

審査の結果の要旨

氏名 木下 博之

本研究は、高齢者骨代謝疾患として代表的な骨粗鬆症および脊椎変形性関節症における遺伝的素因として、ビタミンK依存性ガンマカルボキシラーゼ遺伝子に着目し、臨床的にはこの遺伝子多型性のスクリーニング、タイピング、そして骨粗鬆症および脊椎変形性関節症に対する関連分析を行い、生化学的には遺伝子多型性に由来するプラスミドの構築およびトランスフェクション後のタンパク精製を行い、酵素活性を比較している。そして下記の結果を得ている。

1. 遺伝子多型性および遺伝子タイピングの結果、c.8762 G>A、c.9167 C>T および c.9191 C>T の3つの SNP が検索されたが、これらはハーディーワインベルク平衡に従っていた($p>0.05$)。そして c.8762 G>A はアミノ酸置換(Arg325Gln)を伴う SNP であった。これらの3つの SNP はハプロタイプブロックを構成しており、さらに c.8762 G>A は c.9167 C>T に完全に連鎖していた。グループ1 ($n=500$) およびグループ2 ($n=113$) において、ジェノタイプごとの患者背景(年齢、身長、体重、BMI)に有意差は見られなかった。
2. グループ1における GGCX 遺伝子多型性と骨密度の解析においては、c.8762 G>A の骨密度に対する影響は G アレルの優性発現であると考え、補正前腕Zスコアを AA 群と AG+GG 群で比較検討した。その結果、サブグループ3 (76歳以上、 $n=171$) において、c.8762 G>A の影響は有意であり、補正前腕骨Zスコアは 0.722 ± 0.844 (AA), 0.146 ± 0.889 (AG+GG), $p=0.0344$ 。ジェノタイプの影響力は 1.9%であった。サブグループ1 (70歳未満、 $n=148$) およびサブグループ2 (70-75歳、 $n=181$) では、有意な相関は見られなかった。
3. グループ2における GGCX 遺伝子多型性と骨密度の関連においては、グループ1と同様に、補正大腿骨頸部Zスコアを AA 群と AG+GG 群で比較検討した。その結果、補正大腿骨頸部Zスコアは、 1.059 ± 0.604 (AA), 0.548 ± 0.819 (AG+GG), $p=0.0315$, 影響力 2.6%であり、有意であった。
4. グループ2における GGCX 遺伝子多型性と脊椎変形性関節症スコアの関連においては、補正椎間腔狭小化スコア、補正椎体終板硬化スコアおよび補正骨棘形成スコアを算出したが、補正椎体終板硬化スコアは c.8762=AA において特に低値であった。そこで骨密度の検討と同様に、補正スコアを AA 群と AG+GG 群で比較検討した。その結果、椎間腔狭小化スコアおよび補正骨棘形成スコアについては有意な相関は

見られなかったが、補正椎体終板硬化スコアは、 0.314 ± 0.678 (AA), 1.682 ± 2.369 (AG+GG), $p=0.0186$, 影響力 2.3%であり、c.8762 G>A の影響は有意であった。

5. カルボキシラーゼ活性の測定においては、GGCX (325Gln)のビタミン K₂ に対する Km 値は $71.34 \pm 4.63 \mu\text{M}$ であった。GGCX (325Arg)においては $90.31 \pm 4.63 \mu\text{M}$ であった ($p=0.029$)。325Gln の Vmax は $191 \pm 9.45 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}$ 、325Arg は $186 \pm 7.88 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}$ であった ($p=0.033$)。325Gln の Vmax /Km は $2.68 \pm 0.20 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}/\mu\text{M}$ であり、325Arg では $2.06 \pm 0.12 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}/\mu\text{M}$ であった ($p=0.032$)。

325Gln の FLEEL に対する Km 値は $0.27 \pm 0.02 \text{mM}$ であった。325Arg では $0.32 \pm 0.03 \text{mM}$ だった ($p=0.016$)。325Gln の Vmax は $255 \pm 6.33 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}$ 、325Arg は $215 \pm 5.28 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}$ であった ($p=0.011$)。325Gln の Vmax /Km は $944.4 \pm 9.21 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}/\text{mM}$ であり、325Arg では $671.9 \pm 10.79 \text{pmol}/30\text{min}/\text{mg}/\text{mM}$ であった ($p=0.018$)。

以上より、GGCX の 325Gln は、325Arg に比べてカルボキシラーゼ活性が高いことが示唆された。

本研究の結果は、GGCX c.8762=AA のジェノタイプは、骨粗鬆症と脊椎変形性関節症の両者に対して予防的効果を持つことを示唆している。また c.8762=A に対応する 325Gln のカルボキシラーゼ活性が、c.8762=G に対応する 325Arg よりも高いことより、GGCX ジェノタイプの両疾患に対する影響は、カルボキシラーゼ活性の差異を介したものである可能性が示唆された。

これらの結果は骨粗鬆症や脊椎変形性関節症の予防と治療におけるビタミン K の重要性や個人の特性に合わせた栄養因子調整の可能性を示すものであり、学位の授与に値するものと考えられる。