



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1598号
学位記番号	第1136号
氏名	松川 泰
授与年月日	平成 29年 9月 28日
学位論文の題名	<p>Genotyping analysis of protein S-Tokushima (K196E) and the involvement of protein S antigen and activity in patients with recurrent pregnancy loss (不育症におけるプロテインS欠乏症とプロテインS徳島)</p> <p>European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. Vol.211, P.90-97, 2017</p>
論文審査担当者	主査： 齋藤伸治 副査： 田中靖人, 杉浦真弓

論文内容の要旨

プロテイン S (PS) 欠乏症は、後期流産・死産の危険因子であることが明らかとなっている。また、PS 徳島は日本人に特有の遺伝子変異であり、静脈血栓症の危険因子であることが示唆されている。今回我々は不育症患者における PS 欠乏症と PS 徳島について検討した。

倫理委員会の承認と患者の同意を得て、原因不明不育症患者 355 人と出産歴があり流産歴のない女性 101 人を対照として、PS 欠乏症と PS 徳島の頻度を比較した。さらに PS 抗原、活性、比活性 (活性/抗原) 低下 (PS 欠乏症) と PS 徳島が次回流産の予知因子であるかを調べた。ダイレクトシーケンス法を行い PS 徳島の判別を行った。PS 活性は比色法、抗原量はラテックス凝集法を用いて測定した。

不育症患者 355 人のうち 20 (5.6%) には子宮内胎児死亡の既往があった。10 人の患者が抗リン脂質抗体陽性であり、2 人に PS 活性低下が認められた。陽性患者は以降の検討から除外した。PS 徳島は患者群 9 人 (2.5%)、対照群 1 人 (1.0%) であり有意差は認められなかった。PS 活性は患者群 ($21.08 \pm 4.34 \mu\text{g/ml}$ 当量) と対照群 (21.59 ± 3.97) の間に有意差は認められなかった。また、次回妊娠成功率はヘパリン療法なしで PS 徳島 8 人を含む PS 欠乏症で 100% (8/8) だった。絨毛染色体異常を除外して多変量解析した結果、PS 活性低下群で 89.7% (26/29) と正常群 73.1% (106/145) より有意に良好だった。

今回の研究では原因不明不育症患者と対照の間で PS 徳島変異の頻度に有意差はみられず、日本人一般における変異の割合 (1.8%) と同様であった。根木らの横断研究においても、PS 徳島は妊娠 22 週未満の 2 回以上連続する流産歴のある女性では 4/223 人 (1.7%)、子宮内胎児死亡および/または子宮内胎児発育遅延既往のある女性では 2/114 (1.8%) と一般と比べ、有意差は認めなかったとの報告があり、PS 徳島は不育症との関連はないと考えられた。

Preston らの報告によると、PS 欠乏症は死産とは関連する (OR 3.3, 95% CI 1.0-11.3) が流産とは関連しない (OR 1.2, 95% CI 0.7-1.9)。またメタ分析により PS 欠乏症と反復死産、妊娠 22 週以降の死産との関連は明らかとなっている。Gris らは妊娠 16 週未満の反復流産 500 人とコントロール 150 人で関連がなかったと報告している。我々は過去の研究において、PS 抗原低値と正常値の反復流産患者を比較し、次回妊娠帰結に差が無いことが明らかとなり、PS 欠乏症は反復流産の危険因子ではないと考えた。治療に関しては低分子ヘパリンやアスピリンを比較した試験の報告はあるものの、PS 欠乏症の反復流産患者に対する治療のエビデンスを支持する報告はない。死産と流産を区別することが重要である。今回の研究では次回妊娠成功率はヘパリン療法なしで PS 徳島 8 人を含む PS 欠乏症で 100% (8/8) だった。絨毛染色体異常を除外して多変量解析した結果、PS 活性低下群で正常群より有意に良好だった。

PS 徳島、PS 欠乏症は初期流産が 90%以上を占める不育症の危険因子ではないと考えられた。我が国の 40%以上の施設で PS 測定、PS 欠乏症に対する抗凝固療法が行われており、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

【背景】 プロテイン S (PS) 欠乏症は、静脈血栓症の危険因子であり、PS 徳島は日本人に特有の遺伝子変異である。抗リン脂質抗体症候群が不育症の原因であることから、先天性血栓性素因である PS が着目され、胎盤形成後の後期流産・死産の危険因子であることが横断研究で示された。2004 年のメタ分析では、PS 欠乏症と反復死産、妊娠 22 週以降の死産との関連はあるが、初期流産とは関係が認められなかった。2000 年の我々の先行研究では、PS 抗原低値と正常値の反復流産患者の妊娠帰結を前方視的に比較し、生産率に差が無いことを明らかにした。さらに、死産歴のある症例に対する低分子量ヘパリンとアスピリンを比較した少数例の臨床試験の報告はあるものの、PS 欠乏症の反復初期流産に対する治療の有効性は示されていない。それにもかかわらず、日本の全国調査では約 40%の施設において初期流産が多数を占める不育症患者に対して PS 活性測定が実施されていることが判明した。今回我々は不育症患者における PS 欠乏症と PS 徳島について検討した。

【方法】 倫理委員会の承認と患者の同意を得て、原因不明不育症患者 355 人と出産歴があり流産歴のない女性 101 人を対照として、PS 欠乏症と PS 徳島の頻度を比較した。さらに PS 抗原、活性、比活性(活性/抗原)低下 (PS 欠乏症) と PS 徳島が次回流産の予知因子であるかを調べた。ダイレクトシーケンス法を行い PS 徳島の判別を行った。PS 活性は比色法、抗原量はラテックス凝集法を用いて測定した。

【結果】 不育症患者 355 人のうち 20 人 (5.6%) には後期流産・死産の既往があったが、94.6%は初期流産既往のみであった。11 人の患者が抗リン脂質抗体陽性 APS であり、強陽性 1 人に PS 比活性低下が認められた。この症例は PS 徳島陰性であり、全エクソンシーケンスでも変異を認めなかった。APS 患者は以降の検討から除外した。PS 徳島は患者群 9 人 (2.5%)、対照群 1 人 (1.0%) であり有意差は認められなかった。PS 徳島の症例はすべて比活性低下を示した。PS 活性は患者群 ($21.08 \pm 4.34 \mu\text{g/ml}$ 当量) と対照群 (21.59 ± 3.97) の間に有意差は認められなかった。また、次回妊娠成功率はヘパリン療法なしで PS 徳島 8 人を含む PS 欠乏症で 100% (8/8) だった。絨毛染色体異常を除外して多変量解析した結果、PS 活性低下群で 89.7% (26/29) と正常群 73.1% (106/145) より有意に良好だった。

今回の研究では原因不明不育症患者と対照の間で PS 徳島変異の頻度に有意差はみられず、日本人一般における変異の頻度 (1.8%) と同様であった。Neki らの横断研究においても、PS 徳島は妊娠 22 週未満の 2 回以上連続する流産歴のある女性では 4/223 人 (1.7%)、子宮内胎児死亡および/または子宮内胎児発育遅延既往のある女性では 2/114 (1.8%) と一般と比べ、有意差は認めなかったとの報告があり、PS 徳島は不育症との関連はないと考えられた。

今回の研究では次回妊娠成功率はヘパリン療法なしで PS 徳島 8 人を含む PS 欠乏症で 100% (8/8) だった。絨毛染色体異常を除外して多変量解析した結果、PS 活性低下群で正常群より有意に良好だった。

PS 徳島、PS 欠乏症は初期流産が 90%以上を占める不育症の危険因子ではないと考えられた。我が国の 40%以上の施設で PS 測定、PS 欠乏症に対する抗凝固療法が行われており、本研究成果を早急に周知する必要がある。

【審査の内容】 第一副査の田中教授から、PS 徳島の分子的な基盤、PS ハプロ不全の表現型、PS 徳島のデータベースでの頻度、PS 欠乏症の分類、新たな測定系の原理、従来の測定法、不育症における遺伝的関与など 10 項目、主査の齋藤教授からは、PS の凝固抑制機序、活性値基準値の根拠、PS 遺伝子を含む染色体欠失の表現型、Type I-III など 8 項目、第二副査の杉浦教授からは体外受精の妊娠率向上のために必要な技術、不育症の原因とそれに対応する治療法について質問があり、おおむね許容範囲の回答が得られた。

我が国の生殖領域では臨床的な意義が未確認のまま、検査、治療が自費診療として行われることがあり、PS 測定もその一つであった。本論文は PS 測定の必要性がないことを明らかにした点で意義があると考えられる。よって本論文の著者は博士(医学)の学位を授与するにふさわしいと考えた。