



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1470号
学位記番号	第1056号
氏名	浅野 恵理子
授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位論文の題名	<p>Genotyping Analysis for the 46C/T Polymorphism of Coagulation Factor XII and the Involvement of Factor XII Activity in Patients with Recurrent Pregnancy Loss (不育症患者における凝固第 XII 因子 46C/T 遺伝子多型と XII 因子活性の解析)</p> <p>PlosOne 2014 Dec 9;9(12):e114452 DOI : 10.1371/journal.pone.0114452</p>
論文審査担当者	主査： 中西 真 副査： 飯田 真介, 杉浦 真弓

## 論文内容の要旨

### 【目的】

不育症の原因として、抗リン脂質抗体症候群、子宮奇形、夫婦の染色体異常や胎児染色体異常が言われているが、原因不明が 25%を占めている。原因不明とされている不育症患者において遺伝子多型の研究が行われており、不育症関連遺伝子が多数報告されている。内因性凝固カスケードの接触因子に属している凝固第 XII 因子 46C/T 遺伝子多型の T allele は、活性低下と血栓症の危険因子と考えられている。我々は不育症において T allele は関与せず、第 XII 因子活性低下が次回流産の危険因子であることを過去に報告した。その後のメタ解析でも同様の結果が示されたが、症例数が少なく結論には至っていない。本研究では、多数例コホートによって第 XII 因子活性低下と T allele が不育症の危険因子かどうかを明らかにすることを目的とした。

### 【方法】

患者群を 2 回以上流産・死産歴のある原因不明不育症患者 279 人、対照群を分娩経験のある 100 人とした。横断研究として第 XII 因子活性および 46C/T 遺伝子多型の頻度を比較した。第 XII 因子活性は血漿を使用し凝固法を用いて測定した。遺伝子多型は Qiagen カラムを用いて血液から DNA 抽出し、PCR 産物を制限酵素である CseI で切断し、CC、CT、TT の判別を行った。その後、コホート研究として無治療患者群の次回妊娠帰結を用い年齢および流産回数による多変量解析を行い、第 XII 因子活性低下と T allele が次回流産の危険因子であるかを調べた。

### 【結果】

9 人の患者がループスアンチコアグラント(LA-aPTT 法)陽性、8 人の患者が  $\beta$  2GPI 抗カルジオリピン抗体陽性であり、検討から除外した。LA 陽性患者は、陰性患者より第 XII 因子活性が有意に低下していた( $60.7 \pm 17.9\%$  vs.  $83.4 \pm 29.3\%$ ;  $p=0.02$ )。多型頻度は、対照群は CC 17 人(17.0%)、CT 38 人(38.0%)、TT 45 人(45.0%)であり、患者群は 22 人(8.4%)、139 人(53.1%)、101 人(38.5%)であった。横断研究において、CT 多型は不育症の危険因子であった(OR:2.83 95%CI:1.37-5.85  $p=0.005$ )。CC+TT 多型も同様の結果であった(OR:2.23 95%CI:1.13-4.41  $p=0.021$ )。また、患者群と対照群の活性には有意差を認めなかった。無治療患者 101 人を対象としたコホート研究では、第 XII 因子活性値低下も CT 多型も次回流産の危険因子ではなかった。しかし、遺伝子多型ごとに基準値を設定した場合の活性高値群(OR:5.65 95%CI:1.24-25.64  $p=0.03$ )および、4 分位解析において中間位である第 XII 因子活性が 85-101%の群(OR:4.67 95%CI:1.06-20.41  $p=0.04$ )は、次回流産の危険因子であった。

### 【考察】

LA 陽性群の第 XII 因子活性が低下していたが、このことは過去の報告と一致しており、抗凝固第 XII 因子抗体が LA に含まれている可能性が示唆される。既研究では LA 陽性患者を除外しておらず、本研究と結果が異なると考えられる。コホート研究で高値群が流産の危険因子である可能性が示唆されたが、効果量としてのファイ係数が 0.3 程度であり、臨床的に意味があるとは言い難い。また同様に CT 多型は不育症の危険因子であったが、帰結に影響せず臨床的な意味は小さい。第 XII 因子の T allele が関与していたものとして急性心筋梗塞

の報告(CC vs. CT+TT OR:1.13 95%CI:1.00-1.27)がある。第 XII 因子が血管内皮細胞増殖因子として働き血管内皮細胞の増殖や血管新生に関与することで、血管内皮細胞障害が第 XII 因子活性低下とは別の経路で心筋梗塞や流産を引き起こしたのではないかと考えられる。

#### 【結論】

凝固第 XII 因子に関して既研究よりも比較的症例数の多い本研究で、第 XII 因子活性低下は不育症の危険因子ではないことが明らかとなった。わが国の多くの施設で臨床的に第 XII 因子活性測定や、低下例に対する抗凝固療法が行われているため、本研究成果を早急に周知する必要がある。

## 論文審査の結果の要旨

【目的】 不育症の原因として、抗リン脂質抗体症候群、子宮奇形、夫婦の染色体異常、胎児染色体異常があるが、胎児の検査が行われることは少なく、原因不明が70%を占めている。原因不明不育症において不育症関連遺伝子が多数報告されている。内因性凝固カスケードの接触因子に属する凝固第XII因子46C/T遺伝子多型のT alleleは活性低下を起こすことが判っている。我々は不育症においてT alleleは関与せず、第XII因子活性低下が次回流産の危険因子であることを過去に報告した。その後のメタアナリシスでも同様の結果が示されたが、症例数が少なく結論には至っていない。本研究では、多数例コホートによって第XII因子活性低下とT alleleが不育症の危険因子かどうかを明らかにすることを目的とした。

【方法】 患者群を2回以上流産・死産歴のある原因不明不育症患者279人、対照群を分娩経験のある100人とした。横断研究として第XII因子活性および46C/T遺伝子多型の頻度を比較した。第XII因子活性は凝固法を用いて測定した。遺伝子多型はQiagenカラムを用いて血液からDNA抽出し、PCR産物を制限酵素であるCseIで切断し、CC、CT、TTの判別を行った。その後、コホート研究として無治療患者群の次回妊娠帰結を用い年齢および流産回数による多変量解析を行い、第XII因子活性低下とT alleleが次回流産の危険因子であるかを調べた。

【結果】 9人の患者がループスアンチコアグラント(LA-aPTT法)陽性、8人の患者がβ2GPI抗カルジオリピン抗体陽性であり、検討から除外した。LA陽性患者は、陰性患者より第XII因子活性が有意に低下していた(60.7±17.9% vs. 83.4±29.3%;p=0.02)。多型頻度は、対照群はCC17人(17.0%)、CT38人(38.0%)、TT45人(45.0%)であり、患者群は22人(8.4%)、139人(53.1%)、101人(38.5%)であった。横断研究において、CT多型は不育症の危険因子であった(OR:2.83 95%CI:1.37-5.85)。CC+TT多型も同様の結果であった(OR:2.23 95%CI:1.13-4.41)。また、患者群と対照群の活性には有意差を認めなかった。3回以上初期流産患者101人を対象としたコホート研究では、第XII因子活性値低下もCT多型も次回流産の危険因子ではなかった。しかし、4分位解析において中間位である第XII因子活性が85-101%の群(OR:4.67 95%CI:1.06-20.41)は次回流産の危険因子であった。

【考察】 LA陽性群の第XII因子活性が約20%低下していたが、このことは既報告と一致しており、抗第XII因子抗体がLAに含まれている可能性が示唆された。既研究ではLA陽性患者を除外しておらず、本研究と結果が異なると考えられる。コホート研究で高値群が流産の危険因子である可能性が示唆されたが、効果量としてのファイ係数が0.3程度であり、臨床的に意味があるとは言い難い。また同様にCT多型は不育症の危険因子であったが、帰結に影響せず臨床的な意味は小さい。第XII因子のT alleleが関与していたものとして急性心筋梗塞の報告(CC vs. CT+TT OR:1.13 95%CI:1.00-1.27)がある。第XII因子が血管内皮細胞増殖因子として働き血管内皮細胞の増殖や血管新生に関与することで、血管内皮細胞障害が第XII因子活性低下とは別の経路で心筋梗塞や流産を引き起こしたのではないかと考えられる。

【審査の内容】 主査の中西から、習慣流産、不育症の用語の使い分け、遺伝子多型によるXII発現の実験など7項目、第一副査飯田教授からはLA測定方法、不育症における細胞性免疫の関与など9項目、第二副査の杉浦教授からは不妊症の臨床的管理、既往帝王切開例の分娩管理についての質問があり、良好な回答が得られた。従って、学位申請者は学位論文について十分理解しているとともに、産婦人科学に関する知識を有していると考えられた。凝固第XII因子に関して既研究よりも比較的症例数の多い本研究で、第XII因子活性低下は不育症の危険因子ではないことが明らかとなった。

わが国の多くの施設で臨床的に第XII因子活性測定や、低下例に対する抗凝固療法が行われている現状がある。本研究結果より、不育症患者に対して第XII因子活性や46C/T遺伝子多型を調べる意義は認められず、またリスクアレルを有する患者への抗凝固療法を行う科学的根拠は乏しいと考えられた。以上をもって本論文の筆者は博士(医学)の称号を与えるに相応しいと判断した。

論文審査担当者 主査 中西 真 副査 飯田 真介 杉浦 真弓