

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 北海道大学大学院医学研究科准教授  
(生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野)

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、妊婦の食事・生活習慣、居住環境、ストレス要因等の環境要因及び免疫系の感受性素因と不育症との関連を症例対照研究の形で検討した。妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感、睡眠時間、妊娠前の喫煙状況には、不育症例と対照との間に有意差がみられた。今後、精神-神経-免疫-内分泌ネットワークの面から、さらに検討する必要があると考えられた。

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/m<sup>2</sup> 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、妊婦の食事・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免疫系遺伝要因である炎症性サイトカイン遺伝子多型が妊娠アウトカム、特に、

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

(1) 妊婦の食事・生活習慣、居住環境およびストレス要因

2003～2006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=113) と産後外来を受診した健常経産婦 (n=430) に対し、食事・生活習慣、居住環境、職業、妊娠初期の状態、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票を配布し、自己記入してもらった後回収した。一日あたりのカフェイン摂取量、イソフラボン摂取量、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。症例-対照群間の平均値の差を対応のない t 検定により、不育症と関連のある要因を  $\chi^2$  検定、ロジスティック回帰分析により解析した。統計解析には、SPSS 15.0 を用いた。

(2) 炎症性サイトカイン遺伝子多型

2001～2005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=86) と産後外来を受診した健常経産婦 (n=414) に対し、*IL1A* -889C/T, +4845G/T (A114S), *IL1B* - 511C/T, - 31C/T, *IL2* -384T/G 及び *IL6* -634C/G の各一塩基多型 (SNP) を allelic discrimination (TaqMan) assay

により、遺伝子型とハプロタイプを解析した。交絡要因として、母親の年齢、出産歴、妊娠時の喫煙、飲酒、児性別を考慮した（不育症は年齢のみ）。早産、低出生体重及び不育症をアウトカムとして、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 15.0 を用い、ハプロタイプ解析には、Haploview 4.0 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ている。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・遺伝子解析に関する倫理指針」に基づいて行っている。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、対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払っている。

### C. 研究結果

#### (1) 妊婦の食事・生活習慣、居住環境およびストレス要因（図1）

症例群の平均年齢（SD）は、37.4（5.9）歳、対照群の平均年齢（SD）は、33.7（5.5）歳であった（ $p < 0.01$ ）。最近の妊娠以前には、症例群のうち22人（19.6%）に喫煙習慣があり、対照群の喫煙者123人（25.9%）に比べ、喫煙者の割合は少なかったが（ $p < 0.05$ ）、最近の妊娠期間中には、症例群のうち8人（7.2%）が継続して喫煙し、対照群の継続喫煙者56人（11.8%）と、喫煙者の割合には、有意差はみられなかった。症例群の平均睡眠時間（SD）は、6.9（0.9）時間/日、対照群の平均睡眠時間（SD）は、6.7（1.2）時間/日であった（ $p < 0.05$ ）。カフェイン摂取量、イソフラボン摂取量、STAIのA-Stateの得点、A-Traitの得点、居住環境とも症例群 - 対照群間に有意差はみられなかった。一方、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感は症例群のほうが少なかった（ $p < 0.05$ ）。

#### (2) 炎症性サイトカイン遺伝子多型（図2-4）

*IL1A* 遺伝子-889T アリルを持っている女性は早産のリスクが有意に高かった。CT 遺伝子型のオッズ比は 2.5（95%信頼区間 1.4-4.8）、CT + TT 遺伝子型（優性遺伝モデル）のオッズ比は 2.5（95%信頼区間 1.3-4.6）であった。同様に、*IL1A* 遺伝子+4845T アリルを持っている女性も、早産のリスクは有意に高かった。GT 型のオッズ比

は 2.4（95%信頼区間 1.3-4.4）、CT + TT 型（優性遺伝モデル）のオッズ比は 2.3（95%信頼区間 1.2-4.2）であった。早産の母親の *IL1A* 遺伝子 TT ハプロタイプの頻度は、満期産の母親に比べ有意に高く（ $p < 0.001$ ）、CG ハプロタイプの頻度は有意に低かった（ $p < 0.001$ ）。また、*IL1A* 遺伝子-889T アリルを持っている女性は低出生体重のリスクが有意に高かった。CT 遺伝子型のオッズ比は 1.9（95%信頼区間 1.0-3.4）、CT + TT 遺伝子型（優性遺伝モデル）のオッズ比は 1.8（95%信頼区間 1.0-3.2）であった。同様に、*IL1A* 遺伝子+4845T アリルを持っている女性も、低出生体重のリスクは有意に高かった。GT 型のオッズ比は 2.0（95%信頼区間 1.1-3.6）、CT + TT 型（優性遺伝モデル）のオッズ比は 1.9（95%信頼区間 1.1-3.4）であった。一方、いずれの遺伝子型においても、不育症の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)特に、免疫系においては、原因不明の流産は Th1/Th2 バランスの不均衡に起因するという仮説が提唱されている(9)。IFN- $\gamma$ などのサイトカインを分泌する Th1 細胞は感染防御とともにマクロファージを活性化する。IL-4、IL-5 のサイトカインを分泌する Th2 細胞は B 細胞から抗体を作らせる。Th1/Th2 バランスが Th1 の方へ傾けば、母体は胎児を異物として認識し、拒絶反応が起き、流産する可能性がある(10)。また、過剰に Th2 の方へ傾くと、今度は抗体産生が盛んになり、抗リン脂質抗体などの自己抗体が産生され、流産を引き起こす可能性がある。このように、Th1/Th2 バランスの不均衡が生じると流産の可能性が高まる。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(11)。このような見地から、本研究では、不安ストレス、ライフスタイルとともに Th1 と関連の深い炎症性サイトカインの感受性素因を検討した。不安ストレスの尺度として、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、有意差は認められなかった。また、炎症性サイトカインの代表的な SNP において、不育症群と対照群との間に有意な頻度差はみられなかった。しかしながら、妊娠初期の状態における家事や仕事による身体的負担感、睡眠時間、妊娠前の喫煙状況には差がみられた。これらは、精神的なストレスと関連する可能性もあり、今後、精神-神経-免疫-内分泌ネットワークの面から、さらに詳細に検討する必要があると考えられた。

#### E. 結論

不育症と食事、ストレス、免疫系の感受性素因との関連はみられなかったが、妊娠初期の生活習慣がその発症に関与する可能性が示唆され、今後、精神-神経-免疫-内分泌ネットワークの面から、さらに検討する必要があると考えられた。

#### [参考文献]

1. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet*. 2006 Aug 12;368(9535):601-611. 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):333-339.
4. Kesmodel U, Wisborg K, Olsen SF, Henriksen TB, Secher NJ. Moderate alcohol intake in pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *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):182-188.
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):1644-1646.

7. Kaplan HB. Social psychology of the immune system: a conceptual framework and review of the literature. *Soc Sci Med*. 1991;33(8):909-923.
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):330-337.
9. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*. 1993 Jul;14(7):353-356.
10. 牧野恒久, 杉俊隆. 生殖医療の現状と展望 3. 生殖のロス、習慣流産. *産婦人科治療* 1999;79(5): 582-587.
11. 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):2580-2584.

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
Sata F., Toya S., Yamada H., Suzuki K., Saijo Y., Yamazaki A., Minakami H., Kishi R.: Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birth weight in a Japanese population. *Mol. Hum. Reprod*. 15(2):121-130, 2009.
2. 学会発表  
佐田文宏, 今井博久: 妊婦の食事、生活環境およびストレス要因と不育症リスク. *日本公衆衛生雑誌* 2008;55(10):451. 第67回日本公衆衛生学会総会. 平成20年11月5-7日. 福岡.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

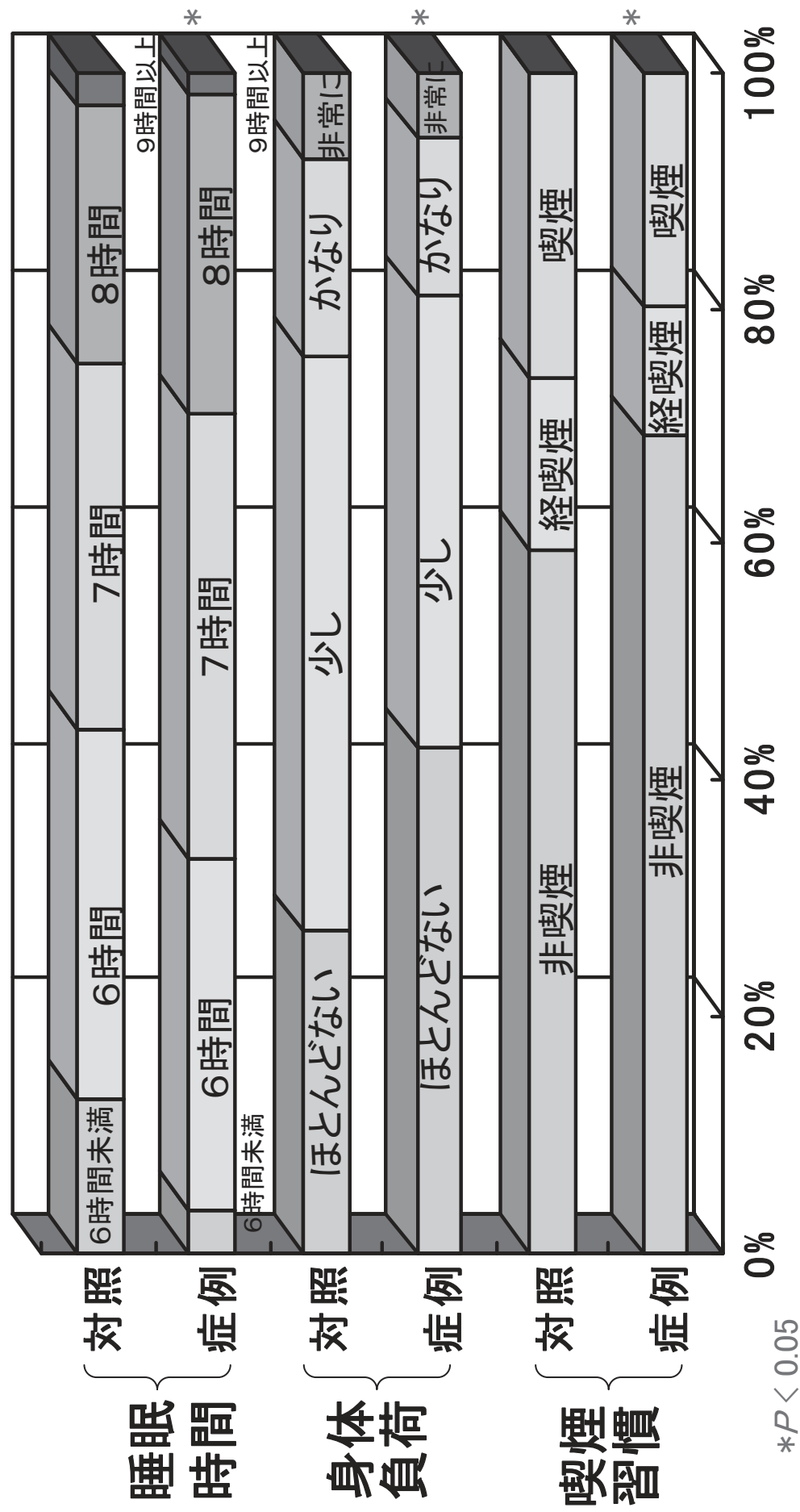
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

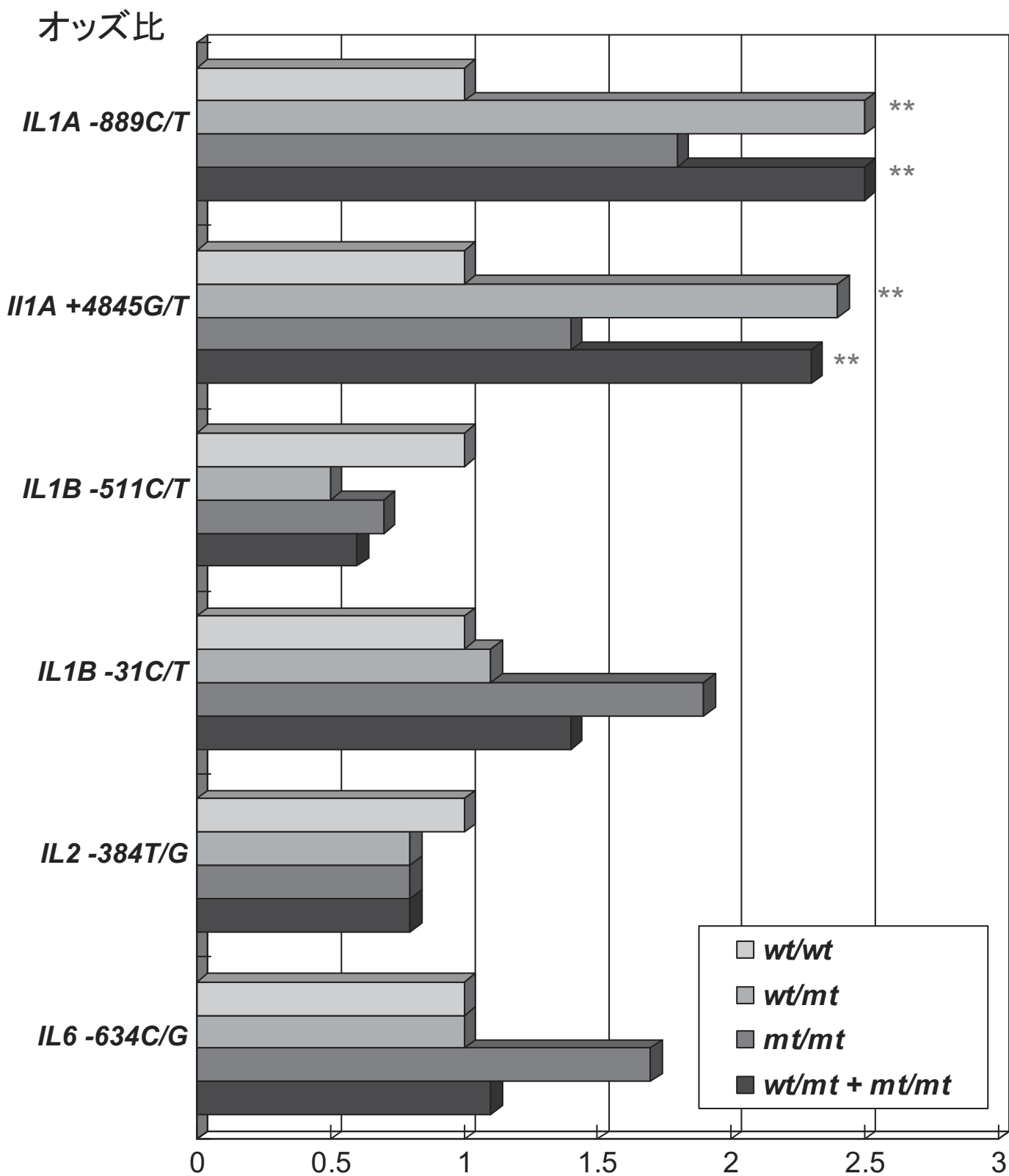
雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sata F., Toya S., Yamada H., Suzuki K., Saijo Y., Yamazaki A., Minakami H., Kishi R.	Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birth weight in a Japanese population.	Mol. Hum. Reprod.	15(2)	121-130	2009

# 図1 妊娠初期の平均睡眠時間、身体的 負荷及び妊娠前の喫煙習慣と不育症

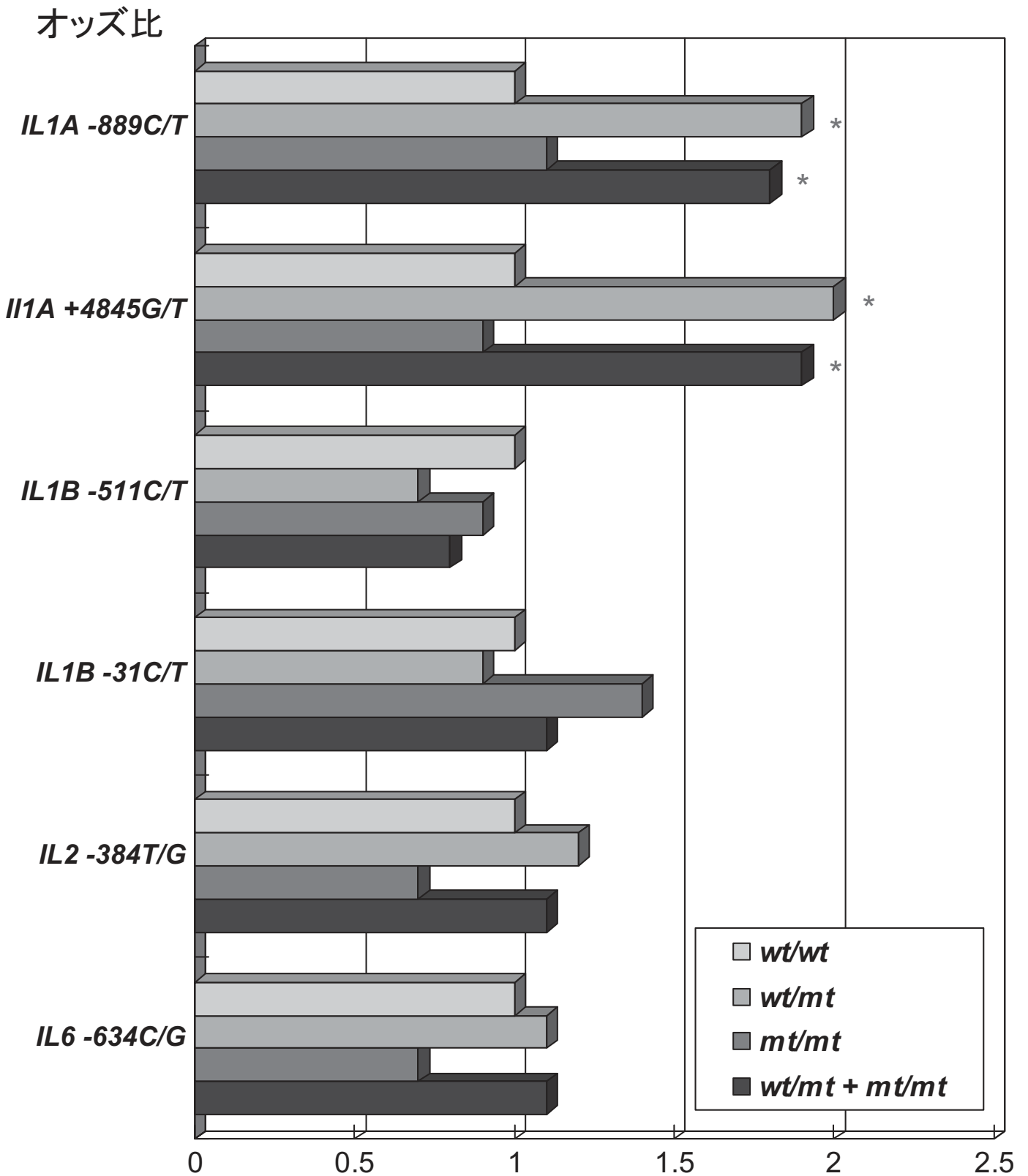


## 図2 炎症性サイトカイン遺伝子多型と早産



\*\* $P < 0.01$  wt: wildtype allele, mt: mutant allele

図3 炎症性サイトカイン遺伝子多型と低出生体重



\* $P < 0.05$  wt: wildtype allele, mt: mutant allele

図4 炎症性サイトカイン遺伝子多型と不育症

