

厚生科学研究費補助金研究報告書  
厚生科学特別研究事業

本態性高血圧症の遺伝子診断と循環器  
合併症の進展に関する研究  
(H10-特別-00-9)

石上友章  
(横浜市立大学医学部内科学第二講座)

厚生科学研究費補助金(厚生科学特別研究事業)

総括研究報告書

本態性高血圧症の遺伝子診断と循環器合併症の進展に関する研究

主任研究者 石上友章 横浜市立大学医学部第二内科助手

研究要旨 ヒトの本態性高血圧症はその発症の3割が遺伝的因子によって発症すると考えられている。従来この遺伝的因子に関してはアンジオテンシノーゲン(AGT)が一つの有力候補と考えられてきたが、AGT 遺伝子には約20の点変異があり、どの変異が原因となっているかについては、議論されていた。本研究では、そのなかでも、5'上流の一連の遺伝子変異が、転写調節を介して発症に関与していることを、ヒトでの表現型と遺伝子型の解析を行うことによって明らかにした。

A.研究目的

本研究の目的は RAS の基質であるアンジオテンシノーゲン(AGT)遺伝子多型、なかでも5'上流域の転写調節領域の遺伝子多型およびその他のRAS系遺伝子(AGT 遺伝子 M235T 多型、アンジオテンシン変換酵素遺伝子 I/D 多型など)の、高血圧症および血管合併症の発症、進展に果たす役割を解明することにある。

B.研究方法

定期的に健康診断を受けている、当院の関連施設の職員を対象にし、対象の承諾を得て、健康診断の際に採取した血液からDNA抽出キット(Nucleon II, Scot Lab.)を用いて genomic DNA を抽出する。抽出した genomic DNA から PCR 法により AGT 遺伝子の5'上流領域の265bpを増幅する。得られた PCR 産物は Suprec II(TAKARA, Japan)で30-90ngに精製し、Dye-Terminator 法で5'primer側の塩基配列を蛍光色素でラベルする。さらに、Centri Sep spin columnで精製し、ABI Prism 310 Genetic Analyzer(Perkin Elmer, USA)で電気泳動して塩基配列を決定する。初年度はこれらの遺伝子型を決定し、過去の蓄積された健診時の血圧値、心電図、血液生化学データとの間の検討を行う。

C.研究結果

研究初年度である本年は、血液の採取、ゲノム DNA を抽出を行い、一部検体の解析を行った。274名の解析結果は、一部を昨年国際高血圧学会(ISH:Amsterdam)で発表した。その結果は、5'上流領域の遺伝子変異のうち-20 adenine to cytosine 変異は血中AGT濃度の決定に関与しており、-6 guanine to adenine 変異は随時血圧の決定に関与していることが明らかになった。また、direct sequenceの結果転写開始点の近傍のイントロン1に新規点変異を認め、この変異が-6の guanine to adenine、エクソン2の M235T 変異と強く連鎖不均衡状態にあるこ

とを見出した。イントロン1領域にも転写調節因子の結合配列があり、この変異が病因に関与している可能性が示唆された。

#### D. 考察

AGT 遺伝子の 5' 上流転写調節領域の点突然変異は、AGT 遺伝子の転写量を変化させることで、高血圧症の発症に関与していることが考えられた。

#### E. 結論

ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子の 5' 上流転写調節領域の遺伝子変異が、アンジオテンシノーゲンの転写調節の変化を介して、ヒトの血圧の調節、高血圧の発症に関与していることが明らかになった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hibi K, Ishigami T, Tamura K, Mizushima S, Nyui N, Fujita T, Ochiai H, Kosuge M, Watanabe Y, Yoshii Y, Kihara M, Kimura K, Ishii M, Umemura S. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism and Acute Myocardial Infarction. *Hypertension*. 1998;35:521-526.

石上友章、梅村敏 遺伝子多型と循環器疾患—RAS 遺伝子、eNOS 遺伝子の役割について  
*Heart View* 1999;3:280-284

梅村敏、石上友章 高血圧：診断と治療の進歩 1. 高血圧原因遺伝子研究の進歩  
日内会誌 88:198-206, 1999

石上友章、梅村敏 高血圧症の遺伝子診断 降圧薬の上手な使い方 石井当男・梅村敏編  
南山堂 1999

##### 2. 学会発表

Ishigami T. Clinical Genetics in Hypertension-Investigator led Satellite Symposium of the 17th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension.

Maastricht, the Netherland-June 5-6, 1998.

Role of Polymorphisms of 5' Upstream Regions of Human Angiotensinogen (AGT) Gene in Essential Hypertension.

Ishigami T, Takahashi N, Ashino K, Sumita S, Ebina T, Minamisawa K, Mitani I, Fujita T, Ochiai H, Umemura S. Clinical characteristics of cardiovascular involvement associated with mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) gene 3243 adenine to guanine mutation. 第63回 日本循環器学会学術集会 International Session IS102