

A PROSPECTIVE STUDY OF PREGNANCY OUTCOMES IN RELATION TO PLASMA HOMOCYSTEINE CONCENTRATION AND METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE GENE POLYMORPHISM

S. Murakami, M. Saitoh, S. Miyakawa*, M. Syouji**, T. Kubo

Dept. of Ob & Gyn, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba, Japan

* Dept. of Ob & Gyn, Sogo Moriya Daiichi Hospital, Ibaraki, Japan

** Dept. of Ob & Gyn, Syouji Hospital, Ibaraki, Japan

Objective : To evaluate prospectively the relationship of plasma homocysteine concentration (HCY) during the first trimester and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and pregnancy outcomes.

Materials : Blood samples were collected from 840 pregnant women during 6 to 12 weeks' gestation. Patients having hypertension, renal diseases were excluded, and a total of 703 women were enrolled into the study.

Methods : After oral informed consent had been obtained, HCY and MTHFR gene polymorphism were determined by an amino acid autoanalyzer, PCR/RFLP method, respectively. **Results :** The HCY in homozygotes for the T677 allele were significantly elevated compared with other genotypes ($p < 0.0001$). The frequency of spontaneous abortion and severe preeclampsia (PE) were not significantly different in the three genotypes of MTHFR gene. On the contrary, hyperhomocysteinemic ($HCY > \text{mean} + 1.96SD$) women showed significantly higher frequency of spontaneous abortion and PE ($p < 0.05$). **Conclusion :** Our results suggest that HCY is useful to predict the onset of spontaneous abortion and PE.

血漿ホモシステイン濃度およびMethylenetetrahydrofolate reductase 遺伝子 C677T多型と妊娠予後に関する前方視的研究

筑波大学臨床医学系産婦人科, 総合守谷第一病院産婦人科*, 庄司産婦人科小児科医院**
村上 聡, 斉藤正博, 宮川創平*, 庄司 誠**, 久保武士

【目的】

近年、高ホモシステイン血症および5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子C677T多型は、重症妊娠中毒症 (PE) の危険因子のひとつとして注目されている。

妊娠初期における血漿総ホモシステイン濃度 (HCY) の上昇およびMTHFR遺伝子C677T多型と、胎児心拍確認後の流産あるいはPE発症との関係を前方視的に検討する。

【対象】

1996年1月から98年2月までに筑波大学附属病院, 総合守谷第一病院, 庄司産婦人科小児科医院にて採血した妊娠6~12週の妊婦840名を対象とした。このうち明らかなPE high risk症例 (腎疾患合併, 前回PE発症)13例, 転帰不明82例, 現在妊娠継続中15例, MTHFR遺伝子多型分析不能27例を除いた703名について検討を行った。統計学的検討にはStudent t-testとFischerの直接確率計算法を用いた。

【方法】

インフォームドコンセントを得た後空腹時にEDTA採血し, 遠心分離後2-メルカプトエタノールで還元, アミノ酸自動分析装置 (DLC-300, 日本電子) にてHCYを定量した。

一方, ゲノムDNAをPCR法にて至適条件下で増幅し, 制限酵素HinfIで切断後, 電気泳動にてMTHFR genotypeを分析した。

【結果】

MTHFR遺伝子多型の頻度は, CC : CT : TT (%) = 244 (34.7) : 339 (48.2) : 120 (17.1) であった。また, 各遺伝子型のHCY (平均±SD) は, 表1. MTHFR遺伝子多型とHCY

genotype	n (%)	HCY (平均±SD, nmol/ml)
CC	244 (34.7)	5.87±1.44*
CT	339 (48.2)	6.17±1.87*
TT	120 (17.1)	7.51±2.87

* $p < 0.0001$ vs TT

表2. MTHFR遺伝子多型と流産およびPE

genotype	n	流産 (%)	PE (%)
CC	244	5 (2.0)	2 (0.8)
CT	339	9 (2.7)	1 (0.3)
TT	120	2 (1.7)	2 (1.7)

5.84 ± 1.44 : 6.17 ± 1.87 : 7.51 ± 2.87 nmol/mlであり, TT群は他の2群と比較して有意に高値を示した ($p < 0.0001$, 表1)。

胎児心拍確認後の流産は16例 (2.3%), PEの発症は5例 (0.7%)に認められたが, それぞれのMTHFR遺伝子多型の頻度は表2の通りであり, 各遺伝子型において有意差は認めなかった。

一方, 平均 + 1.96SDのHCYをcut off値とすると, 胎児心拍確認後の流産は高HCY群: 正HCY群 (%) = 3/33 (9.1) : 13/670 (1.9), PEは2/33 (6.1) : 3/670 (0.4)で, いずれも高HCY群で有意に高頻度であった ($p < 0.05$, 表3)。

【考察】

我々は本学会で, 重症妊娠中毒症患者において有意に血漿ホモシステイン濃度が高いことを報告した¹⁾。ホモシステインは, 必須アミノ酸であるメチオニンの代謝過程で生成される含硫アミノ酸で, ビタミンB₆やB₁₂, 葉酸の欠乏などで血中濃度が上昇する。一方, MTHFRはホモシステインをメチオニンにremethylationする酵素であるが, 同遺伝子T677のホモ接合型では, 酵素活性が約40%に低下するため血漿ホモシステイン濃度が上昇する^{2,3)}。さらに妊娠中毒症患者においては, TT型が有意に高頻度であるという報告もある⁴⁾。

今回の研究では, TT型において有意に血漿ホモシステイン濃度の上昇を認めたが, MTHFR遺伝子C677T多型と重症妊娠中毒症発症あるいは胎児心拍確認後の流産との相関は

表3. 高HCY血症と流産およびPE

	n	流産 (%)	PE (%)
高HCY*	33	3 (9.1)**	2 (6.1)**
正HCY	670	13 (1.9)	3 (0.4)

* HCY > 平均 + 1.96SD

** $p < 0.05$ vs 正HCY

認めなかった。したがって重症妊娠中毒症の発症をMTHFR遺伝子C677T多型のみで説明することは不可能であるが, その危険因子にはなり得ると考えられた。

一方で高ホモシステイン血症患者においては, 重症妊娠中毒症発症や胎児心拍確認後の流産が有意に高頻度であり, これまでのわれわれの報告を裏付ける結果であった。

しかし, 今回の研究は前方視的に検討を行ったため, 重症妊娠中毒症発症は5例 (0.7%)と少なく, 今後さらに検討が必要である。

【文献】

1. 村上 聡 他: 重症妊娠中毒症患者における血漿総ホモシステインおよびs-Fas濃度に関する検討 日本妊娠中毒症学会誌 1996; vol. 4: 149-50.
2. Frosst P. et al.: A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-3.
3. Ou T. et al.: Methylenetetrahydrofolate reductase and apolipoprotein E polymorphism are independent risk factors for coronary heart disease in Japanese: a case-control study. *Atherosclerosis* 1998; 137: 23-28.
4. Sohda S. et al.: methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997; 34: 525-26.