

## 原 著 妊娠による母体の酸化ストレス反応の変動

昭和大学保健医療学部

江戸由佳子\* 高木 睦子 太田 千春  
川嶋 昌美 浅野 和仁

抄録：妊婦では、妊娠の継続や胎児の発育のために非妊婦と比較し、著明な物質代謝の変動やホルモンバランスの変化が観察される。また、分娩に際しては断続的な強い痛みが認められる。これら妊娠・出産に伴う一連の反応によって母体は酸化ストレス反応に曝されていることが推察されるものの、妊娠と母体の酸化ストレス反応に関しては十分に検討されていない。そこで、本研究では非妊婦と正常な経過を辿っている妊婦から尿を採取し、尿中に含まれる酸化ストレスマーカーの検出を試み、その結果から妊娠と酸化ストレスの変動について検討した。対象とした酸化ストレスマーカーは脂質過酸化物質であるイソプラスタン、ヘキサノイルリジン、ビリルビンの過酸化物質であるバイオピリンならびにDNAの酸化障害産物である8-OHdGであった。対象妊婦を妊娠初期、妊娠中期、妊娠後期そして産後1か月に区分し、上記酸化ストレスマーカーを測定したところ、すべてのマーカーの尿中含有量が非妊婦、妊娠初期ならびに中期と比較し妊娠後期においてのみ統計学的に有意に増加した。また、これら酸化ストレスマーカーは産後1か月で非妊婦のそれらと同濃度にまで減少した。胚胎が子宮に着床すると胎盤が形成され、徐々に発育、妊娠後期ではその機能や胎盤構成細胞の活性化が最大となる。胎盤そのものの機能や構成細胞の活性化は大量の活性酸素を産生するとされていることから、妊娠後期の母体では非常に強い酸化ストレス反応が惹起された可能性が推察された。

キーワード：酸化ストレス，妊婦，尿，酸化ストレスマーカー

### 緒 言

ヒトを含む哺乳動物は、消化管から吸収した各種栄養素を肺から取り込んだ酸素で酸化することによって生命活動のためのエネルギーを得ている。この酸化反応によって産生されるエネルギー量は酵素による栄養素の分解で得られるエネルギー量と比較すると極めて多量であることから、生命体の活発な活動が可能となるものの、取り込んだ酸素の約1.0%が活性酸素・フリーラジカル（活性酸素）に変化すると考えられている。この酸化過程で産生される活性酸素は生体内に存在する各種金属イオンやビタミンC等の食品由来の抗酸化物質、さらにはスーパーオキシドジスムターゼ、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ等の抗酸化酵素によって分解、消去される<sup>1)</sup>。しかしながら、生体に強度の生物学的、化学的ストレスや精神的ストレスが負荷されると大量の活性酸

素が生成され、この活性酸素により生体の重要な構成成分である脂質やタンパク質の破壊や変性が起き、いわゆる酸化ストレスが発生、その結果、アルツハイマー病を代表とする各種神経性疾患や糖尿病、白内障の発症や増悪化が誘発される<sup>2)</sup>。

妊娠によって母体では外見のみならず、全臓器で著しい生理学的変動が起きる。子宮に受精卵が着床するとその状態を維持するためにプロゲステロンやエストロゲンの産生が増大するとともに卵胞刺激ホルモンや黄体形成ホルモン等いくつかのホルモン産生は減少する<sup>3)</sup>。これら性ホルモンの変動以外にもインスリンやグルカゴン濃度の変化<sup>4)</sup>、絨毛性性腺刺激ホルモンの著増<sup>5)</sup>や甲状腺機能亢進による活性型サイロキシン増加<sup>5)</sup>も観察される。このような妊娠に伴うホルモンバランスの変動がわかり、肌荒れや頭痛等の妊娠トラブルを誘発していると考えられている<sup>6)</sup>。また、妊婦では妊娠週数が進むにつれて

\*責任著者

羊水や循環血液量、さらには細胞外液の増加に起因した体重の増加や腹部の増大という体型の変化が起きる。このようなホルモン産生の変動や体形の変化、さらには周囲からの期待等が妊婦に重く押し掛かり、妊婦の精神的ストレスが誘発されと考えられている<sup>7)</sup>。ヒトに精神的ストレスが負荷されると、抗ストレスホルモンであるコルチゾールの分泌増加や交感神経の活性化が惹起される。コルチゾールは生成や代謝の過程で大量の活性酸素産生を誘発する<sup>8)</sup>とともに、交感神経の活性化も活性酸素の産生増加に寄与している<sup>9)</sup>ことから、妊婦の体内は酸化ストレス反応が発現しやすい状態になっていることが推察されている。このような観点から、妊娠と酸化ストレスの関連性についていくつかの検討が行われ、その結果、酸化ストレスマーカーとして知られている尿中バイオピリン濃度が非妊娠時と比較し、妊娠により有意に増加すること<sup>10, 11)</sup>、さらには精神的ストレスがその増加をより強めることも報告されている<sup>12)</sup>。しかしながら、これらの報告の対象者には正常経過を辿っている妊婦のみならず、妊娠高血圧症や糖尿病、甲状腺機能亢進症を含む正常経過を辿っているとは言い難い妊婦が上記疾患でそれぞれ10%以上<sup>10)</sup>、さらには喫煙習慣を有する妊婦も約10%含まれている<sup>8)</sup>。上述した各種疾患<sup>2, 12)</sup>や喫煙<sup>13, 14)</sup>は生体内での活性酸素産生を増強することが報告されていることから、これらの結果は妊娠と酸化ストレス反応に関しては適切に検討された報告とは言い難いと思われる。そこで今回、正常妊婦を対象に尿中に排泄される酸化ストレスマーカーを測定し、妊娠と母体の酸化ストレス反応の変動について検討した。

## 研究方法

### 対象

本研究の対象者は都内にあるA病院に通院する妊娠経過に異常のない、非喫煙、飲酒習慣のない正常妊婦と褥婦（妊婦群）、ならびにA病院産婦人科病棟に勤務する非妊娠の健常者とした。検体の採取に当たっては昭和大学保健医療学部倫理委員会ならびにA病院倫理委員会承認された内容を研究者が口頭と文書で対象者に説明し、書面にて承諾を得た。上述した妊婦群を日本産科婦人科学会の基準によって初期（妊娠15週6日まで）、中期（妊娠16

週0日から27週6日まで）、後期（妊娠28週から41週6日まで）、産後（産後1か月まで）の4群に分類した。各期の対象者数は初期13名、中期14名、後期36名、産後1か月13名、健常者7名であった。被験者の年齢は初期 $33.6 \pm 3.8$ 歳、中期 $31.8 \pm 4.4$ 歳、後期 $35.8 \pm 4.6$ 歳、1か月 $36.3 \pm 3.1$ 歳で、健常者は、 $27 \pm 5.4$ 歳であった。妊娠週数は初期 $10.9 \pm 2.5$ 週、中期 $19.7 \pm 3.9$ 週、後期 $34.0 \pm 3.2$ 週であった。

### 研究期間

本研究の実施期間は2016年7月から同9月までとした。

### 検体の採取

被験者にはA病院外来受診時、あるいは出勤時に容量15 mlのスピッツを渡し、採尿を依頼した。採取した尿をその直後に研究者が $-30^{\circ}\text{C}$ で保存し、3か月以内に測定に使用した。採尿時間は尿成分の日内変動や生活習慣を考慮し9:00から11:00の2時間とした。

### 酸化ストレスマーカーの測定と結果の補正

本研究では市販のELISAキットを用いて尿中のイソプラスタン、ヘキサノイルリジン、8-OHdG並びにバイオピリンを測定した。イソプラスタン測定用ELISAキット、ヘキサノイルリジン測定用ELISAキットおよび8-OHdG測定ELISAキットは日本ザイル株式会社製（静岡県）で、測定限界はそれぞれイソプラスタン $0.05 \text{ ng/ml}$ 、ヘキサノイルリジン $2 \text{ nmol/l}$ 、8-OHdG $0.125 \text{ ng/ml}$ であった。尿中バイオピリン測定ELISAキットはSHINO-TEST社製（神奈川県）で、測定限界は $0.1 \text{ u/l}$ であった。今回の検体はスッポト尿であるため、尿中のクレアチニン（Cr）濃度をCreatinin Colorimetric Assay Kit（Cayman Chemical Co., Ltd., Michigan）で測定、上述した各因子をCr 1 gあたりに換算して表示した<sup>10, 11)</sup>。

### 統計解析方法

本研究では得られた値の統計学的有意差検定をanalysis of variance (ANOVA)ならびにBonferroniの方法で行った。

## 結 果

被験者から採取した尿中に含有されている脂質過酸化物質、8-OHdG、バイオピリンを測定し、酸化ストレス反応の変動に及ぼす妊娠の影響について検討

した。脂質過酸化合物であるイソプラスタン、ヘキサノイルリジン測定結果は図1AとBに示した通りである。尿中イソプラスタン濃度は健常者では  $64.95 \pm 16.43$  ng/gCr で、妊娠初期  $65.28 \pm 26.87$  ng/gCr、妊娠中期では  $70.08 \pm 28.37$  ng/gCr で、これら3者には統計学的に有意な変動は認められなかった(図1A)。しかし、妊娠後期になると尿中イソプラスタン濃度が  $398.29 \pm 228.99$  ng/gCr と前3者と比較し、統計学的に有意に増加したが、産後1か月になると著減した(図1A)。尿中ヘキサノイルリジン濃度も図1Bに示したようにイソプラスタン濃度と同様であった。次に、尿中8-OHdGを測定したところ、図2に示したように健常者  $3.88 \pm 1.07$  ng/gCr、妊娠初期  $4.23 \pm 1.35$  ng/gCr、妊娠中期  $5.34 \pm 2.01$  ng/gCr で、これら3者間に統計学的な有意差は認められなかった

ものの、妊娠後期では  $28.73 \pm 16.82$  ng/gCr と前3者と比較し、統計学的に有意に増加した。しかし、産後1か月になると、脂質過酸化合物(図1A, B)と同様に急激に減少した。尿中バイオピリン濃度は健常者  $5.38 \pm 1.75$  u/gCr、妊娠初期  $5.89 \pm 0.72$  u/gCr、妊娠中期  $5.92 \pm 1.52$  u/gCr、妊娠後期  $29.62 \pm 14.49$  u/gCr、産後1か月  $10.73 \pm 5.82$  u/gCr と脂質過酸化合物濃度ならびに8-OHdG濃度と同様であった(図3)。

## 考 察

妊娠成立から非妊娠時の状態に回復するまでの産後1か月は、受精卵の着床、胎盤の形成とその発育、胎児の成長、分娩、子宮の復古という変化が40週間で経過する。その期間は、胎児の発育と分娩に備え、非妊娠時と比較し、母体では物質代謝や

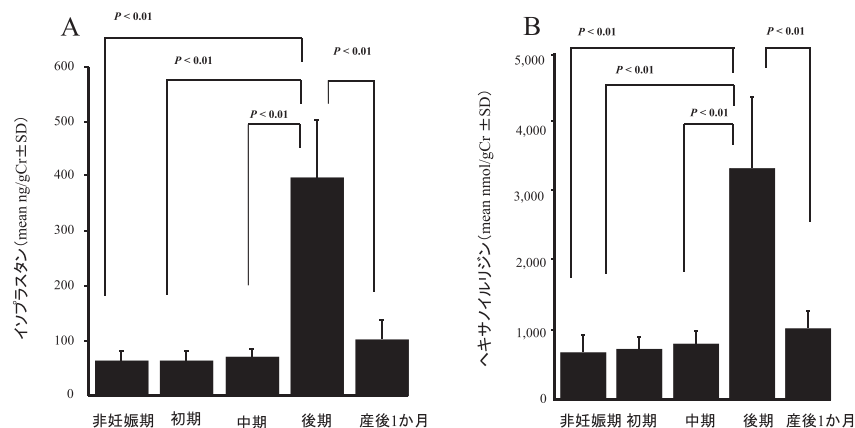


図1 妊娠の尿中過酸化脂質濃度の変動におよぼす効果  
イソプラスタン (A) とヘキサノイルリジン (B) は妊娠後期においてのみ統計学的に有意に増加した。  
Cr: クレアチニン

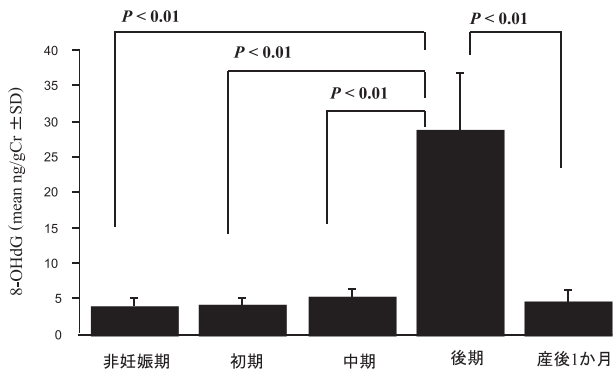


図2 妊娠の尿中8-OHdG濃度の変動におよぼす効果  
8-OHdGは、妊娠後期においてのみ統計学的有意に増加した。

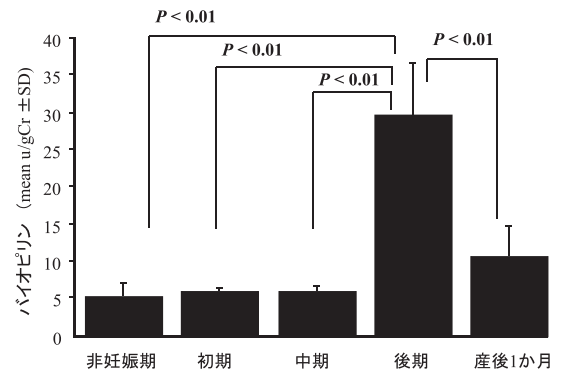


図3 妊娠の尿中バイオピリン濃度の変動におよぼす効果  
バイオピリンは、妊娠後期においてのみ統計学的有意に増加した。



各種ホルモン濃度が著しく変動することから母体には負担が大きいと考えられている<sup>4, 15, 16)</sup>。また、分娩に際しては断続的なあるいは連続した強い痛み、いわゆる陣痛が12時間から24時間連続することから、これら妊娠・出産に伴う一連の反応によって母体は常に肉体的、精神的ストレスに曝されていることも考えられる。生体にストレスが負荷されると、大量の活性酸素が生成され、その結果、酸化ストレス反応が惹起されるものの、妊娠に伴う母体の酸化ストレス反応に関しては十分に検討されていない。そこで今回、正常な経過を辿っている妊婦と産後1か月目の褥婦から採取した尿を対象に脂質過酸化物質であるイソプラスタンとヘキサノイルリジン、8-OHdGならびにバイオピリン濃度を測定することによって妊娠に伴う酸化ストレス反応の変動について検討した。その結果、上述した酸化ストレスマーカーは妊娠後期においてのみ統計学的に有意に増加した。

受精卵は卵割を繰り返しながら桑実胚を経て胞胚となり、受精後約1週間で子宮内膜に着床する。胞胚が子宮内膜に着床すると胞胚外層が栄養膜合体体層を形成、子宮内膜に侵入するとともに、この時期とほぼ同時に卵巣からは大量のプロゲステロンが分泌され、その作用により子宮内膜は脱落膜を形成し、受精後10日程で胞胚の子宮内膜への完全着床が完成する。また、子宮内膜に侵入した合体細胞層は脱落膜内に小窩を作り、母体側の血管との交通が開始され、妊娠16週頃までには胎盤の原型が形成される。その後、胎盤は徐々に増殖・発育、妊娠後期の28週では約260 g、36週では約400 gとなる。このように発育した胎盤は胚子や胎児の発育に必要なコレステロールや脂肪酸を合成するとともに絨毛性ゴナドトロピン、胎盤性ラクトゲン、エストロゲン等のホルモンを産生し、その産生量は妊娠後期で最大となる<sup>17)</sup>。ここに示した物質代謝やホルモンの合成に必要なエネルギー産生のために胎盤構成細胞には豊富なミトコンドリアが存在し、これらミトコンドリアからは酸素消費量の2～3%に相当する活性酸素が放出されることが報告されている<sup>18)</sup>。また、妊娠後期になると妊婦の基礎代謝量が妊娠初期と比較し、30%程度増加すること<sup>19)</sup>、さらにはこの基礎代謝の増加にともなって母体の酸素消費量も増加することが報告されている<sup>19)</sup>。妊娠に伴う上述し

た生理学的変化に伴って母体内の栄養素の代謝も大きく変動する。特に妊娠後期では母体のエネルギー源はグルコースから脂質へと変化、その結果、血中遊離脂肪酸やリン脂質濃度が増加する<sup>20-23)</sup>。生体内の中性脂質は脂肪細胞においてホルモン感受性リパーゼによって脂肪酸とモノアシルグリセロールに変換され、血液中に放出される。その後、モノアシルグリセロールは肝臓でグルコースに変換、胎盤を経由して胎児に供給されるが、脂肪酸は母体のエネルギー源としての利用に際して、母体内では脂肪酸の $\beta$ 酸化が起き、この際、本反応を触媒するNADPH オキシダーゼから電子が1つ引き抜かれ、この電子が細胞内液に存在する酸素分子と反応し、スーパーオキシドや過酸化水素等の活性酸素が生成される。これらのことから、妊娠後期では妊娠初期、中期、さらには非妊娠時と比較し、母体内に大量の活性酸素が存在することとなり、これら活性酸素により、母体構成成分の過酸化反応が惹起されることが容易に推察され、その結果、本研究で示したように妊娠後期では有意に多量の過酸化物質が母体内で生成された可能性のあることが示唆される。

生体の酸化ストレス反応の発現は酸化反応と抗酸化力のバランスの崩壊に起因していると考えられていることから<sup>1, 2)</sup>、妊娠中に採取した血液を対象に抗酸化力を測定すると、妊娠後期に相当する28週から29週では生体の抗酸化力を示すBAP (Biological Antioxidant Potential) 値が妊娠初期である16週から18週の妊婦と比較し、有意に低下していることが報告されている<sup>19)</sup>。このBAP値の低下も妊娠後期の尿中過酸化物質増加の一因になっている可能性が考えられる。

本研究は妊婦、褥婦を初期、中期、後期そして産後1か月に区分して行った調査である。その結果、妊娠後期では強い酸化ストレス反応が起きていることを明示できた。生体で酸化ストレス反応が発現すると生命活動を送るために必須の栄養物の酸化分解や生体組織の破壊変性が起きることが知られている<sup>2)</sup>。さらに、酸化ストレス反応は循環器の異常や糖尿病等の各種疾患の発症や増悪化を引き起こすことが知られている<sup>2)</sup>ことから、正常経過を辿る妊婦であっても妊娠後期では抗酸化作用を有する栄養素、例えばビタミンCの積極的な摂取の推奨、妊娠による

過度な体重増加の抑制やバランスのとれた食生活などの生活指導を行うことが必要と思われる。

子宮内で胎児は妊娠 22 週ないしは 23 週から急速に発育すると共に羊水量もそれ以前と比べて著明に増加する。この時期は妊娠中期に相当するものの、本研究の対象者は上述したように平均 19 週と中期の前半であった。したがって今後、妊娠中期であっても 22 週ないしは 23 週以降の検体を使用して酸化ストレス反応物質の濃度を調べることにより、酸化ストレス反応に及ぼす胎児の発育や羊水の影響を検討することが可能になると思われる。今後は縦断的検討を行い、妊娠に伴う個人内の酸化ストレス反応発現に関し、検討を加える必要があるであろう。また、本研究では被験者を初産婦と経産婦に分けた検討を行わなかった。初産婦と経産婦を対象に妊娠に対する不安感について調査すると初産婦の多くは不安感を感じるものの、これら不安感は精神的ストレスとはなっていないことが示されている<sup>24)</sup>。一方、一般的に経産婦になると母親や家庭内での役割が大きくなり、その結果、非常に強い精神的ストレスを感じるとともに初産婦と比較して運動量も著明に増加するとされている。これらの精神的ストレスや運動は、生体の酸化ストレスを誘発する主要な原因であることが知られていることから、今後は妊婦を初産婦と経産婦の二群に分けて妊娠の酸化ストレスの変動に及ぼす効果を調べる必要があるであろう。

謝辞 検体採取にご協力いただいた皆さんに感謝いたします。

#### 利益相反

本研究に際し開示すべき利益相反はありません。

#### 文 献

- 高橋希之, 仁木鋭雄. 生体の酸化障害と防御システム. 吉川敏一編著. 抗酸化物質のすべて. 東京: 先端医学社; 1998. pp25-34.
- 吉川敏一, 中川修史. フリーラジカルと抗酸化物質. 吉川敏一編著. 抗酸化物質のすべて. 東京: 先端医学社; 1998. pp15-23.
- 石本人士. 妊娠に伴う検査値の変化. 臨検. 2012; 56:703-710.
- Phelps RL, Metzger BE, Freinkel N. Carbohydrate metabolism in pregnancy. XVII. Diurnal profiles of plasma glucose, insulin, free fatty acids, triglycerides, cholesterol, and individual amino acids in late normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1981;140:730-736.
- Kimura M, Amino N, Tamaki H, *et al.* Physiological thyroid activation in normal early pregnancy is induced by circulating hCG. *Obstet Gynecol.* 1990;75:775-778.
- 松原茂樹, 大口昭英. 解剖・病態生理の疑問 妊娠するとなぜつわりがおきるの? *JIM.* 2006; 16:908-910.
- 湯舟邦子. 妊娠初期、中期、末期から産後 1 ヶ月までの抑うつ状態のスクリーニングの検討. 昭和学会誌. 2015;75:465-473.
- 志賀令明. 抑うつ傾向の高い女性でのコルチゾールと炎症性サイトカインの変化についての検討. 女性心身医. 2011;16:89-94.
- 廣岡良隆. 中枢神経における RAS と酸化ストレスのはたらき. *Angiotensin Res.* 2012;9:128-132.
- 松崎政代, 春名めぐみ, 大田えりか, ほか. 妊娠中の酸化ストレスマーカーとしての尿中バイオピリン. 日助産会誌. 2006;20:40-49.
- 鈴木美智子, 磯西成治, 落合和彦. 尿中バイオピリン値を指標とした分娩時ストレスの検討. 産婦の実際. 2010;59:111-115.
- Moller P, Wallin H, Knudsen LE. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem Biol Interact.* 1996;102:17-36.
- 佐藤公雄. 喫煙と循環器疾患 up to date 喫煙による酸化ストレスと動脈硬化性疾患. 循環器医. 2016;24:134-138.
- Mizuno Y, Iwata H, Yamamoto H. *et al.* Influence of smoking on perioperative oxidative stress after pulmonary resection. *Surg Today.* 2016;46:183-187.
- 道方香織, 池ノ上 克. 産科疾患の診断・治療・管理 妊娠の生理. 日産婦会誌. 2007;59:N-691-N-696.
- 西島正博. 胎児・胎盤・母体系の生理. 青木康子, 加藤尚美, 平澤美恵子編. 妊娠・分娩の生理と病態. 第 2 版. 東京: 日本看護協会出版会; 1996. pp48-73. (助産学大系; 3).
- 吉田啓治. 妊娠の臨床経過. 青木康子, 加藤尚美, 平澤美恵子編. 妊娠・分娩の生理と病態. 第 2 版. 東京: 日本看護協会出版会; 1996. pp76-88. (助産学大系; 3).
- Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.* 2004;122:369-382.
- 田中泉香, 北川真理子. 妊娠期における酸化ストレス度と抗酸化力の変化. 日助産会誌. 2014; 28:51-59.
- 保母るつ子, 竹田 省. 妊娠中の高脂血症の管

- 理. 周産期医. 2003;33:1471-1475.
- 21) 望月眞人. 妊娠中の母体の脂質代謝と血中脂肪の変動及び妊娠にみられる高脂血症. 周産期医. 2003;33:1457-1465.
- 22) Toescu V, Nuttall SL, Martin U, *et al.* Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by diabetes. *Clin Sci (Lond)*. 2004; 106:93-98.
- 23) Toescu V, Nuttall SL, Martin U. *et al.* Oxidative stress and normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57:609-613.
- 24) 島田敬子, 田淵紀子, 小松みどり, ほか. 健康な妊婦の不安に関する研究. 母性衛生. 1998; 39:225-231.

## INFLUENCE OF PREGNANCY ON THE DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS RESPONSES

Yukako EDO, Mutsuko TAKAGI, Chiharu OOTA,  
Yoshimi KAWASHIMA and Kazuhito ASANO

Showa University, School of Nursing and Rehabilitation Sciences

**Abstract** — Oxidative stress responses are well known to play important roles in the development of pregnancy-related complications. However, there is little information on the relationship between oxidative stress responses and pregnancy. The present study, therefore, was undertaken to examine the influence of pregnancy on the development of oxidative stress responses. Healthy women with singleton pregnancies, who were free of pregnancy complications and chronic illnesses, were divided into four groups; first, second, third trimesters and 1-month postpartum. Urine samples were obtained from pregnant women and non-pregnant healthy controls, and the levels measured of the following oxidative stress markers were measured: Isoprostane, Hexanoy-Lysine, 8-OHdG and Biopyrrin by ELISA. Urine samples obtained from the third trimester contained significantly higher levels of oxidative stress markers than those from non-pregnant, first, and second trimesters. The urinary levels of, Isoprostane, Hexanoy-Lysine, 8-OHdG and biopyrrin in urine significantly decreased 1-month postpartum as compared with those from the third trimester.

**Key words:** oxidative stress, pregnancy, urine, oxidative stress marker

〔受付：12月28日，2016，受理：2月9日，2017〕