

分担課題: 妊娠中の母体ストレスおよび着床との関連に関する検討

研究分担者 下屋 浩一郎 川崎医科大学産科婦人科学教授
勝山 博信 川崎医科大学公衆衛生学教授

研究要旨

母体のストレスによって妊娠中の様々な合併症のリスクが増加することが報告されている。妊娠中の唾液中のコルチゾールおよびクロモグラニンA/蛋白は妊娠期間を通じて2相性に変化し、抑うつ状態にある症例でむしろ唾液中ストレスマーカーは抑制されていた。自然流産あるいは不育症においても着床時期の母体のストレス量が流産すなわち着床障害と関連する可能性が考えられる。体外受精・胚移植治療中の不妊症患者においては多数が抑うつ傾向にある。しかしながら SDS、GHQ28 の質問票の結果と着床との間には相関は見られなかった。唾液中コルチゾール値は着床成功群で有意に低値を示し、アミラーゼは有意に高値を示した。クロモグラニンA/蛋白比には有意差は認められなかった。着床前および着床期では、着床成功群で唾液中コルチゾール値が低かったが、アミラーゼは有意に高値を示した。クロモグラニンA/蛋白には有意差は認められなかった。一方、黄体後期にはいずれのマーカーにおいても差は認められなかった。唾液中のストレスマーカーの測定は不育症・不妊症症例においても有効なツールとなる可能性がある。

A. 研究目的

母体のストレスによって妊娠中の様々な合併症のリスクが増加することが報告されている。妊娠中のストレス指標を客観的に評価するものとして唾液中のストレスマーカーに注目して妊娠中の定量化をまず行った。自然流産あるいは不育症においても着床時期の母体のストレス量が流産すなわち着床障害と関連する可能性が考えられる。しかしながら、これを検討することは現実的には困難である。不妊治療とりわけ体外受精・胚移植においては着床時期が明確であることからこの検討が容易である。さらに不妊治療においても母体のストレスと治療成績との関連は重要な情報となり得る。しかしながら妊娠初期の流産と母体ストレスの関連や体外受精・胚移植の際の母体ストレスと着床率に関する検討は少ない。本研究では体外受精・胚移植における着床率と妊娠早期の母体ストレスとの関連について質問票や唾液中ストレスマーカーによって明らかにし、着床率改善のための情報を得ることを目的とし、さらにその成果から流産と妊娠初期の母体ストレスとの

関連について検討することを目指した。

B. 研究方法

妊娠中のストレス量を評価する目的にて妊娠初期・中期・後期・分娩前・産褥にサリベットを用いて唾液を採取し、遠心分離にて唾液を回収後、スピッツに移して凍結保存し、ストレスマーカー(コルチゾール、クロモグラニンA)の測定を行った。また、質問表によるストレス解析を同時に行った。

不妊専門クリニックにおいて体外受精・胚移植(顕微授精、凍結卵移植を含む)を受ける患者を対象に質問表によるストレス解析および唾液中のストレス量の定量化を行い、妊娠の帰結との関連について検討した。唾液中のストレス定量として唾液採取は採卵日より1日おきにサリベットを用いて唾液を採取し、次回月経開始または妊娠反応確認時点までとした。採取した検体は次回外来受診まで冷所にて保存し、質問表は自宅にて記入し、外来受診時に回収した。検体は、遠心分離にて唾液を回収後、スピッツに移して凍結保存

し、ストレスマーカー(コルチゾール、クロモグラニン A、アミラーゼ)の測定を行った。妊娠成立群と不成立群の患者背景を比較し、質問表によるストレス度評価との比較検討を行った。また、両群におけるストレスマーカー測定値の違いを経時的変化とともに比較検討した。

(倫理面への配慮)

(1) 被験者に理解を求め同意を得る方法

本人の署名入りのインフォームドコンセントの文書を保存する。研究者の連絡先を書いた文書を調査対象者に渡す。説明文書と同意書は別に添付した。

(2) 被験者の受ける利益と損失

本研究では介入試験を行わず、被験者の利益および損失ともに生じる可能性はない。

(3) 人権及びプライバシーへの配慮

本試験にかかわる者は、参加する全ての被験者のプライバシーを保護するため、以下の事項に配慮する。また、業務上被験者のプライバシーを知り得る者はその秘匿を保持する。

(4) 倫理委員会の承認

本研究にあたって川崎医科大学・川崎医科大学附属病院倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

妊娠症例 69 例に対し、ストレス量を継時的に測定した。妊娠中の唾液中のコルチゾールおよびクロモグラニンA/蛋白は妊娠期間を通じて2相性に变化し、質問表による解析で抑うつ状態にある症例でむしろ唾液中ストレスマーカーは抑制されていた。

体外受精・胚移植症例に関する検討では患者年齢、治療内容、労働時間、ストレス自覚の有無、喫煙、飲酒などには着床成功群と非成功群との間で差は認められなかった。また、質問票によるストレス度および健康指標度については SDS の平均スコアが着床成功群で 39.5、非成功群で 39.2 と有意差は認められず、GHQ の平均スコアも着床成功群で 5.6、非成功群で 5.1 と有意差は認められなかった。また、抑うつ傾向にある症例が 52%と高頻度に認められた。抑うつ群と正常群の2群で検討しても着床率に有意差は認められなかった。また、包括的健康度評価法 GHQ-28 で健康不良群と正常群の2群で検討しても着床率に有意差は認められなかった。一方、唾液中のストレスマーカーについてはコルチゾールが着床成功群で有意に低値であった。また、アミラーゼは

着床成功群で有意に高値であった。クロモグラニンA/蛋白比は着床成功群で低い傾向にあったが有意差は認められなかった。着床成功群においてコルチゾール値が低値となるのは着床前、および着床期においては有意差をもって認められたが、黄体期後期には有意差は認められなかった。アミラーゼの高値も2群で検討しても着床率に有意差は認められなかった。

D. 考察

妊娠中のストレス定量に唾液中ストレスマーカーの測定は有用な手法であった。また、抑うつ状態にある症例でむしろ唾液中ストレスマーカーは抑制されており視床下部-下垂体-副腎系が疲弊している可能性が示唆された。不妊症患者において唾液中ストレスマーカーを測定することにより、医師-患者関係や質問票からはとらえきれないストレスを客観的に評価し、早期からストレスに対する対応が可能となる可能性が考えられる。測定するストレスマーカーとしてはコルチゾールが有用と考えられる。妊娠初期(着床期)流産と母体ストレスが深く関連する可能性を示唆している。流産・習慣流産に対する予防・治療に母体ストレス評価と対応が重要である可能性を示唆している。

E. 結論

妊娠中のストレス指標として唾液中のストレスマーカーの測定は有効な手法である。また、着床時期のストレス量が着床の成功と関連する可能性がある。唾液中のストレスマーカーの測定は不育症・不妊症症例において有効なツールとなる可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Temporal and Spatial Expression of Tumor-Associated Antigen RCAS1 in Pregnant Mouse Uterus. Tskitishvili E, Nakamura H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K. Am J Reprod Immunol. 2010 Feb;63(2):137-43.
- 2) Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells. Tskitishvili E,

- Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K. Mol Hum Reprod. 2010 Mar;16(3):188-99.
- 3) Human C-reactive protein enhances vulnerability of immature rats to hypoxic-ischemic brain damage: a preliminary study. Kinugasa-Taniguchi Y, Tomimatsu T, Mimura K, Kanagawa T, Shimoya K, Murata Y, Kimura T. Reprod Sci. 2010 May;17(5):419-25.
- 4) Maternal blood serum and plasma human tumor-associated antigen RCAS1 during the course of uncomplicated pregnancies: a prospective study. Tskitishvili E, Sharentuya N, Tsubouchi H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Shimoya K, Tomimatsu T, Kimura T. Am J Reprod Immunol. 2010 Sep;64(3):218-24.
- 5) The effect of tumor-associated protein RCAS1 gene silencing on blood pressure and urinary protein excretion in pregnant mouse: a pilot study. Tskitishvili E, Nakamura H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Shimoya K, Tomimatsu T, Kimura T. Am J Obstet Gynecol. 2010 Oct;203(4):364.e6-364.e12.
- 6) The change of the salivary stress marker concentrations during pregnancy -Maternal depressive status suppress the changes of those levels. Hiroaki Tsubouchi, Yuichiro Nakai, Masahiro Toda, Kanehisa Morimoto, Yang Sil Chang, Norichika Ushioda, Shoji Kaku, Takafumi Nakamura, Tadashi Kimura, Koichiro Shimoya. J Obstet Gynaecol Res. 2010 in press
- 7) Effects of 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), a major lipid peroxidation-derived aldehyde, and N-acetyl-cysteine(NAC) on the cyclooxygenase (COX)-2 expression in human uterine myometrium Kumiko Temma-Asano, Ekaterine Tskitishvili, Takeshi Kanagawa, Takuji Tomimatsu, Tateki Tsutsui, Tadashi Kimura, Yang Sil Chang, Takafumi Nakamura, Yuichiro Nakai, Koichiro Shimoya Obstet Gynecol Invest 2010 in press
- 8) 外来診療マニュアル 周産期 流産・習慣流産 下屋浩一郎, 石田剛, 張良実, 潮田至央, 郭翔志, 中村隆文, 中井祐一郎 産婦人科の実際 59 巻 11 号 Page1775-1780(2010.10)
- 9) これだけは知っておきたい胎児の診断と治療 胎児 well-being 下屋浩一郎, 石田剛, 張良実, 潮田至央, 郭翔志, 中村隆文, 中井祐一郎 産婦人科治療 101 巻 5 号 Page526-532(2010.11)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

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
Tskitishvili E, Nakamura H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T, Tomimatsu T, <u>Shimoya K.</u>	Temporal and Spatial Expression of Tumor-Associated Antigen RCAS1 in Pregnant Mouse Uterus.	Am J Reprod Immunol.	63(2)	137-43	2010
Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, <u>Shimoya K.</u>	Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells.	Mol Hum Reprod.	16(3)	188-99	2010
Kinugasa-Taniguchi Y, Tomimatsu T, Mimura K, Kanagawa T, <u>Shimoya K.</u> , Murata Y, Kimura T.	Human C-reactive protein enhances vulnerability of immature rats to hypoxic-ischemic brain damage: a preliminary study	Reprod Sci.	17(5)	419-25	2010
Tskitishvili E, Sharentuya N, Tsubouchi H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, <u>Shimoya K.</u> , Tomimatsu T, Kimura T.	Maternal blood serum and plasma human tumor-associated antigen RCAS1 during the course of uncomplicated pregnancies: a prospective study.	Am J Reprod Immunol.	64(3)	218-24	2010
Tskitishvili E, Nakamura H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, <u>Shimoya K.</u> , Tomimatsu T, Kimura T.	The effect of tumor-associated protein RCAS1 gene silencing on blood pressure and urinary protein excretion in pregnant mouse: a pilot study.	Am J Obstet Gynecol.	203(4)	364.e6-364.e12	2010
下屋浩一郎, 石田剛, 張良実, 潮田至央, 郭翔志, 中村隆文, 中井祐一郎	外来診療マニュアル 周産期 流産・習慣流産	産婦人科の実際	59 巻 11 号	1775-1780	2010
下屋浩一郎, 石田剛, 張良実, 潮田至央, 郭翔志, 中村隆文, 中井祐一郎	これだけは知っておきたい胎児の診断と治療 胎児 well-being	産婦人科治療	101 巻 5 号	526-532	2010

Hiroaki Tsubouchi, Yuichiro Nakai, Masahiro Toda, Kanehisa Morimoto, Yang Sil Chang, Norichika Ushioda, Shoji Kaku, Takafumi Nakamura, Tadashi Kimura, Koichiro Shimoya.	The change of the salivary stress marker concentrations during pregnancy –Maternal depressive status suppress the changes of those levels.	J Obstet Gynaecol Res.			in press
Kumiko Temma-Asano, Ekaterine Tskitishvili, Takeshi Kanagawa, Takuji Tomimatsu, Tateki Tsutsui, Tadashi Kimura, Yang Sil Chang, Takafumi Nakamura, Yuichiro Nakai, Koichiro Shimoya	Effects of 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), a major lipid peroxidation-derived aldehyde, and N-acetyl-cysteine(NAC) on the cyclooxygenase (COX)-2 expression in human uterine myometrium	Obstet Gynecol Invest			in press