

学位論文題名

Maternal smoking and polymorphism in  
the folate-metabolizing enzyme gene 5,10-*MTHFR*  
affects infant's birth weight

(出生時体重に影響を及ぼす母の喫煙と葉酸代謝酵素遺伝子多型との関連)

学位論文内容の要旨

**Background:** The complexities surrounding the aetiopathophysiological processes associated with infant's sub-optimal birthweight owing to the short and long term health consequences has drawn enormous epidemiologic research interest. Adequate maternal folate status is an index of optimal fetal growth. Conversely, tobacco smoke depletes folate and impairs fetal growth and 5,10-*MTHFR* 677TT homozygosity is also associated with low folate status, we hypothesized that maternal smoking in the presence of 5,10-*MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms may adversely reduce offspring's birthweight.

**Methods :** Participants were 4121 native Japanese mother-child pairs drawn from the ongoing birth cohort of The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. Data was extracted from the February 2003 to March 2006 recruitment. Biochemical assays of first trimester maternal serum folate and genotyping of 5,10-*MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms were obtained using chemiluminescent immunoassay and Taqman allelic discrimination assay respectively.

**Results :** Maternal mean serum folate was  $17.4 \pm 7.0$  nmol/L. Prevalence of low folate status was 28.4%. Use of folic acid supplement was positively associated with folate status and users were more likely to have used other forms of nutritional supplements previously, AOR [95%CI] = 10.9 [8.5, 14.0],  $p < 0.001$ ; had previous sub-fertility treatment, AOR [95%CI] = 1.7 [1.0, 2.9],  $p = 0.034$ ; higher years of education, AOR [95%CI] = 1.7 [1.1, 2.5],  $p = 0.013$  and higher maternal age, AOR [95%CI] = 1.8 [1.1, 3.3],  $p = 0.031$ . Active and passive smokers had reduced folate levels by B [95%CI] = -

1.6 [- 2.2, - 1.0] nmol/L,  $p < 0.001$  and - 0.7 [-1.2, - 0.3] nmol/L,  $p = 0.001$  respectively. Moderate smokers with normal folate status had reductions in their infants' mean birthweight by 79g B (SE) [95%CI] = - 79.1 (30.3) [-138.5, -19.7]g,  $p < 0.05$ , while those with low folate status had infants whose mean birthweight was 106g lower compared to nonsmokers . B (SE) [95%CI] = - 106.7 (40.5) [-186.2, -27.2]g,  $p < 0.01$ . Passive smokers with low folate status had 46.5g reduction in mean birthweight B (SE) [95%CI] = - 46.5 (20.0) [-85.7, -7.3]g,  $p < 0.05$ . 5,10-*MTHFR* 1298AA was associated with low folate status. Smokers with 5,10-*MTHFR* 1298AA genotypes had reduced mean infants' birthweights by 107grams (95%CI, -180 to -34,  $p = 0.004$ ) and the reduction was more in male infants by 117grams (95%CI, -218 to -15,  $p = 0.025$ ).

**Conclusion:** Maternal 5,10-*MTHFR* 1298AA genotype may be associated with folate impairment and may interact with tobacco smoke to decrease offspring's birthweight. Male fetuses seemed to be more responsive to 5,10-*MTHFR* activities.

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 水 上 尚 典  
副 査 教 授 寶 金 清 博  
副 査 教 授 玉 城 英 彦  
副 査 教 授 有 賀 正  
副 査 教 授 寺 沢 浩 一

## 学位論文題名

### Maternal smoking and polymorphism in the folate-metabolizing enzyme gene 5,10-*MTHFR* affects infant's birth weight

(出生時体重に影響を及ぼす母の喫煙と葉酸代謝酵素遺伝子多型との関連)

本研究は喫煙、血中葉酸濃度、ならびに葉酸代謝酵素遺伝子多型の相互関係ならびにこれら因子が児の出生体重に及ぼす影響について検討したものである。葉酸代謝酵素である 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (5,10-*MTHFR*) 遺伝子 677TT homozygosity ならびに喫煙は血中葉酸濃度低下と関連があると報告されており、申請者は 5,10-*MTHFR* C677T や 5,10-*MTHFR* A677C 保有下での喫煙は児発育に負の影響を与えるとの仮説について検証した。データについては現在進行中のコホート研究「環境と児健康に関する北海道スタディ」に 2003 年 2 月～2006 年 3 月間に参加した妊婦 4121 名より抽出した。結果は以下のとおりであった。対象妊婦の 71.2%は適切な血中葉酸濃度であったが、28.8%では低濃度であった。葉酸サプリメント服用は血中葉酸濃度上昇と関連があり、喫煙、受動喫煙、低年齢、ならびに低教育レベルは血中葉酸濃度低下と関連があった。葉酸サプリメント服用は不妊症治療歴、高教育レベルならびに高年齢と関連があった。喫煙に関しては、妊娠前は 27.4%に、妊娠中は 11.5%の婦人に認められた。若い妊婦、高教育レベル、初産婦、ならびに 1 日 10 本以下の喫煙婦人は妊娠により禁煙する傾向が認められた。正常血中葉酸濃度非喫煙妊婦に比して、正常血中葉酸濃度喫煙妊婦では児出生体重は 79.1g 軽く、低血中葉酸濃度喫煙妊婦では 106.7g 軽かった。また低血中葉酸濃度受動喫煙妊婦では 46.5g 軽かった。葉酸サプリメント服用妊婦は喫煙していても非喫煙妊婦と同等の血中葉酸濃度であり児出生体重も改善していたが、有意のレベルには達しなかった。5,10-*MTHFR* 677T allele 保有は用量依存的に血中葉酸濃度低下と関連があり、5,10-*MTHFR* 1298A allele 保有も血中葉酸濃度低下と関連があった。A1298C 多型は出生体重減少の独立危険因子ではなかったが喫煙者では児出生体重 107.0g 減少と関連があった。男児においてはよりその影響は顕著となり、児出生体重が 116.6g 軽くなった。677CT 保有妊婦では独立して児出生体重 36g 増加と関連があり、男児においては非喫煙 677CC 保有妊婦に比して児出生体重 90.7g 増加と関連があった。これらの結果を基に申請者は 5,10-*MTHFR* 1298AA は葉酸欠乏と関連があると結論した。また 5,10-

MTHFR 677CT は非喫煙者にとって出生体重減少に関して予防的であるが、1298AA は喫煙との相互作用により児の出生体重を減少させると結論した。さらに児が男児であると、これらの影響を受けやすいことを明らかにした。

学位審査は主査である水上教授、副査である寶金教授、玉城教授、有賀教授ならびに寺沢教授の非公開での試問により平成 23 年 1 月 31 日午前 10 時 10 分より北海道大学医学部中研究棟 5 階共通セミナー室で 60 分間にわたって行なわれた。申請者はスライドを用いて 45 分間、研究の背景、目的、方法、結果、成績の持つ意味等について発表した。その後、質疑応答が行なわれた。

有賀教授より児出生体重減少に関して 5,10-MTHFR 677CT は予防的であるのに、何故 5,10-MTHFR 677TT は非喫煙者では予防的ではないのかとの質問があった。申請者は 5,10-MTHFR C677T 多型の影響は血中葉酸濃度に高度に依存している。葉酸欠乏状態は T allele 数に増加するにつれ、高度となる。換言すれば、677TT homozygosity は血中葉酸濃度を最も低下させる。677TT 保有非喫煙者では 677TT 保有をもってしても血中葉酸濃度を予防的にまで高めるのが困難であった可能性が考えられる。677TT homozygosity 妊婦では葉酸サプリメント服用などでさらに血中葉酸濃度を高める必要があるかもしれないと回答した。寺沢教授からは葉酸濃度測定のために現方法を採用したのは何故かとの質問があった。これに対し申請者は現方法は多くの商業検査会社で採用しており、疫学調査等での大量検体処理に適しているとされている。しかし、gold standard は今もってクロマトグラフィーによるものであると回答した。玉城教授からは今回のような葉酸に関する研究の持つ大局的立場に立った意義、特に申請者の出身地であるナイジェリアにおける意義については？さらに、将来の研究テーマとしてどんなことに興味があるのか？アルコール依存症とか喫煙の研究も考えられるが何故、遺伝子の研究なのか？との質問があった。これに対し申請者は、葉酸は発育など細胞分裂に必須の物質であり、ヒト生殖に必須であることが広く知られるようになった。葉酸の神経管閉鎖障害予防効果発見という先人の大きな功績は各国の保健政策決定にも大きな影響を及ぼしている。ナイジェリアでは妊娠中の貧血が多く、日常的に妊婦に対して鉄剤と葉酸サプリメントが処方されている。しかしながら、妊娠中の葉酸補充に関しては、種々の議論があり、今後解決されなければならない問題点も数多い興味ある研究テーマである。また発展途上国にあっても遺伝子に関する研究は一般的となりつつあり、マイコバクテリア、HIV、異常ヘモグロビン症などに関する分子遺伝学的研究は既に盛んに行なわれていると回答した。寶金教授からは喫煙に関して非妊娠時の喫煙についても考慮したかとの質問があった。申請者はこれに対し、その点については禁煙後も慢性ニコチン毒性が知られているので検討した。今回の発表では示さなかったが妊娠後喫煙者に関して別の一群として解析したところ、妊娠前喫煙は児出生体重に負の影響を与えているという結果を得たと回答した。このように申請者は審査員の種々質問に対して自身の研究結果ならびに既報データを基に真摯かつ適切に回答した。

本研究は母体の喫煙と葉酸代謝酵素 5,10-MTHFR の遺伝子多型が血中葉酸値ならびに児の出生体重へ及ぼす影響について明らかにした。本邦では児の出生体重減少が起こっており、将来のいわゆる成人病増加が懸念されている。したがって、本邦では児の出生体重増加を促すことが喫煙の課題と考えられており、本研究成果は今後の葉酸に関する研究に資するばかりでなく保健政策決定にも貢献することが期待される。審査員一同はこれらを高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。