大韓不妊學會誌: 第28卷 第3號 2001
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 28, No. 3, 2001, 9

반복자연유산에서 12번 응고인자 결핍증에 대한 연구

포천중문의과대학 산부인과학교실, 유전학연구실*, 임상병리학교실**, 내과학교실***

남윤성 · 김남근* · 이수만* · 강명서** · 오도연*** · 차광렬

A Study of Factor XII Deficiency in Recurrent Spontaneous Abortion

Yoon Sung Nam, Nam Keun Kim*, Su Man Lee*, Myung Seo Kang, Doyeon Oh***, Kwang Yul Cha**

Department of Obstetrics and Gynecology, Department of Genetics, Department of Clinical Pathology**, Department of Internal Medicine***, College of Medicine, Pocheon CHA University, Pocheon, Korea*

Objective: To evaluate factor XII deficiency in patients with recurrent spontaneous abortion and its relation to aPTT.

Material and Method: Factor XII was analyzed by clotting method.

Results: Of 70 patients with recurrent spontaneous abortion, there were 35 cases of factor XII deficiency. Among them, there were only 3 cases of prolonged aPTT.

Conclusions: It is still unclear whether factor XII deficiency is related to recurrent spontaneous abortion. Molecular approaches should be used to understand further the causal relationship. But based on this result, in the workup of patients with recurrent spontaneous abortion, factor XII should be included. aPTT is not likely to represent the abnormality of factor XII.

Key Words: Factor XII deficiency, aPTT, Recurrent spontaneous abortion

12번 응고인자는 혈액응고의 내적경로 (intrinsic pathway)의 시작에 중요한 역할을 하는 단백효소 (protease)이며 섬유소용해 (fibrinolysis)와 bradykinin 형성에도 관여한다. 반감기는 생체 내에서 50~70시간 정도이다. 12번 응고인자 결핍증은 1번, 8번, 13번 응고인자 결핍증과는 달리 증상이 거의 없기 때문에 진단하기 어렵다. 선천적인 12번 응고인자 결핍증은 임상적인 출혈경향과는 관련이 없지만 통상적인 응고검사에서 활성화 부분 트롬보프라스틴 시간 (activated partial thromboplastin time: aPTT)이 연장되는 것으로 진단할 수 있다. 12번 응고인자 결핍증은 상염색체 열성으로 유전된다. 전체 인구 중 12번 응고인자 결핍증의 빈도는 1.5~3.0%인 것으로 알려져 있으며 12번 응고인자의 활성이 없거나 aPTT가 120초 이상 연장되는 경우는 0.3%에 불과하다. aPTT가 연장되는 다른 질환으로는 루프스 항응고인자 (lupus anticoagulant), 8번 응고인자 결핍증, 간질환 등을 들 수 있다.

12번 응고인자 결핍증은 동맥과 정맥의 혈전색전증 (thromboembolism)을 일으킨다고 알려져 있다. 12번 응고인자 결핍증이 임신 중 어떤 질환을 일으키는가에 대해서는 아직도 분명하지 않다. 그렇지만 반복유산과 태반박리가 12번 응고인자 결핍증에서 보고된 적이 있다. 12번 응고인자 결핍증은 전신적인 정맥혈전보다는 태아와 모체간의 관계를 통하여 배아발달에 중요한 역할을 하는지도 모른다. 융합영양막 (syncytiotrophoblast) 혹은 자궁 나선동맥 (spiral artery)의 혈전색전증이 초기유산과 관련이 있을지도 모른다. 최근 혈액응고인자가 임신을 유지하는데 어떤 역할을 한다는 사실이 보고되었다. 태반이 자궁

Table 1. The prevalence of decreased FXII in patients with recurrent spontaneous abortion

Normal FXII	35
Decreased FXII	35
Total	70

Table 2. The prevalence of prolonged aPTT in patients with decreased FXII

Normal aPTT	32
Prolonged aPTT	3
Total	35

에 부착하는데는 fibrinogen과 13번 응고인자가 관여한다고 알려졌다.

저자들은 반복자연유산을 호소하는 환자에서 12번 응고인자 결핍증의 빈도와 aPTT와의 상관관계를 조사하기 위하여 본 연구를 시행하였다.

연구 대상 및 방법

1998년 1월 1일부터 2000년 12월 31일까지 차병원 불임크리닉을 방문한 반복자연유산 환자 70명을 대상으로 응고법을 이용하여 12번 응고인자를 측정하였다. 결과는 ACL 3000 plus (Italy)를 이용하여혈괴형성에 따른 탁도변화를 측정하였다.

1. kit 상품명

Dade Factor 12 Deficient Plasma

2. kit 제조사

Dade International Inc

3. 과 정

1) 환자의 혈장으로 PT, PTT를 측정한다.

2) 환자의 혈장 0.2 ml과 Owerns beronal buffer 0.8 ml로 희석한다 (5배).

3) Normal calibrator 0.2 ml과 Owerns beronal buffer 0.8 ml로 희석한다 (5배).

4) 희석한 normal calibrator를 pool position에 장착하고 환자의 혈액을 tray에 장착한다.

5) Single mode에서 high curve를 지정한 후 12번 응고인자의 상수값을 입력한다.

6) 결과가 15% 이하인 것은 high curve에서 측정하기 곤란하므로 low curve를 작성한다.

7) 환자의 혈액은 5배 희석한 것을 그대로 사용한다.

8) Normal calibrator는 80배 희석하여 pool position에 장착한다.

4. 결과 계산

결과는 %로 계산되며 이것은 12번 응고인자의 농도를 의미한다.

결 과

70명의 반복자연유산 환자 중 12번 응고인자 결핍증이 있는 경우는 35명으로 그 빈도는 50%였다 (Table 1). 그 중 aPTT가 연장된 경우는 3명으로 12번 응고인자 결핍증과 aPTT는 큰 연관성이 없는 것으로 추정되었다 (Table 2).

고 찰

12번 응고인자는 간세포에서 생성되고 분비되는 serine protease의 전구물질로 혈액응고의 내적경로 (intrinsic pathway), 섬유소용해 (fibrinolysis), bradykinin 생성, 보체계 (complement system)에 관여한다. 12번 응고인자는 COOH 말단부 촉매영역 (catalytic domain), 2개의 fibronectin형 영역, 표피성장인자 (epidermal growth factor) 영역, 섬유소용해에 관여하는 대부분의 단백질에서 발견되는 요소인 kringle 영역으로 구성되어 있다. 12번 응고인자 결핍증은 섬유소용해 활성에 장애를 초래하여 혈액응고 장애와 혈전기호증 전우병 (thrombophilia)을 유발한다. 반복되는 정맥혈전을 가진 환자에서는 12번 응고인자 결핍증이 자주 발견된다. 12번 응고인자 결핍증의 합병증으로는 폐색전증, 심근경색 같은 혈전색전증이 있다.

12번 응고인자는 5번 염색체에 위치해 있는 12 Kb의 단일 유전자에 의하여 해독되며 13개의 intron과 14개의 exon으로 구성되어 있다.[1] 효소원 (zymogen)의 NH_2 말단에 있는 putative signal 펩타이드 배열은 1번 exon에 있으며 2번 exon에 의해 해독되는 알

려지지 않은 유사체가 다음에 위치한다. Fibronectin이 collagen과 결합하는 성질과 유사한 제2형 부위는 2번과 4번 exon에 의하여 대표된다. 5번 exon은 표피성장인자 유사영역을 해독하고 이것 다음에는 wp1형 유사 혹은 6번 exon에 의하여 해독되는 fibrin finger가 위치한다. 7번 exon은 두번째의 표피성장인자 유사영역을 해독하고 kringle 구조와 8번, 9번 exon의 proline이 많은 부위에 선행한다. 12번 응고인자의 light chain은 5개의 exon (10~14번)에 의하여 해독되며 그 중 14번이 가장 크고 serine protease의 55개 아미노산 잔류물과 3'-untranslated end의 150 bp를 해독한다.[2]

12번 응고인자의 intron / exon 유전자는 조직형 (tissue-type) plasminogen 활성제와 유로키나제형 (urokinase-type) plasminogen 활성제 유전자의 serine protease군과 구조상으로 유사하다. 혈액 중 12번 응고인자의 농도는 31+8 μg/mL (0.375 μM)이다.[3,4] 인간의 간에서 12번 응고인자의 mRNA가 발현되고 배양된 쥐의 간에서는 12번 응고인자가 생성된다.[5] 폐경기 여성에서 여성호르몬을 투여하는 경우나 임산부에서는 12번 응고인자가 증가한다. Estrogen과 prolactin을 투여한 쥐의 간에서는 12번 응고인자가 증가한다.[6] 쥐의 12번 응고인자 DNA는 17β-estradiol에 결합하는 기능적인 estrogen 시발체 (promoter)의 요소를 가지고 있다.

12번 응고인자는 응고계와 kinin계 모두를 활성화시킨다. 이것은 간에서 만들어지고 비활성 효소원으로 혈중에 존재한다. 접촉활성시 12번 응고인자는 kallikrein에 의해 여러 장소에서 분해되어 효소적으로 활성화된 12번 응고인자를 생성한다. 12번 응고인자는 prekallikrein과 11번 응고인자를 활성화시킨다. 또 12번 응고인자는 자가활성화 기능이 있다.

1985년에 12번 응고인자의 아미노산 배열이 결정되었다.[7] 12번 응고인자 cDNA도 같은 해에 해독되었다. mRNA는 2,045개의 핵산염 (nucleotide)을 가지고 있으며 615개의 아미노산을 해독한다. 최근 12번 응고인자의 유전자를 가지고 있는 clone이 분리되고 밝혀졌다. 이 유전자는 약 12 kb이고 14개의 exon으로 구성되어 있다. 12번 응고인자의 유전자는 5번 염색체의 장완 33부위와 말단부 사이에 위치해 있다.[8,9]

12번 응고인자 결핍증은 출혈과는 관계가 없다. 사실 이 병이 발견된 최초의 환자는 폐색전증으로 사망하였다. 그래서 12번 응고인자가 정맥혈전증과 관계가 있다는 사실이 밝혀졌는데 여기에 대한 반론도 제시되었다.[10~12]

12번 응고인자 결핍증과 관련된 여러 개의 돌연변이가 보고되었는데 이때에는 PTT가 연장되고 임상적인 증상은 나타나지 않는다.[13,14] 첫번째 환자에서는 Cys571이 Ser으로 치환된 것으로 보고되었다. 이 경우 동형접합체 (homozygote)에서 12번 응고인자의 활성이 정상의 3%로 저하되었다.

12번 응고인자 결핍증을 가진 환자들은 PTT가 연장되지만 출혈경향은 없다.[15,16] 섬유소용해에서 접촉활성계의 역할은 이런 환자들에서 혈전경향에 대한 기전을 제공한다.[17] 이형접합체 (heterozygote)를 가진 환자의 10% 이상에서 정맥혈전증이 발생했다는 보고가 있다.[18,19] 가족력이 있는 환자를 대상으로 조사한 결과 혈전증이 발생했다는 보고도 있지만 결론적으로 부분적인 12번 응고인자 결핍증은 혈전증을 일으키지 않는다.[20] 심부정맥혈전 (deep vein thrombosis) 환자와 정상인에 대한 연구에서 12번 응고인자 결핍증이 혈전과 관계가 없다는 사실도 보고되었다. 심부정맥혈전이 재발되는 환자에서 응고인자 결핍증은 정상인과 차이가 없지만 동맥혈전 질환에서는 이것이 증가한다는 보고도 있다.[21] 이런 보고들의 결론이 모두 일치하는 것은 아니지만 응고인자 결핍증의 이형접합체를 가진 환자가 혈전의 위험성이 있는 것은 아니라는 것이 정설이다. 그러나 심한 결핍증이 있으면 혈전이 일어난다는 사실을 배제할 수는 없다.

12번 응고인자 결핍증은 드물게 일어나는 상염색체 열성질환이다. 이 질환은 임상적인 출혈경향과는 연관이 없지만 aPTT가 연장되는 것으로 진단할 수 있다. 최근 12번 응고인자 결핍증이 있는 여성에서 유산이 증가한다는 사실이 보고되었다.[22,23] 원인불명의 반복유산에서 12번 응고인자 결핍증의 빈도는 2.9~9.4% 정도이다[24,25] 여기에서 12번 응고인자 결핍증과 섬유소용해 감소증 (hypofibrinolysis)이 원인불명의 원발성 반복유산에서 가장 흔히 발견되는 혈액응고 이상인데 반하여 von Willebrand병, 섬유소원 결핍증 (fibrinogen deficiency), antithrombin 결핍증, C단백질 결핍증, S단백질 결핍증은 별로 관련이 없는

것으로 밝혀졌다. 또 12번 응고인자 결핍증이 있으면 태반박리와 조기진통이 생긴다는 보고도 있다.[26]

루프스 항응고인자 (lupus anticoagulant)가 양성인 환자에서는 12번 응고인자의 수치가 낮으며 그 중 20.9%에서 12번 응고인자 결핍증이 발견되었다.[27] 이 보고에서 12번 응고인자에 대한 항체가 루프스 항응고인자가 양성인 환자의 상당수에서 발견되었고 이것 때문에 12번 응고인자 결핍증을 잘못 진단하는 것이 아닌가 의심되었다. 이러한 관점에서 볼 때 유산의 원인은 12번 응고인자 결핍증 때문이 아니라 루프스 항응고인자 때문이 아닌가 추정된다. 12번 응고인자 항체와 항인지질 항체가 같이 존재하는 경우 12번 응고인자 결핍증이 있는 것처럼 보이고 이것이 반복유산의 원인이 될 수 있다.

12번 응고인자 유전자의 exon-intron 구조와 아미노산 배열은 간세포 성장인자 (hepatocyte growth factor: HGF) 활성제와 plasminogen 활성제의 serine protease 유전자군의 구조와는 유사하지만 응고인자군의 구조와는 다르다.[28] 12번 응고인자가 간세포 성장인자 활성제와 유사한 작용으로 간세포 성장인자를 활성화한다는 사실도 보고되었다.[29] 간세포 성장인자가 결핍된 쥐의 태아는 성장을 하지 못하고 자궁 내에서 사망하며 태반 특히 영양막 (trophoblast) 세포의 성장에 지장을 받는다.[30,31] 그러므로 12번 응고인자는 간세포 성장인자 활성화를 통하여 영양막과 태아의 성장을 촉진하는 생리적인 역할을 하는 것으로 추정되며 이것이 부족하면 조기유산을 일으키는 것으로 알려져 있다.[25] 이것이 12번 응고인자 결핍증에서 반복유산을 초래하는 기전으로 생각된다. 여기에 대하여 더 자세히 알기 위해서는 12번 응고인자에 대한 분자생물학적인 접근이 필요하다.

참 고 문 헌

1. Cool DE, MacGillivray RT. Characterization of the human blood coagulation factor XII gene. Intron / exon gene organization and analysis of the 5'-flanking region. J Biol Chem 1987; 262: 13662-73.
2. Cool DE, Edgell CJ, Louie GV, Zoller MJ, Brayer GD, MacGillivray RT. Characterization of human blood coagulation factor XII cDNA. Prediction of the primary structure of factor XII and the tertiary structure of beta-factor XIIa. J Biol Chem 1985; 260: 13666-76.
3. Revak SD, Cochrane CG, Johnston AR, Hugh TE. Structural changes accompanying enzymatic activation of human Hageman factor. J Clin Invest 1974; 54: 619-27.
4. Saito H, Ratnoff OD, Pensky J. Radioimmunoassay of human Hageman factor (factor XII). J Lab Clin Med 1976; 88: 506-14.
5. Gordon EM, Gallagher CA, Johnson TR, Blossey BK, Ilan J. Hepataocytes express blood coagulation factor XII (Hageman factor). J Lab Clin Med 1990; 115: 463-9.
6. Gordon EM, Johnson TR, Ramos LP, Schmeidler-Sapiro KT. Enhanced expression of factor XII (Hageman factor) in isolated livers of estrogen and prolacitn-treated rats. J Lab Clin Med 1991; 117: 353-8.
7. McMullen BA, Fujikawa K. Amino acid sequence of the heavy chain of human alpha-factor XIIa (activated Hageman factor). J Biol Chem 1985; 260: 5328-41.
8. Royle NJ, Nigli M, Cool D, MacGillivray RT, Hamerton JL. Structural gene encoding human factor XII is located at 5q33-qter. Somat Cell Mol Genet 1988; 14: 217-21.
9. Citarella F, Tripodi M, Fantoni A, Bernardi F, Romeo G, Rocchi M. Assignment of human coagulation factor XII (fXII) to chromosome 5 by cDNA hybridization to DNA from somatic cell hybrids. Hum Genet 1988; 80: 397-8.
10. Lammle B, Wuillemin WA, Huber I. Thromboembolism and bleeding tendency in coagulation factor XII deficiency - a study on 74 subjects from 14 Swiss families. Thromb Haemost 1991; 65: 117-21.
11. Halbmayer WM, Mannhalter C, Feichtinger C, Rubi K, Fischer M. The prevalence of factor XII deficiency in 103 orally anticoagulated outpatients suffering from recurrent venous and / or arterial thromboembolism. Thromb Haemost 1992; 68: 285-90.

12. Koster T, Rosendaal FR, Briet E, Vandenbroucke JP. John Hageman's factor and deep vein thrombosis: Leiden thrombophilia study. Br J Haematol 1994; 87: 422-4.
13. Miyata T, Kawabata S, Iwanaga S, Takahashi I, Alving B, Saito H. Coagulation factor XII (Hageman factor) Washington D.C.: inactive factor XIIa results from Cys571 → Ser substitution. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 8319-22.
14. Schloesser M, Zeerleader S, Lutze G. Mutations in the human factor XII gene. Blood 1997; 90: 3967-77.
15. Ratnoff OD, Colopy JE. Familial hemorrhagic trait associated with deficiency of clot-promoting fraction of plasma. J Clin Invest 1955; 34: 602-8.
16. Saito H. Contact factor in health and disease. Semin Thromb Hemost 1987; 13: 36-49.
17. Colman RW, Schmaier AH. Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic antiadhesive, and proinflammatory attributes. Blood 1997; 90: 3819-43.
18. Mannhalter C, Fischer M, Hopmeier P, Deutsche E. Factor XII activity and antigen concentration in patients suffering from recurrent thrombosis. Fibrinolysis 1987; 1: 259-63.
19. Rodeghiero F, Castaman C, Ruggeri M. Thrombosis in subjects with homozygous and heterozygous factor XII deficiency (letter). Thromb Haemost 1992; 67: 590-1.
20. Zeerleder S, Schloesser M, Rodondo M, Wuillemin WA, Engel W, Furlan M. Reevaluation of the incidence of thromboembolic complications in congenital factor XII deficiency. Thromb Haemost 1999; 82: 1240-6.
21. Halbmayer WM, Haushofer A, Schon R. The prevalence of moderate and severe FXII (Hageman factor) deficiency among the normal population: evaluation of the incidence of FXII deficiency among 300 healthy blood donors. Thromb Haemost 1994; 71: 68-72.
22. Braulke P, Pruggmayer M, Melloh P, Hinney B, Kostering H, Gunther E. Factor XII (Hageman) deficiency in women with habitual abortion: new subpopulation of recurrent aborters? Fertil Steril 1993; 59: 98-101.
23. Schved JF, Gris JC, Neveu S, Dupaigne D, Mares P. Factor XII congenital deficiency and early spontaneous abortion. Fertil Steril 1989; 52: 335-6.
24. Gris JC, Ripart-Neveu S, Maugard C. Respective evaluation of the prevalence of haemostasis abnormalities in unexplained primary early recurrent miscarriages. The Nimes Obstetricians and Haematologist (NOHA) Study. Thromb Haemost 1997; 77: 1096-103.
25. Yamada H, Kato EH, Ebina Y. Factor XII deficiency in women with recurrent miscarriage. Gynecol Obstet Invest 2000; 49: 80-3.
26. Lao TT, Lewinsky RM, Ohlsson A, Cohen H. Factor XII deficiency and pregnancy. Obstet Gynecol 1991; 78: 491-3.
27. Jones DW, Gallimore MJ, Harris SL, Winter M. Antibodies to factor XII associated with lupus anticoagulant. Thromb Haemost 1999; 81: 387-90.
28. Miyazawa K, Wang Y, Minoshima S, Shimizu N, Kitamura N. Structural organization and chromosomal localization of the human hepatocyte growth factor activator gene -- phylogenetic and functional relationship with blood coagulation factor XII, urokinase, and tissue-type plasminogen activator. Eur J Biochem 1998; 258: 355-61.
29. Shimomura T, Miyazawa K, Komiyama Y. Activation of hepatocyte growth factor by two homologous proteases, blood-coagulation factor XIIa and hepatocyte growth factor activator. Eur J Biochem 1995; 229: 257-61.
30. Uehara Y, Minowa O, Mori C. Placental defect and embryonic lethality in mice lacking hepatocyte growth factor / scatter factor. Nature 1995; 373: 702-5.
31. Schmidt C, Bladt F, Goedecke S. Scatter factor / hepatocyte growth factor is essential for liver development. Nature 1995; 373: 699-702.