

遺伝子多型と妊娠中毒症 — 臨床応用に向けて —

Candidates for Predisposing Genes of Preeclampsia in Japan; Problems for Practical Use.

¹⁾北海道大学医学部公衆衛生学講座, ²⁾同産婦人科学講座、

³⁾旭川医科大学大学医学部公衆衛生学講座, ⁴⁾放送大学

¹⁾小橋 元、¹⁾志渡晃一、²⁾山田秀人、²⁾佐川 正、

¹⁾岸 玲子、³⁾羽田 明、⁴⁾近藤喜代太郎、²⁾藤本征一郎

¹⁾Dept. Public Health, ²⁾Dept. Ob. Gyn., Hokkaido Univ. School of Medicine,

³⁾Dept. Public Health, Asahikawa Medical College, ⁴⁾The Univ. of the Air.

¹⁾Gen KOBASHI, ¹⁾Koichi SHIDO, ²⁾Hideto YAMADA, ²⁾Tadashi SAGAWA,

¹⁾Reiko KISHI, ³⁾Akira HATA, ⁴⁾Kiyotaro KONDO and ²⁾Seiichiro FUJIMOTO

目 的

妊娠中毒症は、周産期医学における主要な対策疾患であり、様々な方法でその発症予知と早期介入がこころみられている。本症は古くから「学説の疾患」と呼ばれているように、その病因や発症機構についての一元的な仮説は存在せず、複数の遺伝要因と環境要因の共同作用によって発症する多因子疾患と考えられている。

妊娠中毒症の素因候補遺伝子としては、現在のところ、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 (AT₁R)、アンジオテンシン変換酵素 (ACE)、 β_1 -アドレナリン受容体 (β_1 -AR)、血液凝固第 V 因子 (Factor V)、Methylenetetrahydrofolate (MTHFR) などが考えられる。

AGT遺伝子多型は、235番目のアミノ酸のメチオニン (M235) からスレオニン (T235) への置換である。T235のホモ接合 (TT) の群では血中AGT濃度が高く、また妊娠中毒症群においてはその頻度が有意に高率であった¹⁾。さらに最近の研究で、T235はAGT遺伝子の転写を調節するプロモーター領域の多型 (G-6A) とほとんど完全に連鎖している遺伝子マーカーであることが報告されている。また、T235を持つ群においては、妊娠初期のらせん動脈の形成異常があり、子宮胎盤血流が障害される可能性も示唆されており、AGT遺伝子多型の妊娠中毒症の発症機序への関

わりが明らかになりつつある。

AT₁R遺伝子多型は、3'-非転写領域の1166番目の塩基におけるアデニン (A1166) からシトシン (C1166) への置換であり、フランスにおいて本態性高血圧との関連が報告された。また、虚血性心疾患などとの関連も報告されている。AT₁Rは血管平滑筋に存在しているが、PIHでは正常妊娠に比べて、妊娠により生理的なAT₁R数の減少が少ない。これが本症におけるアンジオテンシン II に対する不応性の欠如に関連するともいわれていることから、我々はPIHにおけるAT₁R遺伝子多型の関連について検討を行っている²⁾。

ACE遺伝子多型は、イントロン16における、287bpの有りなし (insertion/deletion) の多型であり、deletion型と虚血性心疾患などの動脈硬化性疾患との関連が報告されている。

β_1 -AR遺伝子多型は、64番目のアミノ酸のトリプトファン (T64) からアルギニン (A64) への置換であり、A64と肥満やインスリン抵抗性との関連が報告されている。

Factor V遺伝子多型は、Leiden mutationといわれる、エクソン10にある1691番目の塩基におけるグアニン (G1691) からアデニン (A1691) への置換、すなわち、506番目のアミノ酸のアルギニンからグルタミンへの置換である。ここは、Factor VにおけるプロテインCの切断部位であるため、この置換により切断がおこらず、血液

凝固が促進されることが報告されている。

MTHFR遺伝子多型は、677番目の塩基におけるシトシン (C677) からチミン (T677) への置換、すなわち、アラニンからバリンへのアミノ酸の置換である。MTHFRは、血中ホモシスチン濃度の調節において重要な役割を担っている。したがって、T677型は、高ホモシスチン血症を介して、血液凝固や動脈硬化に関連していることが推測されている。

今後は、これら以外にも、妊娠中毒症の発症との関連が考えられる、新たな候補遺伝子の探究が急速に進み、遺伝子タイピングの臨床応用が期待されてくるものと考えられる。

そこで本稿では、まず日本人女性における妊娠中毒症 (妊娠高血圧症; PIH) とそのいくつかの候補遺伝子多型との関連について、我々の研究結果を紹介する。そして、遺伝子多型 (AGT遺伝子) に妊娠中の環境要因を加えた我々の研究結果とともに、今後の臨床応用への課題について考察する。

対象と方法

対象は、北海道大学医学部附属病院産科婦人科および北海道内の関連病院において妊娠・分娩管理を受け、必要な臨床データの揃っているもののうち、他の既往歴、奇形児妊娠、羊水量異常、内科・外科的合併症のない単胎妊娠で、同意の得られたPIH症例および正常妊娠分娩例とした。検討症例数は、それぞれ結果のTableに示した。PIHの診断と分類は、アメリカ合同委員会の基準に従った。すなわち、高血圧の診断基準については、(1) 妊娠により収縮期血圧が30mmHg以上あるいは拡張期血圧が15mmHg以上の上昇、または(2) 以前の血圧が不明の場合には、収縮期血圧が140mmHg以上あるいは拡張期血圧が90mmHg以上を認めたものをPIHとし、浮

腫、蛋白尿については、それぞれ1週間で500g以上の体重増加、随時尿で尿蛋白が30 mg/dl以上を陽性とした。

遺伝子タイピングは、全血100 μ l中の白血球より抽出したDNAを鋳型とし、各遺伝子多型に特異的なプライマーを使用した遺伝子増幅法 (PCR) および制限酵素による方法 (RFLP) などを用いて行った。

各遺伝子多型は、遺伝子型を統合してそれぞれ2区分とし、 χ^2 検定により行った。度数が5以下の群が存在する場合は、Yatesの補正を用いた。

成績

1. AGT遺伝子多型とPIHとの関連³⁾

TT型の頻度は、母体年齢20歳から34歳のPIHで90%と、同年齢の対照の56%にくらべて有意に高かった ($p < 0.001$) が、35歳以上の高年妊娠においては、PIH66%と、対照57%と、有意差を認めなかった (Table 1)。

2. AT₁R遺伝子多型とPIHとの関連²⁾

AC+CC型の頻度は、初産PIHで20%、初産重症PIHで23%と、初産対照の9%に対してそれぞれ有意 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) に頻度が高かった (Table 2)。

3. ACE遺伝子多型とPIHとの関連

欠失 (deletion) のホモ接合 (DD) 型の頻度は、初産PIHでは14%、初産対照では10%と、両群間に有意差を認めなかった (Table 3)。

4. β_3 -AR遺伝子多型とPIHとの関連

A64のホモ接合 (AA) およびヘテロ (TA) 型の合計の頻度は、初産PIH、初産対照では、ともに30%であり、差を認めなかった (Table 3)。

5. Factor V遺伝子多型とPIHとの関連⁴⁾

今回、PIH、対照の合計180例の遺伝子タイピングを行ったが、Leiden mutationは1例も検出

されなかった。

6. MTHFR遺伝子多型とPIHとの関連

T677のホモ接合 (TT) およびヘテロ (CT) 型の合計の頻度は、PIHでは64%、重症PIHでは67%、対照では61%であり、各群間に有意差を認めなかった (Table 3)。

考 察

今回、解析した候補遺伝子多型のなかで、白人と日本人の両方において妊娠中毒症との関連が確認されているものは、現在のところAGT遺伝子のみである^{1,3)}。各遺伝子多型については、今後も症例数を増し、あるいはまた、妊娠中毒症の分類ごとにその関連を検討していくことが必要と思われる。素因遺伝子の解析は、遺伝要因を早期にしかも具体的に評価できる点で、遺伝子型に応じた、より個別的、効果的な保健指導へ向けて今後の有用性が期待される。また、妊娠中毒症自体が、高血圧などの表現型に基づいた定義であり、その背景に様々な病態が存在するため、その病態に基づいた分類が必要であることは論を待たないが、素因遺伝子の解析が病態解明への新たな手がかりとなる可能性もある。

我々は、素因遺伝子タイピングの予防医学への応用を目的に、PIH78例および正常対照199例の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ている⁵⁾。その結果、単変量解析では「AGT遺伝子TT型」「妊娠前のBMI $\geq$ 24」を含む9項目がPIH発症に有意に関連した。多変量解析では、それらのうち「AGT遺伝子TT型」「妊娠前のBMI $\geq$ 24」「妊娠中食事内容に無頓着」「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。

さらに、対象集団を妊娠前のBMIとAGT遺伝子型とを用いて2群に分けて解析すると、BMI $<$ 24かつAGT遺伝子TT型の群には、「野菜サラダをほとん

ど食べなかった」「身体的負担が強かった」「休養が不十分であった」「精神的ストレスが強かった」「胎教をまったくしなかった」の5項目が有意にPIH発症に関連し、多変量解析では「精神的ストレスが強かった」「胎教をまったくしなかった」が選択された。一方、それ以外の群では、「濃い味付けを好んだ」「食事内容に無頓着」「牛乳をほとんど飲まなかった」「喫煙していた」「夫の実家との関係が悪い」の5項目が有意に発症に関連し、多変量解析では「食事内容に無頓着」が選択された。

すなわち、AGT遺伝子型などの妊娠前の要因により、PIH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になった。

素因遺伝子解析の臨床応用に向けて、候補遺伝子のさらなる解明、遺伝子診断適応例の選別、有効な保健指導法の確立、説明と同意、遺伝子情報の管理など、いくつかの解決すべき課題がある。妊娠中毒症においては、発症前から妊婦検診等で定期的な産科管理が行われていることが多いため、保健指導が他の内科的疾患に比べて容易であり、また、説明と同意、遺伝子情報管理についても、地域、職域などで他疾患の検診・予防活動で行う場合に比べて問題が少ないと考えられる。これらの利点を生かして、臨床応用が実現されれば、本態性高血圧を含めた多因子疾患、生活習慣病予防対策への良いモデルとなる可能性がある。今後は、分子遺伝学、疫学、医療社会学、生命倫理学などを統合させた広範な研究の遂行が望まれる。

文 献

1. Ward K, et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nature Genetics* 1993 ; 4 : 59 - 61.
2. 小橋 元、他. 妊娠高血圧症とアンジオテン

Table 1. Distribution of the angiotensinogen genotype.

Diagnosis	Age	Gravidity	No.	MM	MT	TT	Freq. of TT (%)
PIH	20-34	G=0	51	1	3	47	92*
		G>0	38	0	5	33	87*
		total	89	1	8	80	90*
PIH	35≤	G=0	6	0	1	5	83
		G>0	18	1	6	11	61
		total	24	1	7	16	66
Controls	20-34	total	310	13	123	174	56
	35≤	total	58	5	20	33	57

* p<0.001 vs. 20-34 aged controls by chi-squared test.

Table 2. Distribution of the angiotensin II type1 receptor genotype.

Diagnosis	Parity	No.	AA	AC	CC	Freq. of AA+AC (%)
PIH	P=0	82	66	15	1	20*
	P>0	62	56	6	0	10
severe PIH	P=0	69	53	15	1	23**
Controls	P=0	181	165	14	2	9
	P>0	134	116	15	3	13

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

Table 3. Distribution of the genotype of the candidate genes.

Gene	Diagnosis	Parity	No.	AA	Aa	aa	Freq. of a risk* (%)
ACE	PIH	P=0	65	9	29	27	14
	severe PIH	P=0	45	8	21	16	18
	Controls	P=0	118	12	56	50	10
β_3 -AR	PIH	P=0	71	50	17	4	30
	Controls	P=0	109	76	31	2	30
MTHFR	PIH		106	39	55	12	64
	severe PIH		86	29	47	10	67
	Controls		215	83	99	33	61

ACE: angiotensin converting enzyme. β_3 -AR: β_3 -adrenalin receptor.

MTHFR: methylenetetrahydrofolate.

In ACE, A: deletion, a: insertion, and *AA was regarded as a candidate for a risk factor.

In β_3 -AR, A: T64, a: A64, and *Aa+aa was regarded as a candidate for a risk factor.

In MTHFR, A: C677, a: T677, and *Aa+aa was regarded as a candidate for a risk factor.

シンII受容体遺伝子多型との関連. 日本妊娠中毒症学会雑誌 3, 1-5, 1995.

3. Kobashi G, et al. 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. 86:232-236, 1999.

4. Kobashi G, et al. The factor V Leiden mutation is not a common cause of pregnancy-induced hypertension in Japan. Semin. Thromb. Hemost. 25: 487-489, 1999.

5. 小橋 元、他. 妊娠高血圧症における遺伝要因と環境要因の交絡. 日本妊娠中毒症学会雑誌 6, 10-16, 1998.