

Title	Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism with Carotid Arterial Wall Thickening and Myocardial Infarction Risk in NIDDM
Author(s)	荒井, 克己
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41158">https://hdl.handle.net/11094/41158</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	荒 井 克 己
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 1 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 9 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism with Carotid Arterial Wall Thickening and Myocardial Infarction Risk in NIDDM (ホモシステイン代謝異常をもたらす酵素遺伝子多型性のNIDDM患者の動脈硬化の進展における意義検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 正二 (副査) 教 授 松澤 佑次 教 授 荻原 俊男

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔 目 的 〕

日本人のインスリン非依存型糖尿病患者（NIDDM）を対象として、ホモシステイン代謝に関与する酵素、5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子の677C → T 変異と頸動脈壁肥厚度、心筋梗塞の有病率との関連性を調べ、動脈硬化進展における、この変異の意義について臨床的に検討した。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

- (1) 対象：1994年11月より1996年6月までの期間において大阪大学医学部附属病院外来にて頸動脈超音波検査を施行した患者より、無作為に抽出した、血縁関係のないNIDDM 222名（男性163名、女性59名、年齢は、平均59.8歳、標準偏差8.4歳、範囲40-75歳）を対象とした。肝疾患を有する者、血清クレアチニンが1.5 mg/dl を越える者、抗血小板剤・抗凝固剤の投与を受けている者を除外した。
- (2) 総頸動脈の壁肥厚の評価：Bモード頸動脈超音波エコー検査により左右の総頸動脈壁を前後斜位および側位の3方向より観察し、長軸方向の内膜中膜複合体の最大肥厚部をボラロイド写真に記録した。それぞれの最大肥厚部とその前後1 cm の計3ポイントの計測値より平均肥厚度を求め、その6つの平均肥厚度の最大値を頸動脈壁肥厚度（以後、IMTとする）とした。
- (3) MTHFR 遺伝子多型性の検出：患者より採取した血液よりDNAを抽出し、Frosstらの方法（Nature Genetics, 1995）によりMTHFR 遺伝子型を決定した。MTHFR 遺伝子の677番目のnucleotideを含む198 bpの部分 PCR法により増幅し、677C → T 変異が含まれる場合には制限酵素 Hinf I の切断部位が生じることを用い、PCR産物をHinf I で切断し、アガロースゲル電気泳動法にて遺伝子型を決定した。
- (4) 生化学的検査：血清中の総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、クレアチニン、HbA1cの測定は大阪大学医学部附属病院中央臨床検査室で行った。LDL-コレステロール値はFriedewaldの式より算出した。また、各遺伝子型より無作為に22名ずつ（計66名）を抽出し、血中ホモシステイン値を測定した。

(5) 心筋梗塞の診断：心筋梗塞の診断は発症時の症状，心電図変化，生化学的検査，心臓カテーテル検査などにより総合的に判断した。

(6) 尿中アルブミン指数 (UAI) を基準にして， $UAI \leq 200$  mg/gCr である非糖尿病患者63名 (男44名女19名) を別に抽出し，血漿 PAI-1 (ELISA 法)，血漿 vWV 因子 (ELISA 法)，可溶性 thrombomodulin (EIA 法) を測定した。

(7) 統計解析：MTHFR 遺伝子型の3群間での測定値の比較は Kruskal-Wallis 検定を行い，多重比較は Bonferroni 法を用い，結果は mean $\pm$ SD で示した。また，Wilcoxon の U 検定，Fisher の直接確率計算法を必要に応じて用いた。 $P < 0.05$  で統計学的に有意とした。

(8) 成績：

#### ① MTHFR 遺伝子型及び allele の頻度

MTHFR 遺伝子型の頻度は 677T/677T : 17.6%，677T/677C : 42.3%，677C/677C : 40.1% であり，allele 頻度は 677T : 38.7%，677C : 61.3% であった。観察された MTHFR 遺伝子型の頻度は Hardy-Weinberg の法則に従い，Frosst らの報告した114名の French Canadian についての結果 (順に12%，51%，37%) と同様の傾向 ( $p=0.36$ ) を示しており，人種間の差はないものと考えられる。

#### ② MTHFR 遺伝子型と臨床的特徴

NIDDM 患者においては年齢，body mass index (BMI)，HbA1c，糖尿病罹病期間，収縮期血圧，拡張期血圧，血清中の総コレステロール，トリグリセライド，HDL-コレステロール，LDL-コレステロール，尿酸，クレアチニンの各値については MTHFR 遺伝子型の3群間には有意差が認められなかった。しかし，IMT は，677T/677T 群では  $1.58 \pm 0.54$  mm であり，これは677T/677C 群の  $1.35 \pm 0.35$  mm，677C/677C 群の  $1.31 \pm 0.31$  mm と比較すると有意に高値を示した (それぞれ， $p=0.03$ ， $0.015$ )。

#### ③ MTHFR 遺伝子と動脈硬化性疾患

心筋梗塞の有病率は677T/677T 群 (7/39 ; 17.9%) では677T/677C 群 (6/94 ; 6.4%)，677C/677C 群 (3/89 ; 3.4%) より有意に高かった (それぞれ， $p=0.047$ ， $0.009$ )。また，55歳以下の心筋梗塞の有病率も同様の傾向を示した ( $p=0.059$ )。677T/677C 群と677C/677C 群の間には差はなかった。

#### ④ MTHFR 遺伝子の677C $\rightarrow$ T 変異と血中ホモシステイン濃度

血中ホモシステイン濃度は，677T/677T 群 ( $19.8 \pm 7.4$  nmol/ml) では，677C/677C 群 ( $15.4 \pm 5.7$  nmol/ml) より有意に ( $p=0.011$ ) 高値を示し，677T/677C 群 ( $15.5 \pm 3.1$  nmol/ml) とは有意差はなかった。この結果，MTHFR 遺伝子の677C  $\rightarrow$  T 変異は高ホモシステイン血症をもたらす一つの因子であることが考えられた。

#### ⑤ MTHFR 遺伝子と内皮細胞傷害マーカー

677T/677T 群と non-677T/677T 群の2群に分けて検討すると，可溶性トロンボモジュリンは677T/677T 群では，non-677T/677T 群よりも有意に低値を示した (それぞれ， $2.11 \pm 0.41$  FU/ml， $2.88 \pm 1.80$  FU/ml， $P=0.016$ )。IMT は677T/677T 群では，non-677T/677T 群よりも高値を示した (それぞれ， $1.23 \pm 0.21$  mm， $1.06 \pm 0.22$  mm， $P=0.046$ )。vWF および PAI-1 については，2群間に有意差は認められなかった。

[総括]

MTHFR 遺伝子の677C  $\rightarrow$  T 変異は高ホモシステイン血症を介して動脈硬化の進展に関与していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

高ホモシステイン血症が動脈硬化進展の危険因子であるかの検討は未だ不十分である。

本研究は，糖尿病患者においてホモシステイン代謝に関与する methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) の

遺伝子 polymorhysm の動脈硬化危険因子としての意義を検討した。

糖尿病患者および非糖尿病患者において、軽度の高ホモシステイン血症をもたらす MTHFR 遺伝子の一多型では、頸動脈壁の肥厚は著明であり、また、虚血性心疾患も高頻度であることを認めた。高ホモシステイン血症を来す遺伝子多型が新たな動脈硬化の独立した危険因子であることを示した点、学位の授与に値すると考えられる。