

日本人における凝固系第 XIII 因子 A Subunit の遺伝的多型について

東京女子医科大学法医学教室 (主任: 阿部和枝教授)

大上 治・中村 茂基・教授 阿部 和枝
オオウエ オサム ナカムラ シゲキ アベ カズエ

(受付 昭和56年12月24日)

Genetic Polymorphism of the A Subunit of Human Coagulation Factor XIII in Japanese

Osamu OOUE, Shigeki NAKAMURA and Kazue ABE, M.D.

Department of Legal Medicine (Director: Prof. Kazue ABE)

Tokyo Women's Medical College

Genetic polymorphism of the A subunit of plasma coagulation factor XIII in Japanese is described using agarose gel isoelectric focusing electrophoresis followed by immunofixation technique.

Gene frequencies in Japanese showed FXIII-A¹=0.8774 and FXIII-A²=0.1226, respectively.

From the results in the present study, it was confirmed that the A subunit of factor XIII was controlled by two codominant alleles on an autosomal locus.

It was considered that the A subunit of factor XIII could be applicable in the field of forensic medicine.

緒 言

凝固系第XIII因子は、トロンビンの作用で生じたフィブリンポリマーに作用し、分子間にイソペプチド結合から成る架橋を形成するトランスグルタミナーゼの一種であり、その主な作用は生理的に安定したフィブリンを作ることにある。この活性化にはトロンビンと Ca イオンの存在は不可欠である。主に血漿、血小板、前立腺、胎盤や肝臓などに見出され、構造的に血小板由来の第XIII因子と、血漿由来の第XIII因子とに分けられる。血小板由来の第XIII因子は触媒活性基を有する A subunitのみで構成され、A₂ の状態で存在する。血漿由来の第XIII因子は A subunit に加え carrier protein とみなされる B subunit を含み、混合四量体の A₂B₂ の状態で存在していることが知られてい

る¹⁾²⁾³⁾。

Board (1979)⁴⁾ は、Agarose gel 電気泳動法を用いて、オーストラリア白人の集団における凝固系第XIII因子 A subunit の遺伝的多型について報告している。

そこで本研究においては、Agarose gel 等電点電気泳動法及び Immunofixation を用いて日本人における凝固系第XIII因子 A subunit (Factor XIII-A) の遺伝的多型の検討を行なった。

実験方法

1. 試料

血液試料は東京在住の健康人男女261名より採血し、抗凝固剤として EDTA (1.5mg/ml) を用いた。遠心分離後、血漿は使用時まで-80°Cにて保存した。

2. 電気泳動

電気泳動は、LKB 2117 Multiphor system 及び LKB2103 Power supply を用いて Agarose gel 等電点電気泳動法を行なった。

Agarosegel (25.5cm×11.5cm, 厚さ1mm) は、33.2ml 精製水中に0.36g, Isogel™ Agarose-EF (LKB 2206—11) を加え、水浴中で加温溶解後、75℃以下で0.7ml Ampholine pH 3.5~9.5 (LKB 1818—101), 2.1ml Ampholine pH5.0~8.0 (LKB 1818—126) を混合し、Gel-Bond Film (LKB 2117—701) を用いたゲル作成ガラスプレート中に流し込み、室温に20分間、さらに2~8℃で1時間以上放置したものを使用した。試料は15 μ l の EDTA 血漿を whatman 3MM paper (5mm×10mm) に浸してゲル上の陰極側に置いた。電極液は陽極側に0.04M L-Glutamic acid, 陰極側に0.5M NaOH を用いた。泳動は4℃の冷室内で constant power 10W で2時間、さらに15W で20分間行ない終了した。

3. Immunofixation

電気泳動後、rabbit anti-human factor XIII subunit A anti-serum (Behringwerke Marburg, W: Germany) を用いて室温、湿室中で60分間 Immunofixation を行なった。脱蛋白は生理的食塩水で一晩行ない、染色は Agarose gel を完全乾燥させたのち、下記の染色液中で60分間行なった。

染色液：1.5g Coomassie Brilliant Blue R250

300ml 脱色液

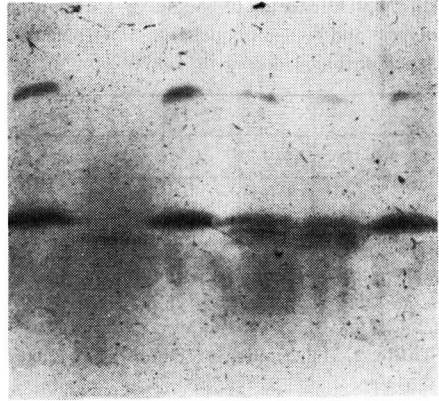
脱色液：350ml エタノール

100ml 酢酸

精製水で1,000ml にする。

結果と考察

Fig. 1 は Factor XIII—A の Agarose gel 等電点電気泳動による泳動パターンを示す。Fig. 2 は Fig. 1 を基にした各表現型の模式図である。261例について検討を行なったところ、Fig. 1, Fig. 2 で示すように表現型では1—1型、2—1型、2—2型の3種類に区別された。この命名法は原報告者の Board の命名法に従った。なお泳動法は Board の原法とは異なる Agarose gel 等電点



1-1 2-2 1-1 2-1 2-1 1-1

Fig. 1 Agarose gels isoelectric focusing patterns of factor XIII-A subunit detected in present samples

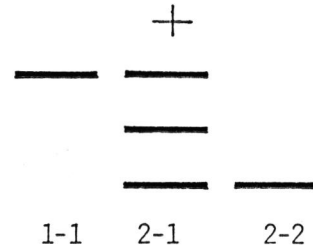


Fig. 2 Schematic diagram of factor XIII-A subunit from agarose gels

電気泳動法を行なったが、泳動パターンは同一であった。

Table 1は261例の各表現型の分布と遺伝子頻度を示す。東京在住の日本人に関しては、表現型では1—1が77.01%認められ、遺伝子頻度は $F_{XIII-A^1}=0.8774$, $F_{XIII-A^2}=0.1226$ となった。カイ二乗検定を行なった結果、 $\chi^2=0.0021$ となり有意の差は認められず、またハーディワインベルグの原理からみて任意交配集団から期待される比率と一致することが認められた。また Board によるオーストラリア白人の Factor XIII—A についての遺伝子頻度と比較してみたところ、オーストラリア白人 $F_{XIII-A^1}=0.79$ に対して日本人は $F_{XIII-A^1}=0.8774$ という値を示し、若干の相違が認められた。

Table 2 は 家族試料について 検討を 行なつた

Table 1 Distribution of factor XIII-A subunit phenotypes and gene frequencies among unrelated Japanese blood donors in Tokyo

	1-1	2-1	2-2	total
obs. no.	201	56	4	261
%	77.01	21.46	1.53	
exp. no.	200.93	56.15	3.92	

FXIII-A¹ : 0.8774, FXIII-A² : 0.1226
 $\chi^2 = 0.0021$, d.f. = 1, $p > 0.9$

Table 2 Inheritance of factor XIII-A subunit alleles

parental types	offspring types		
	1-1	2-1	2-2
1-1 × 1-1 (4)	4	0	0
1-1 × 2-1 (2)	0	2	0

ものである。先天性第XIII因子欠損症の遺伝については、X-linked recessive であるといわれていたが⁵⁾、しかし近年 McDonaghら⁶⁾により autosomal recessive であることが示された。6家系について検討してみたところ、Factor XIII-Aは autosomal codominant な遺伝様式を示すことが認められた。また表現型は単一遺伝子座位における2種の対立遺伝子により発現されるとして矛盾は認められなかつた。

したがって日本人においても Factor XIII-Aには遺伝的多型の存在が証明され、今後法医学上の

応用が可能と考えられる。

総 括

日本人における血漿中の凝固系第XIII因子 A subunit の遺伝的多型について、Agarose gel 等電点電気泳動法及び Immunofixation を用いて検討を行なつた。

遺伝子頻度は FXIII-A¹ = 0.8774, FXIII-A² = 0.1226となつた。オーストラリア白人と比較してみたところ若干の相違が認められた。また家族試料について調べてみたところ、autosomal codominant な遺伝様式を示した。

以上の結果、今後法医学上の応用は可能であると考えられる。

文 献

- 1) **Losowsky, M.S.:** Br J Haematol **37** 1~5 (1977)
- 2) **中村 伸:** 血液凝固因子. 青木延雄・岩永貞昭 凝固・線溶・キニン 初版 中外医学社 東京 (1979) 72~96
- 3) **小西和彦・高木 尚:** 血液凝固の作用機序(第Ⅲ相). 新版日本血液学全書刊行委員会 新版日本血液学全書11 出血性素因・基礎 初版 丸善 東京 (1979) 288~296
- 4) **Board, P.G.:** Am J Hum Genet **31** 116~124 (1979)
- 5) **Hampton, J.W., G.R. Cunningham and R.M. Bild:** J Lab Clin Med **67** 914~921 (1966)
- 6) **McDonagh, J., R.P. McDonagh and F. Duckert:** Ann Hum Genet **35** 197~206 (1971)