



Title	Haplotype of Thrombomodulin Gene Associated with Plasma Thrombomodulin Level and Deep Vein Thrombosis in the Japanese Population
Author(s)	杉山, 祥子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46303
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	杉山 祥子
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20102 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Haplotype of Thrombomodulin Gene Associated with Plasma Thrombomodulin Level and Deep Vein Thrombosis in the Japanese Population (日本人におけるトロンボモジュリンのハプロタイプは、血清トロンボモジュリン値と深部静脈血栓症に関与する)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 金倉 讓 教授 堀 正二

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

プロテイン C (PC) 抗凝固系異常は静脈血栓症と関係があるといわれている。血管内皮細胞に存在している糖蛋白質トロンボモジュリン (TM) は、血管内皮上で PC 活性化の補因子として働き、血管内皮細胞特異的 TM 欠損マウスは、全身性の血栓形成により生後まもなく死亡することが報告されている。深部静脈血栓症 (DVT) の遺伝的危険因子の研究に関しては、欧米では Factor V Leiden 変異や Prothrombin G20210A 変異が遺伝的危険因子として広く認識されているが、これらの遺伝子変異の日本人での報告はない。日本人ではプロテイン S-Tokushima 変異 (K196E) が DVT の遺伝的危険因子であるという報告があり、DVT に関する遺伝子変異の分布は人種間で異なっている可能性が示唆されている。そこで本研究では、日本人の DVT 患者の TM の遺伝子を解析し、非 DVT 群として吹田研究より抽出された 2,247 人を TM 遺伝子多型で分類し、血中 TM 濃度 (sTM) を測定することによって、TM の遺伝子多型と sTM レベル及び DVT との関連性について検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

大阪大学医学部附属病院 (2000~2004 年) 及び国立循環器病センター (2002~2004 年) を受診し DVT と診断され、インフォームドコンセントを得られた患者 118 人 (男性 59 人、女性 59 人、平均年齢 52.3±16.1 歳) の末梢白血球より DNA を採取し、ダイレクトシーケンシング法を用いて TM 遺伝子変異の有無を調べた。その結果、3 個のミスセンス変異 (R385K; n=2, A455V; n=53 ヘテロ接合体, n=14 ホモ接合体, D468Y; n=2) を含む 17 個の遺伝子変異を認めた。このうち、*in vitro* 研究で TM のプロモーター活性が低下することが報告されている -202G>A 変異は 25 人の DVT 患者に認められ、この変異は 3'-untranslated region (3'-UTR) の 2005G>A 変異と連鎖不平衡していた (r -Square>0.8)。ミスセンス変異では、R385K 変異が epidermal growth factor-like domain4 (EGF4 ドメイン) に存在し、A455V 変異がトロンビン結合と PC 活性化に重要な部位である EGF6 ドメインの領域に存在するものであった。また、以前より報告されているように A455V 変異の頻度は高く、この変異は 2729A>C 変異と

連鎖不平衡していることが分かった (r -square >0.9)。D468Y 変異は serine/threonine-rich domain 領域に存在し、2 人の DVT 患者がキャリアーであった。

次に general population として吹田研究より無作為に抽出した 2,247 検体の sTM を測定し、DVT 患者の DNA より見出された 17 個の変異のうち、2 個のミスセンス変異 (R385K、D468Y) と 5% 以上の頻度を有する 3 個のナンセンス変異 (-202G>A、2487A>T、2729A>C) について TaqMan 法を用いてタイピングを行った。また、sTM を遺伝子型間で比較し、さらに TM 変異の頻度を DVT 患者群と比較検討した。sTM については、2729 の C アレルキャリアー群 (2729AC/CC) が非キャリアー群 (2729AA) に比べて有意に低値を示した (女性: 16.7 ± 0.3 U/ml vs 17.9 ± 0.2 U/ml, $P < 0.01$ 、男性: 19.4 ± 0.3 U/ml vs 20.4 ± 0.3 U/ml, $p = 0.03$)。さらに男性 DVT 患者では、年齢及び年齢-body mass index (BMI) を合致させた general population と比較すると、2729AA+AC 群に比べて CC 群で DVT の危険度が有意に高いことが判明した (odds ratio=2.76、95% confidence interval=1.14-6.67, $p = 0.02$ (age adjusted)、odds ratio=2.98、95% confidence interval=0.21-7.33, $p = 0.02$ (age+BMI adjusted))。

[総 括]

今回我々は、118 人の日本人 DVT 患者の TM 遺伝子解析により、3 個のミスセンス変異を含む 17 個の遺伝子変異を認めた。これまでに TM 遺伝子変異と血栓症に関して、A455V 変異は sTM レベルが低下する傾向があるが、DVT との相関はないと報告されている。今回の解析より、2729A>C 変異が A455V 変異と連鎖不平衡していること、さらにこの変異は sTM レベルだけでなく DVT にも関与している可能性があることが明らかとなった。しかしながら、これらの変異が DVT にどのような機序で関与しているかは現時点では明らかでない。A455V 変異が、細胞表面への TM の表出に直接影響している可能性、3'-UTR に存在する 2729A>C 変異が mRNA の安定性に影響している可能性、あるいは今回見出されなかった他の変異と連鎖しておりその変異が影響している可能性などが考えられる。TM 遺伝子変異の DVT に対する機能的役割を解明するためには、*in vitro* における更なる研究が必要と思われた。

論文審査の結果の要旨

プロテイン C (PC) 抗凝固系異常は静脈血栓症と関係があり、トロンボモジュリン (TM) は PC 活性化の補因子である。本論文では、日本人における TM の遺伝子多型と静脈血栓症との関連を調べるために、大阪大学医学部附属病院と国立循環器病センターで診断された深部静脈血栓症 (DVT) 患者 118 人を対象に TM 遺伝子の解析を行い、3 個のミスセンス変異 [R385K; $n = 2$ 、A455V; $n = 53$ (ヘテロ)、 $n = 14$ (ホモ)、D468Y; $n = 2$] を含む 17 個の 1 塩基変異を見出した。そして 2 個のミスセンス変異 (R385K、D468Y) と 3 個の遺伝子多型 (2729A>C、-202G>A、2487A>T) について DVT に罹患していない日本人 2,247 人を対象として検討を加え、血中 TM 濃度 (sTM) を測定した。その結果、DVT に罹患していない女性では、2729A>C 変異群において変異のない群に比べて有意に sTM が低値であった (19.4 ± 0.3 U/ml vs 20.4 ± 0.3 U/ml, $p = 0.03$; 男性、 16.7 ± 0.3 U/ml vs 17.9 ± 0.2 U/ml, $P < 0.01$; 女性)。また、男性 DVT 患者ではこの 2729A>C 変異を有する頻度が有意に高いことが明らかとなった (odds ratio=2.76、95% confidence interval=1.14-6.67, $p = 0.02$)。この変異は A455V 変異と連鎖不平衡があり (r -square >0.9)、日本人における静脈血栓症に関与する可能性が示唆された。よって本論文は、学位の授与に値すると考えられる。