

シンポジウム 1 妊娠中毒症の病因—分子細胞生物学的視点から—

日本人の妊娠中毒症と遺伝子多型
—各遺伝子多型と環境要因の相互作用解析—

北海道大学大学院医学研究科予防医学講座

小 橋 元

Gene Polymorphisms and Preeclampsia in Japanese ;
Analysis for Gene-environment Interaction

Gen KOBASHI

Division of Preventive Medicine, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo

Key words : Preeclampsia · Risk factor · Gene polymorphism · Lifestyles · Gene-environment interaction

要旨 妊娠中毒症の複雑な病因・病態と遺伝・環境相互作用の解明を目標に、(1) 日本人の妊娠中毒症と各遺伝子多型との関連分析と、(2) 遺伝子多型と生活習慣との共同解析を行った結果、① AGT 遺伝子多型 TT 型の頻度は母体年齢 20～34 歳の症例では 90% と、同年齢の対照の 56% に比べて有意に高かった。35 歳以上の高年妊娠においては、症例 66%、対照 57% と差を認めなかった。② AT1 遺伝子 AC+CC 型の頻度は初産症例では 20% と、初産対照の 9% に比べて有意に高かった。③ NOS3 遺伝子 GA+AA 型の頻度は、症例では 23% と、対照の 12% に比べて有意に高かった。④ AGT 遺伝子 TT 型、NOS3 遺伝子 GA+AA 型、高血圧の家族歴、妊娠前の肥満はそれぞれ独立に妊娠中毒症に関連していた。⑤ ACE、血液凝固第 V 因子、MTHFR、 β_3 -アドレナリン受容体、GSTP1、TNF- α 、PAI-1、mEH、LPL の各遺伝子多型は、日本人の妊娠中毒症全体には関連しなかった。⑥ GSTP1 遺伝子 IV+VV 型の頻度は、症例、対照ともに 26% であったが、初産重症例での検討で、AGT 遺伝子 MM+MT 型の群では症例 50%、対照 26%、NOS3 遺伝子 GA+AA 型の群では症例 42%、対照 13% と有意差が認められた。

また、初産妊娠中毒症 71 例に対して、年齢をマッチさせた初産正常妊娠分娩 213 例を対照として抽出し、AGT 遺伝子型とともに、臨床データおよび生活習慣・ストレスなどを同時に解析した。その結果、単変量解析では 9 項目が妊娠中毒症発症に有意に関連し、多変量解析では、それらのうち「AGT 遺伝子 TT 型」「妊娠前の BMI $\geq$ 24」「高血圧の家族歴」「妊娠中濃い味付けを好んだ」「妊娠中の精神的ストレス」の 5 項目が独立な危険要因として検出された。また、対象集団を AGT 遺伝子型とを用いて 2 群に分けて解析すると、AGT 遺伝子 TT 型の群には、「妊娠前に夫の実家との関係がよくなかった」「妊娠中夫との関係がよくない」などの 7 項目が有意に妊娠中毒症に関連し、多変量解析では「妊娠前の BMI $\geq$ 24」「NOS3 遺伝子 GA+AA 型」「高血圧の家族歴」「妊娠中の精神的ストレス」が検出された。一方、それ以外の群では、単変量解析で「妊娠前の BMI $\geq$ 24」「妊娠中濃い味付けを好んだ」の 2 項目、多変量解析では「妊娠前の BMI $\geq$ 24」が検出された。

感受性遺伝子と環境要因の解析は、「多因子病態の集合体」である妊娠中毒症の病因病態分析、さらには病型分類に対しても、大いに役立つであろう。また、今回の結果は、初産婦において発症する妊娠中毒症の予防に、AGT 遺伝子タイピング結果による個別のストレス除去対策が有効であることも示唆している。遺伝子多型解析を用いた新しい疾病予防対策実現に向け、妊娠中毒症をよいモデルとして研究を推進したい。

緒 言

妊娠中毒症は、遺伝要因と環境要因が相互作用して起こる複数の多因子病態を含む、周産期における主要な対策疾患である。妊娠中毒症の発症は、数多くの遺伝子座における正常な遺伝子の組み合わせ(多因子遺伝)によって起こった生体機能の量的な偏りが環境の作用と呼応して、ある閾値を越えた結果(多因子疾患)であると考えられる¹⁾²⁾。

これらの遺伝子は、易罹患性、疾患感受性を上昇させることから感受性遺伝子と呼ばれるが、その一つ一つは、疾病との関連が弱く、単一遺伝病における責任遺伝子のように一つの変異の存在が即、疾病の発症につながるものではない。しかし、それらは弱い関連ではありながらも、疾病の発症のみならず、個人の性質、能力にも関わると考えられている。この疾患感受性遺伝子に存在する遺伝子多型の一部が、疾患発症に関連している。遺伝子多型には、(1) 数~100kb(10万塩基対)以上の塩基の挿入・欠失、(2) 遺伝子内において蛋白情報を担っていないイントロン部や遺伝子以外の非コード領域における反復配列の多型(variable number of tandem repeat: VNTR)、(3) 1塩基の置換、挿入、欠失(single nucleotide polymorphisms: SNPs)がある。特にSNPsは、200~500塩基対に一つ程度と、他の多型に比べてはるかに出現頻度が高い。これらの多型の疾患発症機構への関与メカニズムは、その遺伝子がコードしている蛋白の発現量や構造に直接影響するものから、真の原因である多型に連鎖しているだけのものまで、さまざまである。

一方、環境要因には、周囲から受けるもの(有害物質・ストレスなど)と、自らの意思の結果で選択されるもの(ライフスタイルの一部など)とが含まれる。疾病発症における遺伝要因と環境要因の寄与割合は、単一遺伝病といわれる先天代謝異常症から、事故や感染症のように環境要因の影響が強いものまでさまざまである(図1)。先天代謝異常症であっても、食事内容により発症が制御されうることがあり、また、外傷や感染症の発症にも、性格行動や免疫機能の個人差の背景因子である遺

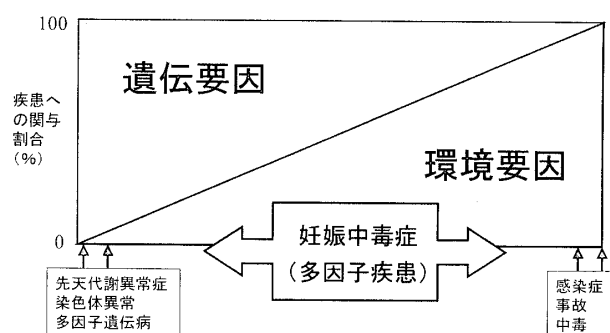


図1 疾病の発症に関わる遺伝・環境要因

伝要因が一部寄与していると考えられる。

近年の分子生物学と疫学の進歩により、妊娠中毒症においてもその感受性遺伝子の探索が進み、妊娠中毒症の複雑な病因の解明への応用が期待されている。また、感受性遺伝子多型と生活習慣調査結果などとの共同解析による遺伝・環境相互作用の解明、さらには妊婦個人の体質や事情を考慮した新しい予防対策の実現が期待されている。

今回は、我々が従来行ってきた分子疫学的研究の成果、すなわち、(1) 日本人の妊娠中毒症と各遺伝子多型との関連分析結果と、(2) 遺伝子多型と生活習慣との共同解析結果を示し、今後の展望を行う。

研究方法

対象は、北海道大学医学部附属病院およびその関連病院において管理を受けた単胎妊娠分娩例で、腎疾患、糖尿病、羊水量異常、潜在する高血圧、胎児奇形のないもののうち、文書を用いた説明により同意の得られた妊娠中毒症(preeclampsia)症例、妊娠時高血圧(gestational hypertension: GH)症例および正常妊娠分娩の対照例とした。検討例数は一部を「成績」文中に示した。妊娠中毒症およびGHの診断はNational High Blood Pressure Education Program Working Group(1990)の分類³⁾に従った。

妊娠中期から後期に自記式質問紙調査を行い、妊娠前・妊娠中の生活習慣(食生活、飲酒・喫煙、運動、睡眠、休養など)、ストレス、ソーシャルサポートなどについての情報を得た。調査票の妥当性・信頼性は、一部の妊産婦に同一内容の調査を

複数回施行することなどにより検討済みである。

遺伝子タイピングは、アンジオテンシノーゲン (AGT) 遺伝子 M235T 多型, アンジオテンシン II タイプ 1 受容体 (AT1) 遺伝子 A1166C 多型, アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子 Insertion/Deletion 多型, 血液凝固第 V 因子遺伝子 Leiden 変異, Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子 C677T 多型, β_3 -アドレナリン受容体遺伝子 T64A 多型, 血管内皮型一酸化窒素合成酵素 (NOS3) 遺伝子 Glu298Asp 多型, TNF- α 遺伝子 G-308A 多

型, Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) 遺伝子多型, Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) 遺伝子 Ile105Val 多型, Microsomal epoxide hydrolase (mEH) 遺伝子 Tyr113His 多型, Lipoprotein lipase (LPL) 遺伝子 S447X 多型などについて行った。全血 1ml より抽出した遺伝子 DNA を鋳型として, 各遺伝子多型領域を挟むプライマーを使用して遺伝子増幅した後, 制限酵素による切断 (PCR-RFLP) などを行い, それぞれの断片を 1.5% アガロース電気泳動法あるいは 10% アクリルアミド電気泳動法で確認した。

生活習慣, ストレス, 各遺伝子多型などのデータは, 最終的にそれぞれ 2 区分のカテゴリ (ダミー変数) として, χ^2 検定を用いて単変量解析を行った。度数が 5 以下の群が存在する場合は Yates' の補正を用いた。多変量解析は, 単変量解析で差 ($p < 0.1$) が認められた項目についてステップワイズ法を用いたスクリーニングを行い, 妊娠中毒症に強く独立に関連 ($p < 0.05$) する項目を検出した。また, 多重ロジスティックモデルにより複合オッズ比を算出した。

研究成績

1. 妊娠中毒症と各遺伝子多型との関連

(1) AGT 遺伝子 TT 型の頻度は母体年齢 20～34 歳の症例 ($n = 89$) では 90% と, 同年齢の対照 ($n = 310$) の 56% に比べて有意 ($p < 0.001$) に高かった。35 歳以上の高年妊娠においては, 症例 66% (n

表 1 妊娠中毒症の候補遺伝子多型

アンジオテンシノーゲン (AGT)*
アンジオテンシン II タイプ 1 受容体 (AT1)
アンジオテンシン変換酵素 (ACE)
血液凝固第 V 因子
Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1)
Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR)
TNF- α
血管内皮型一酸化窒素合成酵素 (NOS3)*
Prothrombin
Thrombomodulin
Lipoprotein lipase
β_3 -アドレナリン受容体
Glutathione S-transferase P1 (GSTP1)
Microsomal epoxide hydrolase (mEH)
5-HTT
etc.

*日本人における関連が, 複数の研究により報告されているもの

表 2 アンジオテンシノーゲン (AGT) 遺伝子 M235T 多型の分布

	年齢	Gravidity	No.	MM	MT	TT	TT の頻度 (%)
妊娠中毒症 + GH	20 ~ 34	G = 0	51	1	3	47	92 *
		G > 0	38	0	5	33	87 *
		total	89	1	8	80	90 *
妊娠中毒症 + GH	35 ≤	G = 0	6	0	1	5	83
		G > 0	18	1	6	11	61
		total	24	1	7	16	66
対照	20 ~ 34	total	310	13	123	174	56
	35 ≤	total	58	5	20	33	57

M : M235, T : T235

GH : gestational hypertension

* $p < 0.001$. vs. 20 ~ 34 aged controls by chi-square test

表3 アンジオテンシンⅡタイプ1受容体(AT1)遺伝子 A1166C 多型の分布

	Parity	No.	AA	AC	CC	AA + AC の頻度 (%)
妊娠中毒症 + GH	P = 0	82	66	15	1	20 *
	P > 0	62	56	6	0	10
重症妊娠中毒症 + GH	P = 0	69	53	15	1	23 **
対照	P = 0	181	165	14	2	9
	P > 0	134	116	15	3	13

All subjects are 20 ~ 34 years old.

GH : gestational hypertension

A : A1166, C : C1166

* p < 0.05, ** p < 0.01 vs. P = 0 controls by chi-square test

表4 血管内皮型一酸化窒素合成酵素(NOS3)遺伝子 G298A 多型の分布

	Parity	No.	GG	GA	AA	GA + AA の頻度 (%)
妊娠中毒症 + GH		152	117	35	0	23 **
	P = 0	90	71	19	0	21 *
	P > 0	62	46	16	0	26 *
対照		335	294	41	0	12
	P = 0	191	168	23	0	12
	P > 0	144	126	18	0	13

GH : gestational hypertension

G : G298, A : A298

* p < 0.05, ** p < 0.01 vs. controls by chi-square test

=24), 対照 57%(n=58)と差を認めなかった(表2). (2) AT1 遺伝子 AC+CC 型の頻度は初産症例(n=82)では20%と, 初産対照(n=181)の9%に比べて有意(p<0.05)に高かった(表3). (3) NOS3 遺伝子 GA+AA 型の頻度は, 症例(n=152)では23%と, 対照(n=335)の12%に比べて有意(p<0.001)に高かった(表4). (4) AGT 遺伝子 TT 型, NOS3 遺伝子 GA+AA 型, 高血圧の家族歴, 妊娠前の肥満はそれぞれ独立に妊娠中毒症に関連していた(表5). (5) ACE, 血液凝固第V因子, MTHFR, β_2 -アドレナリン受容体, GSTP1, TNF- α , PAI-1, mEH, LPL の各遺伝子多型は, 日本人の妊娠中毒症全体には関連しないとの結果を得た(表6). (6) GSTP1 遺伝子 IV+VV 型の頻度は, 症例(n=129), 対照(n=329)ともに26%であったが, 初産重症例での検討で, AGT 遺伝子 MM+MT 型の群では症例(n=20)50%, 対照(n=76)26%, NOS3 遺伝子 GA+AA 型の群では症例(n=12)42%, 対

表5 妊娠中毒症の妊娠前危険要因とそのオッズ比(多変量解析結果)

	オッズ比 (95% 信頼区間)	
NOS3 遺伝子 GA + AA 型	2.2	(1.3 ~ 3.7) *
妊娠前の肥満 (BMI $\geq$ 24)	2.1	(1.3 ~ 3.4) *
高血圧の家族歴	2.7	(1.6 ~ 4.4) **
アンジオテンシノーゲン遺伝子 TT 型	2.3	(1.5 ~ 3.5) **
高年妊娠(母体年齢35歳以上) #	—	
初産 #	—	

* p < 0.05, ** p < 0.01

補正因子として投入した

照(n=23)13%と有意差(p<0.05)が認められた(表7~10).

2. 妊娠中毒症における遺伝要因と環境要因の交絡・共同作用

初産妊娠中毒症 71 例に対して, 年齢をプラスマイナス 3 歳でマッチさせた初産正常妊娠分娩 213

表 6 候補遺伝子解析結果のまとめ

遺伝子型の頻度 (%)	妊娠中毒症			対照		
	AA	Aa	aa	AA	Aa	aa
AGT	1	19	80	4	40	56 ***
AT1	80	19	1	91	8	1 *
NOS3	77	23	0	88	12	0 **
ACE	42	2	16	1	47	12
血液凝固第 V 因子	100	0	0	100	0	0
PAI-1	40	50	10	39	47	14
TNF- α	96	4	0	96	4	0
MTHFR	44	55	11	39	46	15
Lipoprotein Lipase	76	22	2	76	23	1
β_3 -アドレナリン受容体	70	24	6	70	28	2
GSTP1	72	28	0	74	26	0
mEH	24	34	42	26	29	45

A : wild type, a : mutant type

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

表 7 妊娠中毒症 + gestational hypertension と対照における GSTP1 遺伝子 Ile105Val 多型の頻度

診断	例数	遺伝子型			Ile/Val + Val/Val の頻度 (%)
		Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val	
妊娠中毒症 + GH	131	97	34	0	26
重症 妊娠中毒症 + GH	110	79	31	0	28
妊娠中毒症	97	72	25	0	26
対照	327	235	85	7	28

表 8 高年妊娠 (母体年齢 ≥ 35) の有無別の GSTP1 遺伝子多型の頻度

診断	症例数	遺伝子型			Ile/Val + Val/Val の頻度 (%)
		Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val	
母体年齢 < 35					
初産重症 PE + GH	61	43	18	0	30
初産対照	180	132	46	2	27
母体年齢 ≥ 35					
初産重症 PE + GH	8	3	5	0	63 *
初産対照	11	9	2	0	18

PE : 妊娠中毒症, GH : gestational hypertension

* p < 0.05 tested by chi-squared test vs. 対照

例を対照として抽出し, AGT 遺伝子型とともに, 臨床データおよび生活習慣・ストレスなどを同時に解析した. その結果, 単変量解析では「AGT 遺伝子 TT 型」「妊娠前の BMI ≥ 24 」を含む 9 項目

が妊娠中毒症発症に有意 (p < 0.05) に関連した. 多変量解析では, それらのうち「AGT 遺伝子 TT 型」「妊娠前の BMI ≥ 24 」「高血圧の家族歴」「妊娠中濃い味付けを好んだ」「妊娠中の精神的ストレス」の

表 9 NOS3 遺伝子 Glu298Asp 多型別 GSTP1 遺伝子多型の頻度

診断	症例数	遺伝子型			Ile/Val + Val/Val の頻度 (%)
		Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val	
NOS3 遺伝子 Glu/Glu 型					
初産重症 PE + GH	57	39	18	0	32
初産対照	168	121	45	2	28
NOS3 遺伝子 Glu/Asp + Asp/Asp 型					
初産重症 PE + GH	12	7	5	0	42 *
初産対照	23	20	3	0	13

PE：妊娠中毒症，GH：gestational hypertension

* p < 0.05 tested by chi-squared test vs. 対照

表 10 AGT 遺伝子 Met235Thr 多型別の GSTP1 遺伝子多型の頻度

診断	症例数	遺伝子型			Ile/Val + Val/Val の頻度 (%)
		Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val	
AGT 遺伝子 Met/Met + Met/Thr 型					
初産重症 PE + GH	20	10	10	0	50 *
初産対照	76	56	19	1	26
AGT 遺伝子 Thr/Thr 型					
初産重症 PE + GH	49	36	13	0	27
初産対照	115	85	29	1	26

PE：妊娠中毒症，GH：gestational hypertension

* p < 0.05 tested by chi-squared test vs. 対照

5 項目が独立な危険要因として検出された(表 11)。

また，対象集団を AGT 遺伝子型とを用いて 2 群に分けて解析すると，AGT 遺伝子 TT 型の群には，「妊娠前の BMI $\geq$ 24」「NOS3 遺伝子 GA+AA 型」「高血圧の家族歴」「妊娠前に夫の実家との関係がよくなかった」「妊娠中の精神的ストレス」「妊娠中夫との関係がよくない」「妊娠中濃い味付けを好んだ」の 7 項目が有意に妊娠中毒症に関連し，多変量解析では「妊娠前の BMI $\geq$ 24」「NOS3 遺伝子 GA+AA 型」「高血圧の家族歴」「妊娠中の精神的ストレス」が検出された(表 12)。一方，それ以外の群では，単変量解析で「妊娠前の BMI $\geq$ 24」「妊娠中濃い味付けを好んだ」の 2 項目が関連し，多変量解析では「妊娠前の BMI $\geq$ 24」が検出された(表 13)。

考 案

1. 妊娠中毒症の候補遺伝子多型

妊娠中毒症の発症に関連する遺伝子多型としてはじめて報告されたのは，1993 年のアンジオテンシノーゲン遺伝子多型である。アンジオテンシノーゲンの 235 番目のアミノ酸はメチオニン(M235)またはスレオニン(T235)であるが，本症では有意に T235 の遺伝子頻度が高いことが明らかになったのである⁴⁾。以来，妊娠中毒症と遺伝子多型との関連の研究が，主にレニン・アンジオテンシン系，凝固系，血管内皮系などにおいて，現在までに数多くなされている⁵⁾。我々の日本人における検討では，AGT 遺伝子 M235T 多型，AT1 遺伝子 A1166C 多型，eNOS 遺伝子 Glu298Asp 多型，TNF- α 遺伝子 G-308A 多型が，それぞれ妊娠中毒症の発症に関連した^{6)~8)}。

妊娠中毒症の病因・病態は昇圧・降圧系，凝固系，脂質代謝，血管内皮，胎盤，骨格・腹壁伸展，ストレス，神経などのさまざまな機構に関連していると考えられるため，従来検討・報告された感

表 11 妊娠中毒症に関連した要因

	Positive answers (%)		オッズ比 (95%CI)	
	妊娠中毒症 (n = 71)	対照 (n = 213)	単変量	多変量
妊娠前の要因				
妊娠前の BMI が 24 以上	29.4	9.0	4.2 (2.1 ~ 8.5) ***	4.8 (1.5 ~ 6.0) ***
高血圧の家族歴	39.7	20.5	2.6 (1.4 ~ 4.6) **	3.0 (1.5 ~ 6.0) **
AGT 遺伝子 TT 型	75.0	59.9	2.0 (1.1 ~ 3.7) **	2.5 (1.3 ~ 5.0) *
妊娠前 夫の実家との関係が良くない	29.4	15.2	2.3 (1.2 ~ 4.4) **	—
妊娠前の精神的ストレス	27.9	16.6	2.0 (1.0 ~ 3.7) *	—
NOS3 遺伝子 GA + AA 型	23.5	15.2	1.7 (0.9 ~ 3.4)	—
妊娠中の要因				
妊娠中の精神的ストレス	54.4	31.3	2.6 (1.5 ~ 4.6) ***	3.5 (2.1 ~ 10.6) ***
妊娠中濃い味を好んだ	36.8	19.7	2.4 (1.3 ~ 4.4) **	2.5 (1.8 ~ 6.7) **
妊娠中 夫との関係が良くない	23.5	12.3	2.2 (1.1 ~ 4.4) *	—
妊娠中の身体的負担	47.1	33.2	1.8 (1.0 ~ 3.1) *	—

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

表 12 AGT 遺伝子 TT 型の群において妊娠中毒症に関連した要因

	Positive answers (%)		オッズ比 (95%CI)	
	妊娠中毒症 (n = 51)	対照 (n = 124)	単変量	多変量
妊娠前の要因				
妊娠前の BMI が 24 以上	27.5	12.1	2.7 (1.2 ~ 6.2) *	3.7 (1.4 ~ 9.7) **
NOS3 遺伝子 GA + AA 型	31.4	16.3	2.4 (1.1 ~ 5.0) *	3.3 (1.3 ~ 8.4) *
高血圧の家族歴	35.3	15.8	2.9 (1.4 ~ 6.2) **	2.9 (1.3 ~ 6.8) *
妊娠前 夫の実家との関係が良くない	31.4	15.3	2.5 (1.2 ~ 5.4) *	—
妊娠中の要因				
妊娠中の精神的ストレス	54.9	30.7	2.8 (1.4 ~ 5.4) **	3.8 (1.8 ~ 8.3) ***
妊娠中 夫との関係が良くない	25.5	12.9	2.3 (1.0 ~ 5.2) *	—
妊娠中濃い味を好んだ	35.3	20.6	2.1 (1.0 ~ 4.4) *	—

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

表 13 AGT 遺伝子 MM+MT 型の群において妊娠中毒症に関連した要因

	Positive answers (%)		オッズ比 (95%CI)	
	妊娠中毒症 (n = 20)	対照 (n = 89)	単変量	多変量
妊娠前の要因				
妊娠前の BMI が 24 以上	35.3	4.8	10.8 (2.6 ~ 44.3) *	10.5 (2.6 ~ 43.1) **
妊娠中の要因				
妊娠中濃い味を好んだ	41.2	15.6	3.8 (1.2 ~ 11.9) *	—

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

受性遺伝子の候補は多岐にわたる(表 1)。白人においては関連があっても日本人においては関連が認められないもの⁹⁾¹⁰⁾や、日本人が対象であっても集団や生活習慣によって関連の有無が分かれるも

のものもある¹¹⁾¹²⁾。

今のところ、一般集団における遺伝子型の保有頻度が異なる日本人と白人の両方でその関連が確認・追試され、妊娠中毒症の発症機構への関与が

病 因	妊娠中毒症発症への寄与割合 (%)			
	仮想症例1	仮想症例2	仮想症例3	仮想症例4 ...
胎盤障害	20	5	40	20
凝固線溶異常	50	5	10	10
血管内皮障害	10	10	25	10
脂質代謝異常	5	25	10	20
薬物代謝酵素系	5	10	5	10
高血圧素因	5	40	5	10
その他	5	5	5	20
妊娠中毒症	仮想病型A	仮想病型B	仮想病型C	仮想病型D ...

図2 妊娠中毒症における病因病態の寄与割合の例

推測されているのは、AGT 遺伝子多型だけである。235 番目のアミノ酸をコードする多型(M235 T)は、その後の研究¹³⁾で AGT 遺伝子の転写調節に関わるプロモーター領域の多型 G-6A(-6 番目の塩基がグアニンまたはアデニン)とほぼ 100% 連鎖していることがわかった。すなわち M235 は-6 G, T235 は-6A のマーカーである。さらに In vitro の実験¹³⁾で、-6A は-6G に比べてプロモーター活性が高いことがわかった。一方、T235(-6 A)は、妊娠初期のトロホプラスト不完全侵入およびらせん動脈狭小化を通じて、妊娠中毒症発症に関連するとの報告¹⁴⁾もある。

2. 多因子病態の集合体としての妊娠中毒症

妊娠中毒症は、従来「学説の疾患」といわれ、さまざまな病因・病態が推測されてきた。現在では、これらが相互作用、相互関連して発症したり、病態を形成すると考えられている。しかし、現在私たちが臨床的に認識している「妊娠中毒症」は、「複数の病型の集合体」、もう少し極端な言い方をすれば、「いくつかの疾患を総称的に定義している」可能性がある。

たとえば、図2に、仮想の4症例を挙げたが、同じように妊娠中毒症と診断されている凝固線溶異常がメインであるタイプ、高血圧素因がメインであるタイプ、胎盤障害がメインであるタイプ、脂質代謝異常やその他の要因などが強いタイプなど…もちろんこれら以外にもさまざまなタイプが考えられる。これらのタイプが、たとえば妊娠中

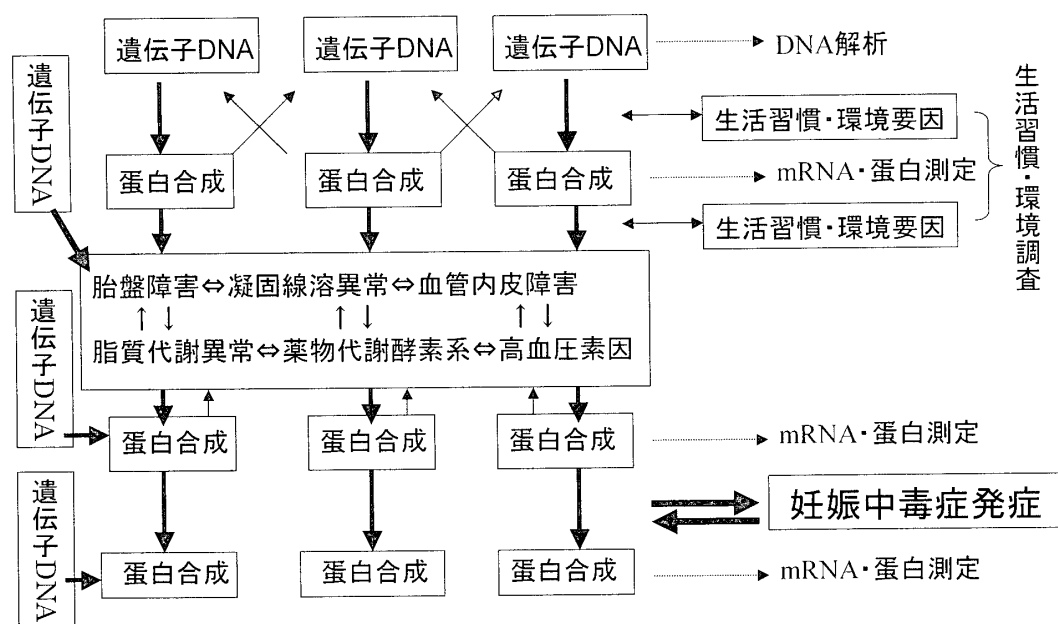
毒症や GH、発症時期、IUGR 合併の有無、重症・軽症、初産・経産などのような、現在認識されている臨床的な病型とどの程度一致しているかどうかは不明であるが、少なくとも今のところ私たちは、これらを合わせて「妊娠中毒症」と定義している可能性が高い。

図3には妊娠中毒症が発症するまでの発症機構の流れと研究・調査との関係をまとめた。複数の遺伝的要因が生活習慣と相互作用しながら蛋白合成・さまざまな二次的な病因、病態形成を行い、ある時点で、臨床症状として発症し「妊娠中毒症」として定義される。繰り返し強調しておくが、この図においても、病型によって矢印の太さや、二次的な病因、病態形成の仕方が異なるということが重要な点である。

3. 妊娠中毒症の病因と遺伝子多型

上述の AGT 遺伝子 T235 型は、もともと白人においては preeclampsia(蛋白尿を伴う妊娠高血圧症)の初妊婦にのみ関連が認められた(遺伝子頻度 65% は対照群の 40% にくらべて有意に高かった)⁴⁾。しかし、日本人においてはその他の妊娠中毒症にも関連が認められ、その遺伝子頻度は妊娠中毒症で 94%, 対照で 76% と、白人に比べて高かった⁶⁾。また一方、血液凝固第 V 因子遺伝子の Leiden 変異(G1691A, 第 V 因子における活性化プロテイン C 結合部位の変異で、血栓症発症に関連する)は、白人では妊娠中毒症に約 10%, 正常妊娠にも 4% みられる⁹⁾が、日本人においては稀な変異である¹⁰⁾。これら 2 つの遺伝子多型の関連だけを考えても、白人の妊娠中毒症には少なくとも、AGT 遺伝子多型の関与が強い病型と Leiden 変異の関与が強い病型が含まれる。日本人の妊娠中毒症は、その遺伝子頻度から考えると、AGT 遺伝子に関連するものが白人に比べて多いと推測される。いずれにしても、今後の感受性遺伝子と環境要因の解析は、「多因子病態の集合体」である妊娠中毒症の病因病態分析、また、さらには病型分類に対しても、大いに役立つであろう。

妊娠中毒症の候補遺伝子探索においては、解析対象集団(Population at Risk)が妊婦に限定されるために、家系分析や罹患同胞対法などは効率が悪



※ 上記の経路の発症への寄与割合はさまざま→病型分類の必要性

図3 妊娠中毒症の発症機構と研究・調査

く、今回のような症例・対照研究 (Association Study) が有効となる。しかしながら、全体として有意差が認められなくても、ある特別な病型に関連している場合もあり、また、最近汎用される傾向にある多変量解析は、代表する項目のみを検出する手法であるため、その結果の解釈に注意が必要となる。たとえば、実際に今回の結果でみると、GSTP1 遺伝子 IV+VV 型は、全体の解析では関連がみられなかったが、初産重症妊娠中毒症に絞って解析すると、高年妊娠、NOS3 遺伝子では妊娠中毒症に関連する GA+AA 型、AGT 遺伝子では中毒症のリスクが少ない MM+MT 型の群においてはそれぞれ関連がみられた¹⁵⁾。薬物代謝酵素系の GSTP1 は、105 番目のアミノ酸がイソロイシンからバリンに変わること、GSTP1 の基質への結合力が低下する¹⁶⁾ことから、NOS3 遺伝子多型と共存することで、あるいは加齢などとも共同して NO 産生を低下させて、発症に何らかの影響を与えている可能性が推測される。一方、AGT 遺伝子 TT 型は胎盤らせん動脈の発生不全に関与すると報告¹⁴⁾されており、GSTP1 遺伝子多型の関連とは独立に検出された可能性がある。

4. 妊娠中毒症における遺伝・環境相互作用とその臨床応用への可能性

妊娠中毒症のように、遺伝要因に環境要因と加齢が加重して発症するものにおいては、妊娠判明前および妊娠中の環境要因・生活習慣への予防対策が有効と考えられている。実際、産科妊婦健診時においては、妊産婦に対して各施設で生活指導が行われ、一定の成果が得られている。しかし、同じ生活習慣が、ある者にとっては疾病発症の強い危険要因であるが、別な者にとっては発症にほとんど関連しないというようなことも起こりうる。これは、遺伝要因が個人により異なるためである。分子・遺伝疫学により疾病発症や健康事象に関連する複数の遺伝子型と環境要因との交絡・共同作用が解明されれば、個人の遺伝子型に応じた、より効果的な疾病予防、健康増進が実現できる可能性がある¹⁷⁾¹⁸⁾。

今回の結果から、AGT 遺伝子型により妊娠中毒症発症に関連する妊娠中の生活習慣要因が異なることが明らかとなった。これは、妊娠中毒症の多因子病態の一部を説明する仮説に過ぎないが、AGT 遺伝子 TT 型を持つ者は、妊娠初期のトロホ

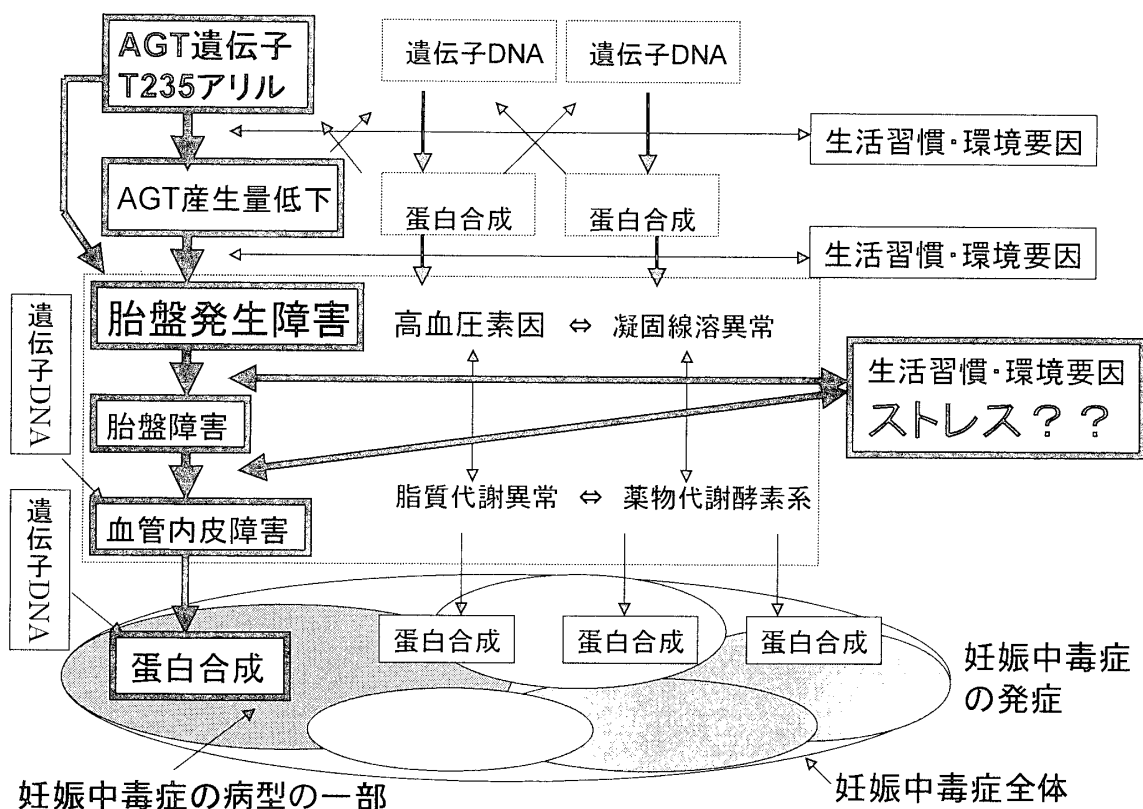


図4 妊娠中毒症の発症機構における AGT 遺伝子 T235 アリルの寄与

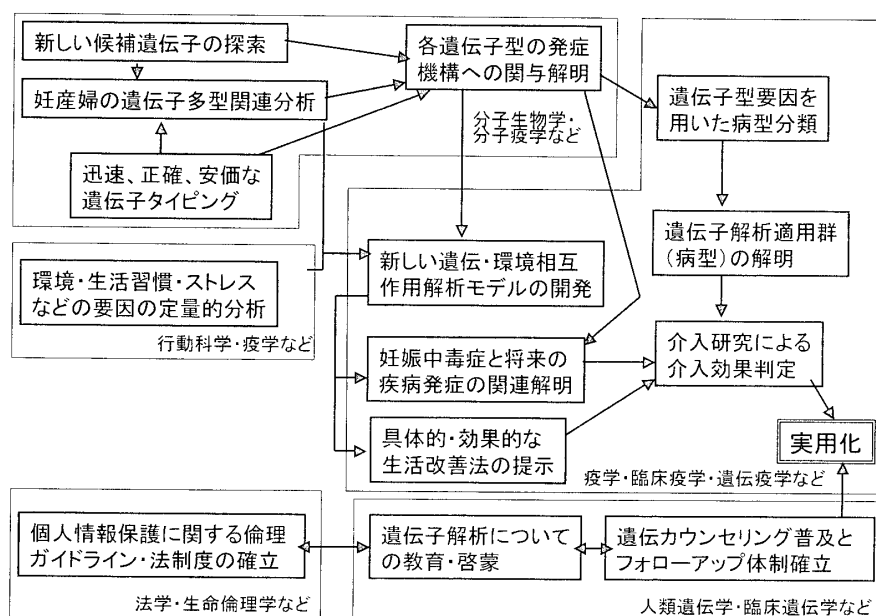


図5 妊娠中毒症予防における遺伝子解析実用化に向けての課題

プラスト不完全侵入およびらせん動脈狭小化があり，ここに妊娠中の精神的あるいは身体的ストレスが加わることで，胎盤血流の低下を招き，

これが妊娠中毒症のトリガーとなっている可能性を示唆するものである(図4)．また，このことは，一見妊娠中毒症のリスクが高いとは思えない初産

婦において発症する妊娠中毒症の予防に、AGT 遺伝子タイピング結果による個別のストレス除去対策が有効であることも示唆している。

遺伝子多型解析を用いた新しい疾病予防対策は、オーダーメイド医療、個別化医療として、現在、がん、脳卒中、心筋梗塞、糖尿病などの多因子疾患全般に求められているものである¹⁹⁾。上述の遺伝・環境相互作用の解析モデルは、妊娠中毒症のみならず、すべての多因子疾患の研究、予防対策に有効と考えられる。図5に、妊娠中毒症予防における遺伝子解析実用化に向けての課題を示した。遺伝子タイピングのみならず、疫学的分析手法、倫理ガイドライン・法制度の確立、遺伝子解析の意義と問題についての教育・啓発と遺伝カウンセリングの普及など、まだまだ多くの検討課題が残っている。しかしながら、妊産婦を対象としたシステムは、(1) ほぼ悉皆的・定期的な妊婦検診を利用し、生活習慣の把握と指導が容易、(2) 短期間に転帰が判明するので結果を評価しやすい、(3) 産科医からの文書による説明でインフォームド・コンセントが行えるなど、実施にあたり有利な面を持っている。

妊娠中毒症をよいモデルとして、産婦人科領域から新しい予防医学の実現に向けた画期的な提言ができることを期待して、今後も精力的に研究を推進したいと考えている。

共同研究者・研究協力者(五十音順、敬称略)

浅野賢道、太田薫里、尾崎由佳、近藤喜代太郎、志渡晃一、高松理恵子、長野俊輔、羽田 明、伴まゆ子、船水真紀子、本宮 真(以上 北大予防医学)、東 正樹、有賀 敏、岩崎寛治、蝦名康彦、及川 衛、大久保仁、大中吉人、岡本一平、奥山和彦、加藤達矢、日下 剛、工藤隆之、桑原道弥、越田高行、酒井慶一郎、境原三津夫、佐川 正、桜木範明、佐藤 修、佐藤 力、佐藤 博、佐藤広文、島田茂樹、白銀 透、新開奈保子、鈴木賀博、十亀真志、田畑雅章、田中信一、田中俊誠、津村宣彦、藤堂幸治、土門洋哉、西田竜太郎、根岸広明、野呂紀子、橋本昌樹、花谷 馨、晴山仁志、半田 康、平昌功二、平山恵美、藤田博正、藤本征一郎、藤本俊郎、星 信哉、牧野田知、水上尚典、森川 守、森脇征史、安田晶子、山口辰美、山田 俊、山田秀人、吉尾 弘、和田真一郎(以上 北大産婦人科・関連病院)、北大産婦人科・関連病院のスタッフの皆様、北大医学部男子・女子バレーボール部の皆様

文 献

1. 小橋 元, 羽田 明. 妊娠中毒症; 過去・現在・未来. 北海道公衆衛生学雑誌 1994; 8: 8—15
2. 志渡晃一, 小橋 元. 病気の予防と健康. 三共出版, 1998
3. National High Blood Pressure Education Program Working Group. Report on high blood pressure in pregnancy (Consensus Report). Am J Obstet Gynecol 1990; 163: 1689—1712
4. Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, Helin C, Nelson L, Namikawa C, Farrington PF, Ogasawara M, Suzumori K, Tomoda S, Berrebi S, Sasaki M, Corvol P, Lifton RP, Lalouel JM. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. Nat Genet 1993; 4: 59—61
5. Lachmeijer AM, Dekker GA, Pals G, Aarnoudse JG, ten Kate LP, Arnggrimsen R. Searching for preeclampsia genes: the current position. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002; 105: 94—113
6. Kobashi G, Hata A, Shido K, Kato EH, Yamada H, Fujimoto S, Kishi R, Kondo K. Association of a variant of the angiotensinogen gene with pure type of hypertension in pregnancy in the Japanese: implication of a racial difference and significance of an age factor. Am J Med Genet 1999; 86: 232—236
7. Kobashi G, Hata A, Shido K, Sagawa T, Fujimoto S, Kondo K. Association between angiotensin II type 1 receptor gene variant and pregnancy-induced hypertension. JSSTP 1995; 3: 1—5
8. Kobashi G, Yamada H, Kato EH, Ebina Y, Ohta K, Fujimoto S. Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene (NOS3) and hypertension in pregnancy. Am J Med Genet 2001; 103: 241—244
9. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Capucci G, Paladini D, Martinelli P, Montanaro S, Pavone G, Di Minno G. Factor V Leiden, C>T MTHFR polymorphism and genetic susceptibility to preeclampsia. Thromb Haemost 1997; 77: 1052—1054
10. Kobashi G, Yamada H, Asano T, Nagano S, Hata A, Kishi R, Kondo K, Fujimoto S. The factor V Leiden mutation is not a common cause of pregnancy-induced hypertension in Japan. Semin Thromb Hemost 1999; 25: 487—489
11. Sohda S, Arinami T, Hamada H, Yamada N, Hamaguchi H, Kubo T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. J Med Genet 1997; 34: 525—526
12. Kobashi G, Yamada H, Asano T, Nagano S, Hata

- A, Kishi R, Kondo K, Fujimoto S.* Absence of association between a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and preeclampsia in Japanese. *Am J Med Genet* 2000 ; 93 : 122—125
13. *Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, Cheng T, Ludwig EH, Sharma AM, Hata A, Jeunemaitre X, Lalouel JM.* A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 1997 ; 99 : 1786—1797.
 14. *Morgan T, Craven C, Lalouel JM, Ward K.* Angiotensinogen Thr235 variant is associated with abnormal physiologic change of the uterine spiral arteries in first-trimester decidua. *Am J Obstet Gynecol* 1999 ; 180 : 95—102
 15. *Ohta K, Kobashi G, Hata A, Yamada H, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K, Tamashiro H.* Association Between a Variant of the Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) gene and Hypertension in Pregnancy in Japanese : Interaction with Parity, Age and Genetic Factors. *Seminor Thromb Hemostat* (in press)
 16. *Watson MA, Stewart RK, Smith GB, Massey TE, Bell DA.* Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms : relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*. 1998 ; 19 : 275—280
 17. 小橋 元, 山田秀人, 藤本征一郎. 妊娠中毒症の遺伝因子. 新女性医学大系 第24巻「妊娠中毒症」. 中山書店, 2001 ; 42—48
 18. *Kobashi G, Hata A, Shido K, Ohta K, Yamada H, Fujimoto S, Kondo K.* M235T variant of angiotensinogen gene and body mass index are useful markers for prevention of hypertension in pregnancy ; a tree-based analysis of gene-environment interaction. *Seminor Thromb Hemostat* 2002 ; 28 : 501—505
 19. 山岡 孝, 板倉光夫. 個人化医療の時代にむけて. ゲノム医学がわかる. 菅野純夫編. 羊土社, 2001 ; 40—47

Abstract

To elucidate genetic risk factors for preeclampsia and gene-environment interactions in the manifestation of preeclampsia in Japanese, patients with preeclampsia and normal pregnancy controls were examined for the presence of variants of candidate genes such as angiotensinogen (AGT), angiotensin II type 1 receptor (AT1), angiotensin converting enzyme (ACE), factor V, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), B3-adrenergic receptor, endothelial nitric oxide synthase (NOS3), TNF- α , plasminogen Activator Inhibitor-1, glutathione S-transferase, microsomal epoxide hydrolase, and lipoprotein lipase by use of the PCR-RFLP method, and multivariate analysis of the AGT genotype with lifestyle factors present before and during pregnancy was carried out.

The association studies revealed that T235 of AGT, C1166 of AT1 and A298 of NOS3 were significantly associated with preeclampsia. The multivariate analysis revealed that "family history of hypertension", "TT genotype of AGT", "GA + AA genotypes of NOS3" and "prepregnancy body mass index ≥ 24 " were independent potent risk factors, after adjustment for maternal age and parity.

In primiparous patients, the V105 genotype of GSTP1 was significantly associated with severe preeclampsia in elderly pregnancy in the subgroup with the MM + MT genotypes of the AGT gene and in the subgroup with the GA + AA genotypes of the NOS3 gene, although the V105 genotype was not associated with preeclampsia on the whole. These results suggest that this variant of the GSTP1 gene may play a role in the manifestation of HP together with other independently and/or synergistically acting factors, particularly in primiparous pregnancy.

Furthermore, a variant of the angiotensinogen gene (M235T) was analyzed along with the acquired factors obtained from both medical records and a questionnaire in both 71 primiparous cases with preeclampsia and age and parity-matched controls. Univariate analysis identified 9 factors that were significantly associated with preeclampsia ($P < 0.05$). Multivariate analysis revealed 4 significant independent factors: "prepregnancy high body mass (body mass index ≥ 24)", "T235 homozygotes of AGT gene", "family history of hypertension", "mentally stressful condition during pregnancy" and "salty dishes preferred during pregnancy" ($P < 0.05$). By dividing the subjects into 2 subgroups: those who possessed "the TT genotype of AGT" and those who did not, multivariate analysis of the acquired risk factors for preeclampsia selected 4 factors: "prepregnancy BMI ≥ 24 ", "GA + AA genotype of NOS3", "family history of hypertension" and "mentally stressful condition during pregnancy", in the former group, and "prepregnancy BMI ≥ 24 " in the latter group.

For practical application of genetic analysis for the prevention of multifactorial disease, some important problems remain to be solved, such as obtaining informed consent, guarding of privacy, development of more suitable epidemiological models for elucidating gene-environmental interactions, a concrete program for intervention, and so on, as well as technical developments of molecular biology methodology. Since periodic maternal health check-ups are widely performed, particularly in developed countries, it may be easier to obtain informed consent, guard privacy, and evaluate and intervene in lifestyles for the prevention of preeclampsia than for the prevention of other non-obstetrical diseases. Determination of relevant factors present before pregnancy, such as genotype, may be useful for devising effective individualized strategies for preventing preeclampsia.