

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）  
分担研究報告書

分担課題：母体ストレスと着床に関する検討

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  
森本 兼曩 大阪大学医学部環境医学教授

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。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。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。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

【研究対象】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

【研究期間】平成21年1月～平成21年10月

【評価項目】

<患者背景>年齢、労働、喫煙など

<検査項目>

1. 質問表によるストレス解析

2. 唾液中のストレス量の定量化

唾液中のコルチゾール、クロモグラニンA、アミラーゼの測定

<妊娠の帰結>着床成功率

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

検討症例は46例(体外受精18例、凍結胚移植28例)で平均年齢33.4歳(25~39歳)であった。着床例は12例、妊娠継続例は8例であった。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24例(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 $0.21 \pm 0.3 \mu\text{g/dL}$ 、非成功群で $0.29 \pm 0.3 \mu\text{g/dL}$ と着床成功群で有意に低値であった。また、アミラーゼは $82.4 \pm 81.6$ と $66.5 \pm 79.1$ と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

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。本研究結果から不妊治療において患者のストレスが着床と関連する可能性が示唆された。このことは妊娠初期(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。今後はさらに患者のストレスケア(カウンセリング等)を行い、ストレスマーカーの変化、着床への影響を検討していく必要があると考えられる。

#### E. 結論

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) Tskitishvili E, Nakamura H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K. Temporal and Spatial Expression of Tumor-Associated Antigen RCAS1 in Pregnant Mouse Uterus. Am J Reprod Immunol. 2010 in press
- 2) Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K. Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells. Mol Hum Reprod. 2010 in press
- 3) Matsuo K, Shimoya K., Kimura T. Elective cesarean delivery at 38 weeks' gestation: is the timing too early? J Perinat Med. 2009;37(5):569. No abstract available
- 4) Matsuo K, Shiki Y, Yamasaki M, Shimoya K. Use of uterine fundal pressure maneuver at vaginal delivery and risk of severe perineal laceration. Arch Gynecol Obstet. 2009 Nov;280(5):781-786
- 5) Fushimi S, Wada N, Nohno T, Tomita M, Saijoh K, Sunami S, Katsuyama H. 17 $\beta$ -Estradiol inhibits chondrogenesis in the skull development of zebrafish embryos. Aquat Toxicol. 2009;95:292-298
- 6) Katsuyama H., Tomita M, Okuyama T, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Fushimi S, Saijoh K. 5HTT polymorphisms are associated with job stress in the Japanese workers. Leg Med 2009; 11: s473-s476
- 7) Katsuyama H., Arii M, Tomita M, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Okuyama T, Fushimi S, Maeda N, Higashimura T, Fukunaga M, Saijoh K. Association between estrogen receptor  $\alpha$  polymorphisms and equol production, and its relation to bone mass. Int J Mol Med 2009; 23; 793-798.
- 8) Weng H, Weng Z, Lu Y, Nakayama K, Morimoto K. : Effects of cigarette smoking, XRCC1 genetic polymorphisms, and age on basal DNA damage in human blood mononuclear cells. Mutat. Res. 2009 Jul;679:59-64
- 9) Koetaka H., Ohno Y., Morimoto K. : Long-term effects of lifestyle on multiple risk factors in male workers. Environ Health Prev Med. 2009 May;14(3):165-172
- 10) Lu, Y., Morimoto, K. : Is habitual alcohol drinking associated with reduced electrophoretic DNA migration in peripheral blood leukocytes from ALDH2-deficient male Japanese? Mutagenesis. 2009 April 13;24(4):303-308
- 11) Huang P, Huang B, Weng H, Nakayama K, Morimoto K. : Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in Japanese hard-metal workers. Prev Med. 2009 Jan 22;48:383-388
- 12) Takahashi K, Otsuki T, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Shirahama T, Miura Y, Morimoto K. : Two weeks of permanence in negatively-charged air conditions causes alteration of natural killer cell function. Int J Immunopathol Pharmacol. 2009 Apr-Jun;22(2):333-342.
- 13) 下屋浩一郎 : わかりやすい周産期・新生児の輸血療法 (大戸斉、大久保光夫編) メジカルビュー 2009年1月発刊 page148-152 ITP 合併妊娠
- 14) 下屋浩一郎 : 周産期救急そのときどうする!?(光田信明編) メディカ出版 ペリネイタルケア 2009年新春増刊号 page 30-33 切迫早産の治療中、妊婦が全身のだるさや痛みを訴えた○塩酸リトドリンの副作用

2. 学会発表

- 1) 体外受精-胚移植における着床とストレスとの関連について 唾液中コルチゾールは着床と相関する 潮田まり子, 塚本麻美,

松林秀彦, 富山達大, 石田剛, 潮田至央,  
張良実, 勝山博信, 森本兼曩, 下屋浩一郎  
日本生殖医学会雑誌(1881-0098)54 卷 4 号  
Page377(2009. 10)

- 2) 着床とストレスとの関連について—母体ス  
トレスレベルは着床と相関する— 潮田ま  
り子、戸田雅裕、富山達大、森本兼曩、勝  
山博信、下屋浩一郎 ストレス科学 24 卷 2  
号 Page83

#### 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

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
下屋浩一郎	ITP合併妊娠	大戸斉、大久保光夫	わかりやすい周産期・新生児の輸血療法	メジカルビュー		2009年1月発行	148-152
下屋浩一郎	切迫早産の治療中、妊婦が全身のだるさや痛みを訴えた○塩酸リトドリンの副作用	光田信明	周産期救急そのときどうする！？	メディカ出版		2009	30-33

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, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K.	Temporal and Spatial Expression of Tumor-Associated Antigen RCAS1 in Pregnant Mouse Uterus.	Am J Reprod Immunol			in press 2010
Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K.	Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells.	Mol Hum Reprod.			in press 2010

Matsuo K, <u>Shimoya K</u> , Kimura T. J	Elective cesarean delivery at 38 weeks' gestation: is the timing too early?	J Perinat Med.	37(5)	569.	2009
Matsuo K, Shiki Y, Yamasaki M, <u>Shimoya K</u>	Use of uterine fundal pressure maneuver at vaginal delivery and risk of severe perineal laceration.	Arch Gynecol Obstet.	280(5)	781-786.	2009
Fushimi S, Wada N, Nohno T, Tomita M, Saijoh K, Sunami S, <u>Katsuyama H.</u>	17 $\beta$ -estradiol inhibits chondrogenesis in the skull development of zebrafish embryos.	Aquat Toxicol	95	292-298	2009
<u>Katsuyama H</u> , Tomita M, Okuyama T, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Fushimi S, Saijoh K.	5HTT polymorphisms are associated with job stress in the Japanese workers.	Leg Med	11	S473-S476	2009
<u>Katsuyama H</u> , Arii M, Sunami S, Tomita M, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Okuyama T, Fushimi S, Maeda N, Higashimura T, Fukunaga M, Saijoh K.	Association between estrogen receptor $\alpha$ polymorphisms and equol production, and its relation to bone mass.	Int J Mol Med	23	793-798	2009
Weng H, Weng Z, Lu Y, Nakayama K, <u>Morimoto K.</u>	Effects of cigarette smoking, XRCC1 genetic polymorphisms, and age on basal DNA damage in human blood mononuclear cells.	Mutat. Res.	679	59-64	2009

Koetaka H., Ohno Y., <u>Morimoto K.</u>	Long-term effects of lifestyle on multiple risk factors in male workers.	Environ Health Prev Med.	14(3)	165-172	2009
Lu Y, <u>Morimoto K.</u>	Is habitual alcohol drinking associated with reduced electrophoretic DNA migration in peripheral blood leukocytes from ALDH2-deficient male Japanese?	Mutagenesis	24(4)	303-308	2009
Huang P, Huang B, Weng H, Nakayama K, <u>Morimoto K.</u>	Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in japanese hard-metal workers.	Prev Med	48	383-388	2009
Takahashi K, Otsuki T, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Shirahama T, Miura Y, <u>Morimoto K.</u>	Two weeks of permanence in negatively-charged air conditions causes alteration of natural killer cell function.	Int J Immunopathol Pharmacol.	22(2)	333-342	2009

潮田まり子, 塚本麻美, 松林秀彦, 富山達大, 石田剛, 潮田至央, 張良実, 勝山博信, 森本兼曩, 下屋浩一郎	体外受精-胚移植にお ける着床とストレスと の関連について 唾液 中コルチゾールは着床 と相関する	日本生殖医学 会雑誌 (1881-0098)	54(4)	377	2009
潮田まり子、 戸田雅裕、 富山達大、 森本兼曩、 勝山博信、 下屋浩一郎	着床とストレスとの関 連について一母体スト レスレベルは着床と相 関する一	ストレス科学	24(2)	83	2009