1.50E-04	<10 <sup>-2</sup>	0.09	(0.02–0.41)

CI, confidence interval; OR, odds ratio.

Susceptible haplotype: \*04:05-\*04:01, \*09:01-\*03:03, \*08:02-\*03:02, \*04:05-\*03:02.

Protective allele in DRB1: \*08:03, \*15:01, \*15:02, \*04:06.

Protective allele in DQB1: \*06:01, \*06:02, \*03:01.

X in DRB1: \*01:01, \*03:01, \*04:01, \*04:03, \*04:04, \*04:07, \*04:10, \*07:01, \*10:01, \*11:01, \*11:06, \*12:01, \*12:02, \*13:02, \*16:02.

X in DQB1: \*02:01, \*04:02, \*05:01, \*05:02, \*06:04, \*06:09.

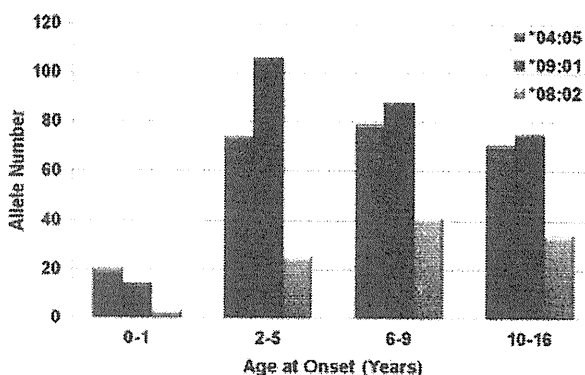


Fig. 1. DRB1 allele frequencies in four age groups of Japanese children with Type 1A diabetes according to the age at onset. The frequency of DRB1\*09:01 was higher ( $P_c < 0.01$ ) in the 2–5-year onset group, while the frequency of DRB1\*08:02 tended to be higher in the 6–16-year onset group, although the difference was not significant. The distribution of the DRB1\*04:05 allele frequency was not different among the four age groups.

childhood-onset type 1 diabetes mellitus in Japan. In the study, a TDT was performed for the first time in a population of Japanese children with Type 1A diabetes; the results confirmed the identities of susceptible and protective DRB1, DQB1, DPB1, A, C, and B, alleles.

We confirmed previously reported HLA-DRB1-DQB1 susceptible and protective haplotypes and obtained new findings regarding the DPB1 allele. DPB1\*02:01 and DPB1\*03:01 were identified as susceptible alleles among Japanese children with Type 1A diabetes (Table 1). DPB1\*02:01 is unique to the Japanese population, while DPB1\*03:01 is observed in multiple ethnic groups (4, 5, 16–19). This finding is noteworthy because neither the susceptible DRB1 allele nor the DQB1 allele is common to both Japanese and Caucasian populations. Moreover, the DPB1\*02:01 and DPB1\*03:01 alleles were not specifically associated with any susceptible DRB1-DQB1 haplotype. DPB1\*04:02 was identified as a protective allele among Japanese children with Type 1A diabetes, similar to cases in multiple ethnic groups (4, 5, 16–19). Moreover, the DPB1\*04:02 allele was not associated with any protective DRB1-DQB1 haplotypes. Of note, however, the association of DPB1\*02:01, DPB1\*03:01, and DPB1\*04:02 with Type 1A diabetes was relatively weak in Japanese children, as the association was significant in the case-control study but not in the TDT. However, DPB1\*09:01 was identified as a protective allele in both the case-control study and the TDT,

and DPB1\*09:01 appeared to be associated with the protective DRB1\*15:02-DQB1\*06:01 haplotype, which is a major protective haplotype in the Japanese population but is rare in Caucasian populations.

The independent effects of HLA-A and B have been demonstrated in Caucasian populations (2, 4, 5). Following adjustment for LD to haplotypes at the DR-DQ region, both susceptible and protective alleles were found at HLA-A (e.g., A\*24:02, susceptible allele; A\*11:01, protective allele) and HLA-B (e.g., B\*39:06, susceptible allele; B\*57:01, protective allele) (4, 5). A\*24:02 was a susceptible allele independent of the susceptible DRB1-DQB1 haplotypes among Japanese children with Type 1A diabetes. A\*11:01 was also a protective allele among Japanese children with Type 1A diabetes. However, the association of A\*24:02 and A\*11:01 with Type 1A diabetes was relatively weak in the Japanese children, as the association was significant in the case-control study but not in the TDT (Tables 3 and 4). Of note, the B\*39:06 and B\*57:01 alleles were not observed in this study.

The analysis of LD between DRB1-DQB1 haplotypes and DPB1, A, C, or B alleles demonstrated both susceptible (C\*08:01-B\*40:06-DRB1\*09:01-DQB1\*03:03 and C\*01:02-B\*54:01-DRB1\*04:05-DQB1\*04:01) as well as protective (C\*12:02-B\*52:01-DRB1\*15:02-DQB1\*06:01-DPB1\*09:01 and A\*33:03-C\*14:03-B\*44:03) haplotypes among Japanese children with Type 1A diabetes.

In terms of genomic imprinting of the HLA-class II gene, several studies have been reported (26–29). In a Caucasian population, a striking feature of the data was that HLA-DR3/DR4 patients inherit their DR3 allele from their mother and the DR4 allele from their father more often than vice versa. Margaritte-Jeannin et al. (27) proposed that parental imprinting for a specific allelic combination may explain the HLA genotypes observed in the patients and their relatives. Sadauskaitė-Kuehne et al. (28) also studied diabetes-associated allelic transmission rates from mothers and fathers to children with diabetes in 125 families in Lithuania, an area with a low incidence of type 1 diabetes. They reported that the DR4-DQB1\*03:02-DQA1\*03:01 haplotype was transmitted significantly more frequently from both parents, but that the DR3-DQB1\*02:01-DQA1\*05:01 haplotype was transmitted more frequently from only mothers. In Japan, Sasaki et al. (29) reported that maternal alleles in a susceptible DQA1\*03:01-DQB1\*03:02 haplotype showed a strong transmission disequilibrium with GADAb-positive type 1 diabetes, while paternal alleles in the same haplotype did not in 28 nuclear families, supporting the hypothesis that an epigenetic mechanism including genomic imprinting at the HLA-DQ region is involved in the pathogenesis and the genetic complexity of Japanese type 1 diabetes. However, none of the DRB1,

DQB1, DPB1, A, C, or B alleles were preferentially transmitted from the mother or the father to the children with Type 1A diabetes in this study (Table 3). Our study suggests that the genomic imprinting of HLA-class II and class I genes is not involved in the pathogenesis of Type 1A diabetes in Japanese patients.

The frequency of subjects with two susceptible DRB1-DQB1 haplotypes was significantly higher among the children with Type 1A diabetes than among their parents. Of note, the frequencies of homozygosity for DRB1\*09:01-DQB1\*03:03 and of heterozygosity for DRB1\*04:05-DQB1\*04:01 and DRB1\*08:02-DQB1\*03:02 were significantly higher among children with Type 1A diabetes, while the frequency of subjects with one susceptible haplotype and without a protective allele (group III) was not different between children with Type 1A diabetes and their parents. The frequencies of subjects with one susceptible haplotype and a protective allele (group IV) and with no susceptible haplotype and a protective allele (group VI) were lower among the children with Type 1A diabetes than among their parents (Table 5). These results suggest a dose effect of susceptible DRB1-DQB1 haplotypes and the effect of protective alleles.

The siblings of children with Type 1A diabetes may also represent a high-risk group for type 1 diabetes in the Japanese population, as the high prevalence (about 4%) of diabetes among Japanese siblings is comparable with that among Caucasian siblings (about 6%) (7, 8). The prevalences of the susceptible DRB1 and DQB1 alleles were similar between the children with Type 1A diabetes and their siblings. However, the prevalence of the protective DQB1\*06:01 allele was higher among non-diabetic siblings. The frequency of group IV (no susceptible haplotype and a protective allele) was higher among the siblings than among the children with Type 1A diabetes. These results suggest the role of the protective allele among the siblings.

Only the allele frequency of DRB1\*09:01 was significantly different among four age groups of Japanese children with Type 1A diabetes determined according to the age at the time of onset (0–1, 2–5, 6–9, and 10–16 years). DRB1\*09:01 may be strongly associated with an early onset in preschool children, whereas DRB1\*08:02 may be weakly associated with a later onset in school-age children. Murao et al. (15) focused on the differences in the contributions of HLA-DR and -DQ haplotypes to the susceptibility to Type 1 diabetes during adulthood (later than 20 years of age) and childhood (1.0–18 years of age) in Japanese patients. They reported that the DRB1\*09:01-DQB1\*03:03 (DR9) frequency/DRB1\*04:05-DQB1\*04:01 (DR4) frequency increased with an increasing age of onset, and that another susceptible haplotype, DRB1\*08:02-DQB1\*03:02 (DR8), was involved only in the childhood-onset group. They did not mention any

difference among childhood-onset type 1 diabetes, and our results complement the data reported by Murao et al. The present results are also compatible with and complementary to our previous report, in which the frequency of the DR9 genotype was found to be significantly higher among a younger age group (0–10 years) than among an older age group (11–16 years) at the time of onset, and the frequency of DR4-DQ4 was higher in the older age group (11–16 years) (13).

Kawabata et al. (30) reported the age-related association of the MHC class I chain-related gene A and a marker in the class I C region with Japanese type 1 diabetes. However, this study did not show an association of susceptible class I A\*24:02, C\*01:02, C\*08:01, or B\*54:01 alleles with age at the time of onset in children with Type 1A diabetes (data not shown).

The amino acid residue at position 57 of the DQB chain has been shown to play a key role in genetic susceptibility to type 1 diabetes. The lack of aspartic acid at this position at both DQ alleles is strongly associated with type 1 diabetes in Caucasian populations (31, 32). However, this Asp57 hypothesis is not tenable for Japanese type 1 diabetic patients (33). The influence of the HLA-DR and HLA-DQ molecules on the risk of type 1 diabetes is probably related to their central role in antigen presentation and the activation of a helper T cell-mediated immune response (2, 32). The HLA-class II and class I pocket structure is critical to the etiology of autoimmunity, as different pocket variants may have different affinities to the antigenic peptides of specific proteins from pancreatic  $\beta$  cells, including insulin and GAD; therefore, certain variants are more likely to present autoantigenic peptides to T cells than others (32, 34). In a future study, an analysis of how variations in amino acids, especially those found within the peptide-binding domains, are correlated with changes in disease risk would be valuable, providing a possible link between genetic association studies and the causal mechanism(s) of Type 1A diabetes.

In conclusion, this study demonstrated the characteristic association, which was mostly different but partly the same as that in Caucasian populations, of HLA-DRB1, DQB1, DPB1, and A, C, B, genes with Type 1A diabetes among Japanese children. A TDT did not reveal the genomic imprinting of HLA-class II and class I genes in Type 1A diabetes in the present population. A comparison of children with Type 1A diabetes and their parents and siblings suggested a dose effect of susceptible DRB1-DQB1 haplotypes and the effect of protective alleles on the immunological pathogenesis of Type 1A diabetes. These results may provide fundamental data for further genetic studies examining other immune-related and insulin resistance

or beta cell function-related genes in Japanese patients with type 1 diabetes.

### Acknowledgements

This study was supported by the Kawano Masanori Memorial Foundation for the Promotion of Pediatrics, by a Grant-in-Aid for Scientific Research (KAKENHI) Scientific Research (C) from the Japan Society for the Promotion of Science, and by the Japan Diabetes Foundation. We thank Ms. Michiyo Kanda for her secretarial support.

### Conflict of interest

No potential conflicts of interest relevant to this article were present.

### References

1. TODD J, BELL JI, MACDEVITT HO. HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1987; 329: 599–604.
2. POCIOT F, AKOLKAR B, CONCANNON P et al. Genetics of type 1 diabetes: What's next? *Diabetes* 2010; 50: 1561–1571.
3. COX NJ, WAPELHORST B, MORRISON VA et al. Seven regions of the genome show evidence of linkage to type 1 diabetes in a consensus analysis of 767 multiplex families. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 820–830.
4. HOWSON JM, WALKER NM, CLAYTON D, TODD JA. Confirmation of HLA class II independent type 1 diabetes associations in the major histocompatibility complex including HLA-B and HLA-A. *Diabetes Obes Metab* 2009; 11 (Suppl. 1): 31–45.
5. NEJENTSEV S, HOWSON JM, WALKER NM et al. Localization of type 1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A. *Nature* 2007; 450: 887–892.
6. KARVONEN M, VIKI-KAJANDER M, MOLTCHANOVA E, LIBMAN I, LAPORTE R, TUOMILEHTO J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care* 2000; 23: 1516–1526.
7. THOMSON G, ROBINSON WP, KUHNER MK et al. Genetic heterogeneity, modes of inheritance, and risk estimates for a joint study of Caucasians with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 799–816.
8. IKEGAMI H, OGIHARA T. Genetics of insulin-dependent diabetes mellitus. *Endocr J* 1996; 43: 605–613.
9. APARICIO JMR, WAKISAKA A, TAKADA A, MATSUURA N, AIZAWA M. HLA-DQ system and insulin-dependent diabetes mellitus in Japanese: does it contribute to the development of IDDM as it does in Caucasians? *Immunogenetics* 1988; 28: 240–246.
10. KIDA K, MIMURA G, KOBAYASHI T et al. Immunogenetic heterogeneity in type 1 (insulin-dependent) diabetes among Japanese HLA antigens and organ-specific autoantibodies. *Diabetologia* 1989; 32: 34–39.
11. AWATA T, KUZUYA T, MATSUDA A, IWAMOTO Y, KANAZAW Y. Genetic analysis of HLA class II alleles and susceptibility to type 1 (insulin-dependent) diabetes

- mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia* 1992; 35: 419–424.
12. IKEGAMI H, KAWAGUCHI Y, YAMATO E et al. Analysis by the polymerase chain reaction of histocompatibility leukocyte antigen-DR9-linked susceptibility to insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1381–1385.
  13. SUGIHARA S, SAKAMAKI T, KONDA S et al. Association of HLA-DR, DQ genotype with different  $\beta$ -cell function at IDDM diagnosis in Japanese children. *Diabetes* 1997; 46: 1893–1897.
  14. KAWABATA Y, IKEGAMI H, KAWAGUCHI Y et al. Asian-specific HLA haplotypes reveal heterogeneity of the contribution of HLA-DR and -DQ haplotypes to susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 545–551.
  15. MURAO S, MAKINO H, KAINO Y et al. Differences in the contribution of HLA-DR and -DQ haplotypes to susceptibility to adult- and childhood-onset type 1 diabetes in Japanese patients. *Diabetes* 2004; 53: 2684–2690.
  16. ERLICH HA, ROTTER JI, CHANG JD et al. Association of HLA-DPB1\*0301 with insulin dependent diabetes mellitus in Mexican-Americans. *Diabetes* 1996; 45: 610–614.
  17. CUCCA F, DUDBRIDGE F, LODDO M et al. The HLA-DPB1-associated component of the IDDM1 and its relationship to the major loci HLA-DQB1, -DQA1, and -DRB1. *Diabetes* 2001; 50: 1200–1205.
  18. CRUZ TD, VALDES AM, SANTIAGO A et al. DPB1 allele are associated with type 1 diabetes susceptibility in multiple ethnic groups. *Diabetes* 2004; 53: 2158–2163.
  19. BASCHAL EE, ALY TA, BABU SR et al. HLA-DPB1\*0402 protects against type 1A diabetes autoimmunity in the highest risk DR3-DQB1\*0201/DR4-DQB1\*0302 DAISY population. *Diabetes* 2007; 56: 2405–2409.
  20. NISHIMAKI K, KAWAMURA T, INADA H et al. HLA DPB1\*0201 gene confers disease susceptibility in Japanese with childhood onset type 1 diabetes, independent of HLA-DR and DQ genotypes. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 47: 49–55.
  21. AKAZA T, IMANISHI T, FUJIWARA K et al. HLA allele and haplotype frequencies in Japanese (The report of the 11th Japan HLA workshop). *Transplantation Now Suppl* 1994; 7: 87–101 (in Japanese).
  22. NAKAJIMA F, NAKAMURA J, YOKOTA T. Analysis of HLA haplotypes in Japanese, using high resolution allele typing. *MHC* 2002; 8: 1–32 (in Japanese).
  23. KEICHO N, ITOYAMA S, KASHIWASE K et al. Association of human leukocyte antigen class II alleles with severe acute respiratory syndrome in the Vietnamese population. *Human Immunology* 2009; 70: 527–531.
  24. IMANISHI T, AKAZA T, KIMURA A et al. Estimation of Allele and Haplotype Frequencies for HLA and Complement Loci. In: TSUJI K et al. eds., *HLA 1991*. Oxford University Press, Tokyo, 1992, pp 76–79.
  25. STEPHENS M, SMITH NJ, DONNELLY P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 978–989.
  26. DESCHAMPS I, HORS J, CLERGET-DARPOUX F et al. Excess of maternal HLA-DR3 antigens in HLA DR3, 4 positive type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1990; 33: 425–430.
  27. MARGARITTE-JEANNIN P, CLERGET-DARPOUX F, HORS J, DESCHAMPS I. Testing parental imprinting in insulin-dependent diabetes Mellitus by the marker-association-segregation- $\chi^2$  method. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 1080–1087.
  28. SADAUSKAITE-KUEHNE V, VEYS K, LUDVIGSSON J, PADAIGA ZV, SANJEEVI CB. Inheritance of MHC class II genes in Lithuanian families with type 1 diabetes. *Ann NY Acad Sci* 2003; 1005: 295–300.
  29. SASAKI T, NEMOTO M, YAMASAKI K, TAJIMA N. Preferential transmission of maternal allele with DQA1\*0301-DQB1\*0302 haplotype to affected offspring in families with type 1 diabetes. *J Hum Genet* 1999; 44: 318–322.
  30. KAWABATA Y, IKEGAMI H, KAWAGUCHI Y et al. Age-related association of MHC class I chain-related gene A (MICA) with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Hum Immunol* 2000; 61: 624–629.
  31. MOREL PA, DORMAN JS, TODD JA et al. Aspartic acid at position 57 of the HLA-DQ  $\beta$  chain protects against type 1 diabetes: A family study. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8111–8115.
  32. KELLY MA, RAYNER ML, MIJOVIC CH et al. Molecular aspects of type 1 diabetes. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2003; 56: 1–10.
  33. AWATA T, KUZUYA T, MATSUDA A et al. High frequency of aspartic acid at position 57 of HLA-DQ beta-chain in Japanese IDDM patients and nondiabetic subjects. *Diabetes* 1990; 39: 266–269.
  34. SKOWERA A, ELLIS RJ, VARELA-CALVINO R et al. CTLs are targeted to kill beta cells in patients with type 1 diabetes through recognition of a glucose-regulated preproinsulin epitope. *J Clin Invest* 2008; 118: 3390–3402.



## CASE REPORT

# Successful completion of pregnancy in a woman with chronic granulomatous disease

Michi Hisano MD\*, Shinichi Kobayashi MD†, Naoko Arata MD\*‡, Atsuko Murashima MD\*‡ and Koushi Yamaguchi MD\*‡

\*National Center for Child Health and Development, Tokyo; †Kobayashi Kids Clinic, Kanagawa; ‡Japan Drug Information Institute in Pregnancy, Tokyo, Japan

**Summary:** Chronic granulomatous disease (CGD) used to be a fatal illness of childhood and patients rarely survived past the first decade. Although antimicrobial prophylaxis has dramatically reduced mortality and morbidity in recent years, CGD remains a life-threatening condition. We present the successful obstetric course of a patient with CGD.

**Keywords:** chronic granulomatous disease, pregnancy, antimicrobial prophylaxis, neutrophil oxidative burst activity

## INTRODUCTION

Chronic granulomatous disease (CGD) is an inherited immunodeficiency disorder caused by defects in NADPH oxidase subunits (gp91phox, p47phox, p22phox, p67phox and p40phox) expressed in phagocytes (neutrophils, monocytes and macrophages). These enzymatic defects result in an inability to kill catalase-positive bacteria and fungi and render the patient susceptible to recurrent life-threatening infections, such as sepsis, pneumonia and meningitis. Patients with an X-linked form of CGD caused by a defect in the gene encoding gp91phox appear to have a more serious clinical phenotype than those with autosomal-recessive forms caused by defects in the other four genes. Antimicrobial prophylaxis and aggressive management of these infections have dramatically reduced infectious complications, but CGD remains a life-threatening condition.

A patient with CGD was referred to us from an attending pediatrician because of her desire to become pregnant. However, little is known of the clinical course, management and risk of infection in such cases. We present the successful obstetric course of a patient with CGD and document the management, immunological laboratory changes, and neutrophil oxidative burst activity during pregnancy.

## CASE REPORT

The patient had a mutation in the *CYBA* gene encoding p22phox, a small subunit of *membrane-bound flavocytochrome b558*. She had been hospitalized several times for recurrent bacterial infections, such as pneumonia, lymphadenitis, subcutaneous abscess and blepharitis. She had been in relatively good health taking cotrimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole) prophylaxis into

adulthood, except for a severe infection in her first pregnancy at 29 years of age. Then, following a uterine infection with *Burkholderia cepacia* complex, clinical findings of haemophagocytic syndrome (HPS) and septic pulmonary embolism appeared. She underwent aggressive treatment with multiple antibiotic combinations and immunosuppressant agents (prednisolone and cyclosporin A). Although her pregnancy ended in a spontaneous miscarriage at seven weeks of gestation, she recovered completely from the serious infectious complications of HPS two months later.<sup>1</sup>

The patient became pregnant again at 31 years of age. Based on her previous miscarriage caused by infectious complications, it was clear that the pregnancy was potentially high risk and it was essential to devise a management strategy for the CGD. Cotrimoxazole prophylaxis was continued at the same dosages used before pregnancy (160 mg of trimethoprim and 800 mg of sulfamethoxazole per day). Folate was replenished in the first trimester. At every obstetric visit, inflammatory markers such as the white blood cell count, serum C-reactive protein and blood 1,3-beta-D glucan were measured to ensure an early recognition of any occult bacterial and fungal infections. To evaluate whether pregnancy affected neutrophil function, we performed dihydrorhodamine 123 (DHR)-staining flow cytometry analysis of the patient's neutrophil oxidative burst activity. Whole leukocytes were incubated with DHR after being treated with catalase. The leukocytes were then stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate and analysed by flow cytometry, with gating based on forward- and side-scatter properties.

The course of pregnancy was uneventful. No significant increases in the levels of blood inflammatory markers or 1,3-beta-D glucan were observed during pregnancy (Table 1). To investigate the immunological changes during pregnancy, we performed immunologic tests, such as evaluating lymphocyte subsets, natural killer (NK) cell activity and lymphocyte blastoid transformation by phytohemagglutinin (PHA) in each trimester of pregnancy. The proportions of lymphocyte

**Correspondence to:** Michi Hisano Department of Women's Health, National Center for Child Health and Development, 2-10-1 Okura, Setagaya-ku, Tokyo 157-8535, Japan  
Email: hisano-m@ncchd.go.jp

Table 1. Blood tests in each trimester of pregnancy

Blood tests	Normal range	Trimester		
		First	Second	Third
CD4 (%)	25.0–54.0	29.4	25.7	27.7
CD8 (%)	23.0–56.0	39.3	48.0	46.5
CD4/CD8 (ratio)	0.4–2.3	0.80	0.54	0.60
CD3 (%)	58.0–84.0	74.8	79.3	70.7
HLA-DR <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%) <sup>*</sup>	1.0–12.0	5.1	2.9	2.8
HLA-DR <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%) <sup>†</sup>	2.0–27.0	6.9	4.3	7.6
HLA-DR <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> (%) <sup>‡</sup>	–	7.0	6.4	7.6
CD3 <sup>+</sup> CD161 <sup>+</sup> (%) <sup>§</sup>	–	24.3	33.8	39.3
Th1/Th2 (ratio)	3.8–25.0	25.0	16.1	18.2
NK cell activities (%)	18–40	36	16	14
Lymphocyte blastoid transformation induced by PHA (cpm)	20,500–56,800 (background: 127–456)	33,000	37,900	49,800
WBC (/μL)	3500–9100	8620	8770	6640
CRP (mg/dL)	≤0.3	0.3	0.7	0.4
β-D glucan (pg/mL)	≤20.0	5.1	5.8	5.4

PHA, phytohemagglutinin; NK, natural killer; WBC, white blood cell; CRP, C-reactive protein

\*Activated CD4-positive T-cells

†Activated CD8-positive T-cells

‡Activated CD20-positive B-cells

§NKT-cells

subsets, the lymphocyte response to PHA, and NK cell activity levels were all within normal ranges (Table 1). The neutrophil oxidative burst activity improved markedly as gestation progressed (Figure 1). The patient reached 40 weeks of gestation, but with an unfavourable cervix for inducing labour. Although vaginal delivery is considered the ideal mode of childbirth, we opted for an elective caesarean delivery at 40 weeks of gestation to avoid the risk of infection from prolonged labour. She delivered a 2930 g female baby with APGAR scores of 8 and 9 at one and five minutes, respectively; no congenital defects or severe hyperbilirubinaemia were observed. Cefazolin was given prophylactically to the mother for three days after delivery. No clinical evidence of postpartum infection was found.

## DISCUSSION

In recent years, the routine use of antimicrobial prophylaxis has reduced the mortality and morbidity in patients with CGD.<sup>2–4</sup>

A registry-based study in the UK and Ireland showed that the estimated survival was 88% at age 10 years and 55% at 30 years.<sup>5</sup> Thus, such patients often survive into adulthood. Although it is likely that more women with CGD will wish to become pregnant in the future, only a few such cases have been reported to date. Our patient had a strong desire to become pregnant, but her first pregnancy triggered life-threatening infections (severe bacteraemia and bacterial-associated HPS) and eventually resulted in a spontaneous miscarriage. Blanco *et al.*<sup>6</sup> reported that the incidence of bacteraemia was 7.5 per 1000 obstetric admissions and that no deaths or episodes of septic shock were found among obstetric patients with documented bacteraemia. However, CGD is still a life-threatening condition and pregnancy increases the opportunity of bacterial infections and is a high-risk time for women with this condition. Additionally, these infectious complications are likely to cause high-risk pregnancies.

We considered that the essentials of managing CGD during pregnancy are the early diagnosis of infections, antimicrobial

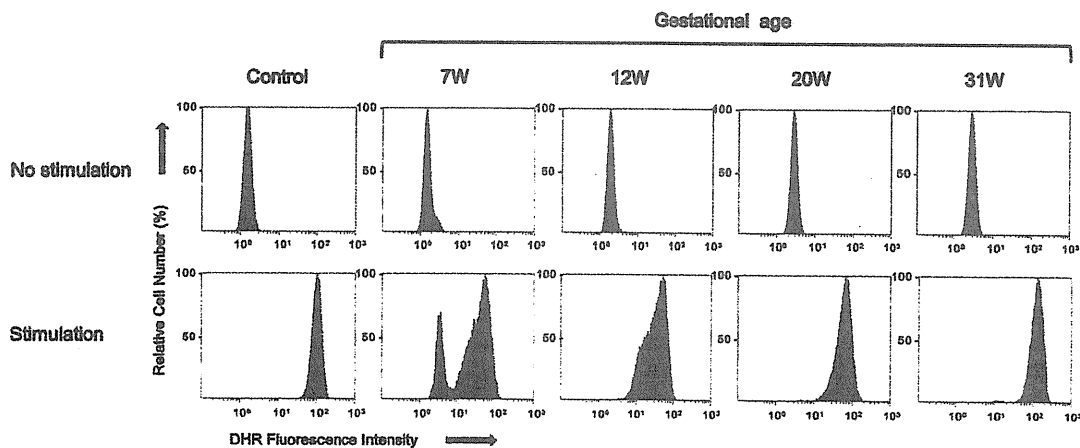


Figure 1. Dihydrorhodamine 123-stained flow cytometry of neutrophil oxidative burst activity after stimulation with or without phorbol 12-myristate 13-acetate

prophylaxis and aggressive treatment of infectious complications. Although no randomized trials have been reported on the effect of antibacterial prophylaxis in patients with CGD, several retrospective studies have suggested that cotrimoxazole therapy decreases the incidence of bacterial infections.<sup>2,7-9</sup> Our patient received antibacterial prophylaxis with cotrimoxazole during pregnancy, and it was necessary to inform her about the clinical usefulness and safety of this treatment. The clinical usefulness of cotrimoxazole prophylaxis for pregnant women with CGD is unknown. Walter *et al.*<sup>10</sup> observed that cotrimoxazole prophylaxis when begun at >14 weeks of gestation decreased the incidences of neonatal mortality, clinical chorioamnionitis and preterm delivery among human immunodeficiency virus (HIV)-infected pregnant women with low CD4 cell counts. In HIV/AIDS treatment guidelines,<sup>11</sup> cotrimoxazole for pregnant women with low CD4 cell counts is only recommended after the first trimester of pregnancy to avoid the potential teratogenic effects of trimethoprim. Trimethoprim is a folate antagonist (dihydrofolate reductase inhibitor), and its use during the first trimester might result in structural defects in the fetus, including cardiovascular defects and neural tube defects. Nevertheless, maternal supplementation with folate can reduce the risk of these congenital defects; in this case, we maintained the patient's normal concentration of folate in plasma during the first trimester using appropriate supplementation. Sulfamethoxazole does not appear to pose significant teratogenic risks, although it is capable of causing toxicities such as jaundice and hemolytic anaemia in the newborn. Therefore, despite a history of severe infection, we were able to prevent serious infections during this patient's pregnancy and in the perinatal period with no side-effects from medication or other problems in the newborn. Interestingly, flow cytometry of DHR-labelled neutrophils showed that the neutrophil oxidative burst activity was markedly improved with gestation. Similar phenomena during the pre- and perinatal periods have been described in a carrier of X-linked CGD and in normal healthy subjects.<sup>12,13</sup> This successful clinical course in a pregnant woman with CGD have provided valuable data and we hope that this report will be helpful in the treatment of such patients who might wish to become pregnant.

<http://obmed.rsmjournals.com/misc/authors.dtl>

Q1

#### REFERENCES

- 1 Hisano M, Sugawara K, Tatsuzawa O, Kitagawa M, Murashima A, Yamaguchi K. Bacteria-associated haemophagocytic syndrome and septic pulmonary embolism caused by *Burkholderia cepacia* complex in a woman with chronic granulomatous disease. *J Med Microbiol* 2007;56:702-5
- 2 Margolis DM, Melnick DA, Alling DW, Gallin JI. Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in the management of chronic granulomatous disease. *J Infect Dis* 1990;162:723-6
- 3 Gallin JI, Alling DW, Malech HL, *et al.* Itraconazole to prevent fungal infections in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 2003;348:2416-22
- 4 The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group. A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1991;324:509-16
- 5 Jones LB, McGrogan P, Flood TJ, *et al.* Special article: chronic granulomatous disease in the United Kingdom and Ireland: a comprehensive national patient-based registry. *Clin Exp Immunol* 2008;152:211-8
- 6 Blanco JD, Gibbs RS, Castaneda YS. Bacteremia in obstetrics: clinical course. *Obstet Gynecol* 1981;58:621-5
- 7 Kobayashi Y, Amano D, Ueda K, Kagosaki Y, Usui T. Treatment of seven cases of chronic granulomatous disease with sulfamethoxazole-trimethoprim (SMX-TMP). *Eur J Pediatr* 1978;127:247-54
- 8 Weening RS, Kabel P, Pijman P, Roos D. Continuous therapy with sulfamethoxazole-trimethoprim in patients with chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1983;103:127-30
- 9 Mouy R, Fischer A, Vilmer E, Seger R, Griscelli C. Incidence, severity and prevention of infections in chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1989;114:555-60
- 10 Walter J, Mwiya M, Scott N, *et al.* Reduction in preterm delivery and neonatal mortality after the introduction of antenatal cotrimoxazole prophylaxis among HIV-infected women with low CD4 cell counts. *J Infect Dis* 2006;194:1510-8
- 11 Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons - 2002 recommendations of the U.S. Public Health Service and the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2002;51:1-52
- 12 Iacobini M, Torre A, Macri F, Werner B, Chiesa C. Respiratory burst activity in late pregnancy in a carrier of X-linked chronic granulomatous disease. *Haematologica* 2000;85:110-1
- 13 Buonocore G, Gioia D, De Filippo M, Picciolini E, Bracci R. Superoxide anion release by polymorphonuclear leukocytes in whole blood of newborns and mothers during the peripartur period. *Pediatr Res* 1994;36:619-22

(Accepted 26 June 2011)

## 特集

## 生活習慣病をめぐる最近の話題—産婦人科医に必要な知識—

## 家庭血圧測定とその有用性

Clinical significance of home blood pressure monitoring

目時 弘仁  
METOKI Hirohito八重樫伸生\*  
YAEGASHI Nobuo今井 潤\*\*  
IMAI Jun東北大学大学院医学系研究科環境遺伝医学総合研究センター / 産婦人科 \*教授  
\*\*東北大学大学院薬学研究科医薬開発構想 教授

血圧は、一心拍ごとに異なる値を示すきわめて変動性の高い測定項目であり、正確な血圧測定は最重事項である。測定デバイスの改良に伴い、簡便で正確に家庭血圧測定が可能となった。予後予測能に優れていることから、家庭血圧は高血圧診療に欠かせないツールとなっている。家庭血圧は、血圧の長期にわたる変動を捉えるために最も優れており、血圧長期変動が予後を予測することも明らかとなった。近年では妊婦における家庭血圧の重要性も叫ばれており、今後データの蓄積が重要である。

Key Words

家庭血圧, 診察室血圧, 血圧長期変動, 白衣高血圧, 仮面高血圧

## はじめに

厳密な診察室での血圧測定は、測定時の真の血圧を反映し、いまなお医療環境下における血圧値 (Clinic Blood Pressure ; CBP, 診察室血圧) の評価が高血圧診療のスタンダードとされている。また、日本高血圧学会の高血圧治療ガイドライン 2009 (JSH2009)<sup>1)</sup> を含むどのガイドラインにおいても、共通に診察室血圧140/90mmHg以上が高血圧の定義とされている。高血圧診断は従来より診察室血圧を基になされてきたが、白衣高血圧 (医療従事者、とくに医師の前でのみ常に血圧が上昇する例) や仮面高血圧 (診察室血圧は正常であるが、工作中や家庭などの医療環境外で血圧が上昇する例) の存在が指摘され、また診察室血圧の測定条件の遵守も実際には困難を伴うことが多いことも指摘されている。そこで患者の精神的および肉体的な影響などの環境要因を除外でき、白衣高血圧や仮面高血圧の効果を診断し得る非医療

環境下血圧値が重要視され始めた。とくに、家庭血圧 (Home Blood Pressure ; HBP) は、診察室血圧よりも優れた生命予後予測因子であることが証明されており<sup>2)</sup>、大いに活用されるべきであると JSH2009 で強調されている。

## 診断基準・降圧目標レベル・測定方法

非医療環境での血圧測定には、家庭血圧以外に自由行動下血圧測定 (Ambulatory Blood Pressure Monitoring ; ABPM) がある。それぞれが異なった血圧情報としての価値を有し、双方とも診察室血圧と同等以上の臨床的価値がある。医療環境下および非医療環境下の血圧測定の特徴を比較したものを表1に示す。近年では、夜間の血圧が測定できる家庭血圧測定装置が開発された。家庭血圧は、ABPMによる情報を100%補完するものではないが、その重要性は一層増しており、高血圧診断治療上有効な手段となっている。

表2は、各血圧測定法に基づく高血圧基準値で

表 1 各血圧測定法の特徴

	診察室血圧	自由行動下血圧	家庭血圧
測定頻度	低	高	高
測定標準化	困難	不要	可
短期変動性の評価	不可	可	不可
概日変動性の評価 (夜間血圧の評価)	不可	可	可*
薬効評価	可	適	最適
薬効持続時間の評価	不可	可	最良
長期変動性の評価	不可	不可	可
再現性	不良	良	最良
白衣現象	有	無	無

\* 夜間就寝時測定可能な家庭血圧計が入手可能である  
(高血圧治療ガイドライン2009による)

表 2 異なる測定法における高血圧基準(mmHg)

	収縮期血圧	拡張期血圧
診察室血圧	140	90
家庭血圧	135	85
自由行動下血圧		
24時間	130	80
昼間	135	85
夜間	120	70

(高血圧治療ガイドライン2009による)

ある。JSH2009のABP基準値は、欧米諸外国のガイドラインに倣い変更された。一方、JSH2009では従前からの家庭血圧に対する高血圧基準値(135/85mmHg)に加え、暫定値ではあるが家庭血圧の降圧目標レベルが新たに設定された(表3)。

表4に家庭血圧の測定方法について示した。測定回数は1機会に1回以上(1~3回)とされている。家庭血圧は長期にわたり測定することから、患者の測定コンプライアンスを考慮し、このような条件が設定された。家庭血圧測定値の評価は「1機会第1回目の測定値の朝晩それぞれ長期間の平均値を用いる」としている。患者の中には1機会に繰り返し測定する人もおり、その場合はすべて記録するように指導し、別に評価をしなければならない。最近では、メモリー機能を内蔵した家庭用血圧測定装置が開発され、患者の記録

バイアスの排除にも役立つと考えられる

### 予後予測能

家庭血圧測定により捉えられた早朝の高い血圧は、診察室血圧測定に比較して高い予後予測能を持つ。この予後予測能は単回測定でも十分に高いが、測定回数が増えるにつれて相対危険度の上昇率は高くなる<sup>3)</sup>(図1)。家庭血圧の高い予後予測能から、高血圧のリスク層別化を行う際に診察室血圧の代わりに家庭血圧を用いることで、全体の予後予測能が高まることも明らかとなった<sup>4)</sup>(図2)。

### 仮面高血圧・白衣高血圧

診察室血圧は正常でも、家庭血圧で高血圧を示す「仮面高血圧」では、家庭でも診察室でも高血圧を呈する「持続性高血圧」とほぼ同様に、脳心血管疾患による死亡リスクが高いことが4,939人の平均3.2年間の観察から報告されている<sup>5)</sup>。一方、診察室血圧が高く、家庭血圧が正常の「白衣高血圧」では、この間に有意な脳心血管疾患死亡リスクは観察されていない<sup>6)</sup>。一般に予後良好と考えられている「白衣高血圧」ではあるが、平均8年間

表3 降圧目標

	診察室血圧	家庭血圧
若年者・中年者	130/85mmHg未満	125/80mmHg未満
高齢者	140/90mmHg未満	135/85mmHg未満
糖尿病患者		
CKD患者	130/80mmHg未満	125/75mmHg未満
心筋梗塞後患者		
脳血管障害患者	140/90mmHg未満	135/85mmHg未満

注：診察室血圧と家庭血圧の目標値の差は、診察室血圧140/90mmHg、家庭血圧135/85mmHgが、高血圧の診断基準であることから、この二者の差を単純にあてはめたものである。  
(高血圧治療ガイドライン2009による)

表4 家庭血圧の測定

1. 装置	上腕カフ・オシロメトリック法に基づく装置
2. 測定時の条件	
必須条件	
a. 朝	起床後1時間以内 排尿後 朝の服薬前 朝食前 座位1～2分安静後
b. 晩	就寝前 座位1～2分安静後
選択条件	
a. 指示により	夕食の前、夕の服薬前、入浴前、飲酒前など
b. その他適宜	自覚症状のあるとき、休日昼間など 装置によっては深夜睡眠時測定も可
3. 測定回数	1機会1回以上(1～3回)*
4. 測定期間	できるかぎり長時間
5. 記録	すべての測定値を記録する

\*あまり多くの測定頻度を求めてはいけない

注1. 家庭血圧測定に対して不安を持つ者には測定させるべきではない

注2. 測定値に一喜一憂する必要のないことを指導しなければならない

注3. 測定値に基づき勝手に高血圧薬を変更してはならない旨を指導しなければならない

(高血圧治療ガイドライン2009による)

の追跡では正常血圧に比較して高血圧に移行するリスクが高く、十分な観察が必要な集団であるとも考えられる<sup>6)</sup>。

### ■ 血圧長期変動

岩手県大迫の一般地域住民1,215人を対象に、家庭血圧の長期変動の要因を分析したところ、高

齢、女性、高い血圧、低い心拍数、高い心拍変動が早朝の血圧長期変動と関連し、加えて飲酒習慣や少ない運動習慣が晩の血圧長期変動と関連していた<sup>7)</sup>。一方、家庭血圧の長期変動(日間変動)は、家庭血圧レベルとは独立して脳心血管疾患による死亡リスクと関連していた<sup>8)</sup>。

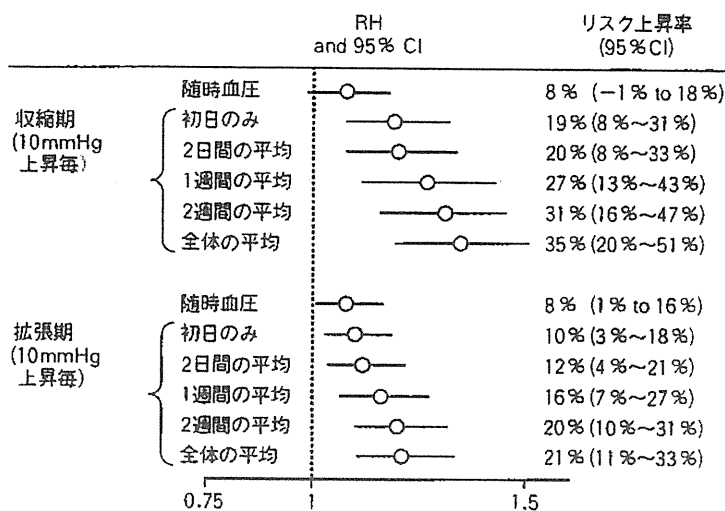


図1 家庭血圧測定回数と予後予測能

診察室血圧・家庭血圧の測定回数について、それぞれ脳卒中発症リスクとの検討を行った。たとえ1回の測定であっても、家庭血圧測定は診察室血圧より予後予測能が良好であり、さらに測定回数を重ねることに予後予測能は改善した。

(Ohkubo T, et al : J Hypertens, 2004<sup>3)</sup>による)

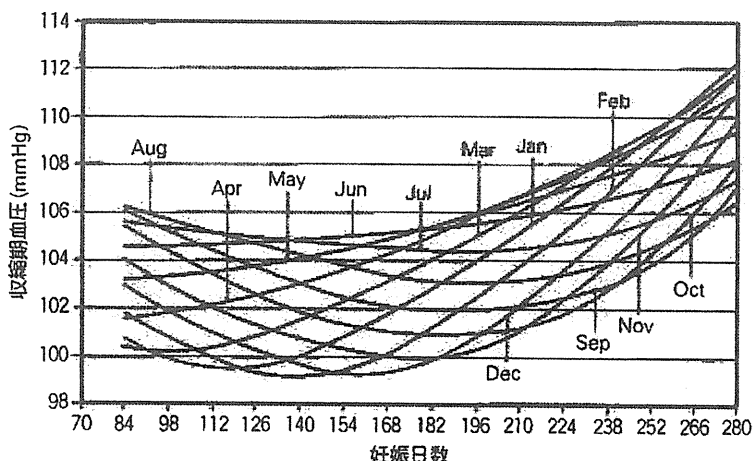


図2 出産予定月別の妊娠期間中血圧推移

グラフは各出産予定月ごとの妊娠期間中の血圧推移を示す。横軸は妊娠経過を示し、縦軸は収縮期血圧を示している。1月出産予定の妊婦では、妊娠中期の血圧低下が大きく、出産までに12.8mmHgと大きく血圧が上昇するが、7月出産予定の妊婦では、妊娠期間中の血圧上昇幅は3.1mmHgと小さかった。

(Metoki H, et al : J Hypertens, 2008<sup>19)</sup>による)

### ■ 遺伝・環境要因と家庭血圧

家庭血圧は高い再現性をもつため、より少ない対象者数で遺伝・環境要因と血圧との関連につい

て検出が可能となる。

長寿は家族内に集積することが知られており、遺伝・環境の双方が関与していると考えられる。大迫一般地域住民で、父親・母親それぞれが早世であった群では、長寿であった群に比較して成人

した子の血圧が高く、これは家庭血圧で評価した場合により明瞭であった。また、両親ともに早世であった群では、両親ともに長寿であった群と比較して有意に血圧値が高かった<sup>11)</sup>。大迫における家庭血圧の長期追跡調査によれば、RGS2, ADD1, CACNA2D2, CATの4つの高血圧候補遺伝子のリスク多型を有していると、それぞれ1.6~1.9倍高血圧発症率が高かった。また、これらのリスク遺伝子多型の組み合わせにより、高血圧発症予測能がさらに増大し、リスク多型の数が増えるにしたがって相乗的に高血圧発症率が増加することが家庭血圧により明らかにされた<sup>12)</sup>。

今まで受動喫煙の血圧値に対する影響は明確ではなかったが、生涯非喫煙で降圧薬服用歴のない474名における分析では、家庭や職場における受動喫煙群の朝の家庭収縮期血圧値(±SE)は116.8±1.01mmHgであり、家庭における受動喫煙群では116.2±1.07mmHgであった。これは、受動喫煙なし群(113.1±1.08mmHg)と比較し、いずれも有意に高値であった(それぞれP=0.02, P=0.04)<sup>13)</sup>。

## ■ ■ ■ 妊婦における家庭血圧

妊婦における家庭血圧測定の重要性も近年注目されている。American Heart Association (AHA)が2008年に出している家庭血圧測定についての声明では、「長期間にわたり、一日のうち同じ時間に、何回でも測定できる、最も優れたテクニックである家庭血圧測定は、妊娠期間中の血圧変化をモニターするために、理論的には最も適している。」と記しており<sup>14)</sup>、また、同じ頃出されたEuropean Society of Hypertension (ESH)のコンセンサス会議の報告でも、「現時点では十分に調査されていないが、家庭血圧測定は、妊婦

の血圧管理を改善する可能性がある。」と記されている<sup>15)</sup>。

血圧レベルは妊娠前期~中期に低下して、妊娠後期に高くなるが、家庭血圧測定でも同様の現象が報告されている<sup>16)</sup>。われわれも宮城県岩沼市にあるスズキ記念病院において正常血圧妊婦101人を妊娠初期から出産直前まで追跡したところ、妊娠経過に伴う血圧変動ばかりではなく血圧の季節変動も観察され、冬期に出産予定の妊婦は他の時期に出産予定の妊婦と比較して妊娠中期の血圧が低かった。冬期に出産予定の妊婦の、夏期に測定した妊娠初~中期の血圧値からは、妊娠高血圧腎症発症リスクを過小評価している可能性が考えられた(BOSHI研究)<sup>12)</sup>。

一方、妊婦においても、白衣現象に関する報告がされている。妊娠初期には白衣高血圧が多く観察され<sup>16)</sup>、一般にその予後は良好であり、その時点での投薬の必要はないと考えられる。しかしながら、妊娠初期に診療時血圧正常であった妊婦と比較すると、高率に妊娠高血圧腎症へ進行することから継続的な血圧測定が重要と考えられる<sup>17)</sup>。

## ■ ■ ■ 最後 に

家庭血圧は高い再現性を持ち、予後予測能に優れるばかりではなく、白衣現象や血圧長期変動を評価することができることから、既に高血圧臨床において確固たる地位を築いてきた。一方、女性における血圧測定においては、月経周期や閉経の血圧に及ぼす影響、妊娠経過なども考慮する必要があるが、これらにおける家庭血圧のデータは未だ十分ではない。今後は、女性における家庭血圧のエビデンスの集積もまた重要であると考えられる。

## 文 献

1) Ogihara T, et al: The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2009). *Hypertens Res* 32: 3-107, 2009.

2) Ohkubo T, et al: Home blood Pressure measurement has a stronger predictive power for mortality than dose screening blood pressure measurement: a population-based observation in Ohasa-



- ma, Japan. *J Hypertens* 16 : 971-975, 1998.
- 3) Ohkubo T, et al : How many times should blood pressure be measured at home for better prediction of stroke risk ? Ten-year follow-up results from the Ohasama study. *J Hypertens* 22 : 1099-1104, 2004.
  - 4) Asayama K, et al : Proposal of a risk-stratification system for the Japanese population based on blood pressure levels : the Ohasama study. *Hypertens Res* 31 : 1315-1322, 2008.
  - 5) Bobrie G, et al : Cardiovascular prognosis of "masked hypertension" detected by blood pressure self-measurement in elderly treated hypertensive patients. *JAMA* 291 : 1342-1349, 2004.
  - 6) Ugajin T, et al : White-coat hypertension as a risk factor for the development of home hypertension : the Ohasama study. *Arch Intern Med* 11 : 1541-1546, 2005.
  - 7) Kato T, et al : Factors associated with day-by-day variability of self-measured blood pressure at home : the Ohasama study. *Am J Hypertens* 23 : 980-986, 2010.
  - 8) Kikuya M, et al : Day-by-day variability of blood pressure and heart rate at home as a novel predictor of prognosis : the Ohasama study. *Hypertension* 52 : 1045-1050, 2008.
  - 9) Watanabe Y, et al : Parental longevity and offspring's home blood pressure : the Ohasama study. *J Hypertens* 28 : 272-277, 2010.
  - 10) Watanabe Y, et al : Accumulation of common polymorphisms is associated with development of hypertension : a 12-year follow-up from the Ohasama study. *Hypertens Res* 33 : 129-134, 2010.
  - 11) Seki M, et al : Association of environmental tobacco smoke exposure with elevated home blood pressure in Japanese women : the Ohasama study. *J Hypertens* 28 : 1814-1820, 2010.
  - 12) Pickering TG, et al : Call to action on use and reimbursement for home blood pressure monitoring : a joint scientific statement from the American Heart Association, American Society Of Hypertension, and Preventive Cardiovascular Nurses Association. *Hypertension* 52 : 10-29, 2008.
  - 13) Parati G, et al : European Society of Hypertension guidelines for blood pressure monitoring at home : a summary report of the Second International Consensus Conference on Home Blood Pressure Monitoring. *J Hypertens* 26 : 1505-1526, 2008.
  - 14) Denolle T, et al : Home blood pressure during normal pregnancy. *Am J Hypertens* 18 : 1178-1180, 2005.
  - 15) Metoki H, et al : Seasonal trends of blood pressure during pregnancy in Japan : the babies and their parents' longitudinal observation in Suzuki Memorial Hospital in Intrauterine Period study. *J Hypertens* 26 : 2406-2413, 2008.
  - 16) Denolle T, et al : Diagnosis of white coat hypertension in pregnant women with teletransmitted home blood pressure. *Hypertens Pregnancy* 24 : 305-313, 2008.
  - 17) Brown MA, et al : The natural history of white coat hypertension during pregnancy. *BJOG* 112 : 601-606, 2005.

# 小児期から始まる生活習慣病 —実態と予後

国立成育医療センター内分泌代謝科 堀川玲子

生活習慣病は文字通り「生活習慣」に根ざした病気である。成人では主として肥満に起因し、糖尿病、高脂血症、脂肪肝・肝機能障害、高血圧、高尿酸血症などを来す。これらを「メタボリックシンドローム」と呼ぶ。メタボリックシンドロームは現在中学生男子肥満者の15%に存在するといわれ、小児でも肥満が生活習慣病の要因となっている。そして生活習慣に根ざしたメタボリックシンドロームは治療が困難なことが多いのが問題である。

本講演では、小児生活習慣病と肥満の関係について述べる。

1. 生活習慣病（メタボリックシンドローム）と小児肥満症  
糖尿病をはじめとするメタボリックシンドロームの終着駅は、共通して動脈硬化であり、この結果冠動脈疾患、脳血管障害が起こりやすくなる。最も重要な出発点は肥満、特に内臓肥満である。小児肥満者も成人と同様、内臓肥満が発生する<sup>1)</sup>。実際に小中学生の中等症以上の肥満者（肥満度30%以上）を調べると、内臓脂肪量の平均が100cm<sup>3</sup>を超過している。また、頸静脈エコーで動脈硬化症を検討すると、肥満小児にすでに認められるという報告もある。小児肥満症は成人同様、高血圧、高脂血症、脂肪肝、糖尿病、心肺機能の低下による運動能力低下や低換気症候群・睡眠時無呼吸を来す。また、大腿骨頭すべり症の発症要因となるほか、心理的には自己評価の低下を招き、情緒障害や学校生活への不適応の原因ともなる。従って、小児の肥満は成人と同様、その時点でメタボリックシンドロームに結びついているのである。

2. 小児生活習慣病の背景  
小児の肥満と2型糖尿病は、食生活や生活習慣の変化（遊びの質・量の変化など）我が国や韓国、中国都市部においてきわめて急激に増加している。各国の肥満の現状をみると、5-17歳の肥満の割合を調査したWHOの報告では、過体重を含める肥満小児は北米で30%を越え、ヨーロッパでは20%、中近東で15%に至っている。

2005年度の厚生労働省国民健康・栄養調査結果によると、肥満の割合は20年間に確実に増加しているが、ここ10年間では肥満とともにやせも増加し、「普通」が減少しているのが特徴である。2007年度の文部科学省学校保健統計調査報告書によると、学年別肥満児出現率は男女ともに小学校3年生から増加し、小学校6年生から中学校1年時にピーク（10-12%）を迎え、その後緩やかに低下、しかし高校生になり男女ともに肥満の割合が増加している。幼児期の推定肥満児比率は3-5%であるから、学童期の肥満増加が問題であることがわかる。このような増加の原因としては、食生活の変化、遊びの質・量の変化による運動、活動量の減少、ストレスの増加が挙げられる。受験や過度の競争といった現代社会の仕組みのもたらすストレスの増加もあるが、一方で子供たち一人一人がストレスにうまく対処できない、いわゆる“coping skill”の獲得がうまくなされていない、という問題も大きい。

一般にBMIは年齢と共に変化し、幼児期に底値をとった後6歳頃に上昇に転ずる。この減少はadiposity reboundと呼ばれ、このrebound時期が4歳未満と4歳以降で成人期肥満・メタボリックシンドロームの出現率が異なり、低年齢のリバウンドの方がリスクが高いと報告されている。我々の検討でも、乳幼児期早期からの肥満、すなわちadiposity reboundが早期に起こっている例は小児思春期の重症肥満につながり、さらに内臓脂肪の早期蓄積につながる事が明らかとなった。よって、乳児期から適度な栄養と身長体重のバランスの良い成長を心がけるべきである。

### 3. 小児生活習慣病の成人への移行

肥満成人女性の30%は思春期に肥満があり、肥満成人男性の10%が思春期に肥満であるという報告、14歳児の肥満がもつとも成人肥満と関連する、4歳未満発症の肥満は成人肥満に移行する率が高く、肥満度も高いという報告がある。肥満の小児は性成熟が早いいため初潮が早い、Laitinenらの報告によると、初潮年齢と成人の肥満度は逆相関する、すなわち初潮が早いほうが成人してから肥満度が高い。

### 4. 胎生期の環境とメタボリック症候群

母体の低栄養など、子宮内環境が良好でない場合、胎児は脳の発達に栄養を最大限に分配するため、身体は栄養不良の状態に適応して発達していく。胎児のこのような適応能力をDevelopmental plasticity（発達の可塑性）といい、適応の結果、インスリン抵抗性の変化など身体へのProgrammingがおこる。低出生体重で出生後、栄養状態の改善に対して胎生期にプログラミングされたインスリン抵抗性などが対応できず、成人期の生活習慣病のリスクを押し上げる結果となる。この説は、英国のBarkerらによって提唱されたBarker仮説（胎児インスリン仮説）<sup>2)</sup>である。

英国をはじめ、海外では成人病（心疾患、高血圧、糖尿病、高脂血症など）における病因・成因検討の大規模コホートが行われており、それを元に近年、胎生期の環境と胎児発育が、その後の生活習慣病発病と密接に関係しているという報告が相次いでなされている。冠動脈疾患による標準死亡率は出生時体重が低いほど高いという疫学データは英国をはじめフィンランド、アメリカだけでなく南インドの疫学調査でも証明されている。このような調査から派生して、2型糖尿病・耐糖能異常のリスクが出生時体重が2.5kg以下の群では4.3kg以上の群の6.6倍に上ること、出生時体重が重い方が収縮期血圧が低いことが報告された。

この他、インスリン様成長因子（IGFs）、胎生期ステロイドの暴露など、多因子の要因の関与が示唆されている。

最近Gluckmanらが、Barker仮説を発展させてDevelopmental Origin of Health and Disease (DOHaD)説を提唱した<sup>3)</sup>。DOHaDでは胎生期の栄養障害など環境因子により児のメチル化異常が起こり、エピジェネティックな変化の起こった個体が生後の高栄養の環境に適合せず、長じてメタボリック症候群に至るといふものである。近年、妊婦の痩せ願望が強いこと、出産の高齢化と不妊治療による妊娠が増加しているが、これらは低出生体重児増加のリスクになりうると思えられる。実際には平均出生体重は3000gを切っている。妊娠中の胎児環境悪化は、将来の生活習慣病増加につながり、さらに成長ホルモン治療の普及により糖尿病罹患の危険度増加などの悪循環につながる危険を有する。

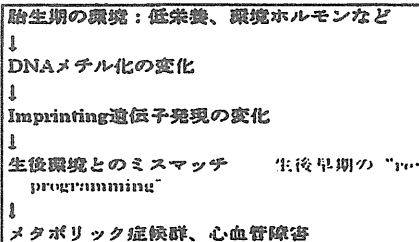


図 DOHaD説

### まとめ

成人の死亡原因の1/3を占める心・脳血管障害の原因はメタボリックシンドロームであり、その誘因は生活習慣により引き起こされた肥満である。小児期の肥満はその時点でも小児生活習慣病でもあるメタボリックシンドロームを引き起こし、さらに成人病へトラッキングしていく。一度身に付いた生活習慣を是正するのは並大抵ではないため、はじめから良い生活習慣を身につけていくことが最善の策である。

### 文献

- 堀川玲子 C肥満 専門医による 新 小児内分泌疾患の治療 田苗綾子、前坂機江、田中敏章、横谷進、立花克彦、堀川玲子、安達昌功 編著 Pp215-220.診断と治療社 (2007)
- Barker DJP. Mothers, babies and health in later life. 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998.
- Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. Am J Hum Biol. 19:1-19,2007.

## 出生体重の低い母親の妊娠糖尿病発症リスク

Maternal low birth weight as an independent risk factor for gestational hyperglycemia in Japanese

荒田 尚子

Naoko ARATA

国立成育医療研究センター母性医療診療部代謝内分泌内科

◎疫学的に、低出生体重児は成人後に肥満、糖代謝異常、心血管疾患などを高率に発症することが知られている。また、低出生体重で生まれた女性は、妊娠中も妊娠糖尿病などの糖代謝異常を合併しやすい。胎内・授乳幼児期の栄養環境を受けて遺伝子の発現機構の変化(エピジェネティック変化)が起こるが、その変化は遺伝子情報とともに次世代へ継承される。さらに、低出生体重で生まれた女性は妊娠中に糖代謝異常をはじめ妊娠高血圧症候群、早産、胎児発育遅延などを合併しやすいことが明らかにされており、このことは低出生体重疾患要因が増幅されて次世代へ継承される可能性を意味することから重要な問題と考えられる。



Key word: 妊娠糖尿病, 低出生体重, リスクファクター, DOHaD, Transgenerational effects

Barker らにより 1986 年、低出生体重児が成人に達した後に冠動脈疾患での死亡率が高かったことを発端に胎児期の栄養不良が成人病の素因をつくるという Barker 仮説(成人病胎児期発症仮説)<sup>1)</sup>が提唱され、その後、低出生体重と成人後の高血圧、糖尿病、肥満、高血圧との関係が示された<sup>2)</sup>。現在では、胎児期のみならず出生後の栄養もその後のさまざまな疾病発症に関与していることが明らかになるにつれて、「発達期の環境の変化に対応した不可逆的な反応(developmental plasticity)が生じると、発達が完了した時期の環境と一致すれば健康に生活できるし、もし一致しなければ成人期のさまざまな疾患の源になる」という developmental origins of health and disease(DOHaD)仮説が一般的になっている<sup>3)</sup>。

出生体重と成人後の糖尿病発症に関する研究は多数報告されているが、母体出生体重と妊娠中の耐糖能異常に関する報告は数少ない。本稿では、出生体重と其後の糖尿病発症や妊娠中の耐糖能異常に関する疫学的研究結果、および母体出生体重異常の妊娠中の耐糖能異常発症リスクについて

著者らの研究結果を紹介し、さらにその病態と次世代への影響の可能性について述べたい。

### 低出生体重と其後の糖尿病発症のリスク

出生体重と成人期の糖尿病発症に関する多くの報告があるが、2008 年に Whincup らが詳細なメタアナリシスを行った<sup>4)</sup>。それによると、多くは出生体重と成人期の糖尿病発症は負関連であるが、ピマインディアンやカナダ原住民などの北米住民または若年 2 型糖尿病患者を対象とした場合はとくに 4 kg 以上の出生体重の糖尿病発症率が高く出生体重と糖尿病発症は U 字型の関係を示した。高出生体重児の糖尿病発症リスクの増大は糖尿病の遺伝的素因が強いグループにみられ、胎内ですでに母体の糖尿病に曝された結果である可能性を示している。

日本人に関しては、中年糖尿病男性<sup>5)</sup>、妊娠時すでに 2 型糖尿病を合併していた女性<sup>6)</sup>、2 型糖尿病合併小児<sup>7,8)</sup>を対象とした報告がそれぞれある。穴澤らは 40~59 歳の 301 名の糖尿病男性と 1,823 名の非糖尿病男性において、2,500 g 未満の低出

生体重率は糖尿病男性で 18.6%と非糖尿病男性の 9.8%に比較して高頻度であったが、3,700 g 以上の出生体重率はそれぞれ 9.3%と 11.6%で変わらないことを報告した<sup>5)</sup>。また、妊娠中に 2 型糖尿病合併妊娠として管理された 174 名のうち自身の出生体重に関する問診票送付に回答のあった 64 名の出生体重の解析では、同時期に出生した日本人女性の出生体重分布と比較した 2,500~4,000 g の出生体重に対する 2 型糖尿病合併の相対危険度はそれぞれ 6.1 と 2.3 であり、2,500 g 未満の低出生体重児で妊娠時の 2 型糖尿病合併リスクは高率であることが示された<sup>6)</sup>。さらに、小児 2 型糖尿病患者 259 児では、2,500 g 未満の低出生体重と 4,000 g 以上の高出生体重の占める割合はそれぞれ 11.3%と 9.3%で、同時期の日本出生体重データ(2,500 g 未満 7.5%, 高出生体重 4,000 g 以上 1.4%; 1990 年)と比較すると、低出生体重のみならず高出生体重においても糖尿病発症リスクが増強することが示された。とくに高出生体重児の母親の糖尿病歴は 63%と高率であった<sup>7,8)</sup>。海外の報告と同様に、日本人においても低出生体重児または胎内で高血糖曝露を受けた可能性の高い高出生体重児は将来、糖尿病発症リスクが高いといえる。

#### 低出生体重と妊娠糖尿病発症のリスク

妊娠中は胎盤からの血糖を上昇させるさまざまなホルモンやサイトカインの産生によってインスリン抵抗性が増大する。インスリン分泌がインスリン抵抗性の増大を代償できなくなったときに妊娠糖尿病を発症する。そのリスクとして高齢、妊娠前肥満、糖尿病の家族歴、原因不明の習慣性流産歴、原因不明の周産期死亡歴、妊娠糖尿病や HFD (heavy for dates) 児分娩の既往、先天異常児の分娩歴などがあるといわれているが、妊娠は人生におけるさまざまな疾患の負荷試験の場ともいわれていることから、低出生体重児が妊娠中に糖代謝異常を合併しやすいことは容易に推測できる。

妊娠時の耐糖能異常については、母体の出生体重が低いほど妊娠糖尿病が多いという報告はいくつかあり、2006 年の第 4 回妊娠糖尿病国際ワークショップ会議において低出生体重が妊娠糖尿病のリスクのひとつであることが強調された<sup>9)</sup>。一方

で、北アメリカの原住民、アフリカ系アメリカ人、ヨーロッパの一部の民族において、高出生体重児も妊娠糖尿病の発症リスクとなる J 字<sup>10,11)</sup>あるいは U 字型<sup>12,13)</sup>であることも示された。高出生体重児の妊娠糖尿病の発症リスクは妊娠中の母親の糖尿病合併で補正すると消失あるいは減弱するともいわれており、高出生体重児での妊娠糖尿病の発症は母体糖尿病による高血糖が高出生体重の原因になっているのであろう。2,500 g 未満の低出生体重の妊娠糖尿病発症リスクの報告はこれまでのものはおよそ 1.7~3.7 であり、低出生体重の成人 2 型糖尿病発症リスクはあっても 1.5 前後と、低出生体重は妊娠中の耐糖能異常とより関連性がありそうである。

#### 低出生体重と日本人における妊娠糖尿病発症のリスク

著者らの施設で行った低出生体重と日本人における妊娠糖尿病発症のリスクに関するデータを提示する。2006~2009 年の間に妊娠分娩管理を行われた単胎妊婦のうち、耐糖能異常妊婦 146 名(妊娠糖尿病 65 名、75 g 糖負荷検査で 1 点のみの異常 81 名)、および妊娠中期 50 g グルコースチャレンジテストの 1 時間血漿グルコース値が 139 mg/dl 以下であった正常耐糖能妊婦 220 例(対照群)を対象とし、妊娠中に母体自身の出生体重と低出生体重(2,499 g 以下)と高出生体重(4,000 g 以上)の正常出生体重(2,500~3,999 g)に対する妊娠中耐糖能異常発症リスクを検討した。日本産婦人科学会・日本糖尿病学会の旧診断基準(1984, 1999 年)に従って妊娠糖尿病の診断を行ったが、HbA1c 6.1%以上か空腹時血漿グルコース値 126 mg/dl 以上の症例の明らかな糖尿病と思われる症例は除外した。

年齢、妊娠前体重、妊娠前 BMI、第一親等の糖尿病の家族歴、原因不明の習慣性流産・早産の頻度は、対照群に比較して耐糖能異常群で有意に高値であったが( $p < 0.001 \sim 0.01$ )、その他の因子は耐糖能異常群と対照群で差はなかった(表 1)。対照群 220 例および耐糖能異常群 149 例における母体出生体重の分布はいずれも正規分布を示し、耐糖能異常群が対照群に比較しやや低出生体重側