

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：37109

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K07486

研究課題名（和文）遺伝素因に基づく静脈血栓塞栓症の発症予防に向けた新たな治療戦略の確立

研究課題名（英文）Development of a genotype-dependent therapeutic strategy for preventing venous thromboembolism

研究代表者

津田 博子（Tsuda, Hiroko）

中村学園大学・流通科学研究所・客員研究員

研究者番号：30180003

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：血液凝固制御因子プロテインSの活性低下をきたす遺伝子多型（Protein S Tokushima）は静脈血栓塞栓症の遺伝素因であり、日本人の約2%が変異保有者である。Protein S Tokushima野生型ホモ接合体の女子大学生では、空腹時の血中総プロテインS活性、抗原量はアポC-、LDLコレステロール、HbA1cと強く正に相関したが、高脂肪食または高炭水化物食摂取では変動せず、関連する食品群は同定されなかった。HepG2細胞のプロテインS遺伝子発現は培養液のグルコース濃度低下により抑制された。従って、血中プロテインS活性は食事摂取では変動せず、空腹時の低血糖防止の重要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Protein S TokushimaはプロテインSの抗凝固活性低下をきたす遺伝子多型で静脈血栓塞栓症の遺伝素因である。我が国には約200万人の変異保有者が存在するが、白人、中国人、韓国人、東南アジア人、ブラジル人では同定されていない。静脈血栓塞栓症の予防・治療法は主に白人を対象として研究されており、食生活に着目したものはない。したがって、日本人固有の遺伝性血栓性素因を考慮し、食因子に焦点をあてた本研究の研究成果は、今後の日本における静脈血栓塞栓症の予防・治療の充実に大きく貢献するものと確信する。

研究成果の概要（英文）：A protein S gene polymorphism with decreased activity, Protein S Tokushima, is a genetic risk factor for venous thromboembolism prevalent among the Japanese population, with an incidence of 2%. We found the plasma levels of total protein S activity and antigen of Japanese female university students, who were homozygous for the wild allele of Protein S Tokushima, were positively correlated with the levels of apolipoprotein C-, LDL cholesterol, and HbA1c during fasting. However, these levels did not change after consuming high-fat or high-carbohydrate meals. No food group correlated with total protein S activity and antigen levels. The expression of the protein S gene in HepG2 cells decreased when the glucose concentration in the medium was lowered. It is suggested that protein S activity is not affected by food intake and is positively correlated with fasting plasma glucose levels.

研究分野：血栓止血学

キーワード：遺伝性血栓性素因 プロテインS 若年日本人女性 予防治療戦略 食因子

1. 研究開始当初の背景

静脈血栓塞栓症は深部静脈血栓症とそれに起因する肺血栓塞栓症を含み、急性肺血栓塞栓症は時に致死的となる。わが国ではまれと考えられてきたが、近年確実に増加しており、エコノミークラス症候群として注目されている。静脈血栓塞栓症の発症には遺伝素因と誘発因子が関与するが、申請者らは血液凝固制御因子プロテイン S の活性低下をきたす遺伝子多型 (Protein S Tokushima: p.Lys196Glu) が静脈血栓塞栓症の遺伝素因であり、日本人の 50 人に 1 人が変異保有者であることを明らかにした(引用)。遺伝素因を基に発症する静脈血栓塞栓症は、40 歳以下の若年性発症で、再発を繰り返し、重篤な機能障害を合併することが多い。また、その発症には長時間不動、脱水、感染、手術、外傷、がん、妊娠、エストロゲン剤服用などの誘発因子が深く関与する。血中プロテイン S 活性は閉経前女性で低値であり、妊娠・産褥期や経口避妊薬服用時など高エストロゲン状態ではさらに低下する。申請者らは、ワインに含まれるレスベラトロールや大豆に含まれるゲニステインなどの植物由来ポリフェノールが、株化ヒト肝細胞 HepG2 のプロテイン S 遺伝子発現を抑制することを見出した(引用)。また、中年肥満女性や若年非肥満女性の血中プロテイン S 抗原量がトリグリセリド、LDL コレステロール、血糖値と正に相関し、中でもリポタンパク質リパーゼの補助因子であるアポ C-II との関連が強いことを明らかにした(引用)。我が国には約 200 万人の Protein S Tokushima 変異保有者が存在することから、血中プロテイン S 活性に影響を及ぼす食因子を明らかにし、遺伝素因に基づく静脈血栓塞栓症の予防治療戦略を確立することは喫緊の課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、遺伝素因 Protein S Tokushima に基づく静脈血栓塞栓症の発症予防に向けた新たな治療戦略を確立し、その分子機序を解明することである。従来の静脈血栓塞栓症の予防治療法は主に白人を対象として研究されてきた。また食生活に着目したものはない。静脈血栓塞栓症発症の強い誘発因子となる血中プロテイン S 活性低下は、高エストロゲン状態の若年女性で顕著である。そこで、日本人若年女性を対象として血中プロテイン S 活性に影響を及ぼす食因子を探索し、それに基づいた食生活改善法を考案し、介入研究によりその有効性を検証し、さらにその分子機序解明を目指す。

3. 研究の方法

(1)若年女性の遺伝素因の検討と血中プロテイン S 活性に影響をおよぼす候補食因子の探索
中村学園大学健康増進センターでは、毎年、管理栄養士養成課程に在籍する約 800 名の学生 (約 95%が女子学生) を対象に、身体計測、尿・血液検査、食事調査、生活習慣調査を実施している (以下、ヘルスチェック)。本研究ではヘルスチェックに参加した女子大学生について遺伝子解析を実施し、Protein S Tokushima 変異の有無を同定し、遺伝素因とは独立して血中プロテイン S 活性、抗原量に関連する食因子および食生活習慣を探索する。

(2)介入研究による候補食因子の有効性の確認

Protein S Tokushima の野生型ホモ接合体の女子学生について、血中プロテイン S 活性に影響

をおよぼすことが明らかになった候補食因子を用いた介入研究を実施する。

(3) 候補食因子による肝細胞のプロテイン S 発現調節のメカニズム解明

これまでの検討で、株化ヒト肝細胞 HepG2 のプロテイン S 遺伝子発現を最も強く抑制したレスベラトロールが NAD 依存性脱アセチル化酵素サーチュインの活性化物質であることから、培養液中のグルコース濃度低下のプロテイン S 遺伝子発現に対する影響を検討し、その分子機序の解明を試みる。

4. 研究成果

(1) 若年女性の遺伝素因の検討と血中プロテイン S 活性に影響をおよぼす候補食因子の探索

1) 女子大学生 195 名について、申請者らが開発した測定法を用いてプロテイン S 比活性（総プロテイン S 活性/総プロテイン S 抗原量）を検討したところ、5 名（2.6%）が 0.78（健常者の平均値-3x 標準偏差）未満であった。遺伝子解析の結果、5 名はすべて Protein S Tokushima 変異のヘテロ接合体であったが、0.78 以上の者はすべて野生型ホモ接合体であり、プロテイン S 比活性測定により高い精度で Protein S Tokushima 変異を同定可能であることが明らかになった（Noguchi, et al. 2019）。これらの女子学生を含む日本人の健常者 1,031 名、静脈血栓塞栓症患者 446 名の遺伝子解析の結果、PS Tokushima 変異のアレル頻度は健常者 1.12%、静脈血栓塞栓症患者 2.35%であり、変異アレル保有は深部静脈血栓症のリスク要因となるが、肺血栓塞栓症のリスク要因とはならないことを明らかにした（Tsuda, et al. 2020）。

2) Protein S Tokushima の野生型ホモ接合体で妊娠や経口避妊薬服用をしていない女子大学生 176 名を対象として、空腹時の血中総プロテイン S 活性、抗原量に関連する身体・血液指標を検討したところ、過去の検討結果（引用）と同様に、アポ C-^{III}、LDL コレステロール、HbA1c と強く正に相関することを確認した。一方、食品群別摂取頻度法にて評価したエネルギー・栄養素等摂取量、食品群別摂取量はいずれも血中総プロテイン S 活性、抗原量と関連しなかった。

(2) 介入研究による候補食因子の有効性の確認

Protein S Tokushima の野生型ホモ接合体の女子大学生 12 名を対象として、早朝空腹時に約 700 kcal の高脂肪食（脂肪 69.3 E%、炭水化物 25.6 E%）または高炭水化物食（脂肪 1.3 E%、炭水化物 90.6 E%）をクロスオーバー法にて摂取させ、摂取前、摂取 2.5、5.5 時間後に採血した。高脂肪食摂取後に血中トリグリセリド、small dense LDL コレステロール、第Ⅲ因子活性が著明に上昇したが、高炭水化物食摂取後にはいずれも低下した。高脂肪食、高炭水化物食のいずれの摂取でも LDL コレステロール、HDL コレステロール、アポ A-^I、アポ B、アポ C-^{III}、アポ E は軽度低下したが、アポ C-^{III} は高炭水化物摂取後に軽度上昇した。一方、総プロテイン S 活性および抗原量は食事摂取で変動せず、プロテイン C 抗原量、フィブリノーゲンが高炭水化物摂取後に軽度減少した。したがって、プロテイン C-プロテイン S 血液凝固制御系は高脂肪食摂取後の第Ⅲ因子活性上昇に伴う血液凝固能亢進の制御には関与しないことが示唆された。（Tsuda, et al. 2024）

(3) 候補食因子による肝細胞のプロテイン S 発現調節のメカニズム解明

株化ヒト肝細胞 HepG2 の培養液中のグルコース濃度を 25 mM から 5.5 mM に低下させると 24 時間後にはプロテイン S、アポ C-III 遺伝子発現が有意に抑制されるが、プロテイン C、第 III 因子、アポ B100 の遺伝子発現は変化せず、PAI-1 遺伝子発現は著しく上昇した。今後、研究成果を論文にまとめて公表する予定である。

<引用文献>

Kinoshita S, et al. Protein S and protein C gene mutations in Japanese deep vein thrombosis patients. Clin. Biochem. 38(10): 908-915, 2005.

Hiroto Y, et al. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine, down-regulates protein S expression in HepG2 cells. Thromb. Res. 127: e1-e7, 2011.

Otsuka, Y, et al. Relationship between plasma protein S levels and apolipoprotein C-III in Japanese middle-aged obese women and young non-obese women. Blood Coagul Fibrinolysis. 20(1):39-47, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Tsuda H., Noguchi K., Kawae Miya M.	4. 巻 3
2. 論文標題 Influence of high-fat and high-carbohydrate meals on lipids, apolipoproteins, and coagulation and anticoagulation factors.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Lab Med Int	6. 最初と最後の頁 15-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.51041/lmi.3.1_15	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ieko M., Hotta T. Watanabe K., Adachi T., Takeuchi S., Naito S., Yoshida M., Ohmura K., Takahashi N., Morishita E., Tsuda H., Kang D.	4. 巻 113
2. 論文標題 Comparative evaluation of reagents for measuring protein S activity: possibility of harmonization.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Hematol	6. 最初と最後の頁 530-536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-020-03049-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi, T., Morishita, E., Tsuda, H., Neki, R., Kojima, T., Ohga, S., Ochiai, M., Adachi, Y., Miyata, T.	4. 巻 47
2. 論文標題 Clinical guidance for peripartum management of patients with hereditary thrombophilia.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Obstet Gynecol Res	6. 最初と最後の頁 3008-3033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.13879	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Marlar R.A., Gausman J.N., Tsuda H., Rollins-Raval M.A., Brinkman H.J.M.	4. 巻 19
2. 論文標題 Recommendations for Clinical Laboratory Testing for Protein S Deficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Thromb Haemost.	6. 最初と最後の頁 68-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jth.15109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 小林隆夫、森下英理子、津田博子、根木玲子、小嶋哲人、大賀正一、落合正行、安達知子、宮田敏行	4. 巻 30
2. 論文標題 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引きQ&A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本産婦人科・新生児血液学会誌	6. 最初と最後の頁 5-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuda H., K. Noguchi K., Oh D., Bereczky Z., Lee L. H., Kang D., Dusse L.M.S., Carvalho M.G., Morishita E.	4. 巻 4
2. 論文標題 Racial differences in protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Res Pract Thromb Haemost	6. 最初と最後の頁 1295-1300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/RTH2.12440	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin X., Sata S., Miya M., Nakano S., and Tsuda H.	4. 巻 30
2. 論文標題 Plasma phenotypes of protein S Lys196Glu and protein C Lys193del variants prevalent among young Japanese women.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Blood Coagul Fibrinolysis.	6. 最初と最後の頁 393-400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MBC.0000000000000854	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Tsuda H., Noguchi K., Kawae Miya M.
2. 発表標題 Effects of high-fat and high carbohydrate meals on coagulation and anticoagulation parameters and lipid profile
3. 学会等名 XXXI Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 津田博子、能口健太、川江真南
2. 発表標題 高脂肪食、高炭水化物食摂取後の血中プロテインS、第 因子の変動
3. 学会等名 第45回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 能口健太、中園栄理、津田友秀、金秀日、佐田志穂子、宮真南、中野修治、津田博子
2. 発表標題 日本人若年女性における血液凝固制御因子プロテインS、プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量についての検討
3. 学会等名 第23回日本病態栄養学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tsuda H
2. 発表標題 Vitamin K-dependent protein S: Function and Etiological Significance.
3. 学会等名 第41回日本血栓止血学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuda H., Noguchi K., Oh D., Bereczky Z., Lee L.H., Dusse L., Carvalho M., Kang D
2. 発表標題 Racial differences of protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism
3. 学会等名 XX I Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin X., Sata S., Miya M., Nakano S., Tsuda H
2. 発表標題 Genetic and phenotypic analyses of protein S Tokushima and two protein C variants on healthy Japanese young women.
3. 学会等名 XX I Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 能口健太、中園栄里、津田友秀、金秀日、佐田志穂子、宮真南、中野修治、津田博子
2. 発表標題 日本人若年女性における血液凝固制御因子プロテインS、プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量の検討.
3. 学会等名 第41回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuda H., Noguchi. K.
2. 発表標題 Genotype and plasma phenotype of protein S Tokushima and two PROC variants of Japanese young women
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuda H.
2. 発表標題 Total Protein S Assay System: Clinical Significance and Pre-analytical Quality Control.
3. 学会等名 8th Annual World Congress of Molecular & Cell Biology-2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Noguchi K., Nakazono E., Miya M., Sata S., Tsuda H.
2. 発表標題 Genetic and functional analyses of two protein C gene mutations on healthy Japanese young women.
3. 学会等名 10th Congress of Asian-Pacific Soc. Thromb. Haemost. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 津田博子
2. 発表標題 血中プロテインS濃度とアポリポタンパク質C-IIの関連
3. 学会等名 第40回日本血栓止血学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsuda H.
2. 発表標題 Investigation into racial differences in genetic risk factor for venous thromboembolism.
3. 学会等名 64th Annual SSC Meeting of Int. Soc. Thromb. Haemost. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 津田博子
2. 発表標題 血中プロテインS濃度はアポリポタンパク質C-IIと正に相関する.
3. 学会等名 第65回日本臨床検査医学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	能口 健太 (Noguchi Kenta) (90757494)	中村学園大学・栄養科学部・助教 (37109)	
研究 分担者	宮 真南 (Miya Mana) (30828182)	中村学園大学・栄養科学部・助手 (37109)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------