



日本人small-for-gestational age児における血管内皮増殖因子遺伝子多型の関与の検討

藤岡, 一路 ; 森岡, 一郎 ; 長坂, 美和子 ; 香田, 翼 ; 松尾, 希世美 ; 横田, 知之 ; 森川, 悟 ; 三輪, 明弘 ; 柴田, 暁男 ; 山田, 秀人 ; 飯島, 一誠

(Citation)

日本未熟児新生児学会雑誌, 25(2):105-110

(Issue Date)

2013-06

(Resource Type)

journal article

(Version)

Version of Record

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90002549>



日本人small-for-gestational age児における 血管内皮増殖因子遺伝子多型の関与の検討

*¹ 神戸大学医学部附属病院 周産母子センター, *² 神戸大学大学院医学研究科 内科系学講座小児科学分野

藤岡一路*^{1*2}・森岡一朗*^{1*2}・長坂美和子*²・香田 翼*²・松尾希世美*²・横田知之*²
森川 悟*²・三輪明弘*^{1*2}・柴田暁男*²・山田秀人*¹・飯島一誠*^{1*2}

Key Words : allele, genotype, pregnancy induced hypertension, small-for-gestational age, vascular endothelial growth factor

要 旨

背景：血管内皮増殖因子（VEGF）は、胎生期の血管形成や胎盤血管形成において重要な役割を果たしている。その VEGF 遺伝子多型は種々の周産期の疾患への関与が報告されているが、small-for-gestational age（SGA）児への関与については明らかではない。

対象・方法：神戸大学病院周産母子センターに入院した初産の新生児のうち、出生体重が在胎週数の平均の発育より -1.5 SD を下回った児 41 例を SGA 群、在胎週数通りの発育を遂げた児 44 例を AGA 群とした。奇形症候群、染色体異常は除外した。2 群間において、VEGF 遺伝子型を周産期背景因子と共に比較検討した。

結果：2 群間の周産期背景因子は、妊娠高血圧症候群の割合が SGA 群で有意に多かった。VEGF 遺伝子型のアリル頻度は、-1498T>C の T アリル頻度、-634C>G の C アリル頻度が SGA 群で有意に高かった。また、遺伝子型頻度は、-1498T>C の CC 型が SGA 群で有意に少なく、-634C>G の CC 型が SGA 群で有意に多かった。多変量解析の結果、妊娠高血圧症候群とともに -634C>G の CC 型が SGA の有意な危険因子であった。

結論：VEGF -634C>G の CC 型は、SGA の発症に関与している可能性がある。

緒 言

我が国では、総出生数の減少にもかかわらず、低出生体重児の出生数は増加しており¹⁾、子宮内胎児発育不全（intrauterine growth restriction：IUGR）と、その結果生じる small-for-gestational age（SGA）児の増加は、低出生体重児増加の大きな原因となっている²⁾。また、SGA 児は appropriate-for-gestational age（AGA）児に比べ、新生児死亡率／罹病率、後障害発生率が高く、また成人期生活習慣病発症リスクが高いことが明

らかになっており、その病態解明は近年重要な課題となっている^{2) 3)}。

我々は単一施設の入院症例における検討で、重症 SGA 児の主因は、胎盤・臍帯因子、母体因子が胎児因子よりも多いことを報告した⁴⁾。胎盤・臍帯因子の主な病態である胎盤形成障害、母体因子の主な病態である妊娠高血圧症候群の発症には遺伝的素因が強く関与することが示唆されており^{5) 6)}、ともに血管新生の異常を本態とする^{7) 8)}。以上より、我々は血管新生に関与する遺伝子の遺伝子多型が SGA の発症に関与するという仮説を立てた。

血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor：VEGF）は血管新生を担う主要因子の一つである。

別刷請求先：〒 650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-2
神戸大学医学部附属病院周産母子センター
小児科 森岡一朗

VEGF 遺伝子 (gene symbol: *VEGFA*, gene ID: 7422) は8個のエクソンと7個のイントロンにより構成され、染色体 6q21.3 に存在する。その遺伝子多型が *VEGF* 蛋白発現に影響を与えることが知られている⁹⁾。また、*VEGF* は胎生期の血管形成や胎盤血管形成において重要な役割を果たしていること^{10)~13)}、*VEGF* ノックアウトマウスは胎生致死となることから胎児成長に欠かせない因子であることがわかっている¹⁴⁾。

近年、*VEGF* 遺伝子の転写調節領域の一塩基多型が未熟児網膜症⁹⁾、妊娠高血圧腎症¹⁵⁾、習慣流産¹⁶⁾などの周産期疾患リスクと関連することが報告されている一方、日本人の SGA 児における *VEGF* 遺伝子多型の関与については明らかではない。本研究の目的は日本人の SGA 児において *VEGF* 遺伝子多型が関与しているかを明らかにすることである。

対象・方法

2002 年から 2011 年までの期間に神戸大学医学部附属病院周産母子センターに入院した初産の母親から出生した日本人の新生児で、保護者の書面による同意を得られた 85 例を対象とした。在胎週数の決定は母の最終月経より計算し、妊娠初期の胎児超音波所見を参考に修正した。正確な在胎週数の決定が困難な未受診妊婦からの出生児、胎児因子である奇形症候群、染色体異常は除外した。本研究は当院倫理委員会の承認のもと行った。

出生体重が日本人における在胎週数の平均の発育¹⁷⁾より -1.5 SD を下回った児 41 例を SGA 群、在胎週数通りの発育を遂げた児 44 例を AGA 群とした。仁志田らの指摘に基づき、新生児期の異常発生リスクの高い児を抽出する目的で、SGA を出生体重 -1.5SD 未満と定義した^{18) 19)}。出生体重、出生体重の SD 値、在胎週数、アプガースコア 1 分値、5 分値、性別、多胎、切迫早産、前期破水 (破水後 24 時間以上経過してからの児娩出)、妊娠高血圧症候群 (母体の妊娠中の収縮期血圧 >140mmHg または拡張期血圧 >90mmHg)、母体年齢、母体喫煙、不妊治療の有無の各周産期データについて診療録を用いて後方視的に収集した。2 群間において、周産期背景因子と *VEGF* 遺伝子型 (アリルと遺伝子型) の頻度を比較検討した。また、胎児発育へ及ぼす影響を調べる目的で、SGA 群を既報の Ponderal index ($PI = \text{Weight (g)} / \text{Length (cm)}^3 \times 100$) に基づいて symmetrical SGA

群 ($PI \geq 2.2$) と asymmetrical SGA 群 ($PI < 2.2$) に分け^{20) 21)}、アリルと遺伝子型頻度の比較検討も行った。

統計学的検討は、2 群の連続変数の比較には Mann-Whitney U-test を、2 群の名義変数の比較には Fisher の直接確率計算法を用いて行い、多変量解析は JMP 8.0.2 (SAS Institute Japan, Tokyo) を用いてロジスティック回帰分析にて施行した。p 値 < 0.05 を有意差ありとした。

VEGF 遺伝子多型解析

疾患関連多型として過去に報告のある *VEGF* 一塩基多型: -1498T>C (rs833061), -1154G>A (rs1570360), -634C>G (rs2010963), -7C>T (rs25648), 936C>T (rs3025039), 1612G>A (rs10434) を解析対象とした⁹⁾。各々の *VEGF* 遺伝子多型のマイナーアリルは日本人において少なくとも 10% 以上存在することが確認されている⁹⁾。

対象児の臍帯、臍帯血、頬粘膜を採取し、DNeasy Tissue Kit (Qiagen) または QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) を用いて、添付文書に従って DNA 抽出を行い、Polymerase Chain Reaction (PCR) の試料とした。各一塩基多型の多型部位を含む DNA 断片を、Gene Amp PCR Reagent Kit (Takara Shuzo, Kyoto, Japan) または Hot Star Taq Plus Master Mix Kit (Qiagen) を用いて、添付文書に従って PCR 法により増幅した。プライマーは既報をもとに設計した⁹⁾。アガロースゲル電気泳動により PCR 産物の塩基長を確認した後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて直接シーケンス法により遺伝子多型の決定を行った。

結 果

解析対象となった DNA の由来は各々、臍帯 68 例、臍帯血 1 例、頬粘膜 16 例であった。周産期背景因子に関して、在胎週数、アプガースコア 1 分 / 5 分、性別、多胎、切迫早産、前期破水、母体年齢、母体喫煙、不妊治療に 2 群間で有意差を認めなかった。SGA 群では AGA 群と比較して、出生体重、出生体重の SD 値が有意に低く、妊娠高血圧症候群の割合が有意に高かった (表 1)。

VEGF アリル頻度の比較では、-1498T>C の T アリル頻度が 68/82 (82.9%) 対 60/88 (68.2%) と SGA

表1 SGA群とAGA群の周産期背景因子の比較

	SGA, n=41	AGA, n=44	p 値
出生体重 (g)	1,224 (430 ~ 2,070)	1,771 (598 ~ 3,800)	<0.01
出生体重 (SD)	-2.4 (-1.5 ~ -3.8)	0.1 (-1.4 ~ 2.1)	<0.01
在胎週数	32 (24 ~ 38)	32 (23 ~ 41)	0.48
アプガースコア 1 分	8 (2 ~ 10)	8 (0 ~ 9)	0.84
アプガースコア 5 分	9 (3 ~ 10)	9 (0 ~ 10)	0.84
性別 (男児) (%)	27/41 (65.9%)	26/44 (59.1%)	0.52
多胎 (%)	10/41 (24.4%)	7/44 (15.9%)	0.33
切迫早産 (%)	10/41 (24.4%)	16/44 (36.4%)	0.23
前期破水 (%)	5/41 (12.2%)	8/44 (18.2%)	0.44
妊娠高血圧症候群 (%)	14/41 (34.1%)	0/44 (0.0%)	<0.01
母体年齢	32 (18 ~ 47)	31 (19 ~ 47)	0.42
母体喫煙 (%)	1/41 (2.4%)	4/44 (9.1%)	0.19
不妊治療 (%)	14/41 (34.1%)	8/44 (18.2%)	0.08

表2 SGA群とAGA群の VEGF 遺伝子多型アリル頻度の比較

	アリル	SGA, n=82	AGA, n=88	p 値
-1498T>C	T/C	68/14	60/28	0.026
-1154G>A	G/A	73/9	75/13	0.461
-634C>G	C/G	43/39	31/57	0.024
-7C>T	C/T	73/9	70/18	0.091
936C>T	C/T	63/19	69/19	0.805
1612G>A	G/A	74/8	74/14	0.232

群で有意に高く、-634C>G の C アリル頻度が 43/82 (52.4%) 対 31/88 (35.2%) と SGA 群で有意に高かった。-1154G>A, -7C>T, 936C>T, 1612G>A のアリル頻度に 2 群間で有意差を認めなかった (表 2)。

次に、VEGF 遺伝子型頻度の比較では、-1498T>C の CC 型が 1/41 (2.4%) 対 7/44 (15.9%) と SGA 群で有意に低く、-634C>G の CC 型が 14/41 (34.1%) 対 6/44 (13.6%) と SGA 群で有意に高かった。-1154G>A, -7C>T, 936C>T, 1612G>A の遺伝子型頻度に 2 群間で有意差を認めなかった (表 3)。

次に、抽出された二つの VEGF 多型 (-1498T>C, -634C>G) が胎児発育へ及ぼす影響を調べる目的で、SGA 群 41 例を symmetrical SGA 群 23 例と asymmetrical SGA 群 18 例に分け、サブ解析を行った。結果、-634C>G と -1498T>C のアリルと遺伝子型頻度に 2 群間で有意差はなかった。

続いて、単変量解析で 2 群間に有意差を認めた周産期背景因子のうち出生体重、出生体重の SD 値を除き、残った妊娠高血圧症候群に、-634C>G の CC 型と -1498T

表3 SGA群とAGA群の VEGF 遺伝子型頻度の比較

	遺伝子型	SGA, n=41	AGA, n=44
-1498T>C	TT/TC/CC	28/12/1 *	23/14/7
-1154G>A	GG/GA/AA	32/9/0	31/13/0
-634C>G	CC/CG/GG	14 ** /16/11	6/19/19
-7C>T	CC/CT/TT	32/9/0	27/16/1
936C>T	CC/CT/TT	22/19/0	26/17/1
1612G>A	GG/GA/AA	33/8/0	31/12/1

* -1498T>C の CC 型 :

SGA, 1/41 (2.4%) vs. AGA, 7/44 (15.9%), p=0.034

** -634C>G の CC 型 :

SGA, 14/41 (34.1%) vs. AGA, 6/44 (13.6%), p=0.026

>C の CC 型を加えてロジスティック回帰分析を行ったところ、妊娠高血圧症候群 (p<0.0001)、-634C>G の CC 型 (p<0.05) が SGA の有意な危険因子であった。

多変量解析の結果、妊娠高血圧症候群が SGA の圧倒的に有意な危険因子であったため、妊娠高血圧症候群の母体から出生した児 14 例を除いたサブグループ (SGA 群 : 27 例と AGA 群 : 44 例) において -634C>G と -1498T>C のアリルと遺伝子型頻度を比較検討した。結果、-634C>G の C アリル頻度が SGA 群 : 31/54 (57.4%) 対 AGA 群 : 31/88 (35.2%) と SGA 群で有意に高かった (p=0.010)。-1498T>C のアリル頻度に 2 群間で有意差はなかった。また、遺伝子型では、-634C>G の CC 型が SGA 群 : 10/27 (37.0%) 対 AGA 群 : 6/44 (13.6%) と SGA 群で有意に高かった (p=0.022)。-1498T>C の遺伝子型頻度に 2 群間

で有意差はなかった。

考 察

IUGR および SGA 発症に関与する遺伝的素因としては、主に胎児発育を直接的に障害するタイプ、主に胎盤形成に影響しその結果胎児発育を間接的に障害するタイプ、胎児・胎盤両者に影響するタイプに分類されるが、現在まで胎児発育に直接的に関与する遺伝的素因が主に明らかにされてきた²²⁾。現在、IUGR への関与が確立されている遺伝的素因は、IGF1 遺伝子異常症、IGF1 受容体遺伝子異常症、インスリンおよびインスリン受容体遺伝子異常症などの単一遺伝子疾患、第 7 染色体母親性ダイソミーや第 14 染色体母親性ダイソミーなどのインプリンティング疾患など極めて限定的である²²⁾。

IUGR および SGA と関連する遺伝子多型としては、先天性血栓形成素因、サイトカイン、生体内毒素代謝酵素、代謝・成長因子、内分泌ホルモンなどの遺伝子多型が報告されている²³⁾。日本人における検討では、*CYP17* 遺伝子多型²⁴⁾、*catechol-O-methyltransferase (COMT)* 遺伝子多型²⁵⁾、インスリン様成長因子遺伝子多型^{26) 27)}、アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型²⁸⁾などが胎児発育不全に関与するとの報告がある。我々の調べた限り、SGA 児で *VEGF* 遺伝子多型の関与を検討した報告はなかった。SGA に関与する周産期因子としては、子癇前症と *VEGF* 遺伝子多型の関連を検討したメキシコからの報告が一件あったが、有意な関連はなかった²⁹⁾。

今回我々は、胎児発育を直接的に障害する血管新生系遺伝子の遺伝子多型に着目し、SGA を発症した新生児の *VEGF* 遺伝子多型の解析を行った。結果として、*VEGF* 遺伝子多型 -634C>G の CC 型を児が有することが、日本人における SGA の危険因子である可能性が示された。SGA は、胎児期より IUGR を呈すが、IUGR 児の胎盤では正常産 AGA 児の胎盤と比較して *VEGF* 発現の亢進が報告されており、*VEGF* の過剰発現が病的血管新生に関与することが示唆されている¹³⁾。*VEGF* -634C>G (rs2010963) 遺伝子多型は、最も広く検討されている *VEGF* 遺伝子多型の一つであり、現在までに慢性心不全患者の予後不良例³⁰⁾、増殖性糖尿病性網膜症³¹⁾、本体型高血圧症³²⁾などとの関連が報告されている。Awata らは、日本人において *VEGF* -634C>G

の C アリルは非増殖性の糖尿病性網膜症の独立した危険因子であり、また日本人健康成人において -634C>G の CC 型を持つ者は、それ以外の型保持者と比較して血清 *VEGF* 濃度が有意に高いと報告した³³⁾。

PI を用いた SGA 群のサブ解析の結果から、*VEGF* -634C>G の CC 型は胎児発育というよりも児の体重増加に影響することが示唆された。IUGR 児の胎盤では絨毛膜絨毛間質細胞の *VEGF* 発現が亢進していると報告があり¹³⁾、胎児が *VEGF* -634C>G の CC 型を有する場合、胎児側胎盤の *VEGF* 発現を亢進させる結果、胎盤の異常血管新生を介して、母体の妊娠高血圧症候群とともに IUGR 発症を促し、日本人における SGA 発症に関与するのではないかと考えた。

本検討にはいくつかの解決すべき問題点が含まれている。第 1 に、経産回数を重ねることによる出生体重低下の影響を調整する目的で、対象を初産婦からの出生児に絞ったため、十分な症例数を確保することができなかった。より多数例を用いた前方視的検討による確認が必要であると考ええる。第 2 に、母体の遺伝子多型解析を行っていないことから、母体の遺伝的素因が IUGR/SGA 発症に与える影響を除外できていない。しかしながら、母体と胎児の遺伝子多型をペアで解析した研究において SGA リスクとなる遺伝子多型は母体と胎児でほとんど一致しないことや SGA のリスクとなる遺伝子多型を母体が有したとしても、多くの場合 SGA のリスクとならないことが示されている^{34) 35)}。本検討において、児の *VEGF* -634C>G 多型は妊娠高血圧症候群を除いても SGA の危険因子であったことから、*VEGF* -634C>G 多型は母体と独立して SGA と関連していると推測する。最後に、本検討では、児において非侵襲的に採取した検体を用いることを前提に保護者から同意を得ていたために、母体採血を含む遺伝子解析を行えなかった。しかしながら、胎児発育に最も影響を与える母体因子であると推測される妊娠高血圧症候群を含めて多変量解析を行った後も、なお *VEGF* -634C>G の CC 型は SGA 発症の危険因子であったことから、本結果は一定の意義を有すると考えられた。

結 論

VEGF -634C>G の CC 型は日本人における SGA 発症に関与している可能性が示唆された。

なお、本論文の内容の一部は第56回日本未熟児新生児学会学術集会（2011年、於：東京都）、Pediatric Academic Society Annual Meeting 2012（Boston, MA, USA）において発表した。本研究は、文部科学省「組織的な大学院教育改革推進プログラム」（藤岡一路）、文部科学省科学研究費補助金 若手研究B（藤岡一路、森岡一朗）、森永奉仕会研究奨励金（藤岡一路）の助成により行われた。

文 献

- Gluckman PD, Seng CY, Fukuoka H, et al. Low birthweight and subsequent obesity in Japan. *Lancet* 2007; 369: 1081-1082.
- 加部一彦. 子宮内発育遅延児の新生児管理. *産科と婦人科* 2008; 75: 996-999.
- 佐川典正. 胎児発育異常と胎児プログラミング説. *産科と婦人科* 2008; 75: 945-950.
- 藤岡一路, 森岡一朗, 三輪明弘他. 在胎週数相当の-2SD未満のSmall-for-Gestational-Age児の臨床像：単一施設の入院症例における検討. *神経学会誌* 2012; 28: 73-77.
- Sekita Y, Wagatsuma H, Nakamura K, et al. Role of retrotransposon-derived imprinted gene, Rtl1, in the fetomaternal interface of mouse placenta. *Nat Genet* 2008; 40: 243-248.
- Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet* 1993; 4: 59-61.
- 小出馨子, 関沢明彦, 岡井 崇. 産婦人科疾患と血管新生関連因子 - 妊娠高血圧症候群. *HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY* 2010; 17: 265-273.
- 永松 健, 藤井知行, 武谷雄二. 胎盤と血管新生. *HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY* 2010; 17: 258-264.
- Yagi M, Yamamori M, Morioka I, et al. VEGF 936C>T is predictive of threshold retinopathy of prematurity in Japanese infants with a 30-week gestational age or less. *Research and Reports in Neonatology* 2011; 1: 5-11.
- Regnault TR, Orbus RJ, de Vrijer B, et al. Placental expression of VEGF, PlGF and their receptors in a model of placental insufficiency-intrauterine growth restriction (PI-IUGR). *Placenta* 2002; 23: 132-144.
- Gurel D, Ozer E, Altunyurt S, et al. Expression of IGR-IR and VEGF and trophoblastic proliferative activity in placentas from pregnancies complicated by IUGR. *Pathol Res Pract* 2003; 199: 803-809.
- Baserga M, Bares AL, Hale MA, et al. Uteroplacental insufficiency affects kidney VEGF expression in a model of IUGR with compensatory glomerular hypertrophy and hypertension. *Early Hum Dev* 2009; 85: 361-367.
- Barut F, Barut A, Gun BD, et al. Intrauterine growth restriction and placental angiogenesis. *Diagn Pathol* 2010; 5: 24.
- 矢野聖二. VEGF ノックアウトマウス. *分子呼吸器病* 2008; 12: 76-79.
- Shim JY, Jun JK, Jung BK, et al. Vascular endothelial growth factor gene +936 C/T polymorphism is associated with preeclampsia in Korean women. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 271. e1-4.
- Jeon YJ, Kim JH, Rah H, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in spontaneously aborted fetuses. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66: 544-553.
- 小川雄之亮, 岩村透, 栗谷典量他. 日本人の在胎別出生時体格基準値. *日新生児会誌* 1998; 34: 624-632.
- 仁志田博司, 坂上正道, 倉智敬一. 日本人の胎児発育曲線（出生時体格基準曲線）. *日新生児会誌* 1984; 20: 90-97.
- Nishida H, Sakamoto S, Sakanoue M. New fetal growth curves for Japanese. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1985; 319: 62-67.
- Akram DS, Arif F. Ponderal index of low birth weight babies—a hospital based study. *J Pak Med Assoc* 2005; 55: 229-231.
- Kaur H, Bhalla AK, Kumar P. Longitudinal growth of head circumference in term symmetric and asymmetric small for gestational age infants. *Early Hum Dev* 2012; 88: 473-478.
- 緒方 勤, 伊達木澄人, 山澤一樹. 胎内発育に影響する因子：IUGRの遺伝的要因. In: 藤枝憲二, 板橋家頭夫, eds. SGA 性低身長症のマネジメント. 1 ed, 2009: 57-68.
- Yamada H, Sata F, Saijo Y, et al. Genetic factors in fetal growth restriction and miscarriage. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31: 334-345.
- Yamada H, Sata F, Kato EH, et al. A polymorphism in the CYP17 gene and intrauterine fetal growth restriction. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 49-53.
- Sata F, Yamada H, Suzuki K, et al. Functional maternal catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16: 775-781.
- Nagaya K, Makita Y, Taketazu G, et al. Paternal allele of IGF2 gene haplotype CTG is associated with fetal and placental growth in Japanese. *Pediatr Res* 2009; 66: 135-139.
- 長屋建, 藤枝憲二. 胎児発育障害とインスリン様成長因子 (IGFs) の役割. *日小児会誌* 2009; 113: 1195-1204.
- 中村英記, 岡本年男, 長屋建他. 母親のアンジオテンシン変換酵素多型は胎児発育と関連する. *日周産期・新生児会誌* 2008; 44: 437.
- Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Cortes-Flores R, et al. No association between polymorphisms/haplotypes of the vascular endothelial growth factor gene and preeclampsia. *BMC Pregnancy Childbirth* 2011; 11: 35.
- van der Meer P, De Boer RA, White HL, et al. The VEGF +405 CC promoter polymorphism is associated with an impaired prognosis in patients with chronic heart failure: a MERIT-HF substudy. *J Card Fail* 2005; 11: 279-284.
- Feghhi M, Nikzamir A, Esteghamati A, et al. Relationship of vascular endothelial growth factor (VEGF) +405 G/C polymorphism and proliferative retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Transl Res* 2011; 158: 85-91.
- Hamedian AA, Esteghamati A, Noshad S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) +405 C/G polymorphism is associated with essential hypertension in a population

- from Tehran of Iran. *Mol Biol Rep* 2012 ; 39 : 6213-6218.
- 33) Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002 ; 51 : 1635-1639.
- 34) Edwards DR, Romero R, Kusanovic JP, et al. Polymorphisms in maternal and fetal genes encoding for proteins involved in extracellular matrix metabolism alter the risk for small-for-gestational-age. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011 ; 24 : 362-380.
- 35) Uma R, Forsyth JS, Struthers AD, et al. Polymorphisms of the angiotensin converting enzyme gene in relation to intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010 ; 89 : 1197-1201.

Vascular Endothelial Growth Factor Genetic Polymorphisms in Newborns with Small-for-Gestational Age

^{*1} Center for Perinatal Care, Kobe University Hospital

^{*2} Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine

Kazumichi FUJIOKA ^{*1*2}, Ichiro MORIOKA ^{*1*2}, Miwako NAGASAKA ^{*2}, Tsubasa KODA ^{*2},
Kiyomi MATSUO ^{*2}, Tomoyuki YOKOTA ^{*2}, Satoru MORIKAWA ^{*2}, Akihiro MIWA ^{*1*2},
Akio SHIBATA ^{*2}, Hideto YAMADA ^{*1}, Kazumoto IJIMA ^{*1*2}

Background : The etiology of newborns with small-for-gestational age (SGA), who are a primary cause of perinatal morbidity and mortality, is still unclear. Vascular endothelial growth factor (VEGF), a major mediator of vascular permeability and angiogenesis, plays an essential role in fetal angiogenesis and placentogenesis. Genetic polymorphisms in the *VEGF* gene may contribute to the development of newborns with SGA.

Methods : 41 Japanese newborns with SGA and 44 newborns with appropriate-for-gestational age (AGA), who were born from primiparous mothers and admitted to Kobe University Hospital, were included in this study. Newborns with congenital anomalies or congenital chromosomal anomalies were excluded. SGA was defined as birth weight (BW) below -1.5 standard deviation values compared with mean BW of age-matched Japanese newborns. From enrolled newborns, genomic DNA was extracted from umbilical cord, cord blood, or buccal mucosa. Six *VEGF* genotypes (-1498T>C, -1154G>A, -634C>G, -7C>T, 936C>T, and 1612G>A) were determined by direct DNA sequencing. Clinical perinatal factors, or *VEGF* allele and genotype frequencies were first evaluated between the groups of newborns with SGA and AGA by an univariate analysis, followed by a multivariate logistic regression analysis. P-values of 0.05 or less were considered to be statistically significant.

Results : Pregnancy induced hypertension (PIH), and *VEGF* allele frequencies of T in -1498T>C and C in -634C>G in newborns with SGA were significantly higher than those in newborns with AGA. *VEGF* genotype frequencies of CC in -1498T>C and CC in -634C>G in newborns with SGA had significantly difference in comparison with those in newborns with AGA. In the multivariate logistic regression analysis, PIH and CC in *VEGF*-634G>C revealed as significant factors associated with newborns with SGA.

Conclusion : We found that Japanese newborns with *VEGF*-634G>C polymorphisms may be at risk for developing SGA.