

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19654

研究課題名(和文)妊婦のレストレスレッグス症候群はビタミンDで改善の可能性を見出せるか？

研究課題名(英文)The Impact of Vitamin D on Pregnant Women with Restless Leg Syndrome/Willis Ekbom Disease

研究代表者

江藤 宏美(Eto, Hiromi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(保健学科)・教授

研究者番号：10213555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、これまで解明されていない妊娠中のレストレスレッグス症候群(RLS)とビタミンD(VD)との関連を明らかにした。VDの活性化型である血清25(OH)D、1,25-(OH)2Dを質量分析(LC-MS/MS)によって精緻に測定した。対象者205名から研究協力の承諾を得た。対象者の平均年齢は 32.0 ± 4.9 歳、平均妊娠週数は 35.9 ± 1.0 週であり、初産婦110名、経産婦95名であった。RLSの有病率は16.6%(34人)であった。25(OH)Dは、RLS群で平均 9.0 ± 3.2 ng/mL、非RLS群で 11.2 ± 5.4 ng/mLであり、RLS群で有意に低かった($p=0.036$)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、ビタミンDの活性化型である血清25(OH)D、1,25-(OH)2Dを質量分析法によって精緻に特定し、さらに、血液生化学検査でRLS関連項目やビタミンD欠乏を示す項目も精査した。妊娠中のRLS妊婦のVDが有意に低かったことから、VDの補充療法が、妊娠中にRLSを発症した妊婦にとって画期的な対処法となり得ることがわかった。特に、コロナ禍で、ビタミンDの生合成に影響する妊婦の日照はかなり減少していることが推測され、今後、RLS妊婦に対するVD補充療法の効果検証など、より詳細な研究が期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the previously unexplored relationship between restless legs syndrome (RLS) and vitamin D (VD) during pregnancy. In this study, serum 25(OH)D and 1,25-(OH)2D, the activated forms of VD, were measured precisely by mass spectrometry (liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS). Consent for research cooperation was obtained from 205 subjects. The mean age of the subjects was 32.0 ± 4.9 years, the mean gestational age was 35.9 ± 1.0 weeks, 110 were primiparous, and 95 were multiparous. The prevalence of RLS was 34 (16.6%). The mean of 25(OH)D was 9.0 ± 3.2 ng/mL in the RLS group and 11.2 ± 5.4 ng/mL in the non-RLS group, and 25(OH)D in RLS group was significantly lower ($p=0.036$) than non-RLS group.

研究分野：助産学

キーワード：レストレスレッグス症候群 ビタミンD 妊婦 質量分析 RLS/WED 25(OH)D 1,25-(OH)2D LC-MS/MS

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

レストレスレッグス症候群 (restless legs syndrome: RLS) は下肢を中心とする動かしたい衝動感到通常、下肢のむずむず感や灼熱感などの異常知覚を伴う神経感覚運動障害である。妊婦の RLS の有病率は同じ地域・人種の非妊婦と比較して 2-3 倍と高率であり、メタ・アナリシスでの有病率は 22 (95% 信頼区間: 17-26)% と報告されている。

RLS とビタミン D 欠乏状態とは関連する。2020 年に公表されたメタ・アナリシスでは、RLS 群の血清 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] 濃度は非 RLS 群と比較して低値である [1]。また、ビタミン D 欠乏者は RLS 患者で多いとの報告が集積されつつある。さらに、ビタミン D 欠乏者に対する補充療法により RLS 症状は軽減することも報告されている。しかし、1 件のみ報告されている RLS 患者へのビタミン D 補充療法の randomized controlled trial では有効性が証明されておらず [2]、さらなる臨床研究が必要とされている。

ビタミン D 欠乏状態の評価には血清 25(OH)D 濃度が用いられるが、その結果は測定方法と対象者に留意して判断される必要がある。現在、リガンド結合法を用いた測定が広く行われているが、液体クロマトグラフィー質量分析 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS) 法と比較するとリガンド結合法での結果はバイアスが大きいたることがあり、使用する測定キットによりバイアスに大きな違いがある。また、妊婦を対象とする場合、循環血漿量は妊娠経過とともに増加し妊娠末期には非妊娠時と比較して 1150 ml (48%) 増加することを反映して、血清 25(OH)D 濃度は非妊婦と比較すると低値となる。妊婦の血清 25(OH)D は測定限界を下回る症例もあり、欠乏状態の評価には注意が必要である。

RLS に影響する血清 25(OH)D レベルは現在のところ明らかにされていない。ビタミン D 欠乏状態の cut-off 値は国や団体により違いがあるが、25(OH)D < 20 ng/mL を欠乏状態、< 10-12 ng/mL を高度な欠乏としていることが多い。

2. 研究の目的

ビタミン D 欠乏が restless legs syndrome (RLS) と関連することが報告されているが、ビタミン D 欠乏状態の指標としての血清 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] 濃度と RLS との関連は明らかになっていない。本研究は血清 25(OH)D 濃度を液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS/MS) 法を用いて測定し、妊産婦を対象として RLS と 25(OH)D との関連性を検討した。

また、RLS と関連する 25(OH)D 濃度の cut-off 値の設定を試み、非妊婦の cut-off 値の推定も行った。

3. 研究の方法

対象者は妊娠末期 (36 週頃) の単胎で重篤な合併症がなく、正常な妊娠経過の妊婦とした。口頭及び文書にて研究について説明を行い、同意を取得した。同意を取得した妊婦には自記式質問票を用いて、年齢、婚姻状況、既往歴、現病歴、喫煙状況、RLS の家族歴、分娩予定日を含む対象者の属性を確認し、RLS 症状、不眠症状と主観的な睡眠の質を調査した。また、通常の妊婦健診の採血に加えて研究調査のために 15 mL の全血を採取した。分娩アウトカムは診療録及び分娩録より収集した。本研究は所属施設の倫理委員会より承認を得て実施した (許可番号 20080605)。

RLS のスクリーニングは Cambridge-Hopkins questionnaire short form 13 日本語版 ver. 2.16 を用いた。本質問票で、動かしたい衝動感もしくは異常知覚を有する対象者全員に日本睡眠学会認定医 (H.K) が電話でインタビューを行い、International Classification of Sleep Disorders 第 3 版 (ICSD-3) の診断基準に基づいて診断した。RLS の重症度は International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale (IRLS) 日本語版 ver. 2.2 を用いて評価した。過去 1 週間における RLS 症状を評価し、総合得点は 0-40 点となり、軽症 (1-10)、中等症 (11-20)、重症 (21-30)、最重症 (30-40) と判定した。IRLS は産褥期にも回答を依頼し、出産後の症状を確認した。

主観的な睡眠の質は Pittsburgh sleep quality index (PSQI) 日本語版を用いて評価した。不眠重症度は Insomnia Severity Index (ISI) を用いて評価した。

本研究のために 15 mL の全血を 10 mL チューブと 5 mL チューブに採取した。血清は遠心分離後に 2 本に分注して 1 本は -20 °C で冷凍保存し外部検査機関 SRL に輸送した。CLEIA 法による 25(OH)D の測定は Lumipulse® 25-OH Vitamin D (Fujirebio Inc. Tokyo, Japan) を用いて行った。LC-MS/MS 法を用いた 25(OH)D の測定は北陸大学・機器分析施設において行った。LC-MS/MS システムは高速液体クロマトグラフィー Nexera X2 を連結した質量分析計 LCMS-8045 (SHIMADZU Corp, Kyoto, Japan) を用いた。25(OH)D₂ と 25(OH)D₃ をそれぞれ測定し、両者の和を 25(OH)D とした。

4. 研究成果

205 人から同意を取得した。1 人は採血が実施されず、また、1 人は LC-MS/MS 法のための検体採取ができていなかった。よって、2 つの方法での 25(OH)D 測定ができた 203 人を解析対象とした。対象者の平均年齢 (±SD) は 32.0 ± 4.6 歳で、初産婦が 53.7% を占めていた。解析対象者の

35人(17.2%)がRLSと診断された。RLSの発症は妊娠前が19人(54.3%)、今回の妊娠中からが14人(40.0%)、2人は不明であった。LC-MS/MS法による血清25(OH)D濃度<10ng/mLの妊婦は17.7%であったが、<20ng/mLでは79.8%と殆どの被験者が含まれていた。

未回答の1人を除いた過去1週間のIRLSの中央値(IQR)は13.0(7.5, 19.8)点で、0点、軽症、中等症、及び重症と判定された者はそれぞれ1人(2.9%)、10人(29.4%)、16人(47.1%)、及び7人(20.6%)であった。出産直後のIRLSの中央値(IQR)は1(0, 5)と有意に低下した($P < 0.001$)。妊娠中と出産後にIRLSが取得できた28人の出産後のIRLSは、13人(46.4%)で症状は完全に消失しており(妊娠前からの9人、妊娠中発症の4人)、軽症、中等症、重症の者はそれぞれ10人(35.7%)、4人(14.3%)、1人(3.6%)であった。妊娠中に発症した11人中10人(90.9%)は軽症か、全く症状が消失していた。妊娠前からの16人では13人(81.2%)が軽症か全く症状が消失していた。

RLS群と非RLS群との比較

RLS群と非RLS群とを比較すると、血清25(OH)D濃度はRLS群で低値であり、CLEIA法の測定結果はLC-MS/MS法での結果と比較して低値であった($P < 0.001$)。血清1,25(OH)₂D濃度はRLS群で低値となる傾向が認められたが、統計学的に有意差を認めなかった。RLS群ではビタミンD低値であることを反映して、血清intact PTH濃度はRLS群では高値であった。ビタミンD欠乏者の割合はLC-MS/MS法での測定結果ではRLS群で高率であったが、CLEIA法ではほとんどの対象者が欠乏状態に含まれており、両群間で有意差が認められなかった。血清葉酸濃度もRLS群では低値であり、血清葉酸濃度6<ng/mL未満の欠乏者はRLS群で高率であった。血清フェリチン濃度は妊婦では著しく低値である者が殆どを占めており、両群間で有意差を認めなかった。非RLS群と比較してRLS群では主観的な睡眠の質は低下しており、ISIスコアも高値であり、入眠困難を訴える者が多かった。

ビタミンD欠乏と葉酸欠乏における被験者背景、検査結果、睡眠問題、及び、分娩アウトカム

LC-MS/MS法による血清25(OH)D濃度<10ng/mLと≥10ng/mLの2群に分割して比較すると、≥10ng/mL群と比較して<10ng/mL群では、血清葉酸濃度が低値であった。主観的な睡眠の質や分娩パラメータでは、両群間で有意な違いを認めなかった。同様に血清葉酸濃度<6ng/mLと≥6ng/mLの2群に分割して比較すると、≥6ng/mL群と比較して<6ng/mL群では年齢はやや若年だが、経産婦が多く、血清25(OH)D濃度は低値であった。

LC-MS/MS法とCLEIA法による血清25(OH)D濃度

Passing Bablock回帰では、xをLC-MS/MS法での血清25(OH)D濃度、yをCLEIA法での血清25(OH)D濃度とすると、全症例を用いた場合の1次回帰式は $y = -2.37 (95\% \text{ CI: } -3.01, -1.62) + 0.80 (95\% \text{ CI: } 0.76, 0.85)x$ であった。LC-MS/MS法での結果と比較して、CLEIA法では25(OH)Dは低値であった。

RLS評価における血清25(OH)Dと葉酸濃度のcut-off値推定の試み

今回、妊婦における採血結果において、血清25(OH)Dと葉酸濃度が低値であることが関係していた。そこで、RLSにおける問題となる血清25(OH)Dと葉酸濃度のcut-off値をROC曲線、及び、CART解析により検討した。ROC曲線より、LC-MS/MS法での血清25(OH)D濃度のカットオフ値を12.7ng/mLとすると、感度は0.685、特異度は0.629で、AUC(95%CI)は0.689(0.592, 0.786)であった。この値は、先のPassing Bablock回帰の結果よりCLEIA法での血清25(OH)D濃度では7.8ng/mLに相当した。同様に血清葉酸濃度のカットオフ値を7.2ng/mLとすると、感度は0.685、特異度は0.771で、AUC(95%CI)は0.660(0.565, 0.755)であった。

ROC曲線とCART解析で求めたcut-off値で2群に分割し、血清25(OH)Dと葉酸濃度が高値であることをreferenceとして、それぞれ低値であることのRLSとの関連性を、年齢で調整したロジスティック回帰分析でも評価した。血清25(OH)D濃度<12.7ng/mLと血清葉酸濃度<7.2ng/mLであることのOR(95%CI)は、それぞれ3.37(1.52, 7.45)、3.95(1.64, 9.49)であった。血清25(OH)D濃度<10ng/mLと血清葉酸濃度<6.6ng/mLであることのOR(95%CI)は、それぞれ3.67(1.54, 8.73)、4.00(1.72, 9.32)であった。

文献

1. Mansourian M, Rafie N, Khorvash F, Hadi A, Arab A. Are serum vitamin D, calcium and phosphorous associated with restless leg syndrome? A systematic review and meta-analysis. *Sleep medicine*. 2020; 75: 326-334. doi:10.1016/j.sleep.2020.08.022
2. Picchietti DL, Hensley JG, Bainbridge JL, et al. Consensus clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease during pregnancy and lactation. *Sleep Med Rev*. 2015; 22: 64-77. doi:10.1016/j.smrv.2014.10.009

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyazaki Asuka, Takahashi Misako, Shuo Takuya, Eto Hiromi, Kondo Hideaki	4. 巻 19
2. 論文標題 Determination of optimal 25-hydroxyvitamin D cutoff values for the evaluation of restless legs syndrome among pregnant women	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Sleep Medicine	6. 最初と最後の頁 73～83
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5664/jcsm.10270	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋実紗子, 宮崎あすか, 周尾卓也, 江藤宏美, 近藤英明
2. 発表標題 血清25(OH)ビタミンD濃度はどれくらい低値となると妊婦レストレスレッグ症候群に関連するのか？
3. 学会等名 2023年度日本プライマリケア連合学会長崎県支部学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋実紗子, 宮崎あすか, 周尾卓也, 江藤宏美, 近藤英明
2. 発表標題 妊婦レストレスレッグス症候群と関連するビタミンD欠乏状態のcut-off値について
3. 学会等名 日本睡眠学会第45回定期学術集会・第30回日本時間生物学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	周尾 卓也 (Shuo Takuya) (90399006)	北陸大学・医療保健学部・准教授 (33304)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------