

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11249

研究課題名(和文) 妊娠高血圧症候群の遺伝・環境交互作用解明のための多施設前向き共同研究

研究課題名(英文) Multi-center prospective study for elucidation of gene-environment interaction of hypertension in pregnancy

研究代表者

小橋 元 (Kobashi, Gen)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：60270782

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠高血圧症候群(HDP)および弛緩出血関連遺伝子(PPH)の探索を行った結果、PPHの新たな候補遺伝子として、主に子宮収縮に関連するオキシトシン受容体遺伝子およびプロスタグランジンエンドペルオキシド合成酵素-2遺伝子の多型が検出された。また、妊娠高血圧症候群と睡眠、就労ストレス、社会経済的要因との関連などにつき解析を行った。飲酒・喫煙、身体活動についても分析を進める予定である。尿サンプルを用いた尿中ナトリウム濃度分析、尿中酸化ストレスマーカー(8-OHdG)分析も行っている。さらに、日本人女性においてもHDPの中の妊娠時高血圧が将来の本態性高血圧に関連することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、妊娠高血圧症候群、弛緩出血といった主要な周産期合併症の新しい予防対策、すなわち、妊婦の健康意識が高く生活習慣の把握が容易な妊婦検診の場で、妊娠初期の遺伝子タイピングによるハイリスク群の抽出、個別の生活習慣指導、酸化ストレスマーカー測定等による発症予知・早期治療、治療法の選択、長期予後の推定といった、「エビデンスに基づいたテーラーメイド周産期医療」実現に向けた基礎資料となる。

研究成果の概要(英文)：The present study revealed that genetic polymorphisms of oxytocin receptor gene and prostaglandin endoperoxide synthase-2 gene were associated with postpartum hemorrhage. Analyses clarifying associations between hypertension in pregnancy and sleeping habit, job stress, social-economic status, etc. were carried out, as well as drinking and smoking habit, physical activities, and urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine 1 levels as a stress marker. Further, it was shown that gestational hypertension was a risk factor of hypertension in middle-aged and older women.

研究分野：予防医学・公衆衛生学

キーワード：妊娠高血圧症候群 弛緩出血 危険要因 分子疫学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧症候群(PIH)の発症には、遺伝・環境交互作用により起こる複数の多因子病態が関与している。遺伝要因としては、1993年の羽田らの報告(PIHとAGT TT型の関連)を皮切りに、遺伝子DNA上の一塩基の置換、挿入および欠失による配列の違いであるSNPs(Single Nucleotide Polymorphisms)の本症への関連が注目された。

申請者らは今までに、PIHにおける遺伝・環境交互作用を明らかにするために、PIH症例約200例と、正常妊娠の対照約800例のDNAを解析し、AGT M235T多型、アンジオテンシン受容体遺伝子(AT1)A1166C多型、一酸化窒素合成酵素遺伝子(NOS3) Glu298Asp多型が、それぞれ独立にPIH発症に関連することを見出した。また、アンジオテンシン変換酵素遺伝子(ACE)Insertion/Deletion多型、F5 Leiden変異、MTHFR C677T多型、3-アドレナリン受容体遺伝子(B3AR)T64A多型、TNF- $\alpha$  遺伝子(TNF-A) G-308A多型、Microsomal epoxide hydrolase 遺伝子 Tyr113His多型、Lipoprotein lipase 遺伝子 S447X多型、プロトンポンプ遺伝子 G20210A多型は日本人のPIHには関連しないとの結果を得た。また、AGT TT型、NOS3 GA+AA型、高血圧の家族歴、妊娠前の肥満はそれぞれ独立にPIHに関連し、PAI-1の4G/4G型はAGTに関連した病態に、GSTP1のIV+VV型と高齢妊娠はNOS3に関連した病態に、それぞれ何らかの関与をしていることも明らかにしてきた。

さらに、初産PIH 71例と年齢をマッチさせた初産正常妊娠分娩対照 213例のSNPsとともに、臨床データ、生活習慣・ストレスを同時に解析した結果、多変量解析で「AGT 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5項目が独立な危険要因として検出された。対象集団をAGT遺伝子型により2群に分けて多変量解析すると、AGT TT型の群には、「妊娠中の精神的ストレス」が強い危険要因として検出され、それ以外の群では、「妊娠前のBMI 24」「NOS3 GA+AA型」「高血圧の家族歴」が検出された。これらは、PIH発症前の生活習慣・ストレスへの遺伝子型別保健指導の実現に向けて、世界に先駆けた成果である。

一方、PIHの病因・病態において、AGTTT型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に関連するが、上記の研究結果に照らせば、この素因を持つ妊婦にストレスが加わると、胎盤血流の低下と線溶抑制による過凝固状態、さらには血管内皮機能障害を招き、これがPIH発症の引き金となるという仮説が成り立つ。

近年、尿中8-OHdGが酸化ストレスマーカーとして注目され、妊娠中の尿中8-OHdGは低出生体重に関連するとの報告があるが、PIHとの関連ははまだ検討されていない。また超音波による子宮胎盤循環はPIHへの関与が示唆されている。母体の血中酸素飽和度と周産期合併症についての研究も始まった。PIH関連SNPsのアソシエーション・スタディでは、Caucasiansにおいては上記のAGT以外に、血液凝固第5因子(F5)やmethylenetetrahydrofolate reductase 遺伝子(MTHFR)に関する報告があり、日本人では申請者らの報告の他にSohdaらのMTHFR14)、YoshimuraらのNOS3、YamadaらのPAI-1に関する報告があるが、病態解明と臨床応用に資する決定的な研究成果はまだまだない。そのため、PIHにおいてSNPs、生活習慣・ストレス、尿中8-OHdG等を同時に解析して仮説を検証する分子疫学研究を行う必要がある。

### 2. 研究の目的

本研究で明らかにしたいのは、「PIHの特にストレスに関わる病因における遺伝・環境交互作用と病態」である。すなわち、従来の申請者らの研究結果から得られた仮説:「AGTTT型、NOS3 GA+AA型、PAI-14G/4G型、GSTP1IV+VV型の素因を持つ妊婦は、酸化ストレス、胎児胎盤血流低下、血中酸素飽和度低下において、異なる加重状況・メカニズムでPIH発症リスクが高まること」を検証することである。本研究では、妊娠高血圧症候群(PIH)における特にストレスと子宮胎盤循環に関わる病因に関わる遺伝・環境交互作用と病態の解明を目的として、従来の研究成果と前方視的研究の基盤を背景として、主に、PIH発症関連遺伝子多型(SNPs)の新規探索と遺伝・環境交互作用の解析、尿中酸化ストレスマーカー(尿中8-OHdG)測定等と、PIH発症におけるAGT、NOS3、PAI-1、GSTP1多型との交互作用解析を行う。本研究の成果が得られれば、妊婦の健康意識が高く生活習慣の把握が容易な妊婦検診の場で、妊娠初期のSNPsタイピングと尿中酸化ストレスマーカー測定による、ハイリスク群の抽出、個別の生活習慣指導による、発症予知および予防、長期予後の改善といった、「エビデンスに基づいたテーラーメイド周産期医療」への具体的な提案が可能となる。

### 3. 研究の方法

本研究では、申請者が従来進めてきた「OSAN Study」(獨協医科大学と神戸大学産婦人科の関連病院)に、今回新たに筑波大学産婦人科の関連病院を加えて、以下の内容を行う。

PIH発症関連SNPsの新規探索と遺伝・環境交互作用の解析

尿中酸化ストレスマーカー(8-OHdG)測定

PIH発症におけるAGT、NOS3、PAI-1、GSTP1多型との交互作用解析

(1)産科妊婦健診における前方視調査および検体の収集・保存

現在すでに協力体制ができている獨協医科大学・神戸大学関連病院8施設および新規に協力体制をつくる筑波大学関連病院2施設において、文書によるインフォームド・コンセント

の得られた妊婦（前方視的なりクルートなので、患者と正常対象者を含むことになる）に、妊娠前・妊娠中の生活習慣（食生活、飲酒・喫煙、運動、睡眠、休養、精神社会活動）、ストレス、ソーシャルサポート、エゴグラムなどの質問紙調査、母体採血を継続して行う。また、新たに尿検体の採取と保存を行う。各妊婦を妊娠判明時から分娩時まで前方視的に観察する。

- (2) 尿中酸化ストレスマーカー（8-OHdG）測定  
妊娠初期、中期、後期の尿を用いて、尿中 8-OHdG を ELISA 法により測定する。
- (3) PIH 発症関連 SNPs の新規探索と遺伝・環境交互作用の解析  
血液から遺伝子 DNA を抽出し、血圧調節、血液凝固、インスリン抵抗性、活性酸素産生などに関わることから PIH との関連が推測される新たな候補遺伝子多型（SNPs）の遺伝子タイプングを、PCR-RFLP 法などを用いて行い、関連を検討する。また、上記で調査した生活習慣、ストレス、ソーシャルサポートなどの交互作用を分析する。

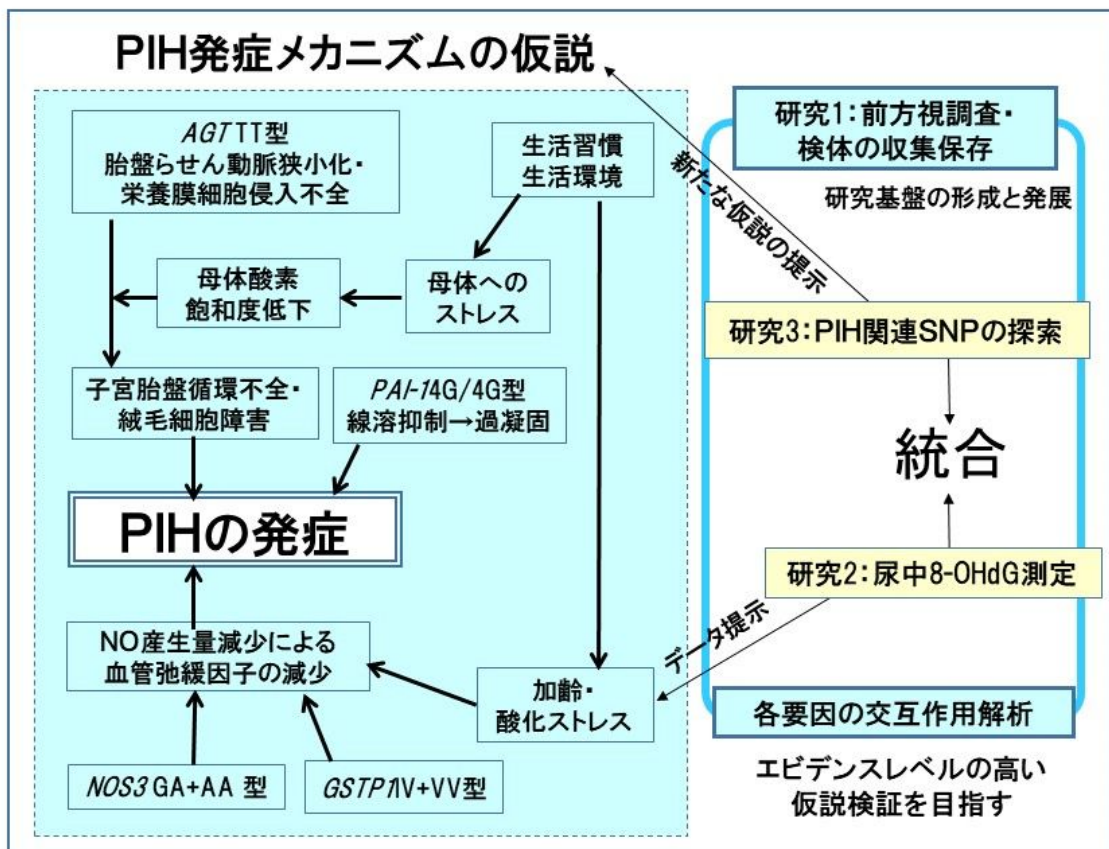


図 PIH 発症メカニズムの仮説と本研究の関連

#### 4. 研究成果

従来実施してきた「OSAN Study」の協力病院として、獨協医科大学、神戸大学、筑波大学およびそれらの関連病院に加えて、獨協医科大学埼玉医療センターおよびその関連病院を加えて、リクルート体制の充実を図り、新たに 331 例のデータが収集され、臨床データ・生活習慣調査票のデータセットおよび DNA・尿サンプルのセットが完成した。

妊娠高血圧症候群（PIH/HDP）および弛緩出血関連遺伝子（PPH）の探索を行った結果、PPH の新たな候補遺伝子として、主に子宮収縮に関連するオキシトシン受容体遺伝子（OXTR）およびプロスタグランジンエンドペルオキシド合成酵素-2 遺伝子（PTGS-2）の多型が検出された（論文投稿中）。また、妊娠高血圧症候群と睡眠、就労ストレス、社会経済的要因との関連などにつき解析を行った（論文執筆中）。飲酒・喫煙、身体活動についても分析中である。

一方、尿サンプルを用いた尿中ナトリウム濃度分析、尿中酸化ストレスマーカー（8-OHdG）分析も行っている（別サンプルにて分析：Nagao M, et al, J Atheroscler Thromb. 2020）。これらの結果から、妊娠中のスポット尿検査補正用にクレアチニン値が妊娠時期に関連して変化すること等が明らかとなり、今後の研究に重要な示唆を与えることとなった（論文執筆中）。さらに、日本人女性においても HDP 中の「Gestational Hypertension」が将来の本態性高血圧に関連することを明らかにした（Watanabe M, et al: Int J Environ Res Public Health. 2020）。尿中 8-OHdG については、HDP はもちろんのこと、既知の HDP 関連遺伝子多型であるアンジオテンシノーゲン遺伝子多型との関連についても検討を行う予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>小橋 元、内山浩志、西田恵子、梅澤光政   | 4. 巻<br>82            |
| 2. 論文標題<br>妊産婦の睡眠   | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>公衆衛生  | 6. 最初と最後の頁<br>945-948 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし   | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>Umesawa M, Kobashi G  | 4. 巻<br>40            |
| 2. 論文標題<br>Epidemiology of hypertensive disorders in pregnancy: Prevalence, risk factors, predictors and prognosis.   | 5. 発行年<br>2017年       |
| 3. 雑誌名<br>Hypertens Res   | 6. 最初と最後の頁<br>213-220 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/hr.2016.126.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>Nagao M, Kobashi G, Umesawa M, Cui R, Yamagishi K, Imano H, Okada T, Kiyama M, Kitamura A, Sairenchi T, Haruyama Y, Otani T, Iso H, for the CIRCS investigators | 4. 巻<br>-             |
| 2. 論文標題<br>Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine 1 levels and cardiovascular disease incidence in Japan   | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>J Atheroscler Thromb.   | 6. 最初と最後の頁<br>-       |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.5551/jat.51664  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>Watanabe M, Sairenchi T, Nishida K, Uchiyama K, Haruyama Y, Satonaka H, Ishimitsu T, Yasu T, Fukasawa I, Kobashi G.   | 4. 巻<br>-             |
| 2. 論文標題<br>Gestational hypertension as a risk factor of hypertension in middle-aged and older women.  | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>IJERP   | 6. 最初と最後の頁<br>-       |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

|                                      |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>小橋 元                      |
| 2. 発表標題<br>労働と関係して母性に配慮を要する諸疾病の予防と対策 |
| 3. 学会等名<br>第91回日本産業衛生学会（招待講演）        |
| 4. 発表年<br>2018年                      |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>小橋 元                             |
| 2. 発表標題<br>前を向く社会医学 ～ 次代への胎動 ～（心と1次予防の視点から） |
| 3. 学会等名<br>第59回日本社会医学会総会（招待講演）              |
| 4. 発表年<br>2018年                             |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>小橋 元   |
| 2. 発表標題<br>予防段階、遺伝と環境、世代を切れ目なく繋ぐ循環器疫学研究～総合的成育予防医学 の視点から |
| 3. 学会等名<br>第54回日本臨床生理学会 シンポジウム（招待講演）                    |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kobashi G   |
| 2. 発表標題<br>Epidemiology of Hypertensive Disorders in Pregnancy.      |
| 3. 学会等名<br>The 9th Annual International Congress of Cardiology（国際学会） |
| 4. 発表年<br>2017年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|           | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                          | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)             | 備考 |
|-----------|--|-----------------------------------|----|
| 研究<br>分担者 | 梅澤 光政<br><br>(Umesawa Mitsumasa)<br><br>(00567498) | 獨協医科大学・医学部・准教授<br><br><br>(32203) |    |
| 研究<br>分担者 | 宮下 進<br><br>(Miyashita Susumu)<br><br>(20743165)   | 獨協医科大学・医学部・教授<br><br><br>(32203)  |    |