論文の内容の要旨

論文題目　　妊娠期における酸化ストレスの経時的変化と生活要因の関連

指導教員　　村嶋　幸代　教授

東京大学大学院医学系研究科
平成 17 年 4 月　進学
博士後期課程
健康科学・看護学専攻

氏名　　松　﨑　政　代

背景

酸化ストレスとは、生体内においてフリーラジカルや活性酸素種による負荷が、抗酸化酵素や抗酸化剤による防御能を上回った状態を指し、生活要因などの外因性の活性酸素種の増加により惹起され、細胞膜や生体膜の脂質や蛋白を酸化し、酵素作用や受容体機能に大きな障害を起こすことが知られている。この酸化的傷害は、生活要因に起因する糖尿病、高血圧、妊娠中では妊娠高血圧症候群（PIH）や切迫早産の病因の一つとして報告されている。そのため、一般成人では、酸化ストレスのマーカーを、疾病予防のための生活要因のモニタリングや生活指導の指標として活用する試みがされている。妊娠期においても酸化ストレスを軽減することや、酸化ストレスマーカーを用いた生活要因のモニタリングは、正常の妊娠の過程を支援する上で重要であることが考えられる。しかしながら、妊娠期においては、PIH や切迫早産に対する抗酸化物質の投与による効果検証は行われているものの、生活要因の指標として酸化ストレスマーカーの利用は検討されておらず、妊娠期の酸化ストレスに影響する生活要因は明らかになっていない。

目的

正常の妊娠の過程を支援するための生活指導の新たなエビデンスを確立するために、酸化ストレスマーカーにより妊娠期における酸化ストレスの推移と、それに関連する生活要因を明らかにすることである。

方法

1）調査期間および調査対象

調査は、2004 年 7 月から 2005 年 3 月まで、埼玉県の A 産婦人科クリニックで実施した。対象者は、午前中の妊婦健康診査（妊婦健診）を受診している妊娠経過が正常な単胎の妊婦とした。リクルート期間中に妊娠 12-13 週の妊婦健診のために来院した妊婦 100 人のうち流

産、里帰り・転院、妊婦健診時間を変更した妊婦の計 25 人を除外した 75 人を対象に、妊娠初期（12 週）・中期（22 週）・末期（32 週）・産後 1 か月の 4 時点を通して縦断観察研究を行ない、初期のデーター欠損のない 54 人を分析対象とした。

2）調査項目

酸化ストレスマーカーとして尿中 Biopyrrin 値と総血清 CoenzymeQ$_{10}$（CoQ$_{10}$）値を測定した。妊娠期の生活要因として、質問紙より生活習慣、General Health Questionnaire（GHQ）より精神的健康度、簡易型自記式食事歴法質問票より食習慣、血液より脂質代謝マーカー値の情報を縦断的に得た。

3）測定方法

尿中 Biopyrrin 値は、Bilirubin モノクロナ-ル抗体（ALP 標識 24G7）を用いた非競合法 の Biopyrrin EIA kit（シノテスト（株）開発、同仁会）にて測定し、Creatinine 補正し、尿中 Biopyrrin 値（μmol/g Cre）とした。

血清 CoQ$_{10}$ 値（ng/ml）は、電気化学検出系（electric chemical detector： ECD）による高速液体クロマトグラフィー（High Performance Liquid Chromatography: HPLC）にて測定した。

4）倫理的配慮

本研究は、東京大学医学部研究倫理委員会の承認を得て実施した（H15.11.5, No.687）。

5）統計解析

尿中 Biopyrrin 値と血清 CoQ$_{10}$ 値の関連: 尿中 Biopyrrin 値の曲線下面積（area under the curve: AUC）を従属変数とし、血清 CoQ$_{10}$ 値の AUC を独立変数とし、年齢と血清直接 Bilirubin 値の AUC で調整した重回帰分析により検定した。

妊娠初期から産後 1 か月までの尿中 Biopyrrin 値と血清 CoQ$_{10}$ 値の推移と生活要因の変化: 連続データーは、一般線形混合モデルを使用し、固定効果に測定時期 4 時点、または妊娠期の 3 時点と、変量効果に個人を投入し検定した。また、カテゴリカルデータは、χ^2 検定を行った。

妊娠末期の尿中 Biopyrrin 値に影響する生活要因: 妊娠末期の尿中 Biopyrrin 値を従属変数とし、単変量解析で尿中 Biopyrrin 値との相関係数が rs = 0.2 以上で活性酸素の増加と関連がある変数を独立変数［夜間の平均睡眠時間（時間）、妊娠中の飲酒習慣（0：無、1：有）、妊娠中の喫煙習慣（0：無、1：有）、妊娠中の運動頻度（回数/週）、Vitamin C の摂取量（mg/1000 kcal/day）、GHQ 得点（0-12 点）］とし、血清直接 Bilirubin 値で調整した妊娠期ごとの重回帰分析により検定した。解析には、SPSS Version 16.0 for windows（SPSS Japan Inc）を用い、有意水準を 5%未満、傾向ありを 10%未満とし両側検定を行なった。

結果

1）妊娠期の酸化ストレスマーカーとしての尿中 Biopyrrin

① 尿中 Biopyrrin 値（μmol/g Cre）の推移

妊娠中期の平均尿中 Biopyrrin 値（6.27）は、初期の平均値（2.90）よりも約 1.5-2.0 倍増加し（$p < 0.001$）、末期の平均値（4.95）は、中期よりも約 1.3 倍増加し（$p = 0.004$）、妊娠経過に伴い有意に漸増した。また、末期の値は、初期よりも約 3 倍の増加を示した（$p < 0.001$）。産後 1 か月の平均尿中 Biopyrrin 値（3.52）は、末期より約 1/2 有意に減少した（$p < 0.001$）。

② 血清 CoQ_{10} 値（ng/ml）の推移

妊娠中期の平均血清 CoQ_{10} 値（1080.1）は、初期（631.3）よりも 1.7 倍増加し（$p < 0.001$）、末期の平均値（1639.1）は、中期よりも 1.5 倍増加し（$p < 0.001$）、妊娠経過に伴い有意に漸増した。産後 1 か月の平均値（919.2）は、末期より有意に減少した（$p < 0.001$）。

③ 尿中 Biopyrrin 値と血清 CoQ_{10} 値の関連

初期から産後 1 か月までの縦断調査によって得られた尿中 Biopyrrin 値の AUC は、血清 CoQ_{10} 値の AUC と有意に負の関連を示した（標準偏回帰係数 −0.313, $p = 0.01$; 調整済み $R^2 = 0.319$, $p < 0.001$）。

2）妊娠末期の酸化ストレスと生活要因の関連

妊娠末期の尿中 Biopyrrin 値の増加に関連する生活要因として、初期の飲酒習慣（$p < 0.001$）、食事からの Vitamin C の摂取が少ないこと（$p < 0.01$）、喫煙習慣（$p < 0.1$）と、中期の飲酒習慣（$p < 0.001$）、運動頻度が少ないこと（$p < 0.01$）、末期の飲酒習慣（$p < 0.001$）、喫煙習慣（$p < 0.1$）が明らかになった。

考察

正常の妊娠の過程を支援するために、酸化ストレスマーカーの検討および、酸化ストレスに影響する生活要因を検討した調査はない。今回の調査は、尿中 Biopyrrin を指標とした妊娠期の酸化ストレスの推移とそれに影響する生活要因を示したものである。

今回の結果である尿中 Biopyrrin 値と血清 CoQ_{10} 値が有意に負の関連を示すことが明らかになり、尿中 Biopyrrin が、CoQ_{10} と同様に、生体内の信頼性のある酸化ストレスマーカーとして利用できる可能性が示された。

本研究により妊娠経過に伴う尿中 Biopyrrin 値の有意な増加が示された。これは、胎児成長のための母体の代謝の亢進と、酸素要求量と胎盤組織の増大といった、内因性の活性酸素種生成の要因によるものと考えられ、尿中バイオピリンは妊娠期の活性酸素の増加を反映することが示された。また、一般成人では、尿中 Biopyrrin 値は生理的な変動で 2 倍を超えることはないことが報告されているが、妊娠期間中には 2 倍以上の生理的変動が起きていることが明らかとなった。

さらに、妊娠末期の値は、先行研究による 24 時間ウルトラマラソン後の平均尿中 Biopyrrin 値（4.05 μmol/g Cre）や、うつ患者の平均尿中 Biopyrrin 値（4.7 μmol/g Cre）の値を遙かに超える値であり、妊娠末期が酸化ストレスに極めて脆弱な状況であることが示唆された。

この妊娠末期の酸化ストレスに影響する生活要因として、初期から末期に共通して飲酒習慣が影響していた。加えて、初期の Vitamin C の摂取が少ないことと喫煙習慣、中期の運動頻度が少ないこと、末期の喫煙習慣が明らかになった。この結果から、妊娠末期の酸化ストレスを抑制するための生活指導の介入時期とその内容として、① 妊娠前若しくは、妊娠の初期から、喫煙習慣、飲酒習慣を改善するための継続的な生活指導を行う、② 妊娠初期に、栄養摂取のアセスメントを行い、十分な Vitamin C の摂取を促す、③ 妊娠中期から中等度の運動を勧めること、が示唆された。

以上より、妊娠期の正常の妊娠過程を支援するための指標として、はじめて尿中バイオピリンの利用価値が明らかにされ、妊娠末期の酸化ストレスに影響する生活要因が示された。これらの結果は、正常の妊娠の過程を支援する生活指導の新たなエビデンスの確立に寄与するものと考える。

結論：尿中 Biopyrrin は、妊娠期において、活性酸素種の増加による酸化ストレスを反映し、妊娠経過に伴い漸増し、妊娠末期でピークを示し、産後 1 か月で低下するという推移が示され、正常妊娠経過における酸化ストレスの推移が明らかになった。

尿中 Biopyrrin と生活要因の検討から、妊娠末期の酸化ストレスに影響する生活要因として、妊娠初期の飲酒習慣と喫煙習慣、Vitamin C の摂取量が少ないこと、中期の飲酒習慣と 1 週間の運動頻度が少ないこと、末期の飲酒習慣と喫煙習慣が明らかになった。