



## 【日本血栓止血学会サイト お役立ちリンク集】

日本血栓止血学会サイトに掲載しているおすすめコンテンツのリンクをご紹介します。

- ・ [診療ガイドライン](#)
- ・ [研修医のお役立ち論文コンテンツ](#)
- ・ [用語集](#)

本編は次ページより掲載しております。

# 不育症と先天性血栓性素因

根木玲子<sup>1,2\*</sup> 宮田敏行<sup>3</sup>

## Adverse pregnancy outcomes and congenital thrombophilia

Reiko NEKI, Toshiyuki MIYATA

**要約：**私達は妊娠と関連して発症した深部静脈血栓症(deep vein thrombosis: DVT)と不育症を示す患者 348 人を収集し、全員のアンチトロンビン(AT), プロテイン C(PC), プロテイン S(PS)の遺伝子をシーケンスすることにより、その遺伝的背景に関する研究を行った。その結果、DVT18 例では 5 例が遺伝子変異を有し、そのうちの 2 例は低頻度の血栓性素因として知られている PS K196E 変異を保有していた。変異を有する 5 例は、いずれも妊娠の初期および中期に DVT 発症を認め、後期および産褥期の発症例はなかった。330 人の不育症患者では、6 例に PS K196E 変異を同定し(頻度: 1.8%), 一般住民で求められていた頻度(1.8%)と有意差はなく、リスクではないと考えた。PS K196E 変異以外のまれなミスセンス変異などは、11 人の不育症(3.3%)に認めた。この頻度は一般住民に認められるよりも高いと考えられ、先天性の凝固制御因子のまれな遺伝子変異は不育症のリスクである可能性を否定できない。しかし、まれな変異は不育症症例のわずか 3.3%にしか認められなかったため、不育症の主な原因とはならないと考えた。



根木玲子

1986年 高知医科大学医学部卒業  
 1986年 大阪大学医学部附属病院産婦人科学教室  
 1987年 大手前病院産婦人科  
 1990年 大阪大学医学部産婦人科  
 1993年 大阪府立母子保健総合医療センター産科  
 1995年 国立循環器病センター周産期治療科  
 2016年 国立循環器病研究センター臨床遺伝相談室長

**Key words:** genetics, thrombophilia, adverse pregnancy outcome, fetal growth restriction, recurrent pregnancy loss

### 1. はじめに

生理的状況下では、血管内に血栓が生じないように、また止血血栓形成部位でも無秩序に血液凝固反応が進行しないように凝固制御因子が働いている。生理的な凝固制御因子であるアンチトロンビン(AT), プロテイン C(PC), プロテイン S(PS)の先天性の各欠乏症は、静脈血栓塞栓症(venous thromboembolism: VTE)の素因であることが広く知られている。また、抗リン脂質抗体症候群などは後天性の

VTEの素因として知られている。このような先天性あるいは後天性の要因による凝固亢進状態を基盤として VTE が生じやすい傾向を血栓性素因という。

欧米では、先天性血栓性素因である factor V Leiden 変異(FVL 変異)やプロトロンビン G20210A 変異と VTE との関連が確立している。これらの両変異による血栓リスクはそれほど強いものではないと考えられるようになってきた。妊娠合併症との関連では、FVL 変異とプロトロンビン G20210A 変異の妊娠合併症との関連は報告されたものの<sup>1-5)</sup>、それぞれの変異保有者においても、妊娠合併症のリスクは上げないとの報告がなされた<sup>6,7)</sup>。しかしその後しばらくこれら両変異の妊娠合併症に関するリスクについての追試がなされていなかった。

血栓性素因に関連する妊娠合併症とは、2 回以上の流産、妊娠 22 週以降の子宮内胎児死亡あるいは胎児発育不全といった不育症や、妊娠高血圧腎症、

<sup>1</sup> 国立循環器病研究センター臨床遺伝相談室

<sup>2</sup> 国立循環器病研究センター周産期婦人科

<sup>3</sup> 国立循環器病研究センター脳血管内科

\*責任者連絡先:

国立循環器病研究センター臨床遺伝相談室

〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1

Tel: 06-6833-5012, Fax: 06-6871-0667

E-mail: rneki@ncvc.go.jp

表1 血栓性素因に関連する妊娠合併症

<p>不育症 (recurrent pregnancy loss)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 反復流産：流産を2回以上繰り返した場合</li> <li>・ 習慣流産：流産を3回以上繰り返した場合 (流産の定義：日本産婦人科学会は、「妊娠22週未満の胎児が母体から娩出されること」としている。妊娠22週以降の場合の死亡胎児の娩出は「死産」と定義している。さらに、妊娠12週未満の流産を「早期流産」、妊娠12週以降22週未満の流産を「後期流産」としている)</li> <li>・ 子宮内胎児死亡(妊娠22週以降)</li> <li>・ 胎児発育不全</li> <li>・ SGA (small for gestational age)：出生体重が該当する在胎週数の標準出生体重と比較して10パーセント未満の児(人種別)</li> </ul> <p>妊娠高血圧腎症 (pre-eclampsia)</p> <p>常位胎盤早期剝離 (placental abruption)</p>
---

常位胎盤早期剝離といった疾患を指す(表1)。

私達は先天性血栓性素因と妊娠合併症との関連を検討するため、妊娠と関連して発症した深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis: DVT) 18人と不育症患者330人を収集し、その遺伝的背景に関する研究を発表した<sup>8,9)</sup>。

本稿では、まず欧米での先天性血栓性素因と不育症を含む妊娠合併症についての研究を紹介し、その後日本人のVTEの遺伝的素因、妊娠中あるいは産褥期発症のDVTと先天性血栓性素因、および不育症と先天性血栓性素因についての私達の研究を解説する。

## 2. 妊娠中の凝固機能の変化

妊娠中の血液成分の変化では、フィブリノーゲン、VII, VIII, IXなどの凝固因子が増加する。とくにVIII因子の増加が顕著であり、分娩に向けて徐々に増加し非妊娠時の約3倍から4倍程度まで増加する<sup>10)</sup>。このことが、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)での妊娠中のヘパリン療法のコントロールを困難にさせている主な理由である<sup>11)</sup>。妊娠時、抗凝固系では、PS活性値とフリーPS抗原量は分娩に向けて低下する<sup>10)</sup>。妊娠は過凝固および低線溶状態となり、血栓形成のリスクが高くなる。これは出血を伴う出産に対応するための合目的な生体反応である。

## 3. 欧米での先天性血栓性素因と不育症の研究

血栓性素因を持つ妊婦は、前述の妊娠中の血液凝固機能の亢進も相まって、胎盤での血栓形成により胎盤循環不全となり、不育症や妊娠高血圧腎症といった妊娠合併症を来しやすいと考えられる。そこで、先天性血栓性素因と、2回以上の流産、妊娠22週以降の子宮内胎児死亡あるいは胎児発育不全といった不育症や、妊娠高血圧腎症、常位胎盤早期剝離などの妊娠合併症(表1)について多くの検討がなされてきた。2005年頃までは、FVL変異やプロトロンビンG20210A変異といった先天性血栓性素因と不育症との関連が指摘された<sup>1-5)</sup>。しかしFVL変異は、不育症を含む妊娠合併症のリスクを上げないという報告<sup>6)</sup>や、プロトロンビンG20210A変異でもそのリスクを上げないという報告<sup>7)</sup>がなされたが、その後しばらくこれら両変異の妊娠合併症に関するリスクについての追試がなされていなかった。

そのような中で、Robertsonらにより<sup>12)</sup>先天性血栓性素因と妊娠合併症のメタアナリシスが発表された(表2)<sup>13)</sup>。このデータは米国の産科学の成書<sup>14)</sup>やChestのガイドライン<sup>15)</sup>などに広く引用されている。彼らの報告では、FVL変異とプロトロンビンG20210A変異は妊娠合併症の中等度のリスクであるとされた。

しかしこれまでの報告では「妊娠初期の流産」の場合、どの妊娠週数を「初期」にするかは論文により定義がまちまちであり、AT, PC, PS欠乏症といったものの中には診断方法そのものにも問題がある可能

表2 各種の血栓性素因の妊娠合併症に対するオッズ比

血栓性素因	頻度 (%)	初期(反復)流産*	子宮内胎児死亡	妊娠高血圧腎症	常位胎盤早期剝離	胎児発育不全
第V因子 Leiden 変異 (ホモ体)	0.06	2.71 (1.32-5.58)	1.98 (0.40-9.69)	1.87 (0.44-7.88)	8.43 (0.41-171.20)	4.64 (0.19-115.68)
第V因子 Leiden 変異 (ヘテロ体)	4	1.68 (1.09-2.58)	2.06 (1.10-3.86)	2.19 (1.46-3.27)	4.70 (1.13-19.59)	2.68 (0.59-12.13)
プロトロンビン G20210A 変異 (ヘテロ体)	2	2.49 (1.24-5.00)	2.66 (1.28-5.53)	2.54 (1.53-4.23)	7.71 (3.01-19.76)	2.92 (0.62-13.70)
MTHFR C677T (ホモ体)	5-25	1.40 (0.77-2.55)	1.31 (0.89-1.91)	1.37 (1.07-1.76)	1.47 (0.40-5.35)	1.24 (0.84-1.82)
アンチトロンビン欠乏症	0.07	0.88 (0.17-4.48)	7.63 (0.30-196.36)	3.89 (0.16-97.19)	1.08 (0.06-18.12)	NA
プロテイン C 欠乏症	0.3	2.29 (0.20-26.43)	3.05 (0.24-38.51)	5.15 (0.26-102.22)	5.93 (0.23-151.58)	NA
プロテイン S 欠乏症	0.2	3.55 (0.35-35.72)	20.09** (3.70-109.15)	2.83 (0.76-10.57)	2.11 (0.47-9.34)	NA
ループスアンチコアグラント		NA	2.4 (0.8-7.0)	1.5 (0.5-4.6)	NA	NA
抗カルジオリピン抗体	2***	3.4 (1.3-8.7)	3.3 (1.6-6.7)	2.7 (1.7-4.5)	1.42 (0.42-4.77)	6.9 (2.7-17.7)

文献 12, 13 をもとに改編した。リスク度はオッズ比(95%信頼区間)で示した。NA: not available. \*「妊娠初期の2回以上の反復流産症例」と「妊娠中期の1回の流産・死産症例」を含む。\*\*PS 欠乏症が子宮内胎児死亡(妊娠22週以降の1回の子宮内胎児死亡)との強い関連を示しているが、症例数が15例と少なく、妊娠中はPS欠乏症の診断は信頼性がない点も考慮されるべきである<sup>13)</sup>。\*\*\*抗リン脂質抗体(ループスアンチコアグラント、抗カルジオリピン抗体)の頻度。

性がある。たとえば妊娠中のエストロゲンによるPS活性値への影響、活性値のみの測定なのか抗原量のみなのか、カットオフ値の設定、薬剤投与の有無といった問題である。

2010年、Rodgerらは胎盤関連の妊娠合併症について前向きのコホート研究を発表した(表3)<sup>16)</sup>。彼らの研究での妊娠合併症とは、妊娠20週未満の流産および妊娠20週以降の死産・子宮内胎児死亡、small for gestational age(SGA)の児(出生時の新生児体重で評価)、妊娠高血圧腎症、常位胎盤早期剝離をいう。これによると、FVL変異を持つ患者は妊娠20週以降の死産・子宮内胎児死亡のごくわずかなりリスクとなる(表3, オッズ比1.52)。しかし、FVL変異やプロトロンビン変異をもつ患者は、妊娠高血圧腎症とSGA児のリスクではなかった。登録症例数を増やした2014年のメタアナリシスでは、FVL

変異は妊娠20週未満の流産と妊娠20週以降の死産・子宮内胎児死亡をわずかに上げ(オッズ比1.79)、プロトロンビン変異にリスクを認めなかった(表3)<sup>17)</sup>。このように、FVL変異とプロトロンビンG20210A変異は、当初の報告に見られるほど妊娠合併症との関連性は強くないと考えられる。

#### 4. 先天性血栓性素因の診断方法・診断時期とその精度

活性値や抗原量からの先天性血栓性素因の診断確定には、診断方法と診断時期に注意しなくてはならない。遺伝子解析であればその診断時期は問わないが、活性値からの診断では測定時期に注意しなくてはならない。すなわち、妊娠中、血栓症の急性期、抗凝固療法中の値は慎重に解釈する必要がある。と

表3 FVL 変異とプロトロンビン G20210A 変異の妊娠合併症に対するオッズ比

血栓性素因	流産, 死産・ 子宮内胎児死亡*	妊娠高血圧 腎症	常位胎盤 早期剝離	SGA** (出生時体重)	文献
第 V 因子 Leiden 変異	1.52 (1.06–2.19)	1.23 (0.89–1.70)	1.85 (0.92–3.70)	1.00 (0.80–1.25)	2010*** Rodger ら
	1.79 (1.06–3.03)	1.21 (0.92–1.61)	1.84 (0.62–5.43)	1.03 (0.85–1.24)	2014**** Rodger ら
プロトロンビン G20210A 変異	1.13 (0.64–2.01)	1.25 (0.79–1.99)	2.02 (0.81–5.02)	1.25 (0.92–1.70)	2010*** Rodger ら
	1.67 (0.42–6.70)	1.15 (0.70–1.89)	2.19 (0.09–51.82)	1.11 (0.80–1.54)	2014**** Rodger ら

ホモ体およびヘテロ体の血栓性素因保有者を対象とした。リスク度はオッズ比(95%信頼区間)で示した。\*[妊娠 20 週未満の流産]と「妊娠 20 週以降の死産・子宮内胎児死亡」を含む。 \*\*SGA: small-for-gestational age. SGA の定義は、出生時の新生児体重が、人種別に検討した 10 パーセント未満とした。 \*\*\*文献 16 および \*\*\*\*文献 17 を元に作成した。

表4 血栓性素因の検査方法と検査を行う時期(米国産婦人科学会ガイドラインを一部改編して作成)

血栓性素因	検査方法	検査の信頼性		
		妊娠中	血栓症 急性期	抗凝固 療法中
プロテイン C 欠乏症	プロテイン C 活性(<60%)	Yes	No	No**
プロテイン S 欠乏症	プロテイン S 活性(<55%)	No*	No	No**
アンチトロンビン欠乏症	アンチトロンビン活性(<60%)	Yes	No	No**
プロテイン S K196E 変異	DNA 解析	Yes	Yes	Yes
	変異特異的 ELISA 法	Yes	Yes	Yes
	比活性法	Yes	Yes	No**
第 V 因子 Leiden 変異	活性化プロテイン C 抵抗性検査(第 2 世代)	Yes	Yes	No
	異常があれば DNA 解析	Yes	Yes	Yes
プロトロンビン G20210A 変異	DNA 解析	Yes	Yes	Yes

文献 18 を改編した。\*妊娠中のスクリーニングが必要ななら、フリーのプロテイン S 抗原量が第 2 三半期と第 3 三半期において、それぞれ 30% 未満, 24% 未満をカットオフ値とする。 \*\*抗凝固療法の種類によって考慮する必要がある。

くに、PS 欠乏症の診断では、活性値はエストロゲンの影響を受けるため、妊娠中や経口避妊薬内服中の検査は避けなくてはならない。先天性血栓性素因の各検査方法と検査時期について、推奨されている米国産婦人科学会ガイドラインを一部改編して表 4 に示す<sup>18)</sup>。

## 5. ヒトゲノムに存在する遺伝子変異

ヒトゲノム上の遺伝子変異の一般人口における頻度と、各変異の全変異における割合を図 1 に示す<sup>19)</sup>。Common variation(頻度の高い変異)はアレル頻度が 5% 以上(ヘテロ接合体が 10 人に 1 人以上)の遺伝子変異で、ここに属する変異は、ゲノム網羅的関連解析(genome-wide association study, GWAS)法の解析

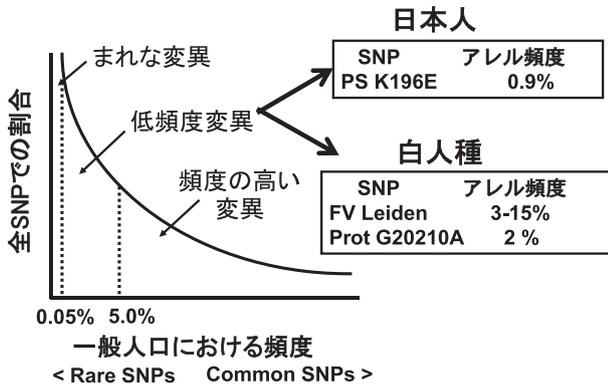


図1 ヒト遺伝子変異の一般人口における頻度と全変異数との割合(文献19を改編)

対象となった。多くのGWASの結果から、ほとんどの「頻度の高い変異」のありふれた疾患に対するオッズ比は極めて1に近く、疾患発症への個々の影響は小さいと考えられるようになった。一方、アレル頻度が0.05%以下のvery rare mutations(まれな変異)の中には重度の機能障害を与え、疾患発症の強い要因となる変異が含まれる。これらの両者の間にアレル頻度が0.05~5%のlow-frequency variation(低頻度変異)がある。この「低頻度変異」の中に、中等度の機能障害を与える変異が見られる。血栓症では、白人のVTEのリスク因子であるFVL変異(アレル頻度3~15%)とプロトロンビンG20210A変異(アレル頻度1.7~4%)、日本人に認められるPS K196E変異(アレル頻度0.9%、PS徳島変異、成熟PSの残基番号からPS K155E変異とも呼ばれる)がこれに属する。血栓症に関しては、低頻度変異はまれな変異より疾患発症のリスク度は低いという結果が得られている。

## 6. 日本人のVTE患者におけるAT, PC, PSの遺伝子変異

VTEの遺伝的要因として、凝固因子活性の増加と凝固制御因子活性の低下が知られている。VTEを発症した患者に広く認められる遺伝子変異として、白人には凝固因子活性の増加を示すFVL変異とプロトロンビンG20210A変異、日本人には凝固制御因子活性の低下を示すPS K196E変異がある<sup>20-22)</sup>。これらは前述のように人種特異性を示し、PS K196E

変異は日本人にのみ認められ、中国人や韓国人にも同定されていない<sup>23)</sup>。

私達は日本人VTE患者173名を対象として、AT, PC, PSの蛋白質コード領域の全シーケンスを行い、日本人のVTE発症の遺伝的背景を検討した<sup>24)</sup>。これによると、32%にあたる55名が3つの遺伝子のいずれかにアミノ酸変異を伴う遺伝子異常を保有していた。その内訳は、PS変異は24名(このうち10名がPS K196E変異保有者)、PC変異12名、AT変異14名、さらにPS変異とPC変異の重複例が5名であった<sup>24)</sup>。この5例のPS変異は全てK196E変異であったことから、PS K196E変異はDVT発症の修飾因子とも考えられた。また、PC K193del変異、PC V339M変異およびAT L256fs\*9変異も複数の患者に同定されたので、これらの変異は日本人に比較的広く存在する可能性が高いと考えられた<sup>24,25)</sup>。

## 7. PS K196E変異、およびまれな変異によるPC欠乏症、AT欠乏症の診断方法

### 1) PS K196E変異保有者の抗凝固活性

一般住民1,862人のPS抗凝固活性を測定し、PS K196Eヘテロ接合体の活性を調べた報告によると、34人のヘテロ接合体のPS抗凝固活性は40%から110%の広い範囲に分布した<sup>26)</sup>。一方、正常型PS保有者の抗凝固活性は40%から170%までを示しており、ヘテロ接合体の活性と大きくオーバーラップしていた(図2)。この結果から、ヘテロ接合体はPS抗凝固活性では確定できないと考えられた。しかし平均値をみると、ヘテロ接合体は約16%抗凝固活性が低値であった。PS抗凝固活性は妊娠、経口避妊薬、腎機能障害等で低下することが知られており、本変異保有者がこういった環境下に暴露されると更にPS抗凝固活性が低下し、血栓リスクが上昇するのではないかと考えられる。

### 2) PS K196E変異保有者の検出法

PS欠乏症には、PS抗凝固活性は低下するが抗原量は正常値を示すII型分子異常症と、活性と抗原量共に低下するI型欠損症がある。PS K196E変異はII型分子異常症に属し、本変異保有者の血中にはPS K196E蛋白質が循環している。私達はこの変異体に特異的な単クローン抗体を用いることにより、

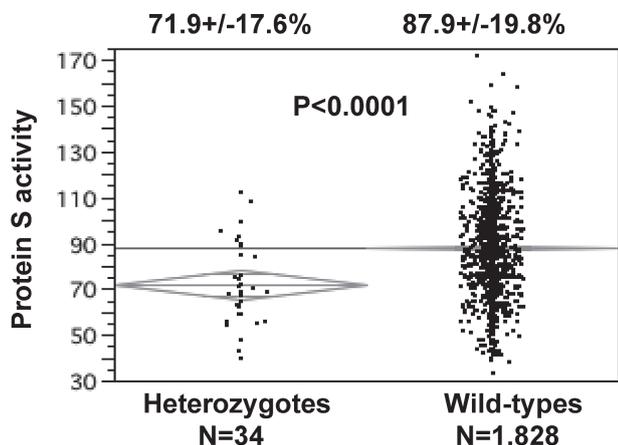


図2 日本人の一般住民を対象にした正常型 PS 保有者と PS K196E 変異ヘテロ接合体保有者の PS 抗凝固活性それぞれの群の平均値  $\pm$  SD を示す。PS 抗凝固活性測定試薬は Staclot Protein S (Diagnostica Stago)。(文献 26 を改編)

変異体のみを検出する測定系の開発に成功した<sup>27)</sup>。この測定系を用いると、容易に血漿中に PS K196E 変異の有無を判別できる。また、II 型分子異常症は活性値を抗原量で割って得られる比活性値が低下するので、血漿中の PS 活性と抗原量を測定し比活性を求め、分子異常症を判定する測定法が開発されている<sup>28)</sup>。

### 3) PC 欠乏症の診断法

PC 活性は合成基質法で測定する 경우가多いが、PC K193del 変異保有者の合成基質活性は正常値を示すので、合成基質法では変異保有者を同定できない。この変異保有者の同定には PC 抗凝固活性を用いる必要がある。したがって、VTE 患者の PC 活性は合成基質法だけでなく、抗凝固活性法での測定も推奨される。

### 4) AT 欠乏症の診断法

AT 欠乏症は、AT 抗原量と活性がともに低下する I 型欠損症と、活性値は低下するが抗原量は正常値を示す II 型異常症が知られている。AT 欠乏症では、I 型欠損症が強い VTE のリスクであるが、II 型は比較的风险が弱いとの報告がある<sup>29, 30)</sup>。通常、AT 活性は合成基質法で測定する。AT 欠乏症を疑った場合は、AT 抗原量も測定し、I 型であるのか II 型であるのかの判別を行うのが重要である<sup>25, 30)</sup>。I 型 AT 欠損症では、とくに妊娠中と産褥期の VTE 発症予

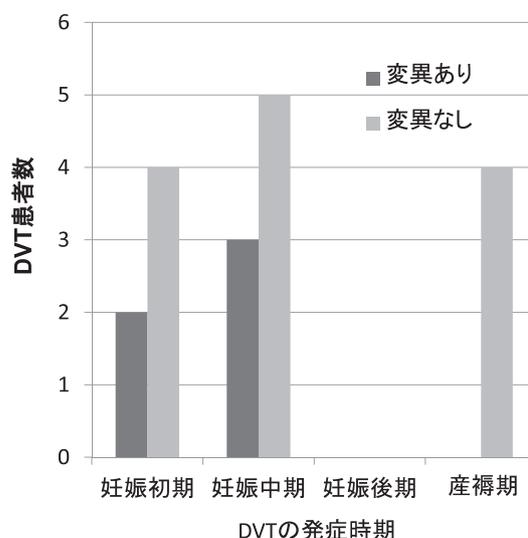


図3 PS, PC, AT 遺伝子の変異保有者と変異非保有者の妊娠中および産褥期における DVT 発症患者数。変異保有者は妊娠初期と中期にのみ DVT を発症した。(文献 8 を改編)

防の管理が必要になる。

## 8. 妊娠中・産褥期の DVT 症例における AT, PC, PS の遺伝子変異

凝固制御因子である AT, PC, PS の先天性欠乏症は、VTE の素因であることは広く知られている。私達は大阪府下の 4 施設(大阪府立母子保健総合医療センター、大阪医科大学、市立貝塚病院、国立循環器病研究センター)の共同研究として妊娠関連の DVT および不育症を示す患者 348 人を収集し、3 種の凝固制御因子(AT, PC, PS)の蛋白質コード領域の全域の塩基配列を決定することにより、凝固制御因子の遺伝子変異に関する研究を行った<sup>8, 9)</sup>。遺伝子解析により、先天性血栓性素因を活性値や抗原量から診断する曖昧さを排除することができる。その反面、遺伝子変異が活性低下に繋がるかどうかの判断は難しい。

患者 348 人のうち、妊娠中および産褥期に DVT を示した症例は 18 例あり、5 例(28%)に PS(4 例)もしくは PC(1 例)にミスセンス変異を認めた。AT の変異は認めなかった<sup>8)</sup>。変異を有する 5 例は、いずれも妊娠の初期および中期に DVT 発症を認め、

表5 不育症患者群と一般住民群でのプロテイン S K196E 変異の頻度

	2回以上連続する流産歴 (A群)	胎児発育不全 および/または 子宮内胎児死亡既往 (B群)	不育症総数 (A+B)	一般住民*
人数	233 <sup>†</sup>	114 <sup>†</sup>	330	4319
PS K196E 変異保有者数	4	2	6	77
PS K196E 変異保有者頻度	0.017	0.018	0.018	0.018
p <sup>‡</sup>	0.94	0.98	0.96	-

文献9を改編して作成した。\*日本人一般住民4,319人中77人がヘテロ接合体<sup>32)</sup>。†17名が重複。  
‡一般住民群との $\chi^2$ 検定。

後期および産褥期の発症例はなかった(図3)。変異が認められた因子の血漿中の活性は低下していたので、遺伝子変異はいずれも機能を消失する変異と考えられた。5例のうちの1例はPS遺伝子変異の複合ヘテロ体であり、血漿のPS活性は4%であり、妊娠6週でDVTを発症した。家系内にもDVT発症者が認められた。2例にPS K196E変異を認めた<sup>8,31)</sup>。本研究では、先天性血栓性素因保有者のDVTは妊娠初期から中期にかけて発症していたので、妊娠初期からの厳重な管理が必要であると考えられた。本研究では、DVTを発症していない妊婦(次項に述べる不育症患者)の遺伝子解析も行った。DVTを発症していない妊婦329人では、17例に凝固制御因子の遺伝子変異を認めた。この17例は変異を保有するものの妊娠中や産褥期にDVTを発症しなかった。このことは、活性低下を伴う凝固制御因子の遺伝子変異保有者が、必ずしも妊娠中にDVTを発症するものではない、ということを示している。

## 9. 不育症患者におけるAT, PC, PSの遺伝子変異

次に、私達は330人の不育症患者を対象に、日本人VTEのリスクであるPS K196E変異、およびPS, PC, ATのまれな変異を解析し、それらが不育症のリスクになるかどうかを検討した<sup>9)</sup>。不育症患者を2群に分類し、妊娠22週未満の2回以上連続する流産歴のある女性233人(A群)、妊娠22週以降の胎児発育不全および/または子宮内胎児死亡既往のある女性114人(B群)とした。17人が両群に重複

した。多胎妊娠、夫婦染色体異常、抗リン脂質抗体症候群、糖尿病、甲状腺機能異常症、感染症、子宮形態異常は除外した。

不育症患者330人では、PS, PC, ATのアミノ酸置換を伴う変異を、A群に6人、4人、3人、B群に3人、1人、0人に認めた。A群の1人は、PS K196E変異とまれなPS変異の複合ヘテロ体であった。PS K196E変異は、A群4/233人(頻度0.017)、B群2/114人(頻度0.018)であり、一般住民77/4319人(頻度0.018)<sup>32)</sup>と比べ、有意差を認めなかった(p値:A群0.94, B群0.98)(表5)。この結果から、PS K196E変異は不育症の遺伝的リスクにはならないと考えた。

私達はこの結果を2014年に報告したが、これは白人のFVL変異やプロトロンビンG20210A変異が不育症のリスク因子ではないという2014年の結果とよく一致する<sup>17)</sup>。PS K196E変異はFVL変異やプロトロンビンG20210A変異と同様に「低頻度変異」に属し、3種の血栓性低頻度変異は不育症に関連を示さないという結果になった。一方、PS, PC, ATのまれな変異は不育症の3.3%(11/330人)に認めた(表6)。まれな変異の一般住民群での頻度はないため明確ではないが、不育症患者に見られる3.3%という頻度は、一般住民に認められるよりも頻度は高いと考えられ、凝固制御因子のまれな遺伝子変異は不育症のリスクである可能性を否定できない。しかし、不育症群での頻度はわずか3.3%であるため、不育症の主な原因とはならないと考えた<sup>9,31)</sup>。

一般的に、不育症の主な原因は胎児染色体異常である<sup>33)</sup>。また、夫婦染色体異常、母体側の抗リン脂質抗体、子宮形態異常も不育症の原因として挙げら

表6 プロテイン S(PS), プロテイン C(PC), アンチトロンビン(AT)のまれな遺伝子変異を有する不育症患者数とその頻度(PS K196E 変異を除く)

遺伝子変異	患者数		
	2回以上連続する流産歴 (A群) (n=233)*	胎児発育不全および/または子宮内胎児死亡既往 (B群)(n=114)*	不育症患者総数 (n=330)
プロテイン S 遺伝子変異 (K196E 変異を除く)	3	1	4
プロテイン C 遺伝子変異	4 <sup>†</sup>	1 <sup>†</sup>	4
アンチトロンビン遺伝子変異	3	0	3
総数	10	2	11
頻度	0.043 (10/233)	0.018 (2/114)	0.033 (11/330)

文献9を改編した。\*17人の患者は連続流産歴と胎児発育不全および/または子宮内胎児死亡を有していた。<sup>†</sup>連続流産歴と胎児発育不全および/または子宮内胎児死亡を有する1人の患者はPC遺伝子変異を有していた。

れる。こういった事実からしても、血栓性低頻度変異は不育症にはならないという結果は妥当であると考えられる。

## 10. 妊娠合併症の管理について

低用量アスピリンと低分子ヘパリンは、抗リン脂質抗体症候群では、出生率を増やすことが証明されている。ただしこれらの投与は先天性血栓性素因と妊娠合併症という観点では、まだ十分には確立されていない。一方、既往妊娠のとくにハイリスク症例(血栓性素因ではなく)に対しては、胎盤を介した妊娠合併症をもつ女性へのヘパリン投与のエビデンスは増えつつある<sup>34)</sup>。

妊娠高血圧腎症や胎児発育不全の児の予防におけるアスピリンの使用という観点では、抗リン脂質抗体症候群での使用経験や生理学的根拠に基づいた治療が提案されている<sup>35)</sup>。また、ヘパリンはATを介した抗凝固作用に加えて、胎盤に対して他の有益な影響をもたらすことが示されている<sup>35)</sup>。すなわち、ヘパリンは、組織因子経路インヒビターの機能の増強(ヘパリン投与により血管内皮細胞に結合していた本因子が血中に遊離する)、抗リン脂質抗体により抑制された子宮内膜細胞での血管新生の増強、絨毛細胞のアポトーシスの抑制、補体の活性化の抑制、

血小板凝集の抑制といった作用がある。今後、さらなる症例の集積を待つと同時に、日本人における症例の集積も必要である。

なお注意しておきたい点として、AT欠乏症妊婦では、VTE既往がなくても、とくにI型欠損症においては、妊娠中・産褥期のVTE発症予防のための妊娠中・産褥期の抗凝固療法は考慮されるべきであろう。

## 11. おわりに

VTEのリスク因子としての先天性血栓性素因のうち、低頻度変異に相当する欧米人でのFVL変異とプロトロンビンG20210A変異は、不育症などの妊娠合併症に対して、強いリスク因子とはならないことが近年報告されている。私達は、日本人におけるVTEのリスク因子である低頻度変異のPS K196E変異も、不育症のリスク因子ではないことを示した。

## 謝辞

大阪府立母子保健総合医療センター母性内科 藤田富雄部長、大阪医科大学産婦人科 藤田太輔先生、市立貝塚病院産婦人科 井坂茂之部長、三重大学医学部産婦人科 池田智明教授、国立循環器病研

究センター周産期婦人科 吉松淳部長, 国立循環器病研究センター分子病態部の遺伝子解析研究に携わって頂いた研究員の方々に感謝いたします。本研究は厚生労働科学研究費, 文部科学省科学研究費, 武田財団研究助成金, 上原財団研究助成金の支援を受けました。

著者の利益相反(COI)の開示:

宮田敏行: 特許使用料(株式会社エスアールエル, 株式会社カイノス, アルフレッサファーマ, 株式会社ペプチド研究所, Peptides International)

## 文献

- Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, Briët E, Berntorp E, Conard J, Fontcuberta J, Makris M, Mariani G, Noteboom W, Pabinger I, Legnani C, Scharrer I, Schulman S, van der Meer FJ: Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet* **348**: 913–916, 1996.
- Martinelli I, Taioli E, Cetin I, Marinoni A, Gerosa S, Villa MV, Bozzo M, Mannucci PM: Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med* **343**: 1015–1018, 2000.
- Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I: Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* **361**: 901–908, 2003.
- Kovalevsky G, Gracia CR, Berlin JA, Sammel MD, Barnhart KT: Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Arch Intern Med* **164**: 558–563, 2004.
- Lissalde-Lavigne G, Fabbro-Peray P, Cochery-Nouvellon E, Mercier E, Ripart-Neveu S, Balducci JP, Daurès JP, Perneger T, Quéré I, Dauzat M, Marès P, Gris JC: Factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms as risk factors for miscarriage during a first intended pregnancy: the matched case-control 'NOHA first' study. *J Thromb Haemost* **3**: 2178–2184, 2005.
- Dizon-Townson D, Miller C, Sibai B, Spong CY, Thom E, Wendel G, Wenstrom K, Samuels P, Cotroneo MA, Moawad A, Sorokin Y, Meis P, Miodovnik M, O'Sullivan MJ, Conway D, Wapner RJ, Gabbe SG; National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network: The relationship of the factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for mother and fetus. *Obstet Gynecol* **106**: 517–524, 2005.
- Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G, Wenstrom K, Samuels P, Caritis SN, Sorokin Y, Miodovnik M, O'Sullivan MJ, Conway D, Wapner RJ; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units (NICHD MFMU) Network: Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. *Obstet Gynecol* **115**: 14–20, 2010.
- Neki R, Fujita T, Kokame K, Nakanishi I, Waguri M, Imayoshi Y, Suehara N, Ikeda T, Miyata T: Genetic analysis of patients with deep vein thrombosis during pregnancy and postpartum. *Int J Hematol* **94**: 150–155, 2011.
- Neki R, Miyata T, Fujita T, Kokame K, Fujita D, Isaka S, Ikeda T, Yoshimatsu J: Nonsynonymous mutations in three anticoagulant genes in Japanese patients with adverse pregnancy outcomes. *Thromb Res* **133**: 914–918, 2014.
- Szececi PB, Jørgensen M, Klajnbard A, Andersen MR, Colov NP, Stender S: Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thromb Haemost* **103**: 718–727, 2010.
- Mitsuguro M, Okamoto A, Shironouchi Y, Sano M, Miyata S, Neki R, Araki T, Hamamoto T, Yoshimatsu J, Miyata T: Effects of factor VIII levels on the APTT and anti-Xa activity under a therapeutic dose of heparin. *Int J Hematol* **101**: 119–125, 2015.
- Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA, Thrombosis R, Economic Assessment of Thrombophilia Screening S: Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol* **132**: 171–196, 2006.
- Simcox LE, Ormesher L, Tower C, Greer IA: Thrombophilia and pregnancy complications. *Int J Mol Sci* **16**: 28418–28428, 2015.
- Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Spong CY, Dashe JS, Hoffman BL, Casey BM, Sheffield JS: Williams OBSTETRICS Vol. 24th Edition, New York, McGraw-Hill, 2014.
- Bates SM, Greer IA, Middeldorp S, Veenstra DL, Prabulos AM, Vandvik PO, American College of Chest P: VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* **141**: e691S–736S, 2012.
- Rodger MA, Betancourt MT, Clark P, Lindqvist PG, Dizon-Townson D, Said J, Seligsohn U, Carrier M, Salomon O, Greer IA: The association of factor V Leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS Med* **7**: e1000292, 2010.
- Rodger MA, Walker MC, Smith GN, Wells PS, Ramsay T, Langlois NJ, Carson N, Carrier M, Rennicks White R, Shachkina S, Wen SW: Is thrombophilia associated with placenta-mediated pregnancy complications? A prospective cohort study. *J Thromb Haemost* **12**: 469–478, 2014.
- American College of Obstetricians and Gynecologists Women's Health Care Physicians: ACOG Practice Bulletin No. 138: Inherited thrombophilias in pregnancy. *Obstet Gynecol* **122**: 706–717, 2013.
- Gibbs R: Deeper into the genome. *Nature* **437**: 1233–1234, 2005.
- Kimura R, Honda S, Kawasaki T, Tsuji H, Madoiwa S, Sakata Y, Kojima T, Murata M, Nishigami K, Chiku M, Hayashi T, Kokubo Y, Okayama A, Tomoike H, Ikeda Y, Miyata T: Protein S-K196E mutation as a genetic risk factor for deep vein thrombosis in Japanese patients. *Blood* **107**: 1737–1738, 2006.
- 宮田敏行, 川崎富夫, 坂田洋一, 村田 満, 小嶋哲人: 日本人の血栓性素因, 特にプロテイン S 欠損症を中心に. *日産婦新生児血会誌* **20**: 75–82, 2011.

- 22) 根木玲子, 宮田敏行: 遺伝性の凝固異常と静脈血栓塞栓症. *臨婦産* **65**: 166–169, 2011.
- 23) Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X, Koizumi A, Miyata T: Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism, is limited to Japanese. *Thromb Res* **132**: 314–315, 2013.
- 24) Miyata T, Sato Y, Ishikawa J, Okada H, Takeshita S, Sakata T, Kokame K, Kimura R, Honda S, Kawasaki T, Suehisa E, Tsuji H, Madoiwa S, Sakata Y, Kojima T, Murata M, Ikeda Y: Prevalence of genetic mutations in protein S, protein C and antithrombin genes in Japanese patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res* **124**: 14–18, 2009.
- 25) 宮田敏行, 丸山慶子: 日本人における先天性血栓性素因, 欧米との比較. *臨床血液* **55**: 908–916, 2014.
- 26) Kimura R, Sakata T, Kokubo Y, Okamoto A, Okayama A, Tomoike H, Miyata T: Plasma protein S activity correlates with protein S genotype but is not sensitive to identify K196E mutant carriers. *J Thromb Haemost* **4**: 2010–2013, 2006.
- 27) Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T: ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. *PLoS ONE* **10**: e0133196, 2015.
- 28) Tsuda T, Jin X, Tsuda H, Ieko M, Morishita E, Adachi T, Hamasaki N: New quantitative total protein S-assay system for diagnosing protein S type II deficiency: clinical application of the screening system for protein S type II deficiency. *Blood Coagul Fibrinolysis* **23**: 56–63, 2012.
- 29) Finazzi G, Caccia R, Barbui T: Different prevalence of thromboembolism in the subtypes of congenital antithrombin III deficiency: review of 404 cases. *Thromb Haemost* **58**: 1094, 1987.
- 30) Mitsuguro M, Sakata T, Okamoto A, Kameda S, Kokubo Y, Tsutsumi Y, Sano M, Miyata T: Usefulness of antithrombin deficiency phenotypes for risk assessment of venous thromboembolism: type I deficiency as a strong risk factor for venous thromboembolism. *Int J Hematol* **92**: 468–473, 2010.
- 31) 根木玲子, 宮田敏行: 先天性プロテインC欠乏症, 先天性アンチトロンビン欠乏症と妊娠. *Jpn J Obstet Gynecol Neonatal Hematol* **25**: 55–62, 2015.
- 32) Miyata T, Hamasaki N, Wada H, Kojima T: More on: racial differences in venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* **10**: 319–320, 2012.
- 33) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Kitaori T, Mizutani E: Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* **27**: 2297–2303, 2012.
- 34) Rodger MA, Carrier M, Le Gal G, Martinelli I, Perna A, Rey E, de Vries JI, Gris JC; Low-Molecular-Weight Heparin for Placenta-Mediated Pregnancy Complications Study Group: Meta-analysis of low-molecular-weight heparin to prevent recurrent placenta-mediated pregnancy complications. *Blood* **123**: 822–828, 2014.
- 35) Greer IA, Brenner B, Gris JC: Antithrombotic treatment for pregnancy complications: which path for the journey to precision medicine? *Br J Haematol* **165**: 585–599, 2014.