

抗てんかん薬による奇形発現の機序

—第3報：母体血葉酸濃度の関与—

兼子 直* 大谷 浩一*
 平野 敬之* 近藤 毅*
 福島 裕* 野村 雪光**
 小川 克弘**

抄録：抗てんかん薬（抗て薬）の奇形発現の機序を解明する目的で、正常妊婦73例（C群）、服薬てんかん妊婦48例（E群）を対象に血清中葉酸濃度を測定した。妊娠全期間を通してE群の葉酸濃度はC群より低値であった。E群を奇形児出産の有無により奇形群（n=7）と正常群（n=41）に分け葉酸値を比較すると妊娠前期でのみ奇形群は正常群より有意に低い葉酸濃度を示したが、妊娠期間中は両群間に有意差はなかった。抗て薬総投与量（DS）は奇形群で正常群より高値であった。妊娠時期別に両群のDSを比較すると、妊娠一期では奇形群で高い傾向を有し、二期、三期では有意に奇形群で高値であった。DSは奇形群の妊娠一期および三期では葉酸濃度と負の相関を示した。これらの結果から、抗て薬により誘発された低葉酸濃度が抗て薬による奇形発現に何等かの関連を有することは否定出来ないもの、決定的要因ではないと考えられた。

精神薬療基金研究年報 第19集：306～311, 1988

Key words : serum folic acid level, congenital malformation, epilepsy, pregnancy, antiepileptic drug.

I. はじめに

抗てんかん薬（抗て薬）服用妊婦から出生した児における奇形発現率が正常妊婦⁴⁾⁵⁾あるいは非服薬妊婦のそれより高率である⁷⁾¹¹⁾ことから、抗て薬の催奇性が注目されている。これまでに、prospectiveに観察した192例の観察結果から valproic acid (VPA)+carbamazepine (CBZ) 併用投与、抗て薬総投与量が奇形発現に重要な関連を有すること⁷⁾⁸⁾を指摘した。一方、抗て薬は葉酸濃度を低下させるが¹³⁾¹⁴⁾、これは妊娠中にも認められる²⁾¹²⁾¹⁵⁾。葉酸はDNA合成に必要であり、胎児の正常な発育に必須

である⁹⁾。さらに、*Meadow*は抗て薬は葉酸の低下を介して奇形を起こすと推定しており¹⁰⁾、中枢神経系の奇形が葉酸と関連するのではないかとの推定もなされている¹⁾。そこで、抗て薬の奇形発現機序をさらに解明する目的で、本報告では母体血葉酸濃度と奇形発現との関連を検討した。

II. 対象と方法

妊娠中から出産時にかけて葉酸濃度を測定出来た55症例中、妊娠期間中の午前9時半から10時半の間に採血した48例を今回の対象とした。てんかん妊婦（E群）の出産時平均年齢は 26.0 ± 6.5 （±標準偏差）

* 弘前大学医学部・神経精神医学教室；〒036 弘前市在府町5番地，**弘前大学医学部・産科婦人科学教室

* Department of Neuropsychiatry, Hirosaki University School of Medicine, 5 Zaifu-cho, Hirosaki 036, Japan.

**Department of Obstetrics and Gynecology, Hirosaki University School of Medicine.

Table 1 Drug score (One unit for each drug)

Drug	mg/day	Drug	mg/day
① Phenytoin	50	⑦ Sulthiame	50
② Phenobarbitone	50	⑧ Acetazolamide	125
③ Primidone	100	⑨ Ethylphenacemide	200
④ Carbamazepine	100	⑩ Trimethadione	500
⑤ Sodium Valproate	100	⑪ Diazepam	5
⑥ Ethosuximide	250	⑫ Nitrazepam	5

Table 2 Summary of cases who were delivered of malformed offspring

Case	Age	Folic acid levels (ng/ml)				D.S.	Antiepileptic drugs (mg/day)					Anomaly	
		1 st	2nd	3 rd	U.C.		PHT	CBZ	PRM	VPA	others		
1	27		3.21	2.66		16.00	200	400	800				Cleft lip
2	27	1.00	0.50	0.50		16.20	100	500		800	DZP	6	Down syndrome
3	22	3.06	2.10	0.80		14.00		200		1200			Patent ductus arteriosus
4	27			3.46	13.90	16.64	133	400	666		EPM	660	Pilonidal sinus
5	30	1.00	3.30	1.30	6.10	18.20	150	250	400	600	AZM	400	Retentio testis
6	26	2.90	2.60	4.90		14.80	200	300	600		ETS	450	Strabismus
7	23	3.29	4.11	7.72	0.49	9.60	200	400			PB	80	Spina bifida

Abbreviations: 1st, 2nd, 3rd: trimester of pregnancy
 PRM: primidone VPA: valproic acid DZP: diazepam CBZ: carbamazepine
 EPM: ethylphenacemide AZM: acetazolamide ETS: ethosuximide
 PB: phenobarbitone D.S.: drug score U.C.: umbilical cord

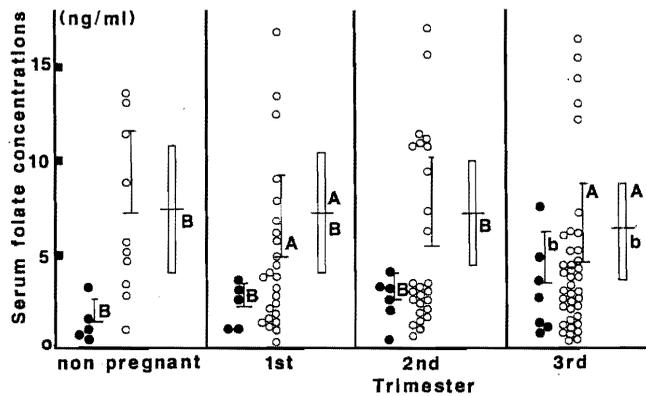


Fig. 1 Serum folate levels in epileptic and control mothers
 Ordinate and abscissa indicate serum folate levels and stages of pregnancy, respectively. Closed and open circles show serum folate levels of mothers who were delivered of malformed and normal children, respectively. Thick vertical bars indicate mean (\pm SD) serum folate levels of control mothers, and thin bars show those of epileptic mothers.
 A-A, B-B: $p < 0.01$. b-b: $p < 0.05$.

Table 3 Folic acid levels and the drug score of epileptic women

Pregnancy	Normal	N	Malformed	N	P
Pre-pregnancy (F.A.)	7.12±4.51	10	1.32±1.25	5	p<0.05
(D.S.)	7.40±7.50		14.56±3.20		p<0.1
1st trimester (F.A.)	4.91±4.28	24	2.25±1.15	5	
(D.S.)	8.85±6.70		14.56±3.20		p<0.1
2nd trimester (F.A.)	5.64±4.91	26	2.64±1.25	6	
(D.S.)	8.51±6.92		14.87±2.78		p<0.05
3rd trimester (F.A.)	4.53±4.02	39	3.05±2.59	7	
(D.S.)	7.84±6.08		14.94±2.82		p<0.01

F.A.:folic acid (ng/ml) D.S.:drug score N:number of cases

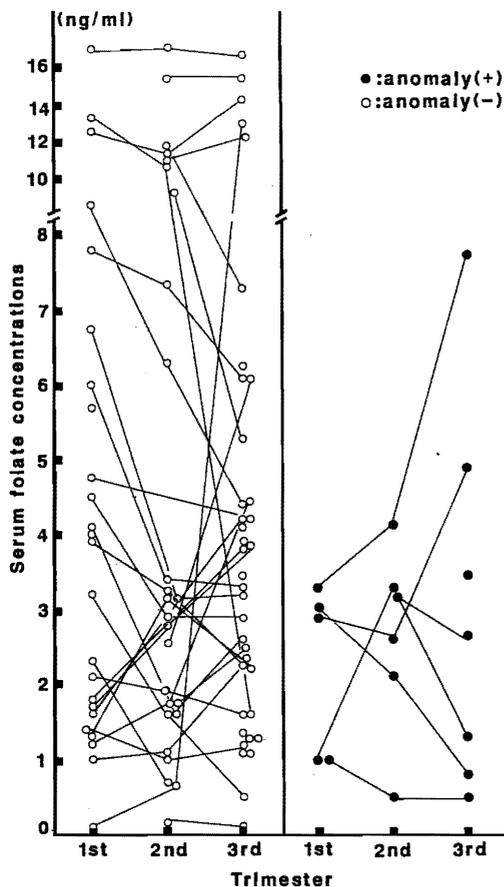


Fig. 2 Changes of serum folate levels in epileptic mothers during pregnancy
The left and right parts of the figure indicate serum folate levels of mothers who were delivered of normal and malformed offspring, respectively.

である。対照群は同年代の正常妊婦73例 (C群) とその児である。妊娠期間を妊娠第一期 (15週まで)、妊娠第二期 (16週～27週)、第三期 (28週以降) の3期に分けて検討したが、同一期に2回以上葉酸を測定した症例ではその平均値を葉酸濃度とした。奇形の有無は生下時、退院時の2回以上チェックリストに従い判定した。血清葉酸濃度はラジオアッセイ法を用い、triplicateで測定した。有意差検定にはt検定を用いた。

III. 結 果

E群のてんかん発作型は全般発作15例、二次性全般発作10例、単純部分発作8例、複雑部分発作15例で、このうちの15例は単剤投与例であり、2剤投与は14例、3剤以上投与例は19例であった。主な抗てんかん薬の投与例数は phenytoin (PHT) が34例、CBZが25例、primidone が18例、VPA が13例、phenobarbitone (PB) が8例であった。C群の73例では奇形児出産例はなかったが、E群48例中、7例の児に奇形が認められた (14.6%)。E群中の奇形児出産例 (奇形群; n=7) の平均出産時年齢は26.0±2.7、正常児出産例 (正常群; n=41) のそれは26.6±5.7であり両群間に有意差はなかった。抗てんかん薬総投与量の奇形児出産および葉酸濃度への影響を検討するため Table 1のような1日当りの抗てんかん薬総投与量指数 (drug score: DS) を作成した。E群中の奇形の内訳および奇形群の葉酸濃度とDSをTable 2にまとめた。DSが高まるにつれ葉酸濃度は低下する傾向を示し、奇形群の妊娠一期および三期ではDSと葉酸濃度間に有意 (p<0.05) な負の相関が認められた。しかし、妊娠一期、三期での他の群および妊娠二期のすべての群ではDSと葉酸濃度との間には有意な相関はなかった。

妊娠時期別の葉酸濃度を Fig. 1 および Table 3 に示した。図の太いカラムは対照群，細いカラムは E 群の葉酸値（平均±標準偏差）を示し，白丸は正常群，黒丸は奇形群の葉酸値を示している。C 群の葉酸値は妊娠一期が 7.20 ± 3.29 ng/ml，二期で 7.18 ± 2.83 ng/ml，三期が 6.30 ± 2.70 ng/ml であり妊娠の経過と共に葉酸濃度は低下する傾向を示したが，E 群の値はそれぞれ 4.45 ± 4.04 ng/ml (n=29)， 5.08 ± 4.60 ng/ml (n=32)， 4.38 ± 3.86 ng/ml (n=46) で C 群のように妊娠経過に従い低下する傾向はなかった。各時期別に比較すると E 群の値は C 群より有意に ($p < 0.01$) 低値であった。しかし，症例により葉酸濃度には大きなバラツキがみとめられた。E 群中の正常群と奇形群の葉酸値および DS を妊娠時期別に比較すると (Table 3)，妊娠前に葉酸を測定出来た 15 例中，奇形群の濃度は 1.32 ± 1.25 ng/ml で正常群の 7.12 ± 4.51 ng/ml より有意 ($p < 0.05$) に低値を示したが，妊娠中では平均葉酸濃度は奇形群で低いものの有意差はなく，DS は奇形群で妊娠前および妊娠一期に低い傾向を示し，二期，三期では有意 ($p < 0.05 \sim 0.01$) に低値であった。各症例別に奇形群，正常群の葉酸値を妊娠経過とともに示したのが Fig. 2 である。一部の症例で妊娠経過と共に葉酸値の上昇が認められるが，これらの症例の中には妊娠が判明した後に患者自ら服薬量を少なめに調節していた症例も認められた。

正常群 13 例，奇形群 3 例で臍帯血中葉酸濃度を測定出来たが，前者の濃度は 6.50 ± 7.26 ，後者の濃度は 6.83 ± 6.73 で両者間に有意差はなかった。

IV. 考 察

てんかん妊婦 48 例中，7 例 (14.6%) に種々の奇形が認められたが，最近はその発現機序の一つとして妊娠中の母体血葉酸濃度が追求されている²⁾³⁾¹²⁾¹⁵⁾。一方，我々の予期的研究結果から，てんかん発作の有無，発作型，てんかんの病因，出産時年齢，前回妊娠の帰結，新生児の性，妊娠回数などと奇形発現との間には有意な関連はなく，一日当りの総投薬量 (DS)，VPA を含む多剤併用投与が重要な要因と判明した⁷⁾⁸⁾。一方，一部の抗てんかん薬は葉酸濃度を低下させる³⁾¹³⁾¹⁴⁾。葉酸はヒト胎児の正常な発育に必須であり⁹⁾，葉酸濃度の低下は奇形発現に関連するという報告がある²⁾。しかしながら，抗てんかん薬服用妊婦から出生した児に認められる奇形発現の原因として葉酸

濃度の関与に否定的見解もあり¹²⁾，未だ結論は得られていない。今回の結果では葉酸濃度は対照妊婦の濃度に比較し，E 群では有意に低値であり，妊娠前に採血しえた 15 症例では奇形群の方が正常群より有意に低い濃度を示した。しかし，E 群を奇形児出産の有無で奇形群と正常群の 2 群に分けて妊娠期間中の葉酸濃度を比較すると 2 群間には有意差は認められなかった。一方，DS は奇形群で高値を示し，特に妊娠二，三期では有意差が認められた。妊娠一期で奇形群と正常群との間に葉酸濃度に有意差がなかった点は奇形発現に葉酸濃度が必ずしも決定的役割を果たしてはいることを示唆している。かかる結果は我々のこれまでの結果と一致し¹²⁾¹⁵⁾，Huilesmaa らの報告³⁾を支持するものと考えられる。抗てんかん薬は血中葉酸濃度を低下させるが³⁾¹³⁾¹⁴⁾，今回の結果では DS が葉酸濃度と負の相関を示したのは奇形群の一，三期のみであり，他の群および二期では有意水準には達しなかった。これは抗てんかん薬の葉酸に対する作用には薬物特異性があり，PHT，PB は葉酸濃度を低下させるものの，CBZ にはかかる作用がないという報告³⁾から理解される。つまり，今回の症例では polypharmacy による治療例が多く，CBZ などの葉酸濃度を容量依存的には低下させない抗てんかん薬投与例が比較的多かったことなどから，抗てんかん薬の特異性を十分に反映した解析が出来なかったことによるものと考えられる。そして，通常は妊娠経過と共に葉酸濃度は低下するが¹⁵⁾，C 群とは異なり E 群では妊娠が進行しても葉酸濃度が低下しなかった現象の一部は E 群の症例の中には妊娠が判明した以後は服薬を励行しなかった者がいたことにより説明出来よう。この不規則服薬が DS と葉酸濃度の相関性を低下させたものと推定される。いずれにせよ，奇形群の妊娠前の葉酸濃度が正常群より有意に低いことから，葉酸が奇形発現に何等かの関連を有する可能性は否定出来ないものの，妊娠一期の葉酸濃度が奇形の有無に有意な関連を示さなかったことは葉酸濃度は奇形発現に決定的には関連しないことを示唆し，むしろ，これまでの我々の報告⁷⁾⁸⁾¹²⁾¹⁵⁾と今回の結果を考え併せると薬物の直接的作用の方がより重要と思われる。

文 献

- 1) Anonymous. Vitamins to prevent neural tube

- defects. (Editorial). *Lancet* **1982** ; 2 : 1255~1256.
- 2) Dansky LV, Andermann E, Rosenblatt D, Sherwin AL and Andermann F. Anticonvulsants, folate levels, and pregnancy outcome: A prospective study. *Ann. Neurol.* **1987** ; 21 : 176~182.
- 3) Hiilesmaa VK, Teramo K, Granström M-L and Bardy AH. Serum folate concentrations during pregnancy in women with epilepsy: relation to antiepileptic drug concentrations, number of seizures, and fetal outcome. *Br. Med. J.* **1983** ; 287 : 577~579.
- 4) Janz D. Antiepileptic drugs and pregnancy: Altered utilization patterns and teratogenesis. *Epilepsia* **1982** ; 23 (Suppl. 1) : S53~S63.
- 5) Janz D. On major malformations and minor anomalies in the offspring of parents with epilepsy: Review of the literature. In: Janz D, Dam M, Richens A, Bossi L, Helge H and Schmidt D, eds. *Epilepsy, Pregnancy, and the Child*, New York: Raven **1982** ; 211~222.
- 6) Johan EK and Magnus EM. Plasma and red blood cell folate during normal pregnancies. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* **1981** ; 60 : 247~251.
- 7) 兼子 直, 近藤 毅, 島田杉作, 大谷浩一, 平野敬之, 福島 裕, 佐藤時治郎, 野村雪光, 品川信良, 寺西孝司, 後藤昌司. 抗てんかん薬による催奇形性の機序. 第一報: 奇形発現要因の解析. *精神薬療基金研究年報* **1985** ; 16 : 325~334.
- 8) Kaneko S, Fukushima Y, Sato T, Ogawa Y, Nomura Y, Ono T, Kan R, Nakane Y, Teranishi T and Goto M. Teratogenicity of antiepileptic drugs — A prospective study —. *Jpn. J. Psychiat. Neurol.* **1986** ; 40 : 443~446.
- 9) Kitay DZ. Folic acid and reproduction. *Clin. Obstet. Gynecol.* **1979** ; 22 : 809~817.
- 10) Meadow SR. Anticonvulsant drugs and congenital abnormalities. *Lancet* **1968** ; 2 : 1296.
- 11) Nakane Y, Okuma T, Takahashi R, Sato Y, Wada T, Sato T, Fukushima Y, Kumashiro H, Ono T, Takahashi T, Aoki Y, Kazamatsuri H, Inami M, Komai S, Seino M, Miyakoshi M, Tanimura T, Hazama H, Kawahara R, Otsuki S, Hosokawa K, Inanaga K, Nakazawa Y and Yamamoto K. Multi-institutional study on the teratogenicity and fetal toxicity of antiepileptic drugs: A report of a collaborative study group in Japan. *Epilepsia* **1980** ; 21 : 663~680.
- 12) Ogawa Y, Shinagawa S, Munakata S, Nagasawa K, Kaneko S, Hirano T, Shimada S and Fukushima Y. Mechanism of teratogenicity of antiepileptic drugs. 2nd report: Maternal folic acid levels (abstract). Programme of the 16th Epilepsy International Congress. Hamburg, West Germany, **1985**.
- 13) Reynolds EH, Mattson RH and Gallagher BB. Relationship between serum and cerebrospinal fluid anticonvulsant drug and folic acid concentrations in epileptic patients. *Neurology* **1972** ; 22 : 841~844.
- 14) Reynolds EH. Anticonvulsants, folic acid, and epilepsy. *Lancet* **1973** ; 1 : 1376~1378.
- 15) Ueda S, Inanaga K, Matsumoto T, Kaneko S, Fukushima Y, Sato T, Ogawa Y and Nomura Y. Serum folic acid levels in pregnant epileptic women treated with antiepileptic drugs: A preliminary report. In: Sato T and Shinagawa S, eds. *Antiepileptic drugs and pregnancy*. Amsterdam: Excerpta Medica, **1984** ; 168~173.

ABSTRACT

Mechanism of teratogenicity of antiepileptic drugs.

—Third report: Serum folic acid levels during pregnancy—

Sunao Kaneko*, Koichi Otani*, Takayuki Hirano*, Tsuyoshi Kondo*, Yutaka Fukushima*, Yukimitsu Nomura**, and Yoshihiro Ogawa**

* Department of Neuropsychiatry, Hirosaki University School of Medicine, 5 Zaifu-cho, Hirosaki 036, Japan. **Department of Obstetrics and Gynecology, Hirosaki University School of Medicine.

To explore the interrelationship among folic acid (FA) levels, antiepileptic drug (AED) dosage, and congenital malformations in the offspring of drug treated epileptic mothers, and in order to evaluate whether low serum FA levels induced by AED may increase the occurrence of malformation, the present prospective study was undertaken. Serum FA levels were monitored in 73 normal pregnant women (C-group) and in 48 pregnant women with epilepsy (E-group). Seven epileptic women were delivered of malformed infants (malformed group) while the remaining mothers with epilepsy (normal group) and the C-group had normal infants. There was not a significant difference between the malformed and the normal groups in FA levels during pregnancy, while the total daily dose of AED (DS) in the 1st trimester of pregnancy was slightly higher ($p < 0.1$) in the malformed group than in the normal group. The DS of malformed group was significantly higher than that of normal group in the 2nd and 3rd trimesters of pregnancy. In the 1st and 3rd trimesters of pregnancy, there was a significant negative correlation between the DS and FA levels in the malformed group. These results suggest that the lowered FA level induced by AED treatment during pregnancy might not be a crucial factor, and that the DS could be a more important factor in the occurrence of malformation, although an implication of FA can not be entirely excluded as one of causal factors.

(Ann. Rep. Pharmacopsychiat. Res. Found. 1988, 19 : 306~311)