

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題：妊娠中のプロテインS活性と不育症との関係に関する研究

研究分担者 康 東天 九州大学大学院医学研究院臨床検査医学教授

研究要旨

<目的>不育症のリスク因子の1つである血液凝固異常の不育症における関与の程度をその(1)遺伝子変異と(2)活性の観点から明らかにする。
<方法>(1)XII因子、プロテインC、プロテインS活性低下症例について全エクソンの遺伝子検査を行なう。(2)九州大学病院での胎児成長遅延症例102人と正常出産例58人の母親の妊娠中のプロテインS活性を測定。
<結果>遺伝子解析については各分担研究者でDNA試料を蓄積中で遺伝子解析例はまだない。母親の妊娠中のプロテインS活性は不育症症例で対照群に比べ優位に低値であった。
<結論>妊娠中の獲得性のプロテインS活性の過度の低下とそれに関連して起こると予想される血液凝固の過度な促進状態は、胎児の成長遅延に関連する可能性が示唆された。

A. 研究目的

本邦における不育症の実態は不明であり、かつ不育症例に対するスクリーニング法や治療法の確立には至っていない。これらを明らかにするため、不育症のリスク因子の検索と評価を行う必要がある。リスク因子の1つとして、血液凝固異常の関与が強く示唆されている。本研究では、不育症における血液凝固異常の関与の程度をその(1)遺伝子変異と(2)活性の観点から明らかにすることで、EBMに基づいた不育症の診断、検査、および治療に関する指針の確立に寄与することを目的としている。

B. 研究方法

(1) 遺伝子変異解析

XII因子、プロテインC、プロテインS活性検査は一次スクリーニングとして各施設で全て行ない、低下症例について全エクソンの遺伝子検査を行なう。

(2) プロテインS活性低下と不育症との関連

九州大学病院での胎児成長遅延症例102人と正常出産例58人の母親の妊娠中のプロテインS活性とその遊離プロテインS結合蛋白質である補体因子4b結合蛋白質(C4BP)の濃度を後方視的に解析。

(倫理面への配慮)

研究方法、試料提供協力者に対する説明同意等、九州大学を含む各大学倫理委員会で承認された計画のもとで行われている。

C. 研究結果

(1) 遺伝子変異解析

現在、主任並び各分担研究者でサンプルが蓄積されている状況で、現時点で遺伝子検査を行うために九州大学に送られてきたサンプルはない。

(2) プロテインS活性低下と不育症との関連

不育症症例における妊娠中のプロテインS活性は対照例に比べ有意に低かった(図1)。一方、血漿C4BPの濃度に有意差はなかった(図2)。今回症例では全症例において、プロテインS遺伝子のエクソン部分には異常は認められなかった。

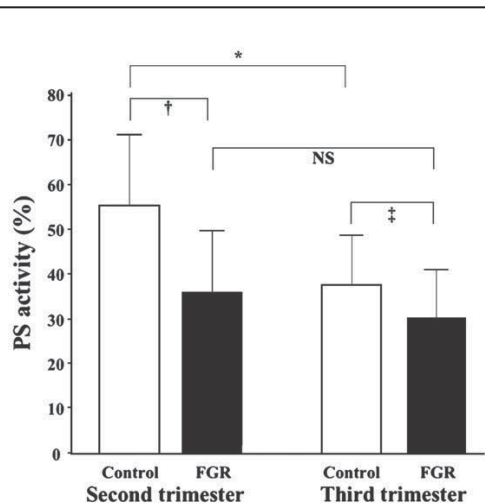


図1 不育症症例と対象例におけるプロテインS活性

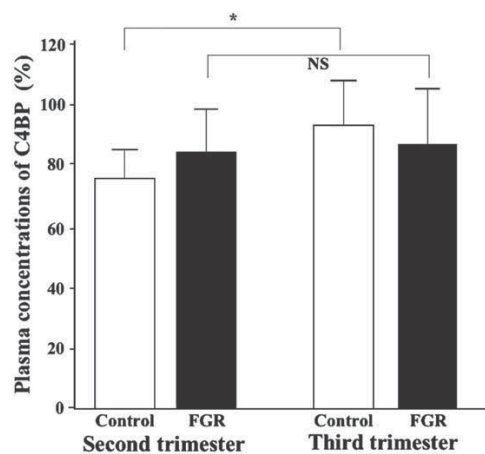


図2 不育症症例と対象例におけるC4BP濃度

D. 考察

血液凝固制御系因子の先天異常などは血栓性素因として考えられ、これまで多くの研究が積み重ねられている。中でもプロテインSが日本人を含むアジア系人種における主要なリスク因子であることを我々のグループは報告してきた。実際、健常人でも深部静脈血栓症患者でも、プロテインS活性低下を示す割合は欧米人の比率（健常人で約0.2%、血栓症患者で約2%）に比してアジア人（台湾人、中国人、日本人）では、それぞれに約10倍高い（健常人で約2%、血栓症患者で約20%）。

不育症は胎盤の形成不全を伴う妊娠においてしばしば見られる現象である。近年、血栓性素因と不育症との関連が注目されており、血栓性素因を持つ頻度が不育症経験者群でコントロール群に比べ優位に高いこと

が報告されている。妊娠中にプロテインS活性が減少していくことは良く知られており、獲得性プロテインS欠損とも呼ばれている。妊娠中のプロテインS活性低下は凝固抑制系の抑制を通して出産時の出血過剰を防止するという意味で合目的である。一方で妊娠中の胎盤での静脈血栓症発生のリスクを増大させると言う側面を持っており、過度の活性低下は不育症のリスクとなることが予測される。国立循環器病センターの宮田らは不育症の4.8%にプロテインS遺伝子変異が見出されたと報告している（第30回日本血栓止血学会学術集会、2007年）。しかし、プロテインS活性低下の程度と不育症との関連は十分には調べられていなかった。今回の結果は、妊娠中における凝固抑制系の微妙な制御が正常な妊娠の進行に重要であることを示している。たとえばプロテインS遺伝子に変異がなくとも、妊娠中の獲得性プロテインS活性低下の変動の経過観察も重要になると思われる。

E. 結論

不育症症例では妊娠中の妊婦のプロテインS活性の平均値は対象に比べ有意に低く、妊娠中のプロテインS活性の過度の低下とそれに関連して起こると予想される血液凝固の過度な促進状態は、胎児の成長遅延に関連する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hayashi Y., Yoshida M., Yamato M., Ide T., Wu Z., Ochi-Shindou M., Kanki T., Kang D., Sunagawa K., Tsutsui H., Nakanishi H.: Reverse of age-dependent memory impairment and mitochondrial DNA damage in microglia by an overexpression of human mitochondrial transcription factor a in mice. *J. Neurosci.* 28:8624-8634, 2008.
- 2) Hojo S., Tsukimori K., Kinukawa N., Hattori S., Kang D., Hamasaki N., Wake N.: Decreased maternal protein S activity is associated with fetal growth restriction. *Thromb. Res.* 123: 55-59, 2008.
- 3) Ishimura M., Saito M., Ohga S., Hoshina T., Baba H., Urata M., Kira R., Takada H., Kusahara K., Kang D., Hara T.: Fulminant sepsis/meningitis due to *Haemophilus influenzae* in a protein C-deficient heterozygote treated with activated protein C therapy. *Eur. J. Pediatr.* in press
- 4) Ohga S., Ideguchi H., Kato J., Ishimura M., Takada H., Harada N., Kawanaka H., Hattori Y., Kang D., Hamasaki N., Hara T.: Thromboembolic complications in splenectomized patients with dominantly inherited beta-thalassemia. *Acta. Haematol.* 120: 31-35, 2008.
- 5) Urata M., Koga-Wada Y., Kayamori Y., Kang D.: Platelet contamination causes large variation as well as overestimation of mitochondrial DNA content of peripheral blood mononuclear cells. *Ann. Clin. Biochem.* 45:513-514, 2008.

2. 学会発表

- 1) Kang D., Fukuoh A.: Promoter-independent RNA synthesis activity of human mitochondrial RNA polymerase: its implication in biased RNA accumulation in mtDNA. The seventh European Meeting on Mitochondrial Pathology. June 11- 14, 2008. Stockholm, Sweden. (Invited speaker)

- 2) Nakamura J., Ibaragi Y., Tsumita C., Tanimura T., Kanki T., Kang D., Matsuura T. E.: Effects of mitochondrial transcription factor A on aging in *Drosophila*. XX International Congress of Genetics. July 12-17, 2008. Berlin, Germany.
- 3) 山口知宏, 藤井高志, 阿部義人, 平井照久, 難波啓一, 康東天, 濱崎直孝, 光岡薫.: ヒト赤血球膜蛋白質 Band3 膜貫通ドメインの極低温電子顕微鏡構造解析. 第 64 回日本顕微鏡学会学術講演会. 2008 年 5 月 21 日-23 日. 京都.
- 4) 康東天: 静脈血栓症とプロテイン S 変異 (シンポジウム妊婦の血栓塞栓症、招待講演) 第 18 回日本産婦人科・新生児血液学会. 2008 年 6 月 27 日-28 日. 福岡.
- 5) 康東天: 臨床検査技術科教育に望むこと、大学病院検査部ができること (シンポジウム招待講演) 第 3 回臨床検査学教育学会学術大会. 2008 年 8 月 20 日. 福岡.
- 6) 山口知宏, 廣明洋子, 阿部義人, 康東天, 濱崎直孝, 藤吉好則, 平井照久: The structure of human erythrocyte band 3 membrane domain determined by electron crystallography. ヒト赤血球膜蛋白質バンド 3 膜貫通ドメインの電子線結晶構造解析. 第 46 回日本生物物理学会年会. 2008 年 12 月 3 日-5 日. 福岡.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hayashi Y., Yoshida M., Yamato M., Ide T., Wu Z., Ochi- Shindou M., Kanki T., <u>Kang D.</u> , Sunagawa K., Tsutsui H., Nakanishi H.	Reverse of age- dependent memory impairment and mitochondrial DNA damage in microglia by an overexpression of human mitochond- rial transcription factor a in mice.	J. Neurosci.	28	8624-8634	2008
Hojo S., Tsukimori K., Kinukawa N., Hattori S., <u>Kang D.</u> , Hamasaki N., Wake N.	Decreased maternal protein S activit- is associated with fetal growth rest- riction.	Thromb. Res.	123	55-59	2008
Ishimura M., Saito M., Ohga S., Hoshina T., Baba H., Urata M., Kira R., Takada H., Kusuhara K., <u>Kang D.</u> , Hara T.	Fulminant sepsis/ meningitis due to Haemophilus influ- enzae in a protein C-deficient hetero- zygote treated with activated protein C therapy.	Eur. J. Pediatr.		in press	
Ohga S., Ideguchi H., Kato J., Ishimura M., Takada H., Harada N., Kawanaka H., Hattori Y., <u>Kang D.</u> , Hamasaki N., Hara T.	Thromboembolic complications in splenectomized patients with dominantly inherited beta- thalassemia.	Acta. Haematol.	120	31-35	2008
Urata M., Koga-Wada Y., Kayamori Y., <u>Kang D.</u>	Platelet contami- nation causes large variation as well as overestimation of mitochondrial DNA content of periphe- ral blood mononu- clear cells.	Ann. Clin. Biochem.	45	513-514	2008