

(2) 血漿型 PAF-acetylhydrolase 遺伝子変異 と腹部大動脈瘤の関連について

Plasma Platelet-activating Factor Acetylhydrolase Deficiency and Risk of Abdominal Aortic Aneurysm

海野 直樹* 中村 利夫* 三岡 博* 内山 隆* 山本 尚人*
齊藤 孝晶* 三輪 匡男** 菅谷 純子** 中村 達*

キー・ワード：PAF-acetylhydrolase, 動脈硬化, 腹部大動脈瘤, 高脂血症

〔要旨〕 PAF-acetylhydrolase (PAF-AH) 遺伝子変異と腹部大動脈瘤との関連について case-control study を行った。腹部大動脈瘤患者 131 人とコントロール群 106 人で DNA を抽出し、PAF-AH 遺伝子変異について調べたところ、腹部大動脈瘤患者では 53 例 (40.5%) に変異が認められたのに対し、コントロール群では 26 例 (24.5%) のみであった。さらに、動脈硬化の危険因子といわれる喫煙、高脂血症、高血圧、糖尿病とともに多変量解析を行ったところ、大動脈瘤発症における PAF-AH 遺伝子変異のオッズ比 (95% CI) は 2.53 (1.40~4.71) と他の動脈硬化危険因子とともに、日本人の腹部大動脈瘤発症の危険因子であることが判明した。

序 言

PAF-acetylhydrolase (PAF-AH) は血小板活性化因子 (PAF) を失活させる酵素であり、抗酸化、抗炎症作用を有するが、日本人には 20~25% の割合でその遺伝子変異が存在し、PAF-AH 活性が低下していることが判明した¹⁾。PAF-AH 遺伝子は 6 番染色体短腕 12-21.1 領域に存在し、12 個のエキソンからなるが、変異者では 9 番目のエキソン上の G が T に変換していることが明らかとなった²⁾。これまでのところこの遺伝子変異は日本人にのみ見つかり、この遺伝子変異を有する人の割合が心筋梗塞患者や脳卒中、閉塞性動脈硬化症患者では有意に高いことが報告されている³⁻⁵⁾。今回、腹部大動脈瘤患者における PAF-AH 遺伝子変異について検討し、他の動脈硬化危険因子と比較した。

対象・方法

浜松医科大学第二外科にて腹部大動脈瘤と診断された 131 例とコントロール群 (C 群) として同科において胆石症、痔核治療、消化管スクリーニング検査を受けた患者のうち、脳梗塞や虚血性心疾患の既往歴のない 106 例とを比較した。腹部大動脈瘤は全例腎動脈分枝下で腹部 CT 上最大径 3 cm 以上の症例としマルファン症候群は除外した。全症例から喫煙歴、高血圧症、高脂血症、糖尿病の有無についての病歴の聴取と血液検査を施行した。

1. DNA の抽出、分析

浜松医科大学倫理委員会の認定に基づき、患者に本研究の目的を説明して同意を得た後、血液 (2 ml) を採取し DNA 抽出 kit (GenTLE, 宝酒造) を用いて抽出、その後 allele 特異的 PCR 法を用いて以下の sense primer と antisense primer を設定して、検討した。

Sense primer A : 5'-CTATAAATTTATAT-CATGCTT-3'

* 浜松医科大学第二外科学教室

** 静岡県立大学薬学部臨床薬理学教室

2001 年 1 月 29 日受理

表1 Characteristics of AAA and control subject

	腹部大動脈瘤患者 (131人)	対照群 (106人)	P
年齢	73.4 ± 6.9	72.8 ± 6.3	NS
男性 (%)	114 (87.0)	84 (79.2)	NS
喫煙歴 (%)	81 (61.8)	53 (50.1)	NS
高脂血症 (%)	39 (29.7)	18 (17.0)	< 0.05
高血圧 (%)	57 (43.5)	25 (23.6)	< 0.01
糖尿病 (%)	16 (12.2)	11 (10.4)	NS

表2 血漿型 PAF acetylhydrolase 遺伝子型

	遺伝子型 (%) *			
	GG	GT	TT	Total
対照群 (106人)	80 (75.5)	25 (23.6)	1 (0.9)	106
腹部大動脈瘤患者群 (131人)	78 (59.5)	50 (38.2)	3 (2.3)	131

* p = 0.012

Antisense primer B : 5'-TTTACTATTCT-CTTGCTTTAC-3'

Antisense primer C : 5'-TCACTAAGAGTCT-GAATAAC-3'

Antisense primer D : 5'-TCACTAAGAGTCT-GAATAAA-3'

遺伝子型は正常型のGGとヘテロ欠損のGT, ならびにホモ欠損のTTに分類した。

2. PAF-AH 酵素活性

採取した血液を遠心分離し, -70°C で保存, 酵素活性は三輪らの方法に従って radioimmunoassay 法で測定した。

3. 解析方法

両群間の年齢の差の検定は対応のない Student t test, 喫煙, 高血圧, 高脂血症, 糖尿病頻度の差の検定は Fisher exact test, 遺伝子型頻度の差の検定は χ^2 test で行った。PAF-AH 遺伝子変異と他の動脈硬化危険因子の相対リスクについては多重対数

回帰分析を行った。また PAF-AH 酵素活性の有意差は ANOVA Scheffe test で行った。

結果

1. 患者背景

腹部大動脈瘤患者ならびにC群の患者の背景を表1に示す。年齢, 男女比に両群間で差はなかった。動脈硬化危険因子については腹部大動脈瘤患者においては高脂血症と高血圧を有する割合がC群に比し, 有意に高かった。

2. 遺伝子型

正常な遺伝子型GG, ヘテロ欠損GT, ホモ欠損TTの割合はC群ではGG 75.5%, GT 23.6%, TT 0.9%であったのに対し, 腹部大動脈瘤群ではGG 59.5%, GT 38.2%, TT 2.3%と腹部大動脈瘤群では有意に遺伝子変異を多く認めた(表2)。

3. PAF-AH 酵素活性

PAF-AH 酵素活性については両群ともヘテロ欠

損 GT 群は正常の遺伝型 GG 群の約 50% の酵素活性しかなく、ホモ欠損 TT 群ではまったく活性を認めなかった。

4. 他の動脈硬化危険因子との関連

PAF-AH 遺伝子変異を他の動脈硬化の危険因子といわれる喫煙、高血圧、高脂血症、糖尿病とともに多変量解析を行ったところ、腹部大動脈瘤発症のオッズ比(95% CI)は喫煙 1.75(1.00~3.07)、高血圧 2.20(1.20~4.07)、高脂血症 2.35(1.18~4.78)、糖尿病 1.07(0.45~2.61)に対し、PAF-AH 遺伝子変異は 2.53(1.40~4.71)と高血圧や高脂血症と並んで、日本人の腹部大動脈瘤発症の危険因子であることが判明した(表 3)。また腹部大動脈瘤患者において他の動脈硬化性疾患(脳梗塞、虚血性心疾患、閉塞性動脈硬化症)の合併または既往を調べたところ、上述の PAF-AH 遺伝子変異と高脂血症をともにもつ群は、どちらももたない群に比べ、オッズ比 9.4(2.6~34.0)と高率に他の動脈硬化性疾患を合併していた。

考 察

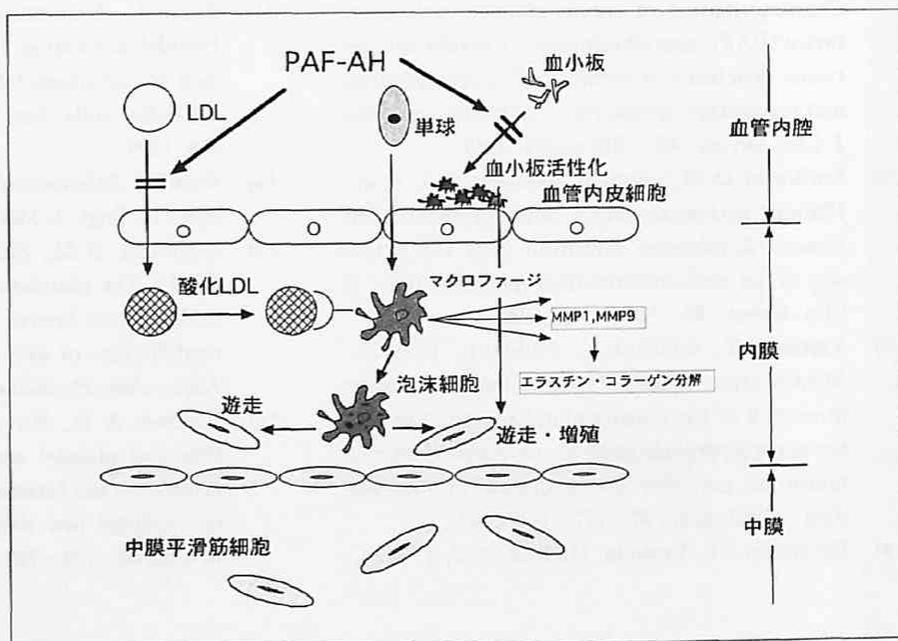
今回の研究で腹部大動脈瘤患者においては先天的に PAF-AH 遺伝子変異をもつ患者が多いことが判明した。腹部大動脈瘤の発症要因としては、後天的なものと同遺伝性のもとの両者が関与していると考えられている。男性、喫煙歴、高血圧、高脂血症などがその危険因子と考えられており^{6,7)}、実際、腹部大動脈瘤患者においては虚血性心疾患などの動脈

表 3 G→T 変異と他の動脈硬化症危険因子の腹部大動脈瘤発症に対するオッズ比

危険因子	オッズ比	95 % CI
GT + TT	2.48	1.36 - 4.65
喫煙歴	1.58	0.85 - 2.97
高血圧	2.14	1.18 - 4.00
高脂血症	2.27	1.15 - 4.69
糖尿病	1.03	0.43 - 2.53

硬化性疾患を合併する頻度が高い。しかし、動脈硬化が腹部大動脈瘤の原因とする考え方には異論も多く、むしろ一種の炎症反応により大動脈の結合織が変性し、その結果生じたものとの考え方が主流となってきている。この炎症反応に関与する酵素として注目されているのが MMP (matrix metalloproteinase) である。大動脈瘤壁においては MMP の発現が報告されている^{8,9)}。今回の研究で着目した PAF は MMP-1, 2, 9 の mRNA 発現を誘導する作用があり、その受容体拮抗剤を投与することにより、PAF によるコラーゲンの変性を抑制できたとの報告もある^{10,11)}。したがって PAF を分解する酵素である PAF-AH の低下あるいは欠損は MMP 活性を増強させる可能性がある。また今回の分析から、PAF-AH 遺伝子変異と高脂血症を併せもつ患者においては他の動脈硬化性疾患の合併あるいは既往が有意に高率であることが判明したが、このこと

図 1



は PAF-AH が脂質代謝に大きく関与していることを示唆している。動脈硬化のメカニズムとして LDL (low density lipoprotein) の酸化が重要な役割を果たしている。酸化 LDL は内皮細胞を傷害し、単球の内皮下への遊走を促進してマクロファージへの分化を促す。そしてこのマクロファージからは MMP などのさまざまな炎症性メデイエーターが放出される¹²⁾。PAF-AH にはこの LDL の酸化を抑制する働きがある^{13,14)}。すなわち PAF-AH は PAF を分解することにより、MMP の発現を押さえ、また酸化 LDL の産生を抑制することにより血管内の炎症性反応を押さえ、動脈硬化に対する防御因子として働いているものと推察される (図 1)。日本人は欧米人には認められない PAF-AH 遺伝子変異をもつにもかかわらず、動脈瘤やその他の動脈硬化性疾患の頻度はこれまでは欧米より低頻度であった。しかし食生活の欧米化に伴う高脂血症者の増加は、今後 PAF-AH 欠損の関与する血管の炎症性疾患ならびに動脈硬化性疾患の増加につながる可能性がある。したがって PAF-AH の遺伝子変異の有無を調べ、その結果変異が認められた患者とりわけ腹部大動脈瘤患者においては、高脂肪食の制限など生活習慣病としての動脈硬化性疾患の予防を十分に考慮すべきと考えられ、昨今話題のテーラーメイド医療の一つとして、今後注目すべき遺伝子変異の一つと考えられた。

文 献

- 1) Miwa, M., Miyake, T., Yamanaka, T. et al.: Characterization of serum platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase: Correlation between deficiency of serum PAF acetylhydrolase and respiratory symptoms in asthmatic children. *J. Clin. Invest.*, **82**: 1983~1991, 1988.
- 2) Stafforini, D. M., Satoh, K., Atkinson, D. L. et al.: Platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency: A missense mutation near the active site of an anti-inflammatory phospholipase. *J. Clin. Invest.*, **97**: 2784~2791, 1996.
- 3) Yamada, Y., Ichihara, S., Fujimura, T. et al.: Identification of the G⁹⁹³→T missense mutation in exon 9 of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene as an independent risk factor for coronary artery disease in Japanese men. *Metabolism*, **47**: 177~181, 1998.
- 4) Hiramoto, M., Yoshida, H., Imaizumi, T. et al.: A mutation in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (Val²⁷⁹→Phe) is a genetic risk factor for stroke. *Stroke*, **28**: 2417~2420, 1997.
- 5) Unno, N., Nakamura, T., Kaneko, H. et al.: Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency is associated with atherosclerotic occlusive disease in Japan. *J. Vasc. Surg.*, **32**: 263~267, 2000.
- 6) Wilmsink, T. B. M., Quick, C. R. G. and Day, N. E.: The association between cigarette smoking and abdominal aortic aneurysm. *J. Vasc. Surg.*, **30**: 1099~1105, 1999.
- 7) Watt, H. C., Law, M. R., Wald, N. J. et al.: Serum triglyceride: a possible risk factor for ruptured abdominal aortic aneurysm. *Int. J. Epidemiol.*, **27**: 949~952, 1998.
- 8) Newman, K. M., Malon, A. M. and Shin, R. D.: Matrix metalloproteinases in abdominal aortic aneurysm: Characterization, purification, and their possible sources. *Connect. Tissue Res.*, **30**: 265~276, 1994.
- 9) Freestone, T., Turner, R. J. and Coady, A.: Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **15**: 1145~1151, 1995.
- 10) Sugano, T., Nasu, K., Narahara, H. et al.: Platelet-activating factor induces an imbalance between matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in human uterine cervical fibroblasts. *Biol. Reprod.*, **62**: 540~546, 2000.
- 11) Shan, L., Nishimura, Y., Kotani, Y. et al.: Platelet-activating factor increases the expression of metalloproteinase-9 in human bronchial epithelial cells. *Eur. J. Pharmacol.*, **374**: 147~156, 1999.
- 12) Ross, R.: Atherosclerosis—An inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, **340**: 115~126, 1999.
- 13) Stafforini, D. M., Zimmerman, G. A., McIntyre, T. M.: The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Trans. Assoc. Am. Physicians*, **105**: 44~63, 1992.
- 14) Watson, A. D., Navab, M. and Hama, S. Y.: Effect of platelet activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.*, **95**: 774~782, 1995.

Plasma Platelet-activating Factor Acetylhydrolase Deficiency and Risk of Abdominal Aortic Aneurysm

Unno, N., Nakamura, T., Mitsuoka, H., Uchiyama, T., Yamamoto, N.,
Saito, T., Sugatani, J.* , Miwa, M.* and Nakamura, S.

Second Department of Surgery, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan
*Department of Pharmaco - Biochemistry School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan

Key Words : PAF - acetylhydrolase, Atherosclerosis, Abdominal aortic aneurysm, Hyperlipidemia

Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) is known to catalyze platelet-activating factor (PAF), inactivating thereby its inflammatory function. Deficiency of this enzyme is caused by a missense mutation (G⁹⁹⁴→ T) in exon 9 of the plasma PAF-AH gene. In this study, we investigated a possible association of this mutation with the risk of developing an abdominal aortic aneurysm (AAA) in Japanese patients.

We studied 131 AAA patients. The control group consisted of 106 subjects matched for age and sex.

The association of the missense mutation with AAA was statistically significant and independent of other risk factors. AAA patients with both T alleles and hyperlipidemia were more likely to develop other atherosclerotic diseases, such as ischemic heart disease, stroke and peripheral arterial occlusive diseases than patients with the normal genomic type and normal lipid level. Our findings may have important implications for identifying patients at a high risk of developing atherosclerotic diseases.