

【ワークショップ I : 妊娠中毒症における遺伝子多型解析の意義】

日本人における妊娠中毒症関連遺伝子多型の解析

Analysis of Gene Polymorphisms Associated with Preeclampsia in Japanese Population

筑波大学臨床医学系産科婦人科

濱田 洋実

Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba, Japan

Hiromi Hamada

【目的】

妊娠中毒症は、家族集積性が認められることから、妊娠前、妊娠中の様々な環境要因に加えて遺伝素因の関与が考えられている。しかしながら、我々が本研究を始めた 1995 年頃までは、遺伝素因に関する研究は Angiotensinogen (AGT) 遺伝子などいくつかの遺伝子の多型と本症の関連について報告があるにすぎなかった。妊娠中毒症の遺伝素因が明らかとなれば、その病態の解明に寄与することが出来、また、本症の発症予知や予防に応用できれば、その発症頻度減少や症状の軽減化が期待される。

また、妊娠中毒症は 1 つの因子によって発症する疾患ではなく、様々な要因によって発症する多因子疾患と考えられるので、多くの遺伝子多型を同時に検討する必要がある。

そこで本研究は、関連の可能性があるできるだけ多くの遺伝子の多型解析を行い、妊娠中毒症の遺伝素因となる遺伝子多型を同定することを目的とした。

【対象と方法】

筑波大学附属病院で管理した純粋型重症妊娠中毒症症例 133 例および正常妊婦（対照）224

例を対象とした。妊娠中毒症の診断は日本産科婦人科学会の診断基準を用いた。本研究の内容、意義、得られた遺伝情報の取扱い等について十分な説明を行い、インフォームドコンセントを文書で得た後、末梢血を採取し、リンパ球を分離してゲノム DNA を抽出した。

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子をはじめ、AGT 遺伝子、血液凝固第 V 因子 (F5) 遺伝子など妊娠中毒症との関連の報告がある 9 遺伝子、Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM1) 遺伝子、Thrombomodulin (THBD) 遺伝子など妊娠中毒症との関連の報告がある蛋白をコードする 7 遺伝子、Angiotensin converting enzyme (ACE) 遺伝子、Guanine nucleotide-binding protein beta-3 (GNB3) 遺伝子など本態性高血圧をはじめとした循環器疾患との関連の報告がある 11 遺伝子の計 27 遺伝子を解析した（表 1）。これらの遺伝子上に存在する計 51 の遺伝子多型について、PCR-RFLP 法、SNaP Shot 法、direct sequence 法を用いて遺伝子型を決定し、解析を行った。

なお本研究は、筑波大学医の倫理特別委員会の承認を得て行われた。

表 1. 検討した遺伝子多型

Gene Name	Gene Symbol*	Chromosome	Polymorphism
angiotensin I	<i>AGT</i> **	1q42-43	-6G/A
coagulation factor V	<i>F5</i>	1q23	1090A/G(Arg308Gly) 1091G/C(Arg308Thr) 1628G/A(Arg485Lys) 1691G/A(Arg506Gln)
5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	<i>MTHFR</i>	1p36.3	677C/T(Ala222Val) 1298A/C(Glu429Ala)
coagulation factor II	<i>F2</i>	11p11-q12	20210G/A
lipoprotein lipase	<i>LPL</i>	8p22	-93T/G
glutathione S-transferase pi	<i>GSTP1</i>	11q13	313A/G(Val105Ile)
apolipoprotein E	<i>APOE</i>	19q13.2	E2,E3,E4
nitric oxide synthase 3 (endothelial cell)	<i>NOS3</i>	7q36	894G/T(Glu298Asp) -786T/C
tumor necrosis factor (TNF superfamily, member 2)	<i>TNF</i>	6p21.3	-308G/A -857C/T -863C/A
phospholipase A2, group VII (platelet-activating factor acetylhydrolase, plasma)	<i>PLA2G7</i>	6p21.2-p12	994G/T(Val279Phe)
HLA-G Histocompatibility Antigen, Class I, G	<i>HLA-G</i>	6p21.3	Exon 8 Ins/Del
intercellular adhesion molecule 1 (CD54), human rhinovirus receptor	<i>ICAM 1</i>	19P13.3	1405A/G(Lys469Glu)
selectin E (endothelial adhesion molecule 1)	<i>SELE</i>	1q23-q25	561A/C(Ser128Arg)
thrombomodulin	<i>THBD</i>	20p11.2	1418C/T(Ala455Val)
endothelin 1	<i>EDN1</i>	6p24-p23	594G/T(Lys198Asn)
folate hydrolase 1	<i>FOLH1</i>	11P11.2	1561C/T(His475Tyr)
guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 3	<i>GNB3</i>	12p13	825C/T
angiotensin receptor 1	<i>AGTR1</i>	3q21-q25	1166A/C
angiotensin-converting enzyme	<i>ACE</i>	17q23	Intron 6 Ins/Del
adrenergic, beta-2-, receptor, surface	<i>ADRB2</i>	5q32-q34	79C/G(Gln27Glu) 46A/G(Arg16Gly)
adrenergic, beta-3-, receptor	<i>ADRB3</i>	8p12-p11.2	190T/C(Trp64Arg)
cytochrome P450, subfamily XIB (steroid 11-beta-hydroxylase), polypeptide 2	<i>CYP11B2</i>	8q21	-344 T/C
glucokinase (hexokinase 4, maturity onset diabetes of the young 2)	<i>GCK</i>	7p15-p13	-258G/A
glucagon receptor	<i>GCGR</i>	17q25	118G/A(Gly40Ser)
adducin (alpha)1	<i>ADD1</i>	4p16.3	614G/A(Gly460Trp)
glycoprotein Ib (platelet), alpha polypeptide	<i>GP1BA</i>	17pter-p12	434C/T(Thr145Met)
plasminogen activator inhibitor 1	<i>PAI-1</i> **	7q21.1-q22	Promoter 4G/5G

* Approved gene symbol according to HUGO Gene Nomenclature Committee

** Approved gene symbol according to OMIM

【成績】

妊娠中毒症との関連の報告がある 9 遺伝子中、MTHFR 遺伝子 677C/T 多型と妊娠中毒症に有意な関連が示された ($p=0.007$)¹⁾。さらに、F5 遺伝子 R485K 多型について本症との関連が示された ($p=0.017$)²⁾。さらに、この F5 遺伝子上に存在するアミノ酸置換を伴う 20 多型の解析結果を用いてハプロタイプ解析を行ったところ有意な関連が示された ($p=0.012$)³⁾ (表 2)。

表 2. Estimated haplotype frequencies of the M385T and R485K polymorphisms of the F5 gene

Haplotype (M385T – R485K)	Patients (n = 266)	Controls (n = 448)
T – K	74.9%	66.8%
T – R	21.5%	25.9%
M – K	1.5%	0.5%
M – R	2.3%	7.0%

$p = 0.003$

(Global test of differentiation, 300,000 Markov steps)

妊娠中毒症との関連の報告がある蛋白をコードする 7 遺伝子中には、本症と有意な関連を示した遺伝子多型は存在しなかった。

循環器疾患との関連の報告がある 11 遺伝子中では、Plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) 遺伝子の promoter 領域における 4G/5G 多型と妊娠中毒症に有意な関連が認められた ($p=0.02$)⁴⁾。

以上のように、MTHFR 遺伝子 TT 型、F5 遺伝子 KK 型、PAI-1 遺伝子 4G/4G 型が妊娠中毒症のリスク多型であることが明らかとなったため、そのリスク多型を重ねて持つことが、妊娠中毒症のリスクの上昇に影響しているかどうかを次に検討した。各リスク多型単独の危険率

は MTHFR 遺伝子 TT 型が 2.06 (95%CI: 1.20-3.50)、F5 遺伝子 KK 型が 1.81 (95%CI: 1.17-2.77)、PAI1 遺伝子 4G/4G 型が 1.62 (95%CI: 1.02-2.57) であった。これに対してリスク多型を共有すると、これらのリスク多型を全く持たない群との比較において、その危険率は 2 つ共有群で 3.32 (95%CI: 1.72-6.18)、3 つ共有群で 3.39 (95%CI: 1.25-8.87) であった。リスク多型を 2 つ以上共有することにより、妊娠中毒症のリスクが明らかに上昇した。

【考察】

遺伝子多型解析を行った結果、MTHFR 遺伝子 677C/T 多型、F5 遺伝子 R485K 多型、PAI-1 遺伝子 4G/5G 多型の 3 つの遺伝子多型と重症妊娠中毒症との間に有意な関連が認められ、2 つ以上のリスク多型を共有すると妊娠中毒症のオッズ比は、3.34 (95%CI: 1.76-6.09) となることが示された。

有意な関連が認められた 3 つの遺伝子はすべて凝固と関連のある遺伝子であり、妊娠中毒症の素因として母体の易凝固性があげられることが示唆された。

妊娠中毒症の発症に関連する遺伝子多型は日本人においてもいくつか確実に存在し、その解析には重要な意義があると考えられ、今後の研究の発展が期待される。

【文献】

- 1) Satoshi Sohda, Tadao Arinami, Hiromi Hamada, Naoki Yamada, Hideo Hamaguchi, Takeshi Kubo. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997; 34(6): 525-6.
- 2) Hideki Watanabe, Hiromi Hamada, Kimiko

- Yamakawa-Kobayashi, Hiroyuki Yoshikawa, Tadao Arinami. Evidence for an association of the R485K polymorphism in the coagulation factor V gene with severe preeclampsia from screening 35 polymorphisms in 27 candidate genes. *Thromb Haemost* 2001; 86(6): 1594-5.
- 3) Hideki Watanabe, Hiromi Hamada, Naoki Yamada, Satoshi Sohda, Kimiko Yamakawa-Kobayashi, Hiroyuki Yoshikawa, Tadao Arinami. Association analysis of nine missense polymorphisms in the coagulation factor V gene with severe preeclampsia in pregnant Japanese women. *J Hum Genet* 2002; 47(3): 131-5
- 4) Naoki Yamada, Tadao Arinami, Kimiko Yamakawa-Kobayashi, Hideki Watanabe, Satoshi Sohda, Hiromi Hamada, Takeshi Kubo, Hideo Hamaguchi. The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with severe preeclampsia. *J Hum Genet* 2000; 45(3): 138-41.