

論文内容要旨

TIMP-1 c.T372C Genetic Polymorphism as a Possible
Predictor for Acute Aortic Dissection

(TIMP-1 c. T372C 遺伝子多型による急性大動脈解離の予測
可能性)

Hiroshima Journal of Medical Sciences, 62/2: 31-37, 2013

主指導教員：末田 泰二郎教授

(応用生命科学部門 外科学)

副指導教員：内田 直里講師

(応用生命科学部門 外科学)

副指導教員：檜山 英三教授

(自然科学研究支援開発センター 生命科学)

Naychov Zheko Dimitrov

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) は蛋白分解酵素の一群で、細胞外マトリックスやその他タンパク質の分解、生理活性ペプチドの活性化などに関与する。MMP の発現制御系は大動脈瘤と急性大動脈解離の発症に関与しているとされる。Tissue inhibitor of metalloprotease -1 (TIMP-1)は、TIMP ファミリーに属する細胞外蛋白質で、MMP-14 以外のすべての既知の MMP の活性を抑制する働きがある。TIMP-1 の一塩基多型(SNP)のうち、TIMP-1 c. T372C (rs4898, nt+434) の SNP が大動脈瘤やその他の動脈瘤の発症に関与するという報告が散見されるが、急性大動脈解離との関係は不明である。本研究は、TIMP-1 と急性大動脈解離発症の関連を検討した。

本研究は、1995年から2012年に広島大学病院にて手術施行された急性大動脈解離症例115例と剖検例4例の合計119例(AAD群)を対象とした後ろ向き研究である。男性61例。結合組織疾患(CTDS群)を13例に認め(マルファン症候群11例、エーラス・ダンロス症候群1例、ロイス・ディエツ症候群1例)、全例Stanford A型であった。非結合組織疾患(non-Syndrome群)は106例で、うちStanford A型が88例、B型が18であった。遺伝子型に関しては、110例(男性55例、女性55例)の健常ボランティアを対照群として比較検討した。組織でのTIMP-1発現に関しては、剖検例23例(男性16例、女性7例、非急性大動脈解離症例)を対照群として比較検討した。

遺伝子型判定は、AAD群のDNAはパラフィンブロックから、対照群のDNAは末梢血白血球から行った。Nested PCR法にてTIMP-1遺伝子内の対象となるシーケンスを制限酵素にて切断されるところが発生するように増幅した。TIMP遺伝子はX染色体上のsynapsin遺伝子のintronに存在する。本研究で対象としたSNPであるTIMP-1 c. T372Cの遺伝子多型はexon 5に存在し、TIMP-1分子を構成する124番目のアミノ酸を指定するコドンの3番目の塩基であり、CアレルとTアレルの2つの型が存在する。Cアレルをもつ場合は制限酵素により2分され、Tアレルをもつ場合は、そのままとなる。X染色体上の遺伝子であるため、男性はCYとTYの2つの遺伝子型、女性はCC、TTのホモ接合体、CTのヘテロ接合体の併せて3つの遺伝子型が存在する。

免疫組織化学によりAAD群および対照群の大動脈組織でのTIMP-1の発現を調べるため、マウス抗TIMP-1モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行った。4段階のスケールにて判定を行った(0, 大動脈中膜が染色されない; 1, 軽度染色; 2, 中等度染色; 3, 高度染色; 4, 非常に高度染色)。

結果は以下の通りである。CアレルとTアレルの頻度は、男性、女性ともにAAD群と対照群との間に差を認め($p < 0.0001$)、CアレルがAAD群により多くみられた。ヘテロ接合体の頻度はAAD群0.37に対し対照群0.49であった。A型解離とB型解離の間に差を認めなかった。

TIMP-1 遺伝子と患者因子との関連では、年齢差を男女間に認めた (64 歳 vs. 72 歳, $p=0.03$) が、それぞれの性別で年齢と TIMP-1 遺伝子型との相関を認めなかった。また CTDS 群と non-Syndrome 群にも年齢差を認めた (38 歳 vs 68 歳, $p<0.001$)。

Non-Syndrome 群に関して、多変量解析を用いて、TIMP-1 遺伝子型と心血管危険因子 (年齢、性別、糖尿病、高血圧) やその他の患者因子との関係を解析したが、相関を認めなかった。CTDS 群と non-Syndrome 群の比較では、CTDS 群において、初回手術の合併症ではない二次大動脈手術を多く認めたが、TIMP-1 遺伝子型との関連を認めなかった。

免疫組織化学では、TIMP-1 の発現は、解離群で対照群と比較して有意に低く (1.17 vs. 1.96, $p = 0.0132$)、高血圧群で非高血圧群と比較して有意に低かった (0.98 vs 1.6, $p=0.0084$)。

以上の結果から、TIMP-1 c. T372C 遺伝子多型のうち C アレルは急性大動脈解離発症に強い関連があると考えられた。また、TIMP-1 は、MMP に対する抑制効果の減弱並びに平滑筋細胞増殖刺激の低下により、正常大動脈壁構造に影響を及ぼすものと推察された。