Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Stromelysin promoter 5A/6A polymorphism is associated with acute myocardial infarction

寺島, 正浩

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2000-03-31
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲2146
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002146

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏名・（本籍）	寺島正浩（てらしままさひろ）（兵庫県）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	博い第1289号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与の日付	平成12年3月31日
学位論文題目	Stromelysin promoter 5A／6A polymorphism is associated with acute myocardial infarction （Stromelysin プロモーター領域5A／6A遺伝子多型性と急性心筋梗塞の関連）
審査委員	主査 教授 横山光宏 教授 中村 肇 教授 春日雅人

論文内容の要旨

緒言

動脈硬化性プラークの破綻とそれに続く血栓形成は急性心筋梗塞（AMI）の病因に中心的な役割を演じている。このプラーク破綻のメカニズムの詳細は十分には解明されていないが，細胞外マトリックス分解酵素である matrix metalloproteinases（MMPs）がプラークの繊維性皮膜を脆弱化させ，破綻を引き起こすのに重要な要因であることが示唆されている。MMPs は，現在まで17種類の存在が知られており，そのうち collagenase,gelatinase,stromelysin が，ヒト冠動脈の動脈硬化性プラークに存在することが報告されている。これら MMPs の中でも stromelysin は多くの細胞外マトリックスを分解するのみならず，他の MMPs の活性化作用も有しており，プラーク破綻において特に重要な役割を果たしていると考えられる。

最近，ヒト stromelysin 遺伝子のプロモーター領域にアデニン（A）が5個（5A）又は6個（6A）の遺伝子多型性が存在することが明らかとなった。さらに，培養細胞を用いた promoter 活性の測定実験において，5A allele を持つ遺伝子は，6A allele 持つ遺伝子より2倍高い promoter 活性を持つことが示された。以上より，5A allele はプラーク破綻とそれに続く AMI の危険因子となりうると考えられる。この仮説を検証するために，AMI 患者と対象群において5A／6A 遺伝子多型性の頻度を比較検討した。

方法

stromelysin プロモーター領域5A／6A 遺伝子多型性と AMI の関連を調べるために，70歳以下の AMI 患者330名と年齢と性別の一致した対照群330名を対象に研究を行った。AMI 患者は，神戸大学医学部附属病院及び姫路循環器病センターの冠動脈疾患集中治療室に入院した連続患者を対象とした。AMI の診断は，WHO の診断基準を用い，冠動脈造影にて診断を確定した。対照群は，神戸大学医学部附属病院入院患者から，AMI 患者と年齢と性別を一致させて抽出した。心筋梗塞，狭心症，脳動脈疾患，末梢動脈疾患，悪性腫瘍疾患を持つ患者は除外した。全て日本人を対象に研究行い，書面に

よる説明と同意を得た上で研究を行った。

冠動脈危険因子の有無は，以下のように決定した。喫煙者は，smoking index＞100又は現在喫煙している者とした。高血圧は，WHO の基準を満たす者又は降圧剤を内服している者とした。高脂血症は，空腹時の血中総コレステロール≧220mg/dL の者又は脂質低下剤を内服している者とした。糖尿病は，WHO の診断基準を満たす者又は現在治療中の者とした。

ゲノム DNA は患者の全血より抽出し，PCR 法にて５A／６A 遺伝子多型性を含む領域（1171bp）を増幅させた。遺伝子型は，PCR 産物をナイロン膜に転写し，５A／６A それぞれの allele に特異的な２つのプローブを［$\gamma-^{32}P$］ATP にてラベルして，hybridization 行う Dot–Blot 法にて解析した。

結果

AMI 患者と対照群の患者背景

年齢と性別は，AMI 患者群（58.5±8.1歳；男性82.1%），対照群（58.5±8.7歳；男性77.6%）の２群間で差を認めなかった。AMI 患者群及び対照群の冠危険因子保有率は，喫煙（70.3%vs47.0%），高脂血症（43.6%vs20.6%），糖尿病（33.9%vs11.5%），高血圧（39.7%vs19.7%）の全てにおいて AMI 患者群で有意に高かった。

AMI 患者と対照群の遺伝子型と allele 頻度

今回解析した stromelysin プロモーター領域５A／６A 遺伝子多型性の遺伝子型と allele 頻度は，Hardy–Weinberg の法則に一致していた。AMI 患者群（５A／５A＋５A／６A：35名＋126名，６A／６A：169名），対照群（５A／５A＋５A／６A：11名＋97名，６A／６A：222名）の遺伝子型解析より，５A／５A＋５A／６A の頻度は対照群に比較し AMI 群で高かった。AMI 患者群と対照群の５A allele 頻度は，0.30と0.18であり，AMI 患者群において有意に５A allele 頻度が高値であった。

５A／６A 遺伝子多型性と冠危険因子のオッズ比

ロジスティック回帰分析により算出した。AMI 患者群と対照群における，stromelysin プロモーター領域の遺伝子多型性の５A／５A＋５A／６A 遺伝子型対６A／６A 遺伝子型のオッズ比は2.25（95%CI，1.51～3.35）であった。また，AMI 患者と５A／６A 遺伝子多型性の関係は，他の冠危険因子とは独立したものであった。

考案

今回の研究で，stromelysin プロモーター領域の遺伝子多型性が AMI 発症と関連することが初めて示された。stromelysin プロモーター領域の５A allele の頻度が対照群に比し AMI 患者で有意に高いとが明らかとなった。このことより，５A allele を持つ AMI 患者の冠動脈に存在する動脈硬化性プラークがより破綻しやすい可能性が示唆された。

stromelysin は多くの細胞外マトリックスの蛋白を分解するのみならず，他の MMPs の活性化作用も有している。in situ mRNA hybridization において，stromelysin はヒト冠動脈の動脈硬化性プラークに存在し，特に破綻しやすいプラークの肩の部分に多くの存在することが報告されている。stromelysin の発現は，基本的に転写レベルで調節されており，そのプロモーター領域は様々な刺激に反応して転写を行う。この stromelysin プロモーター領域には，５A／６A の遺伝子多型性が存在する事が知られている。さらに，線維芽細胞や血管平滑筋細胞を使った in vitro での発現実験により，５A allele を含

んだものの方が６A遺伝子より，２倍近くレポーター遺伝子の発現が高いことが示されている。これらの事実に基づき，５A／６A allele多型性がAMIの発症につながるプラーク破綻の遺伝子的な危険因子となりうると推察した。本研究においてstromelysinプロモーター領域の遺伝子多型性とAMIの間に強い相関を見いだし，この相関は他の冠危険因子とは独立した危険因子であることを示した。近年，Yeらのグループが，stromelysinプロモーター領域５A／６A遺伝子多型性が冠動脈硬化の進展と関連することを報告したが，この遺伝子多型性とAMIとの関連については今まで不明であった。

まとめ

本研究は，stromelysinプロモーター領域の５A／６A遺伝子多型性が急性心筋梗塞と関連するという最初の報告である。この遺伝子多型性がプラーク破綻の新しい遺伝的危険因子であることを確立するために，今後，より大きな集団での，又他の人種も含めた解析が必要である。遺伝的にプラークが破綻しやすい患者を選別することは，急性心筋梗塞の発症予防に大きな利益をもたらすものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

動脈硬化性プラークの破綻とそれに続く血栓形成は急性心筋梗塞（AMI）の病因に中心的な役割を演じている。このプラーク破綻のメカニズムの詳細は十分には解明されていないが，細胞外マトリックス分解酵素であるmatrix mtalloproteinases（MMPs）がプラークの線維性被膜を脆弱化させ，破綻を引きおこすのに重要な要因であることが示唆されている。MMPsは，現在まで17種類の存在が知られており，そのうちcollagenase,gelatinase, stromelysinが，ヒト冠動脈の動脈硬化性プラークに存在することが報告されている。これらMMPsのなかでもstromelysinは多くの細胞外マトリックスを分解するのみならず，他のMMPsの活性化作用も有しており，プラーク破綻において特に重要な役割を果たしていると考えられる。

最近，ヒトstromelysin遺伝子のプロモーター領域にアデニン（A）が５個（５A）又は６個（６A）の遺伝子多型性が存在することが明らかとなった。さらに，培養細胞を用いたプロモーター活性の測定実験において，５A alleleを持つ遺伝子は，６A alleleを持つ遺伝子より２倍高いプロモーター活性を持つことが示された。以上より，５A alleleはプラーク破綻とそれに続くAMIの危険因子となりうると考えられる。この仮説を検証するために，AMI患者と対照群において５A／６A遺伝子多型性の領域を比較検討した。

stromelysinプロモーター領域５A／６A遺伝子多型性とAMIの関連を調べるために，70歳以下のAMI患者330名と年齢と性別の一致した対照群330名を対象に研究を行った。AMIの診断は，WHOの診断基準を用い冠動脈造影にて診断を確定した。対照群は，AMI患者と年齢と性別を一致させて抽出した。全ての対象者から，書面による説明と同意を得た上で研究を行った。

冠動脈危険因子の有無は，以下のように決定した。喫煙者は，smoking index＞100又は現在喫煙している者とした。高血圧は，WHOの基準を満たす者又は降圧剤を内服している者とした。高脂血症は，空腹時の血中総コレステロール≧220mg/dLの者又は脂質低下剤を内服している者とした。糖尿病は，WHOの診断基準を満たす者又は現在治療中の者とした。

ゲノムDNAは患者の全血より抽出し，PCR法にて５A／６A遺伝子多型性を含む領域（−1171p）を増幅させた。遺伝子型は，PCR産物をナイロン膜に転写し，５A／６Aそれぞれのalleleに特異的な２つのプローブを［$\gamma - {}^{32}P$］ATPにてラベルして，hybridizationを行うDot–Blot法にて解析した。

1．年齢と性別は，AMI 患者群（平均58.5歳；男性82.1%），対照群（58.5歳；男性77.6%）の２群間で差を認めなかった。AMI 患者群及び対照群の冠危険因子保有率は，喫煙（70.3%vs47.0%），高脂血症（43.6%vs20.6%），糖尿病（33.9%vs11.5%）高血圧（39.7%vs19.7%）の全てにおいて AMI 患者群で有意に高かった。

2．今回解析した stromelysin プロモーター領域５A／６A 遺伝子多型性の遺伝子型と allele 頻度は，Hardy–Weinberg の法則に一致していた。AMI 患者群（５A／５A＋５A／６A；35名＋126名，６A／６A；169名），対照群（５A／５A＋５A／６A；11名＋97名，６A／６A；222名）の遺伝子型解析より，５A／５A＋５A／６A の頻度は対照群に比較し AMI 群で高かった。AMI 患者群と対照群の５A allele 頻度は0.30と0.18であり，AMI 患者群において有意に５A allele 頻度が高値であった。

3．ロジスティック回帰分析により算出した，AMI 患者群と対照群における stromelysin プロモーター領域の遺伝子多型性の５A／５A＋５A／６A 対遺伝子型６A／６A 遺伝子型のオッズ比は2.25%（95%CI 1.51～3.35）であった。また，AMI 患者と５A／６A 遺伝子多型性の関係は，他の冠危険因子とは独立したものであった。

本研究は，急性心筋梗塞で観察されるプラークの破綻に matrix metalloproteinases の stromelysin は中心的役割を演じているとされるが，そのプロモーター領域の遺伝子多型性が急性心筋梗塞の発症の危険因子となりうるかどうかを Dot–Blot 法にて検討したものである。急性心筋梗塞患者において，stromelysin プロモーター領域に５A allele を有する頻度が対照群に比べて有意に高く，他の危険因子とは独立したものであることが判明した。すなわち stromelysin プロモーター領域の遺伝子多型性が急性心筋梗塞と関連し，５A allele を持つ患者の冠動脈プラークがより破綻しやすいことが示された最初の報告である。よって，本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があるとの結論に至りました。