

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	Naychov Zheko Dimitrov
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
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)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	木原 康樹	印
審査委員	教 授	吉栖 正生	
審査委員	教 授	東 幸仁	
〔論文審査の要旨〕			
<p>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。</p> <p>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、女性 58 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 例であった。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。</p>			

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 codon 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, 濃染色)。

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、本論文は 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、大動脈解離発症に影響を及ぼすものと推察された。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。