

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。今年度は、生活習慣と関連の深い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=116)と産後外来を受診し、流産、子宮内膜症、子宮筋筋症、子宮内発育遅延等の既往のない健常経産婦(n=306)に対し、葉酸やアルコール代謝に係るアミノ酸置換を伴う8種類の一塩基多型(SNPs)、即ち *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) 及び *ALDH2* 遺伝子 rs671(Glu504Lys) 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、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 の TT 型、*MTR* 遺伝子 rs1805087 の AG 型及び *ALDH2* 遺伝子 rs671 の AA 型において、不育症のリスクが約 0.3～0.4 倍に低下した。喫煙・飲酒習慣を考慮しても、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 の TT 型及び *MTR* 遺伝子 rs1805087 の AG 型において、不育症リスクは、依然、有意に低下していたが、*ALDH2* 遺伝子 rs671 の AA 型は、有意なリスクの変化はみられなかった。本研究により、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 及び *MTR* 遺伝子 rs1805087 は、喫煙・飲酒習慣にかかわらず、不育症リスクが低下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、生活習慣と関連の深い、葉酸やアルコール代謝等に係る遺伝子多型が、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

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=116)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=306)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質問紙調査を実施し、採血を行った。葉酸やアルコール代謝等に係るアミノ酸置換を伴う8種類の一塩基多型(SNPs)、即ち *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) 及び *ALDH2* 遺伝子 rs671 (Glu504Lys) を allelic discrimination (TaqMan) assay により、遺伝子型を解析した(表1)。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、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

不育症例と対照の *MTHFR* 遺伝子 rs1801133、rs1801131、*MTR* 遺伝子 rs1805087、*PPARG* 遺伝子 rs1801282、*ADH1B* 遺伝子 rs1229984、*MTRR* 遺伝子 rs10380、*ADRB3* 遺伝子 rs4994 及び *ALDH2* 遺伝子 rs671 のアレル頻度及び遺伝子型頻度を図1に示す。不育症例-対照間の *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、不育症例-対照間の *MTHFR* 遺伝子 rs1801133、*MTR* 遺伝子 rs1805087 及び *ALDH2*

遺伝子 rs671 の遺伝子型頻度に有意差がみられた($P < 0.05$)。

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アレル別、優性遺伝型モデル及び劣性遺伝型モデルのオッズ比を図2に示す。*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 の TT 型及び劣性遺伝型モデルでは、不育症のリスクが、各々0.31倍(95%信頼区間0.13-0.75)及び0.35倍(95%信頼区間0.15-0.81)に低下した。また、*MTR* 遺伝子 rs1805087 の AG 型では、不育症のリスクが0.47倍(95%信頼区間0.26-0.85)に低下した。さらに、*ALDH2* 遺伝子 rs671 の AA 型及び劣性遺伝型モデルでは、不育症のリスクが、各々0.44倍(95%信頼区間0.21-0.93)及び0.41倍(95%信頼区間0.20-0.84)に低下した。

喫煙・飲酒習慣を考慮した場合には、各 SNP における遺伝子型のアレル別、優性遺伝型モデル及び劣性遺伝型モデルのオッズ比を図3に示す。*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、各々0.23倍(95%信頼区間0.07-0.71)、0.51倍(95%信頼区間0.27-0.95)及び0.28倍(95%信頼区間0.10-0.83)に低下した。また、*MTR* 遺伝子 rs1805087 の AG 型及び優性遺伝型モデルでは、不育症のリスクが、各々0.36倍(95%信頼区間0.18-0.75)及び0.44倍(95%信頼区間0.23-0.85)に低下した。一方、*ALDH2* 遺伝子 rs671 では、不育症の有意なリスクの変化はみられなかった。

D. 考察

これまで、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 と不育症リスクに関しては、多くの報告があるが、一致した結果は得られていない(7-11)。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が示されている(11)。日本人においても、不育症のリスク要因とはならないとする報告がある(9, 10)。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(12)。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

本研究では、*MTHFR* 遺伝子 rs1801133 及び *MTR*

遺伝子 rs1805087 において、喫煙・飲酒習慣にかかわらず、不育症リスクを低下させ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. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.

11. 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.
12. 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) 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.
- 2) 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, 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.
- 2) 佐田文宏, 江藤亜紀子, 中尾裕之, 今井博久, 水上尚典, 岸 玲子, 山田秀人. 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. 第21回日本疫学会学術総会, 札幌, 平成23年1月21, 22日.

H. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし

表1 解析した一塩基多型(SNP)

遺伝子	シンボル	rs 番号	染色体	座位
methylenetetrahydrofolate reductase	<i>MTHFR</i>	rs1801133	1	Ala222Val
methylenetetrahydrofolate reductase	<i>MTHFR</i>	rs1801131	1	Glu429Ala
5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase	<i>MTR</i>	rs1805087	1	Asp919Gly
peroxisome proliferator-activated receptor gamma	<i>PPARG</i>	rs1801282	3	Pro12Ala
alcohol dehydrogenase 1B (class I), beta polypeptide	<i>ADH1B</i>	rs1229984	4	His48Arg
5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase	<i>MTRR</i>	rs10380	5	His595Try
beta-3-adrenergic receptor	<i>ADRB3</i>	rs4994	8	Trp64Arg
aldehyde dehydrogenase 2 family (mitochondrial)	<i>ALDH2</i>	rs671	12	Glu504Lys

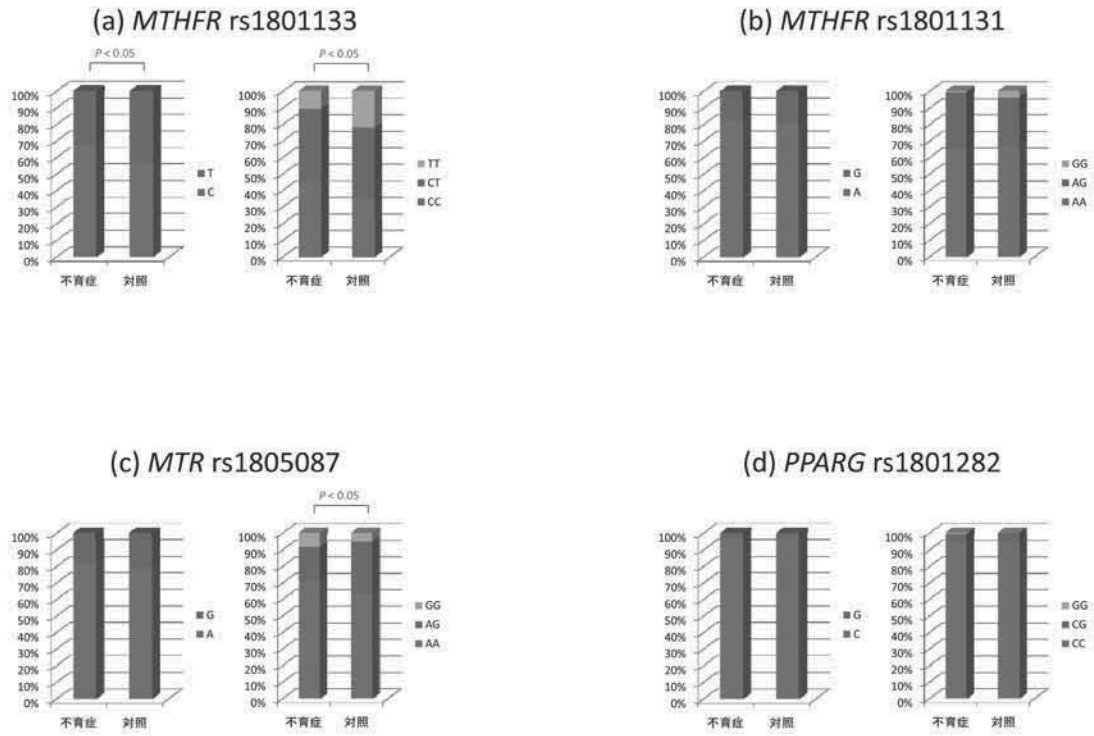


図1 生活習慣と関連の深い8種類の一塩基多型のアレル及び遺伝子型頻度

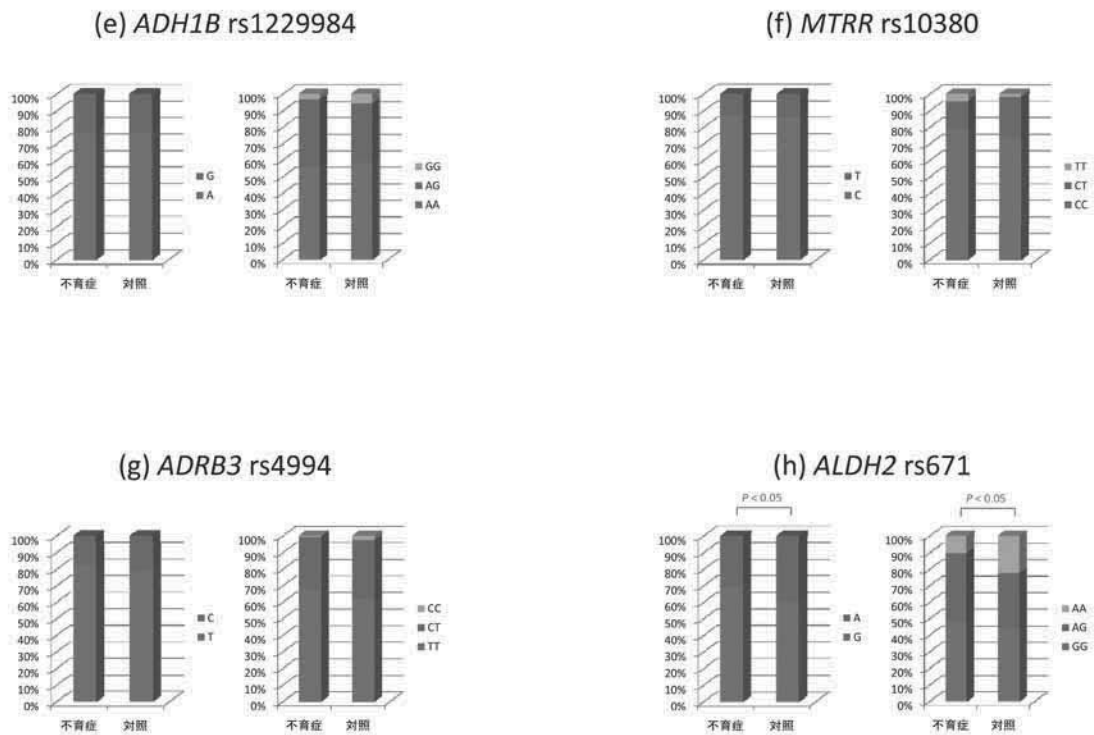
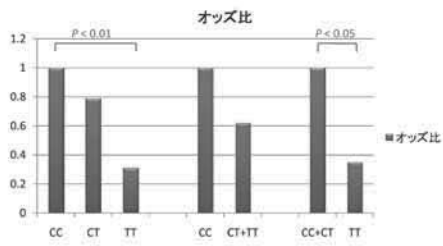
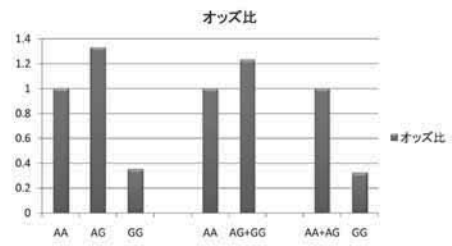


図1 生活習慣と関連の深い8種類の一塩基多型のアレル及び遺伝子型頻度 (続き)

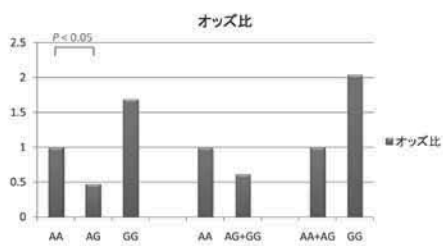
(a) *MTHFR* rs1801133



(b) *MTHFR* rs1801131



(c) *MTR* rs1805087



(d) *PPARG* rs1801282

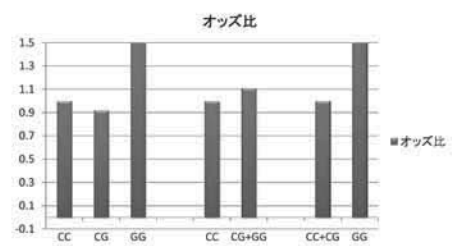
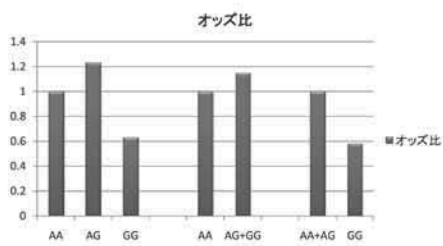
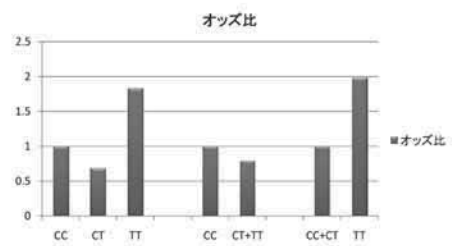


図2 生活習慣と関連の深い8種類の一塩基多型と不育症リスクとの関連：年齢調整オッズ比

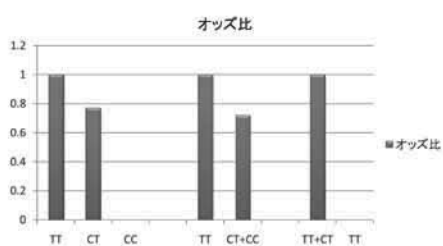
(e) *ADH1B* rs1229984



(f) *MTRR* rs10380



(g) *ADRB3* rs4994



(h) *ALDH2* rs671

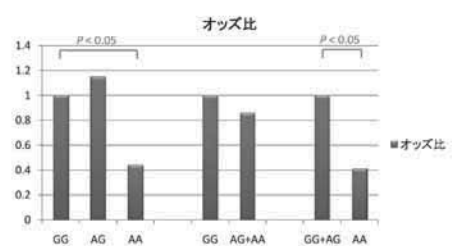
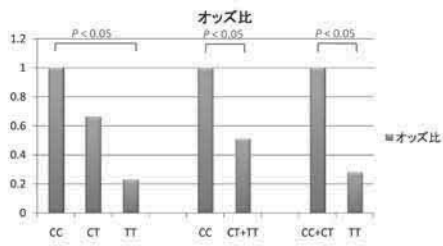
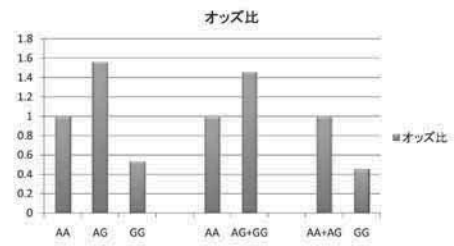


図2 生活習慣と関連の深い8種類の一塩基多型と不育症リスクとの関連：年齢調整オッズ比（続き）

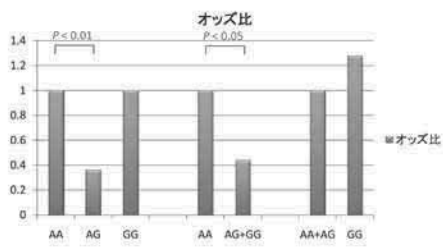
(a) *MTHFR* rs1801133



(b) *MTHFR* rs1801131



(c) *MTR* rs1805087



(d) *PPARG* rs1801282

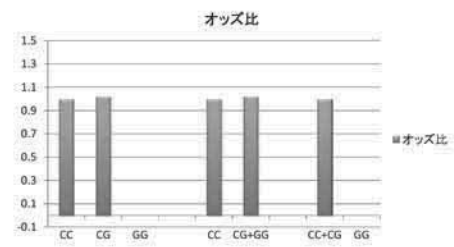
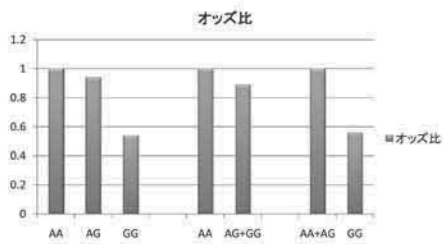
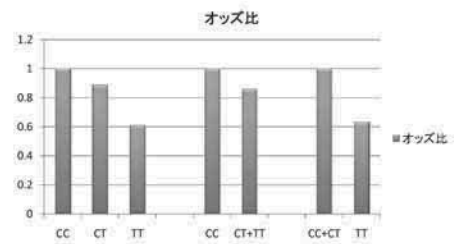


図3 生活習慣と関連の深い8種類の一塩基多型と不育症リスクとの関連：年齢、喫煙・飲酒習慣調整オッズ比

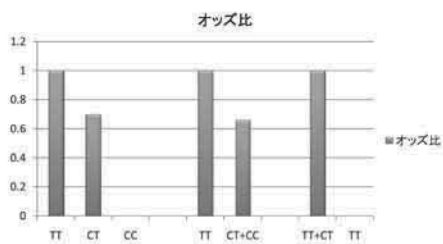
(e) *ADH1B* rs1229984



(f) *MTRR* rs10380



(g) *ADRB3* rs4994



(h) *ALDH2* rs671

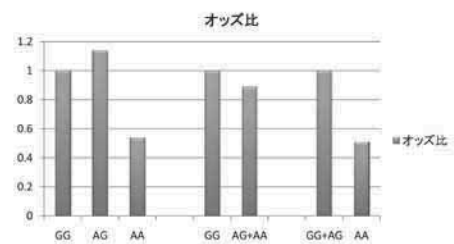


図3 生活習慣と関連の深い8種類の一塩基多型と不育症リスクとの関連：年齢、喫煙・飲酒習慣調整オッズ比（続き）

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
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	59(12)	1969-83	2010
佐田文宏, 山田秀人	早産と遺伝因子	産婦人科の実際	59(12)	1991-2000	2010