

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：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（n=204）と産後外来を受診し、流産、子宮内膜症、子宮腺筋症、子宮内発育遅延等の既往のない健常経産婦（n=383）に対し、生活習慣、居住環境、ストレス等に関する質問紙調査を実施し、産科異常と関連があると報告のある5種類の一塩基多型（SNPs）、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)及び *PAPPA* 遺伝子 rs7020782 (Y1224S)を allelic discrimination (TaqMan) assay により、遺伝子型を解析した。喫煙・飲酒習慣を考慮しない場合には、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の CC 型において、不育症のリスクが約 2.8 倍上昇し、*COMT* 遺伝子 rs4680 の AA 型において、不育症リスクは、約 0.4 倍に低下した。喫煙習慣を考慮すると、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 において、非喫煙群の TT 型に比べ、不育症のリスクが、喫煙群の CC 型では、約 6.1 倍上昇した。本研究により、不育症においても、遺伝子-環境相互作用により疾患リスクが上昇することが示唆された。

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/m²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、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が、不育症に及ぼす影響や相互作用を明らかにすることを目的に実施した。

B. 研究方法

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（n=204）と産後外来を受診し、流産、子宮内膜症、子宮腺筋症、子宮内発育遅延等の既往のない健常経産婦（n=383）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対応のない t 検定により、比率を χ^2 検定により解析した。また、産科異常と関連があると報告のある 5 種類の一塩基多型 (SNPs)、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) 及び *PAPPA* 遺伝子 rs7020782 (Y1224S) 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、母親の年齢で調整したロジスティック回帰分析により、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

症例群の A-State の平均得点 (SD) は、39.4 (10.1)、対照群の平均得点 (SD) は、38.5 (9.5)、症例群の A-Trait の平均得点 (SD) は、42.9 (9.6)、対照群の平均得点 (SD) は、41.9 (9.8) であり、いずれも症例群が若干高値を示したが、統計学的には有意ではなかった (図 1)。喫煙・飲酒の生活習慣や居住環境との相互作用もみられなかった。

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 (図 2)。

喫煙・飲酒習慣を考慮しない場合には、各 SNP

における遺伝子型のオッズ比を図 3 に示す。*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の CC 型において、不育症のリスクが約 2.8 倍上昇し (95%信頼区間 1.5-5.4)、*PAPPA* 遺伝子 rs7020782 の CC 型で軽度上昇傾向が認められた (オッズ比 1.7、95%信頼区間 0.6-4.4)。一方、*COMT* 遺伝子 rs4680 の AA 型において、不育症リスクは、約 0.4 倍に低下した (95%信頼区間 0.1-1.0)。喫煙・飲酒習慣を考慮すると、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 において、非喫煙群の TT 型に比べ、不育症のリスクが、非喫煙群の CC 型では、約 2.4 倍 (95%信頼区間 1.1-5.2)、さらに喫煙群の CC 型では、約 6.1 倍 (95%信頼区間 1.3-28.6) 上昇した (図 4)。一方、非飲酒群の TT 型に比べ、不育症のリスクが、非飲酒群の CC 型では、約 2.9 倍 (95%信頼区間 1.2-6.7)、飲酒群の CC 型では、約 2.4 倍 (95%信頼区間 0.7-3.7) 上昇したが、後者は有意ではなかった (図 5)。他の SNP においては、喫煙・飲酒習慣を考慮しても、有意なリスクの変化は認められなかった。

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)。また、不育症例において、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 (9)。このような見地から、本研究では、状態-特性不安 (STAI) を用い、不育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) を比較したが、有意差は認められず、喫煙・飲酒習慣、居住環境及び各遺伝子型との相互作用も認められなかった。

一方、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 (10)、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 (11-14)。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 (11,14)。*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。

E. 結論

本研究では、*CYP1A1* 遺伝子 rs4646903 の CC 型において、不育症のリスクが約 2.8 倍上昇し、喫煙が加わると約 6.1 倍にも上昇した。不育症においても、遺伝子 - 環境相互作用により疾患リスクが上昇することが示唆された。

[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. 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.
10. Kawajiri K. CYP1A1. *IARC Sci Publ*. 1999;(148):159-72.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし (準備中)
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. 21st International Conference of Environmental Epidemiology, Dublin, Ireland, August 25-29, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図1 STAI(状態-特性不安検査)

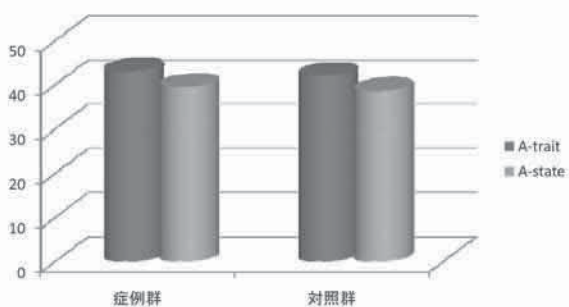
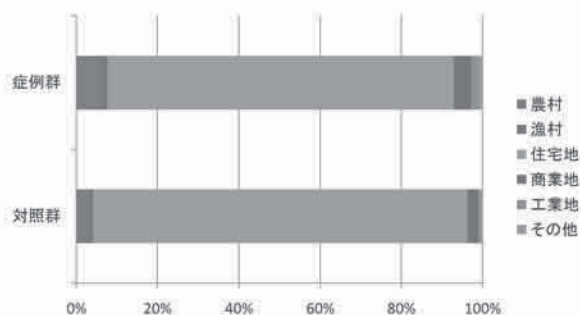
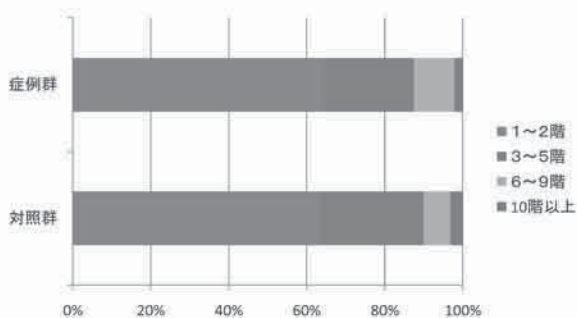


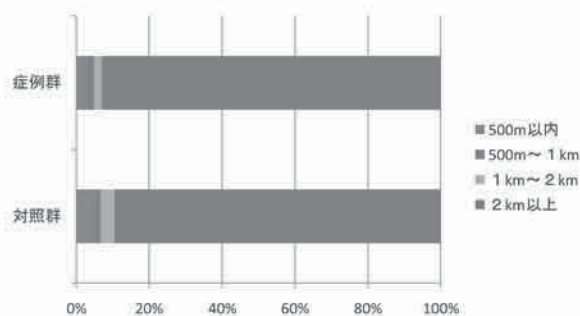
図2 居住環境 (1) 現在の居住地



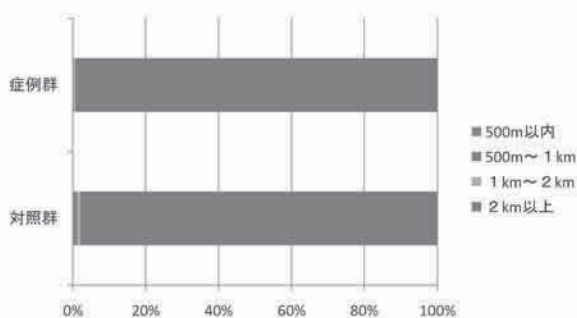
(2) 住宅の階数



(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



(5) 幹線道路(片道2車線以上)からの距離

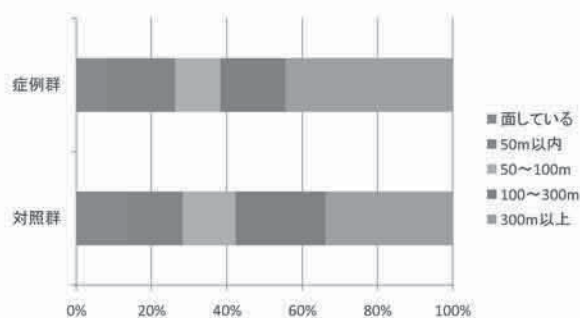


図3 各SNPにおける不育症リスク

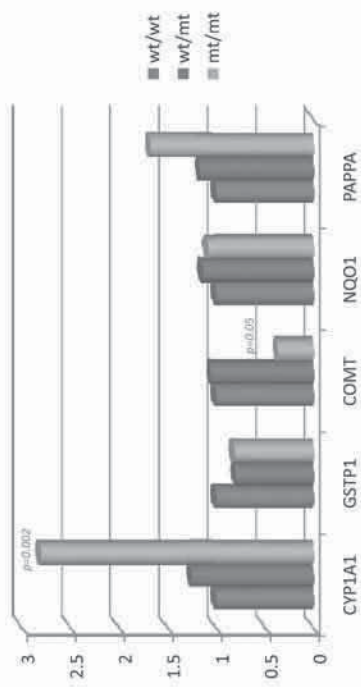


図4 CYP1A1 rs4646903における喫煙習慣と不育症リスク

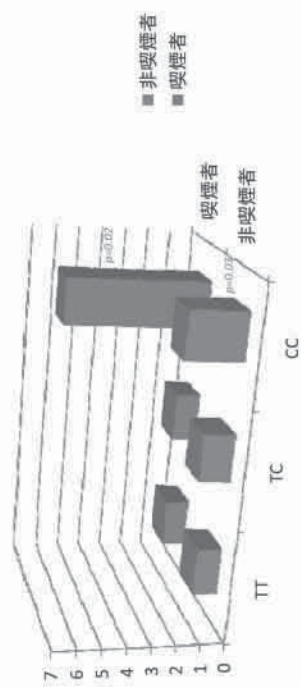


図5 CYP1A1 rs4646903における飲酒習慣と不育症リスク

