

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

老化及び老年病関連遺伝子同定を目指した
遺伝疫学研究
(H15-長寿-005)

平成15年度 総括研究報告書
平成16 (2004) 年3月

主任研究者

三木哲郎 (愛媛大学医学部老年医学講座)

分担研究者

近藤郁子 (愛媛大学医学部衛生学講座)

目 次

I. 総括研究報告

- 老化及び老年病関連遺伝子同定を目指した遺伝疫学研究
愛媛大学医学部老年医学講座・教授 三木哲郎 -----3

II. 分担研究報告

1. 生活習慣病関連遺伝子同定を目指した遺伝疫学研究
愛媛大学医学部老年医学講座・教授 三木哲郎 -----8
2. 高次脳機能（痴呆・アルツハイマー病・知的障害）関連遺伝子同定を目指した遺伝疫学研究
愛媛大学医学部衛生学講座・教授 近藤郁子 -----14

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----20

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----21

老化及び老年病関連遺伝子同定を目指した遺伝疫学研究

主任研究者 三木哲郎 愛媛大学医学部老年医学講座教授

研究要旨

本研究では、老化及び老年病関連遺伝子の同定を目的とした遺伝疫学研究を行った。その結果、ALDH2 遺伝子、GNAS1 遺伝子が飲酒と相互作用を持ちつつ、高血圧の発症と関連していることが明らかとなった。また、ゲノム・ワイドでの検討から、高次脳機能障害に関連する候補遺伝子が特定された。テーラーメイド医療への応用を見据えつつ、今後はより詳細な検討を行う予定である。

三木哲郎 愛媛大学医学部老年医学講座・教授
近藤郁子 愛媛大学医学部衛生学講座・教授

A. 研究目的

本研究では、生活習慣病および老年病に係る遺伝要因を探索し、ひいては老化の予防・遅延を達成することで、長寿科学の発展と健康余命の確保に貢献することを目的とする。

具体的には、①愛媛県下の一般地域住民（2870人）を対象とした医療・遺伝子情報データベースから、高血圧、糖尿病、高脂血症、肥満などの生活習慣病と、これに起因する脳血管障害、虚血性心疾患などの老年病の遺伝要因を見だし、②380例ずつからなる晩発性アルツハイマー病／健常サンプルから、痴呆等の高次脳機能障害に関する遺伝子を単離・同定することを目指す。世界的観点からみた本研究の特徴を以下に示す。

- 1) 老年病・生活習慣病の解析のため、アイスランドでは約28万人、英国では約50万人の遺伝子バンク計画が進行しているが、日本人を対象とした研究は皆無である。ある疾患の原因遺伝子やある遺伝子の対立遺伝子頻度が、白人と比べて全く異なることはしばしば観察されており、この点から、日本人独自のデータの蓄積は必須である。本研究は日本人を対象とした、大規模な遺伝疫学研究の最先端である。
- 2) ヒトゲノム解析は急速に進行しつつあり、今年度中にも全塩基配列が決定されると予想される。今後は、この成果を基盤としたポストゲノム解析を展開し、可及的速やかに生活習慣病と老年病の責任遺伝子を同定して

いく必要がある。そのためには、まず解析対象者を確保し、その医療情報をデータベース化しておく必要がある。また、高速かつ安価に遺伝子を解析するシステムや、得られた遺伝子情報の解析技術も必要とされる。本研究は、優れたシステムと、解析技術における秀でた能力を有する点で、世界的に見ても第一線である。

B. 研究方法

生活習慣病や老年病感受性遺伝子の探索では、疾患の発症に複数の遺伝因子と複数の環境因子が相互に関与することを考慮し、一般地域集団を対象とした長期縦断的疫学研究を、特に遺伝疫学に焦点をあてて研究を進める。一方、高次脳機能障害に関する検討では、晩発性アルツハイマー病と診断された380例と、同数の健常高齢者とからなるケース／コントロール研究を行う。

【一般地域集団】

対象となるコホートは、愛媛県下に設定済みである。具体的には、高齢化率が50%を越えている瀬戸内海の島嶼部A村と、人口移動の少ないの山間部のB町（高齢化率32%）とした。いずれも、遺伝的に隔離された集団が多く、それぞれの由来が異なることは既知である。これらコホートから、疫学研究と遺伝子解析研究の同意が得られたA村住民370人、B村住民3160人、計3530人が調査研究対象である。

本集団において、収集したデータは以下の通りである。対象者個人について、一般住民健診のデータは、10年前より毎年度収集している。加えて、ベースライン調査の時点では、既往歴や生活習慣などについて、より詳細に把握した。それぞれの具体的な項目を以下に示す。

1) 一般住民健診項目

身体組成	身長・体重
血圧	安静時血圧
血液生化学検査	赤血球数・ヘマトクリット・ヘモグロビン・中性脂肪・総コレステロール・HDLコレステロール・血糖・糖化ヘモグロビン・GOT・GPT・γGTP・クレアチニン・尿酸・総タンパク質・乳酸脱水素酵素・アルカリフォスファターゼ
心電図	
生活習慣	喫煙・飲酒

2) ベースライン調査項目

現病・既往歴	高血圧・糖尿病・高脂血症・心筋梗塞・狭心症・脳卒中・骨粗鬆症・痛風
家族歴	高血圧・糖尿病

加えて、循環器疾患の中間形質として動脈硬化に着目し、頸動脈内膜中膜複合体厚 (IMT; Intima-media thickness) や脈波伝搬速度 (PWV; Pulse Wave Velocity)、Augmentation Index の測定を毎年行っている。

【ケース/コントロールサンプル】

晩発性アルツハイマー病の検体は、大阪大学・福祉村病院・愛媛大学が収集した 380 例とした。健常群 (380 例) は、吹田市高齢クラブ連合会から確保した。

【遺伝子解析】

対象者の高分子量 DNA は末梢血由来白血球より抽出済みである。全ての DNA は、その一部を DOP-PCR 法で 200 倍に増幅済みであり、当面の多型解析には十分供与しうる量を確保した。

遺伝子多型の解析においては、既に高速かつ安価にタイピング可能なシステムを構築済みである。本システムは、TaqMan プローブ法によるもので、通常の作業では、1 日あたり 12,000 タイピングが可能である。1 タイピングに必要な DNA 量は約 1 ng、単価は約 40 円と、現在の技術レベルを鑑みると、極めて高い水準にあるといえる。なお、本システムに用いた機器は以下の通りである。

● 試料ハンドリング

ベックマン・コールター社製
Biomeck FX (96 連チップ) × 1 台
Biomeck 2000 (8 連チップ) × 1 台

● PCR

アプライド・バイオシステムズ社製

GeneAmp9700 (384 well 2 枚) × 10 台
GeneAmp9700 (96 well 1 枚) × 6 台

● 検出

アプライド・バイオシステムズ社製
ABI Prism 7900HT × 1 台

【データベース】

調査対象者の臨床情報ならびに遺伝情報を格納するデータベースは既に構築済みである。情報は、データベースシステムが無作為かつランダムに発生した匿名化コードをキーに格納する。格納したデータは、ローカルエリアネットワーク経由で、クライアント PC から参照・ダウンロード可能である。ユーザーインターフェースは html 形式としたため、クライアント PC からは、ブラウザ経由での操作が可能である。一般的な横断データの検索・抽出に加え、縦断データについても同様に操作可能であり、高い利便性が確保されている。

【データ解析】

生活習慣病、あるいは老年病に関する遺伝疫学的解析には、遺伝-環境相互作用を十分に加味することが必要となる。この点を見据え、上記の通り、既に経年的かつ多岐にわたる環境因子データを収集済みである。遺伝因子については、高速な解析システムを用いることで、迅速かつ正確に把握することができる。加えて、両者の相互作用を加味した解析については、世界的にみても有用な知見を多く集積済みである。

【倫理面への配慮】

本研究計画は、愛媛大学医学部倫理審査委員会にて承認済みである (「長寿者となるための環境要因と遺伝要因の研究」「生活習慣病と動脈硬化性疾患の発症要因の探索」「老人性痴呆の発症要因の探索」平成 14 年 9 月 12 日付)。

対象者には、事前に十分な主旨説明の上、書面にて同意書を得た。個人情報、所定の手続きに則って匿名化し管理している。これらはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守したものであり、本研究における倫理面への配慮は十分であると判断した。

C. 研究結果

生活習慣病感受性遺伝子探索研究では、特に飲酒と ALDH2 遺伝子・GNAS1 遺伝子との交互作用に着目して、血圧との関連を検討した。

その結果、ALDH2 遺伝子多型と血圧との関連は、男性においてのみ有意であり、1 型の遺伝子対を持つ対象で有意に高い値を示した。各群での高血

圧者数も、同様に1型で高頻度であった。また、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、GOT、GPT、 γ GTP、血糖、尿酸などの血液生化学マーカーも、男性でのみ1型で高値であった。多項ロジスティック回帰分析の結果、年齢・BMI・喫煙・飲酒量とともにALDH2多型は、男性でのみ高血圧に対する有意なリスクファクターであることが示された。

他方、GNAS1多型との相関を検討した成績では、高血圧とTアレルとに有意な相関($p=0.046$)が認められた。アルコール摂取量との交互作用を検討したところ、エタノール摂取量25g/日未満の群において、より顕著な有意差が認められ($p=0.0084$)、高血圧群でTアレルの頻度が高かった。

高次脳機能障害感受性遺伝子探索研究では、JSNPデータベースから、ゲノム・ワイドに遺伝子を検索し、疾患感受性が想定される89遺伝子について検討した。380例ずつのケース/コントロールサンプルを用いた検討から、このうち3SNPについて統計学的有意差が認められた。

D. 考察

生活習慣病感受性遺伝子探索研究では、高血圧をターゲットとし、感受性をもつと考えられる2遺伝子との関連をみた。同時に、これらの遺伝子は、生物学的にアルコール摂取の影響を受けることが考えられたので、飲酒習慣との交互作用についても検討した。

その結果、両遺伝子ともに、血圧値、あるいは高血圧者の頻度との相関は、アルコール摂取を加味することでより明確化された。このことは、第一に、生活習慣病の遺伝的背景を考える上で、環境因子を的確に加味することが必須であることを示すものである。本成績は、これからの遺伝疫学研究において、重要な示唆を提示するものといえよう。また、本成果は、将来的にテーラーメイド医療に貢献しうることが期待される。高血圧に対する遺伝子多型と飲酒量との交互作用は、飲酒量を減少した際の治療効果にも差異があることを示唆するものであり、適切な治療方法の選択に大きく寄与するものといえよう。さらに、遺伝子多型ごとの異なった生活指導や予防活動が、従来の画一的なそれより効果的であることは明白であり、この点で本成果は、予防医療の確立・実現にも大きく貢献しうることが期待される。

高次脳機能障害感受性遺伝子探索研究では、ゲノム・ワイドに候補遺伝子を選択し、SNPをマーカーとしてLOADとの相関を検討した。3SNPに統計学的有意差が認められたが、今後は、より

LOADに特化したマーカーを設定する、あるいは既にLOADとの相関が報告されている第9、10、12染色体を中心としたアプローチも展開していくことで、より詳細な検討を行う必要があると思われる。

E. 結論

生活習慣病感受性遺伝子として、ALDH2:rs671多型、およびGNAS1:rs7172多型が、高次脳機能障害感受性遺伝子として、CAST、COL9A1、IL1RAPが抽出された。これらの成果は、今後の長寿社会の発展に、特にテーラーメイド医療/予防の分野から大きく貢献するものと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Yamamoto M, Abe M, Jin JJ, Wu Z, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of GNB3 gene with pulse pressure and clustering of risk factors for cardiovascular disease in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 Apr 9;316(3):744-8.
- Tabara Y, Kohara K, Yamamoto Y, Igase M, Nakura J, Kondo I, Miki T. Polymorphism of the monocyte chemoattractant protein (MCP-1) gene is associated with the plasma level of MCP-1 but not with carotid intima-media thickness. *Hypertens Res.* 2003 Sep;26(9):677-83.
- Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Chen Y, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T. Association of angiotensin II type 2 receptor gene variant with hypertension. *Hypertens Res.* 2003 Jul;26(7):547-52.
- Wu Z, Nakura J, Abe M, Jin JJ, Yamamoto M, Chen Y, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T. Genome-wide linkage disequilibrium mapping of hypertension in Japan. *Hypertens Res.* 2003 Jul;26(7):533-40.
- Chen Y, Nakura J, Jin JJ, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M,

Bo X, Kohara K, Miki T. Association of the GNAS1 gene variant with hypertension is dependent on alcohol consumption. Hypertens Res. 2003 Jun;26(6):439-44.

- Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Kohara K, Miki T. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. Hypertension. 2003 Jan;41(1):163-7.
- Leonard H, Colvin L, Christodoulou J, Schiavello T, Williamson S, Davis M, Ravine D, Fyfe S, de Klerk N, Matsuishi T, Kondo I, Clarke A, Hackwell S, Yamashita Y. Patients with the R133C mutation: is their phenotype different from patients with Rett syndrome with other mutations? J Med Genet 2003;40:e52
- Shimizu A, Asakawa S, Sasaki T, Yamazaki S, Yamagata H, Kudoh J, Minoshima S, Kondo I, Shimizu N. A novel giant gene CSMD3 encoding a protein with CUB and sushi multiple domains: a candidate gene for benign adult familial myoclonic epilepsy on human chromosome 8q23.3-q24.1. Biochem Biophys Res Commun. 2003;12;309:143-54.

2. 学会発表

XVth Scientific Meeting of the Inter-American Society of Hypertension, San Antonio TX U. S. A., 2003. 4. 27-30

- Home blood pressure is better predictor of carotid atherosclerosis than office blood pressure. Tachibana R, Tanara Y, Kohara K, Nakura J, Kondo I, Miki T
- Deletion allele of angiotensin-converting enzyme as gene for medical cost in the elderly. Tabara Y, Kohara K, Tachibana R, Kawamoto R, Igase M, Nakura J, Kondo I, Miki T
- Urinary microalbumin is an independent predictor of pulse wave velocity in the community-dwelling subjects: J-SHIPP study. Kohara K, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Tachibana R, Nakura J, Miki T
- Angiotensin-converting enzyme gene deletion allele disappear brachial-carotid pulse pressure amplification. Tabara Y, Kohara K, Yamamoto Y, Kawamoto

R, Tachibana R, Nakura J, Kondo I, Miki T

- Chlamydia pneumoniae seropositivity is associated with higher oxidative stress: J-SHIPP study. Kohara K, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Nakura J, Miki T

第 67 回日本循環器学会・学術集会 平成 15 年 3 月 28 日～30 日 福岡

- Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Allele Disappear Brachial-Carotid Pulse Pressure Amplification 田原康玄, 小原克彦, 山本善邦, 川本龍一, 橋理恵子, 名倉 潤, 近藤郁子, 三木哲郎

第 24 回 日本老年医学会学術集会 平成 15 年 6 月 18 日～20 日 名古屋

- 頸動脈内膜中膜複合体厚の予測因子としての家庭血圧の有用性 橋理恵子・田原康玄・小原克彦・名倉 潤・三木哲郎

- クラミジア・ニューモニエ抗体価と酸化ストレス: J-SHIPP 研究 小原克彦・田原康玄・山本善邦・伊賀瀬道也・橋理恵子・名倉 潤・三木哲郎

- 加齢に伴う高血圧発症に及ぼす GNAS1 T393C 遺伝子多型の影響 安部道子・名倉 潤・田原康玄・山本善邦・伊賀瀬道也・小原克彦・三木哲郎

- プレセニリン 1 遺伝子変異とアポ E4 変異の合併は進行性皮質下グリオーシスの表現型をとる 山縣英久・田原康玄・近藤郁子・名倉 潤・小原克彦・三木哲郎・満田憲昭・田辺敬貴

- 総頸動脈硬化症における収縮期血圧と angiotensin-converting enzyme 遺伝子多型の相互作用 川本龍一・小原克彦・田原康玄・三木哲郎

- プレセニリン 1 遺伝子変異とアポ E4 変異の合併は進行性皮質下グリオーシスの表現型をとる 山縣英久・田原康玄・近藤郁子・名倉 潤・小原克彦・三木哲郎・満田憲昭・田辺敬貴

第 10 回日本遺伝子診療学会大会 平成 15 年 7 月 24 日～25 日 大阪

- SCNN1A (Amiloride-sensitive Epithelial Sodium Channel α Subunit) 遺伝子の A2139G 遺伝子多型と本態性高血圧の関連性 安部道子・名倉 潤・呉 志紅・金 京姫・陳ユウ

セン・山本美由紀・伊賀瀬道也・田原康玄・小原克彦・三木哲郎

- PON1 遺伝子多型と尿中8イソプラスタン濃度の関連 橋理恵子・田原康玄・小原克彦・名倉潤・近藤郁子・三木哲郎
- 頸動脈肥厚に対する MCP-1 遺伝子多型および血中 MCP-1 濃度の影響 田原康玄・小原克彦・橋理恵子・伊賀瀬道也・名倉潤・近藤郁子・三木哲郎

第26回日本高血圧学会総会 平成15年10月30日～1日 宮崎

- 尿中8-イソプロスタニン濃度に及ぼす Paraoxonase 遺伝子多型の影響 橋理恵子・小原克彦・田原康玄・名倉潤・近藤郁子・三木哲郎
- 本態性高血圧と ADRB3(beta 3 adrenergic receptor) 遺伝子 Trp64Arg 多型との関連性 吳志紅・名倉潤・金京姫・安部道子・山本美由紀・陳ユウ森・山本邦善・田原康玄・伊賀瀬道也・小原克彦・三木哲郎
- アルコール摂取量、アルデヒド脱水素酵素遺伝子多型と本態性高血圧：The J-SHIP Study 田原康玄・小原克彦・橋理恵子・川本龍一・名倉潤・近藤郁子・三木哲郎
- マイクロアルブミン尿と動脈壁硬化：PWV からの検討 小原克彦・田原康玄・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 日本人高血圧における Adipocyte-derived leucine aminopeptidase 遺伝子 (ALAP) Lys528Arg 遺伝子多型と BMI および Endothelin-1 遺伝子 (EDN1) Lys198Asn 遺伝子多型との交互作用 安部道子・名倉潤・吳志紅・金京姫・陳ユウ森・山本美由紀・田原康玄・伊賀瀬道也・小原克彦・三木哲郎
- 低身長と脈圧・血圧波形：The J-SHIP Study 田原康玄・小原克彦・橋理恵子・川本龍一・近藤郁子・三木哲郎

第75回日本神経学会中国・四国地方会 平成15年12月6日 岡山

- 発症12年後に診断された皮質基底核変性症

の1例 山縣英久, 近藤郁子, 牧徳彦, 池田学, 銚石和彦, 田辺敬貴, 山田泰司, 山岡正規

The 7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology Tokyo Japan, 2003.11.24-27

- Progress toward the identification of the chromosome 10 q locus for late onset Alzheimer's disease. Yamagata H, Kondo I, Chen Y, Kohara K, Miki T, Kamino K, Takeda M

第73回日本衛生学会 平成15年3月26日～29日 大分

- MTHFR 遺伝子多型と先天異常-1 Rett 症候群 近藤郁子

第45回日本小児神経学会総会 平成15年5月22日～24日 福岡

- Rett 症候群における MECP2 変異誘発遺伝子の検索 近藤郁子, 松石豊次郎, 山下裕史郎, 桑島克子, 大守伊織, 岡鏝次

53rd Annual Meeting, the American Society of Human Genetics. Los Angeles, CA 2003.11.04-08

- MECP2 mutations in 217 patients with RTT syndrome. Kondo I, Ishihara I, Miyamoto K, Matsuishi T, Yamashita Y, Kuwajima K, Iwai T, Endo S, Sone M, Yamagata H, Tabara Y, Ohmori I, Oka E

XIX International Congress of Genetics Melbourne, Australia, 2003.7.6-7.11

- MECP2 mutations in 215 Japanese patients with Rett syndrome. kondo I, Yamagata H, Yamashita Y, Kuwajima K, Ohmori I, Nitta H, Nagamitsu S, Tabara Y, Oka E, Miki T

日本人類遺伝学会第48回大会 平成15年10月21～24日 長崎

- MECP2 以外の Rett 症候群原因遺伝子の検索 宮本憲一, 山下裕史郎, 永光信一郎, 松石豊次郎, 桑島克子, 家島厚, 山口文佳, 田原康玄, 山縣英久, 近藤郁子

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

生活習慣病関連遺伝子同定を目指した遺伝疫学研究

分担研究者 三木哲郎 愛媛大学医学部老年医学講座教授

研究要旨

高血圧感受性遺伝子を同定する目的で、特に遺伝-環境相互作用に着目して検討した。一般地域住民を対象とした検討から、アルデヒド脱水素酵素 rs671 多型、およびGタンパク質 α サブユニット遺伝子 rs7172 多型が、飲酒量と交互作用をもって血圧上昇/高血圧発症と相関していることが示された。

A. 研究目的

高血圧や糖尿病に代表される生活習慣病は、複数の遺伝要因と複数の環境要因とが交絡して発症することが知られている。肥満や喫煙、あるいは偏重した食生活などが、生活習慣病に対する強力なリスクファクターであることは周知である。

一方、遺伝要因としては、特に疾患との関連が想定される遺伝子（候補遺伝子）について、多くの研究がなされてきた。その多くは一塩基多型（SNP; Single Nucleotide Polymorphism）を用いたものであり、研究デザインとしては、ケース/コントロールや集団サンプルを用いた相関解析が中心である。高血圧感受性が検討されてきた遺伝子について、代表例を以下に示す。

遺伝子名	多型
アンジオテンシノーゲン	M235T
アンジオテンシン変換酵素	I/D
α アデュシン	G460W
アルデヒド脱水素酵素	*1/*2
内皮型 NO 合成酵素	E298D
アンジオテンシンII受容体	A1166C
β 2 アドレナリン受容体	R16Q
グルコキナーゼ	G-258A
CYP11B2	R173K
α 2 アドレナリン受容体	DraI 多型
Gタンパク質 β 3 サブユニット	C825T
Gタンパク質 α サブユニット	T393C

これら遺伝子多型を用いた関連解析では、いずれもポジティブ/ネガティブな結果が混在している。その原因として、従来の研究アプローチでは、環境因子と遺伝因子との交互作用を十分に加味していないことが挙げられる。そこで本研究では、高血圧や心血管系疾患発症に影響しうる環境因子に対して、遺伝的因子の関与を、特に交互作用の観点から明らかにすることで、長寿科学の発展・健康寿命の確保に貢献することを目的とした。

ターゲットとする遺伝子は、アルデヒド脱水素酵素遺伝子（ALDH2; 12q24.2）、およびGタンパク質 α サブユニット遺伝子（GNAS1; 20q13.2-q13.3）とした。

アルデヒド脱水素酵素（ALDH2; rs671）の失活型（2型）はアルコール不耐性の原因遺伝子であり、日本人の約半数は2型キャリアである。また、従来より、過度の飲酒は高血圧のリスクであることが知られている。これより、日本人においては、ALDH2 遺伝子多型がアルコール摂取と関連して高血圧の発症に関与していると考えられた。

Gタンパク質 α サブユニット遺伝子（GNAS1; rs7172）は、 β アドレナリン受容体からの刺激を細胞内に伝える上で重要なGsタンパク質をコードしている。近年、T393C多型と高血圧との関連が報告されており、我々も起立性低血圧との関連を報告した。飲酒は、そのメカニズムの一部として、 β アドレナリン受容体-Gsタンパク質系を介して血圧上昇を来していると考えられており、T393C多型と高血圧発症との関連が期待される。

B. 研究方法

一般地域住民 2710 例、および一般企業従業者 2318 例を対象とした。前者ではアルコール摂取量と ALDH2 多型との交互作用を、後者では同様に GNAS1 多型との交互作用を検討した。脳血管障害および心疾患の既往・現病がある対象は解析から除外した。血圧、アルコール摂取量、および血液生化学検査値は住民検診、あるいは企業健診の成績を用いた。

高血圧は、収縮期血圧 140 mmHg 以上、かつ/または拡張期血圧 90 mmHg 以上、あるいは降圧薬服用者とした。飲酒は、エタノール換算量で 25g/日以上を区分とした。

遺伝子多型は、末梢血より抽出した DNA を鋳型

とした TaqMan プローブ法で解析した。用いたプライマー／プローブの塩基配列を以下に示す。

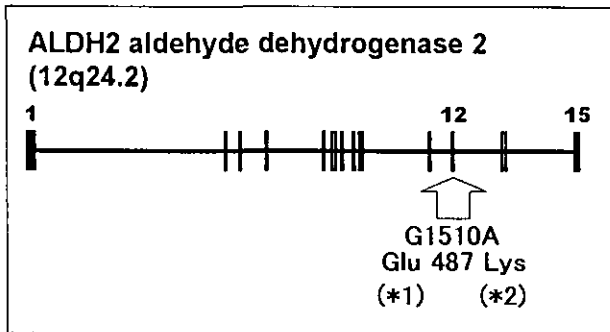
ALDH2; rs671

Probe1 FAM- AGGCATACACTAAAGTG -MGB
 Probe2 VIC- TACTACTGAAGTGAAAAC -MGB
 Primer1 GGAGTGGCCGGGAGTTG
 Primer2 CAGCAGGTCCCACACTCACA

GNAS1; rs7172

Probe1 FAM- CACTCTCAGGATGTAGT -MGB
 Probe2 VIC- CACTCTCAGAATGTAGT -MGB
 Primer1 CCTGACCGCTTTGCTAAATCA
 Primer2 AAGTCAAAGTCAGGCACGTTCA

なお、ALDH2 多型では、既報に従い 1510 番目の塩基が G (Glu) の場合を 1 型 (*1)、A (Lys) の場合を 2 型 (*2) とした。



(倫理面への配慮)

愛媛大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会において、「長寿者となるための環境要因と遺伝要因の研究」「生活習慣病と動脈硬化性

疾患の発症要因の探索」「老人性痴呆の発症要因の探索」という 3 研究課題名で承認を得ている(平成 14 年 9 月 12 日付)。

対象者には、事前に十分な主旨説明の上、書面にて同意書を得た。個人情報、所定の手続きに則って匿名化し管理している。これらはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守したものであり、本研究における倫理面への配慮は十分であると判断した。

C. 研究結果

【ALDH2 多型】

ALDH2 遺伝子多型の分布は*1/*1; 1814 (66.9%), *1/*2; 786 (29.0), *2/*2; 110 (4.1%)であった。

ALDH2 遺伝子多型とアルコール摂取量(日本酒換算)とは、明らかな相関が認められ、(*1/*1; 1.16 ± 1.0 , *1/*2; 0.50 ± 0.7 , *2/*2; 0.02 ± 0.1 合/日, $p < 0.001$)、従来の報告通り、本遺伝子多型が日本人におけるアルコール摂取量を規定していることが示された。

ALDH2 遺伝子多型と血圧との関連は、男性においてのみ有意であり、1 型の遺伝子対を持つ対象で有意に高い値を示した。各群での高血圧者数も、同様に 1 型で高頻度であった。また、総コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪、GOT、GPT、 γ GTP、血糖、尿酸などの血液生化学マーカーも、男性でのみ 1 型で高値を示した(表 1・2)。

表 1 ALDH2 遺伝子多型と対象者の背景 (男性)

	ALDH2 多型			p
	*1/*1 (671)	*1/*2 (326)	*2/*2 (49)	
年齢 (歳)	59 ± 14	61 ± 14	58 ± 14	0.137
BMI (kg/m ²)	24 ± 3.0	23 ± 3.0	24 ± 3.3	0.142
SBP (mmHg)	140 ± 20	136 ± 21	136 ± 24	0.031
DBP (mmHg)	84 ± 12	82 ± 12	82 ± 11	0.010
総コレステロール (mg/dl)	189 ± 35	193 ± 33	200 ± 37	0.015
HDL コレステロール (mg/dl)	59 ± 15	56 ± 16	50 ± 11	<0.001
中性脂肪 (mg/dl)	136 ± 120	116 ± 70	126 ± 70	0.016
GOT (mg/dl)	28 ± 15	24 ± 12	22 ± 6.3	<0.001
GPT (mg/dl)	27 ± 18	21 ± 14	23 ± 11	<0.001
γ GTP (mg/dl)	75 ± 78	42 ± 50	31 ± 18	<0.001
グルコース (mg/dl)	105 ± 30	99 ± 21	102 ± 29	0.009
尿酸 (mg/dl)	6.1 ± 1.5	5.8 ± 1.3	5.3 ± 1.1	<0.001
喫煙 (非喫煙/中止/現喫煙)	252/164/254	127/79/120	19/7/23	0.514
飲酒 (飲まない/ときどき/毎日)	27/149/495	72/131/124	40/9/0	<0.001
高血圧者の頻度 (%)	458(58.4)	173(46.6)	25(42.9)	<0.001
降圧薬の服用 (%)	231(25.6)	81(20.2)	10(18.4)	0.116

表2 ALDH2 遺伝子多型と対象者の背景 (女性)

	ALDH2 多型			p
	*1/*1 (991)	*1/*2 (394)	*2/*2 (48)	
年齢 (歳)	63±12	63±12	62±11	0.932
BMI (kg/m ²)	23±3.3	23±3.5	23±2.8	0.223
SBP (mmHg)	137±23	137±24	141±22	0.406
DBP (mmHg)	79±12	80±12	82±13	0.146
総コレステロール (mg/dl)	208±33	211±33	219±31	0.049
HDL コレステロール (mg/dl)	64±15	65±16	64±16	0.711
中性脂肪 (mg/dl)	105±54	106±59	110±52	0.744
GOT (mg/dl)	23±8.0	22±8.0	21±5.2	0.189
GPT (mg/dl)	18±10	18±10	17±9.1	0.538
γGTP (mg/dl)	28±52	26±29	23±13	0.572
グルコース (mg/dl)	97±19	100±32	97±14	0.076
尿酸 (mg/dl)	4.5±1.1	4.3±1.1	4.2±0.9	0.010
喫煙 (非喫煙/中止/現喫煙)	961/10/20	380/3/11	47/0/1	0.841
飲酒 (飲まない/ときどき/毎日)	570/347/74	311/75/8	48/0/0	<0.001
高血圧者の頻度 (%)	576 (52.3)	233 (52.3)	33 (58.3)	0.711
降圧薬の服用 (%)	293 (25.4)	134 (29.4)	17 (27.1)	0.312

表3 本態性高血圧と ALDH2 遺伝子多型

	男性		女性	
	オッズ比	p	オッズ比	p
年齢 (歳)	1.07 (1.06-1.09)	<0.001	1.11 (1.10-1.13)	<0.001
BMI (kg/m ²)	1.21 (1.15-1.28)	<0.001	1.19 (1.14-1.24)	<0.001
喫煙	1.34 (0.98-1.83)	0.065	1.67 (0.67-4.18)	0.276
飲酒量 (合/日)	1.34 (1.14-1.5)	<0.001	1.35 (0.85-2.15)	0.208
ALDH2 遺伝子多型 *1*1	1.00		1.00	
*1*2+*2*2	0.62 (0.46-0.85)	0.002	1.14 (0.87-1.49)	0.336

多項ロジスティック回帰分析の結果、年齢・BMI・喫煙・飲酒量とともに ALDH2 多型は、男性でのみ高血圧に対する有意なリスクファクターであることが示された (表3)。いずれの解析においても ALDH2 遺伝子多型とアルコール摂取量との相互作用は有意な説明変数ではなかった。

以上の解析結果より、ALDH2 遺伝子 1 型多型は、男性においてのみ、アルコール摂取量と関連し、高血圧の有意なリスクファクターとなることが示唆された。

表4 GNAS1 遺伝子多型と高血圧者の頻度

遺伝子多型	遺伝子頻度		p	オッズ比
	健常群 (n=1609)	高血圧群 (=699)		
TT	500 (31%)	238 (34%)	0.046	1.27 (1.01-1.60)
TC	776 (48%)	342 (49%)		
CC	333 (21%)	119 (17%)		
アレル			0.036	1.15 (1.01-1.30)
T	1776 (55%)	818 (59%)		
C	1442 (45%)	580 (41%)		

表5 高血圧に対する GNAS1 遺伝子多型とアルコール摂取量との交互作用

	遺伝子頻度		p	オッズ比
	健常群 (n=1609)	高血圧群 (=699)		
エタノール摂取量 25g/日未満				
TT+TC	897 (79%)	367 (85%)	0.0084	1.49 (1.11-2.00)
CC	244 (21%)	67 (15%)		
エタノール摂取量 25g/日以上				
TT+TC	379 (81%)	213 (80%)	0.84	0.96 (0.66-1.41)
C	89 (19%)	52 (20%)		

【GNAS1 多型】

高血圧発症と GNAS1 多型の相関を表4に示した。その結果、高血圧と遺伝子多型とに有意な相関 (p=0.046) が認められ、Tアレルがリスクであることが示された。

アルコール摂取量との交互作用を検討した成績では (表5)、エタノール摂取量 25g/日未満の群において有意差が認められ (p=0.0084)、高血圧群でTアレルの頻度が高かった。

D. 考察

本研究では、高血圧をターゲットとし、感受性をもつと考えられる2遺伝子との関連をみた。同時に、これらの遺伝子は、生物学的にアルコール摂取の影響を受けることが考えられたので、飲酒習慣との交互作用についても検討した。

その結果、両遺伝子ともに、血圧値、あるいは高血圧者の頻度との相関は、アルコール摂取を加味することでより明確化された。このことは、第一に、生活習慣病の遺伝的背景を考える上で、環境因子を的確に加味することが必須であることを示すものである。本成績は、これからの遺伝疫学研究において、重要な示唆を提示するものといえよう。

第二に、本成果は、将来的にテーラーメイド医療に貢献しうることが期待される。高血圧に対する遺伝子多型と飲酒量との交互作用は、飲酒量を減少した際の治療効果にも差異があることを示唆するものであり、適切な治療方法の選択に大きく寄与するものといえよう。さらに、遺伝子多型ごとの異なった生活指導や予防活動が、従来の画一的なそれより効果的であることは明白であり、この点で本成果は、予防医療の確立・実現にも大きく貢献しうることが期待される。

反面、本研究で提示したような遺伝-環境交互

作用は、飲酒-ALDH2/GNAS1に限らない。高血圧だけをとっても、肥満や喫煙、栄養素、運動など多くの環境因子が関与することは明白であり、ヒトゲノムとの多様な組み合わせが推察される。今後は、これら多様な遺伝-環境、あるいは遺伝-遺伝交互作用についてより詳細に検討し、疫学的にそのパワーを立証していくことが必要となろう。

E. 結論

ALDH2;rs671 多型、および GNAS1;rs7172 多型はアルコール摂取と関連して血圧上昇、あるいは高血圧発症に関与していた。本成果はテーラーメイド医療/予防の実現に大きく貢献するものと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Yamamoto M, Abe M, Jin JJ, Wu Z, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of GNB3 gene with pulse pressure and clustering of risk factors for cardiovascular disease in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 Apr 9;316(3):744-8.
- Tabara Y, Kohara K, Yamamoto Y, Igase M, Nakura J, Kondo I, Miki T. Polymorphism of the monocyte chemoattractant protein (MCP-1) gene is associated with the plasma level of MCP-1 but not with carotid intima-media thickness. *Hypertens Res.*

2003 Sep;26(9):677-83.

- Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Chen Y, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T. Association of angiotensin II type 2 receptor gene variant with hypertension. *Hypertens Res.* 2003 Jul;26(7):547-52.
- Wu Z, Nakura J, Abe M, Jin JJ, Yamamoto M, Chen Y, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T. Genome-wide linkage disequilibrium mapping of hypertension in Japan. *Hypertens Res.* 2003 Jul;26(7):533-40.
- Chen Y, Nakura J, Jin JJ, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T. Association of the GNAS1 gene variant with hypertension is dependent on alcohol consumption. *Hypertens Res.* 2003 Jun;26(6):439-44.
- Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Kohara K, Miki T. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. *Hypertension.* 2003 Jan;41(1):163-7.

2. 学会発表

XVth Scientific Meeting of the Inter-American Society of Hypertension, San Antonio TX U. S. A., 2003. 4. 27-30

- Home blood pressure is better predictor of carotid atherosclerosis than office blood pressure. Tachibana R, Tanara Y, Kohara K, Nakura J, Kondo I, Miki T
- Deletion allele of angiotensin-converting enzyme as gene for medical cost in the elderly. Tabara Y, Kohara K, Tachibana R, Kawamoto R, Igase M, Nakura J, Kondo I, Miki T
- Urinary microalbumin is an independent predictor of pulse wave velocity in the community-dwelling subjects: J-SHIP study. Kohara K, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Tachibana R, Nakura J, Miki T
- Angiotensin-converting enzyme gene deletion allele disappear brachial-carotid pulse pressure amplification. Tabara Y, Kohara K, Yamamoto Y, Kawamoto R, Tachibana R, Nakura J, Kondo I, Miki T

- Chlamydia pneumoniae seropositivity is associated with higher oxidative stress: J-SHIP study. Kohara K, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Nakura J, Miki T

第 67 回日本循環器学会・学術集会 平成 15 年 3 月 28 日～30 日 福岡

- Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Allele Disappear Brachial-Carotid Pulse Pressure Amplification 田原康玄, 小原克彦, 山本善邦, 川本龍一, 橋理恵子, 名倉 潤, 近藤郁子, 三木哲郎

第 24 回 日本老年医学会学術集会 平成 15 年 6 月 18 日～20 日 名古屋

- 頸動脈内膜中膜複合体厚の予測因子としての家庭血圧の有用性 橋理恵子・田原康玄・小原克彦・名倉 潤・三木哲郎

- クラミジア・ニューモニエ抗体価と酸化ストレス: J-SHIP 研究 小原克彦・田原康玄・山本善邦・伊賀瀬道也・橋理恵子・名倉 潤・三木哲郎

- 加齢に伴う高血圧発症に及ぼす GNAS1 T393C 遺伝子多型の影響 安部道子・名倉 潤・田原康玄・山本善邦・伊賀瀬道也・小原克彦・三木哲郎

- プレセニン1 遺伝子変異とアポ E4 変異の合併は進行性皮質下グリオシスの表現型をとる 山縣英久・田原康玄・近藤郁子・名倉 潤・小原克彦・三木哲郎・満田憲昭・田辺敬貴

- 総頸動脈硬化症における収縮期血圧と angiotensin-converting enzyme 遺伝子多型の相互作用 川本龍一・小原克彦・田原康玄・三木哲郎

第 10 回日本遺伝子診療学会大会 平成 15 年 7 月 24 日～25 日 大阪

- SCNN1A (Amiloride-sensitive Epithelial Sodium Channel α Subunit) 遺伝子の A2139G 遺伝子多型と本態性高血圧の関連性 安部道子・名倉 潤・呉 志紅・金 京姫・陳ユウセン・山本美由紀・伊賀瀬道也・田原康玄・小原克彦・三木哲郎
- PON1 遺伝子多型と尿中 8 イソプラスタン濃度の関連 橋理恵子・田原康玄・小原克彦・名倉 潤・近藤郁子・三木哲郎

- 頸動脈肥厚に対する MCP-1 遺伝子多型および血中 MCP-1 濃度の影響 田原康玄・小原克彦・

橘理恵子・伊賀瀬道也・名倉 潤・近藤郁子・
三木哲郎

第 26 回日本高血圧学会総会 平成 15 年 10 月 30
日～1 日 宮崎

- 尿中 8-イソプロスタン濃度に及ぼす
Paraoxonase 遺伝子多型の影響 橘理恵子・小
原克彦・田原康玄・名倉 潤・近藤郁子・三
木哲郎
- 本態性高血圧と ADRB3(beta 3 adrenergic
receptor)遺伝子 Trp64Arg 多型との関連性
呉 志紅・名倉 潤・金 京姫・安部道子・
山本美由紀・陳ユウ森・山本邦善・田原康玄・
伊賀瀬道也・小原克彦・三木哲郎
- アルコール摂取量、アルデヒド脱水素酵素遺
伝子多型と本態性高血圧：The J-SHIP Study
田原康玄・小原克彦・橘理恵子・川本龍一・
名倉 潤・近藤郁子・三木哲郎
- マイクロアルブミン尿と動脈壁硬化：PWV か
らの検討 小原克彦・田原康玄・伊賀瀬道也・
名倉 潤・三木哲郎
- 日本人高血圧における Adipocyte-derived
leucine aminopeptidase 遺 伝 子 (ALAP)
Lys528Arg 遺 伝 子 多 型 と BMI お よ び
Endothelin-1 遺 伝 子 (EDN1) Lys198Asn 遺 伝
子多型との交互作用 安部道子・名倉 潤・
呉 志紅・金 京姫・陳ユウ森・山本美由紀・
田原康玄・伊賀瀬道也・小原克彦・三木哲郎
- 低身長と脈圧・血圧圧波形：The J-SHIP
Study 田原康玄・小原克彦・橘理恵子・川本
龍一・近藤郁子・三木哲郎

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

高次脳機能（痴呆・アルツハイマー病・知的障害）関連遺伝子同定を目指した遺伝疫学研究

分担研究者 近藤 郁子 愛媛大学医学部衛生学講座教授

研究要旨

晩発性アルツハイマー病の遺伝的背景について、ゲノム・ワイドに候補遺伝子を設定し、一塩基対多型をマーカーとして検討した。今年度解析した 89 SNP のうち 3 SNP で統計学的に有意な相関が認められた。今後、マーカーの設定に配慮しつつ、より詳細な検討を行う予定である。

A. 研究目的

晩発性アルツハイマー病（LOAD; Late Onset Alzheimer's Disease）は、発症は緩徐であるが、記憶障害で始まる持続的な知能低下や記銘障害、ADL 低下等を来し、ひいては QOL の低下を招く。65 歳以上の高齢者では、その有病率が 4 % 程度と見積もられており、健康余命を確保する上でも重要な課題となっている。

一方、LOAD の遺伝的背景については、第 19 染色体にあるアポリポ蛋白 E（APOE）遺伝子の関与が明らかとなっている。APOE には 3 つの多型（E2, E3, E4）があり、このうち E4 型が LOAD の危険因子であることが知られている。しかし、必ずしも E4 アレルと LOAD とが等価であるわけではない。一方、APOE 以外の遺伝因子としては、プレセニリン-1、抗キモトリプシン、セロトニントランスポーター、ブチルコリンエステラーゼ E 等の関与が指摘されているが、いずれも明確な根拠は得られていない。理論上、LOAD には 5 種の主要リスク座位があると推定されているが、ゲノムスキャンにより、新たな 9 以上のリスク座位も報告された。

そこで本研究では、ゲノム・ワイドでの候補遺伝子アプローチを行い、LOAD 感受性遺伝子の同定を試みた。感受性遺伝子が同定されれば、有効な治療法や予防法の確立へとつながり、ひいては我が国の長寿科学の発展、健康余命の確保に大きく貢献するものと期待される。

B. 研究方法

調査対象は、380 例の LOAD 患者、および 380 例の健常者とした。

対象者の DNA は末梢血より抽出し、DOP-PCR 法で増幅した後、遺伝子多型を解析した。遺伝子多型の解析は TaqMan プローブ法で行った。

解析した遺伝子を表 1 に示した。JSNP データベースから、ゲノム・ワイドに遺伝子を検索し、疾患感受性が想定される 200 遺伝子を選択した。各遺伝子について、マイナーアレル頻度が最も高い、あるいは機能的関与が示唆される一塩基対多型（SNP）を 1 つ選択した。このうち TaqMan プローブ法で解析が可能であった 185SNP を解析対象とした。このうち 97SNP を今年度に解析することとした。

（倫理面への配慮）

本研究は、愛媛大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会において、「老人性痴呆の発症要因の探索」という研究課題名で承認を得ている（平成 14 年 9 月 12 日付）。対象者には、事前に十分な主旨説明を行い、書面にて同意書を得た。個人情報、所定の手続きに則って匿名化し管理している。これらはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守したものであり、本研究における倫理面への配慮は十分であると判断した。

表 1 解析した遺伝子多型

シンボル	遺伝子名	JSNP ID
ADPRT	ADP-ribosyltransferase	IMS-JST028055
AGTRL1	Angiotensin Receptor-like 1	IMS-JST031818
AKR1B10	aldo-keto reductase family 1, member B10	IMS-JST088884
AKR1C2	aldo-keto reductase family 1, member C2	IMS-JST072266

表1 解析した遺伝子多型 (続き)

シンボル	遺伝子名	JSNP ID
AKR1D1	aldo-keto reductase family 1, member D1	IMS-JST064573
AQP9	aquaporin 9	IMS-JST028289
ARHGEF10	Rho guanine nucleotide exchange factor 10	IMS-JST089795
ASIC4	putative acid-sensing ion channel	IMS-JST108107
ATP10C	ATPase, Class V, type 10C	IMS-JST080237
ATP1B2	ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, beta 2 polypeptide	IMS-JST003139
ATP2B2	ATPase, Ca ⁺⁺ transporting, plasma membrane 2	IMS-JST002799
ATP2C1	ATPase, Ca ⁺⁺ transporting, type 2C, member 1	IMS-JST030375
ATP5G2	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F0 complex	IMS-JST006999
ATP6VOA1	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal V0 subunit a isoform 1	IMS-JST057776
ATP6V1D	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 34kD, V1 subunit D	IMS-JST113191
BAT2	HLA-B associated transcript 2	IMS-JST029160
BAT3	HLA-B associated transcript 3	IMS-JST047123
BCAR1	breast cancer anti-estrogen resistance 1	IMS-JST094882
CAPN11	calpain 11	IMS-JST110497
CAPON	C-terminal PDZ domain ligand of neuronal nitric oxide synthase	IMS-JST103318
CARPX	Carbonic anhydrase-related protein 10	IMS-JST003026
CASP8	8, apoptosis-related cysteine protease	IMS-JST124663
CASR	calcium-sensing receptor	IMS-JST163599
CAST	Cd3-epsilon-associated Protein; Antisense to ERCC-1	IMS-JST017227
CD244	natural killer cell receptor 2B4	IMS-JST106307
CDH17	cadherin 17, LI cadherin	IMS-JST063530
CDH3	cadherin 3, type 1, P-cadherin	IMS-JST050593
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	IMS-JST018388
CHGA	chromogranin A	IMS-JST113148
CLCA1	chloride channel, calcium activated, family member 1	IMS-JST046987
CLCA2	chloride channel, calcium activated, family member 2	IMS-JST120311
CLCA3	chloride channel, calcium activated, family member 3	IMS-JST045742
CLCN1	chloride channel 1, skeletal muscle	IMS-JST046472
CLDN16	claudin-16	IMS-JST129402
CLIC3	chloride intracellular channel 3	IMS-JST045741
CLIC6	chloride intracellular channel 6	IMS-JST005161
COL18A1	collagen, type XVIII, alpha 1	IMS-JST016806
COL4A1	collagen, type IV, alpha 1	IMS-JST062253
COL9A1	collagen, type IX, alpha 1	IMS-JST051278
CPT2	carnitine palmitoyltransferase II	IMS-JST071163
CPVL	carboxypeptidase, vitellogenic-like	IMS-JST001917
CSEN	calsenilin	IMS-JST108601
DRD2	dopamine receptor D2	IMS-JST003331
E2IG3	putative nucleotide binding protein, estradiol-induced	IMS-JST040761
EHF	ets homologous factor	IMS-JST190858
EPHX1	epoxide hydrolase 1, microsomal	IMS-JST106601
EPHX2	epoxide hydrolase 2, cytoplasmic	IMS-JST064974
ERCC1	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency	IMS-JST054062
ESR1	synaptic nuclei expressed gene 1b	IMS-JST006939
F5	coagulation factor V	IMS-JST104788
FGF2	fibroblast growth factor 2	IMS-JST099352
FRDA	Friedreich ataxia	IMS-JST070759
FREB	Fc receptor homolog expressed in B cells	IMS-JST071831
GHR	growth hormone receptor	IMS-JST079116
GP6	glycoprotein VI	IMS-JST061075

表1 解析した遺伝子多型 (続き)

シンボル	遺伝子名	JSNP ID
GPR37_1	G protein-coupled receptor 37	IMS-JST089141
GPR37_2	G protein-coupled receptor 37	IMS-JST010700
GRP3	guanine nucleotide exchange factor for Rap1	IMS-JST026463
HAPT_HP	haptoglobin	IMS-JST090094
HD_IT15	huntingtin	IMS-JST007212
HFE	hemochromatosis	IMS-JST035225
HLA-DMB	major histocompatibility complex, class II	IMS-JST007088
HNF4G	hepatocyte nuclear factor 4, gamma	IMS-JST067948
HPS_HPS1	Hermansky-Pudlak syndrome 1	IMS-JST050625
HSD17B3	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 3	IMS-JST178931
HSD17B7	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 7	IMS-JST123218
HTR5A	5-hydroxytryptamine receptor 5A	IMS-JST013852
IFNGR2	interferon gamma receptor 2	IMS-JST005184
IL12RB1	interleukin 12 receptor, beta 1	IMS-JST063134
IL15RA	interleukin 15 receptor, alpha	IMS-JST050218
IL1B	interleukin 1, beta	IMS-JST017197
IL1R1	interleukin 1 receptor, type I	IMS-JST037791
IL1RAP	interleukin 1 receptor accessory protein	IMS-JST129384
IL1RL1	interleukin 1 receptor-like 1	IMS-JST085631
KCNMB3L	potassium large conductance calcium-activated channel	IMS-JST017007
KCNMB4	potassium large conductance calcium-activated channel	IMS-JST138777
KCNN1	potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel	IMS-JST026510
KCNN3	potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel	IMS-JST065895
KIAA0792	KIAA0792 gene product	IMS-JST045360
KRTHA2	keratin, hair, acidic	IMS-JST007093
LASP1	LIM and SH3 protein 1	IMS-JST012740
LHX2	LIM homeobox protein 2	IMS-JST002426
LIPA_LAL	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	IMS-JST023631
MCLC	Mid-1-related chloride channel 1	IMS-JST065080
MLN64	steroidogenic acute regulatory protein related	IMS-JST118226
MPP2	membrane protein, palmitoylated 2	IMS-JST113850
MYBPC1	myosin binding protein C, slow type	IMS-JST013448
MYBPH	myosin binding protein H	IMS-JST023474
MYH13	myosin, heavy polypeptide 13, skeletal muscle	IMS-JST074649
MYO1D	NN	IMS-JST024934
NCOA6	nuclear receptor coactivator 6	IMS-JST144025
NCOR2	nuclear receptor co-repressor 2	IMS-JST074242
NDUFV2	NADH dehydrogenase flavoprotein 2	IMS-JST072515
NEDD4L	neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4	IMS-JST040119
NF1	neurofibromin 1	IMS-JST036252
NOTCH3	Notch homolog 3	IMS-JST019567
NR2E3	subfamily 2, group E, member 3	IMS-JST140766

C. 研究結果

解析した 97SNP のうち、技術的に遺伝子型の決定が困難であった 8SNP を除いた統計結果を表 2 に示した。

アレル頻度、遺伝子型頻度に基づいた統計解析から、3つの遺伝子座で統計学的な有意差が認められた (CAST; $p=0.036$, COL9A1; $p=0.045$,

IL1RAP; $p=0.036$)。しかし、いずれの遺伝子座も統計学的有意性は弱く、LOAD と明確な関連があるとは言い難かった。

表2 本年度解析した89SNPの統計結果

Symbol	アレル頻度		遺伝子型頻度			p		
	A	B	AA	AB	BB	Genotype	Allele	Trend
ADPRT	0.421	0.579	0.194	0.453	0.352	0.990	0.938	0.940
AGTRL1	0.382	0.618	0.156	0.452	0.392	0.256	0.217	0.227
AKR1B10	0.423	0.577	0.171	0.503	0.326	0.669	0.629	0.624
AKR1C2	0.344	0.656	0.110	0.468	0.422	0.940	0.742	0.738
AKR1D1	0.451	0.549	0.202	0.499	0.300	0.616	0.352	0.350
AQP9	0.332	0.668	0.129	0.408	0.464	0.328	0.124	0.139
ARHGEF10	0.372	0.628	0.136	0.472	0.392	0.964	0.832	0.831
ASIC4	0.311	0.690	0.094	0.433	0.473	0.630	0.424	0.421
ATP10C	0.366	0.635	0.143	0.446	0.412	0.123	0.858	0.860
ATP1B2	0.379	0.621	0.143	0.473	0.385	0.371	0.886	0.886
ATP2B2	0.384	0.616	0.148	0.471	0.381	0.101	0.556	0.557
ATP2C1	0.361	0.639	0.138	0.446	0.416	0.547	0.594	0.600
ATP5G2	0.355	0.645	0.133	0.446	0.422	0.997	0.938	0.939
ATP6VOA1	0.468	0.532	0.227	0.482	0.291	0.802	0.764	0.767
ATP6V1D	0.405	0.595	0.177	0.455	0.368	0.294	0.252	0.265
BAT2	0.577	0.423	0.334	0.485	0.181	0.692	0.656	0.657
BAT3	0.593	0.407	0.355	0.476	0.169	0.763	0.507	0.510
BCAR1	0.361	0.639	0.133	0.456	0.412	0.421	0.196	0.198
CAPN11	0.338	0.662	0.122	0.432	0.446	0.545	0.755	0.759
CAPON	0.406	0.594	0.157	0.499	0.344	0.870	0.963	0.962
CARPX	0.468	0.532	0.217	0.501	0.282	0.834	0.928	0.928
CASP8	0.313	0.688	0.105	0.414	0.480	0.288	0.423	0.431
CASR	0.481	0.520	0.258	0.445	0.297	0.253	0.768	0.780
CAST	0.499	0.501	0.269	0.460	0.271	0.036	0.087	0.099
CD244	0.433	0.567	0.194	0.478	0.328	0.128	0.079	0.083
CDH17	0.477	0.523	0.224	0.506	0.270	0.861	0.601	0.599
CDH3	0.422	0.579	0.171	0.502	0.328	0.236	0.983	0.982
CFTR	0.384	0.617	0.147	0.473	0.380	0.791	0.965	0.965
CHGA	0.360	0.641	0.128	0.463	0.409	0.750	0.983	0.983
CLCA1	0.540	0.461	0.279	0.521	0.200	0.417	0.546	0.535
CLCA3	0.425	0.575	0.164	0.522	0.314	0.510	0.778	0.771
CLDN16	0.525	0.475	0.264	0.523	0.213	0.434	0.535	0.525
CLIC3	0.420	0.580	0.161	0.518	0.321	0.740	0.884	0.880
CLIC6	0.377	0.623	0.138	0.479	0.383	0.366	0.181	0.177
COL18A1	0.402	0.598	0.179	0.445	0.376	0.934	0.958	0.959
COL4A1	0.490	0.510	0.248	0.484	0.268	0.260	0.797	0.800
COL9A1	0.415	0.585	0.167	0.496	0.337	0.104	0.045	0.043
CPT2	0.446	0.555	0.218	0.455	0.327	0.335	0.394	0.412
CPVL	0.395	0.605	0.171	0.448	0.381	0.797	0.552	0.564
DRD2	0.534	0.466	0.275	0.518	0.207	0.316	0.763	0.758
E2IG3	0.507	0.493	0.241	0.531	0.228	0.162	0.097	0.086
EHF	0.489	0.511	0.246	0.485	0.269	0.377	0.822	0.825
EPHX1	0.509	0.491	0.261	0.498	0.242	0.549	0.303	0.304
EPHX2	0.415	0.585	0.190	0.449	0.361	0.755	0.944	0.946
ERCC1	0.523	0.477	0.294	0.459	0.247	0.078	0.165	0.181
ESR1	0.319	0.681	0.106	0.426	0.468	0.961	0.863	0.864
F5	0.549	0.451	0.297	0.503	0.200	0.490	0.312	0.308
FGF2	0.460	0.540	0.214	0.491	0.294	0.464	0.596	0.598
FREB	0.508	0.492	0.258	0.500	0.242	0.823	0.607	0.607
GHR	0.415	0.585	0.181	0.468	0.351	0.235	0.313	0.321

表2 本年度解析した 89SNP の統計結果 (続き)

Symbol	アレル頻度		遺伝子型頻度			p		
	A	B	AA	AB	BB	Genotype	Allele	Trend
GP6	0.431	0.569	0.193	0.476	0.331	0.983	0.887	0.888
GPR37_1	0.565	0.435	0.322	0.486	0.192	0.764	0.624	0.626
GPR37_2	0.548	0.452	0.301	0.495	0.204	0.752	0.847	0.847
GRP3	0.659	0.341	0.435	0.447	0.117	0.359	0.153	0.154
HAPT_HP	0.387	0.613	0.145	0.485	0.371	0.832	0.551	0.547
HD_IT15	0.585	0.415	0.339	0.492	0.169	0.973	0.833	0.832
HLA-DMB	0.539	0.461	0.286	0.505	0.209	0.130	0.518	0.514
HNF4G	0.415	0.585	0.176	0.479	0.345	0.459	0.903	0.904
HPS_HPS1	0.593	0.407	0.348	0.490	0.162	0.972	0.815	0.814
HSD17B3	0.576	0.424	0.333	0.486	0.181	0.156	0.807	0.808
HTR5A	0.417	0.583	0.177	0.481	0.343	0.936	0.951	0.951
IFNGR2	0.526	0.474	0.269	0.513	0.217	0.885	0.808	0.805
IL12RB1	0.413	0.587	0.178	0.471	0.351	0.895	0.655	0.659
IL15RA	0.442	0.558	0.197	0.490	0.313	0.110	0.053	0.054
IL1B	0.525	0.475	0.261	0.528	0.211	0.401	0.195	0.182
IL1R1	0.522	0.478	0.268	0.508	0.224	0.707	0.796	0.794
IL1RAP	0.420	0.581	0.180	0.480	0.340	0.036	0.109	0.111
IL1RL1	0.569	0.432	0.334	0.469	0.197	0.364	0.198	0.208
KCNMB4	0.412	0.588	0.171	0.481	0.348	0.853	0.870	0.870
KCNN1	0.300	0.700	0.092	0.417	0.491	0.359	0.173	0.175
KCNN3	0.531	0.469	0.288	0.487	0.226	0.677	1.000	1.000
KIAA0792	0.469	0.532	0.204	0.530	0.266	0.490	0.798	0.791
KRTHA2	0.576	0.424	0.341	0.471	0.189	0.470	0.649	0.655
LASP1	0.475	0.526	0.223	0.503	0.274	0.326	0.144	0.142
LHX2	0.516	0.484	0.268	0.496	0.236	0.401	0.177	0.178
LIPA_LAL	0.354	0.646	0.120	0.467	0.413	0.300	0.649	0.646
MCLC	0.449	0.552	0.204	0.490	0.307	0.197	0.432	0.434
MLN64	0.513	0.487	0.272	0.483	0.246	0.678	0.572	0.578
MPP2	0.331	0.669	0.118	0.426	0.456	0.163	0.053	0.058
MYBPC1	0.520	0.480	0.280	0.481	0.240	0.945	0.835	0.838
MYBPH	0.521	0.479	0.282	0.478	0.240	0.284	0.271	0.281
MYH13	0.495	0.505	0.246	0.497	0.257	0.926	0.838	0.838
MYO1D	0.493	0.508	0.249	0.486	0.264	0.441	0.792	0.795
NCOA6	0.408	0.592	0.179	0.458	0.363	0.939	0.852	0.855
NCOR2	0.455	0.546	0.212	0.486	0.303	0.582	0.549	0.553
NDUFV2	0.371	0.629	0.126	0.490	0.384	0.663	0.609	0.600
NF1	0.540	0.460	0.293	0.493	0.214	0.366	0.311	0.313
NOTCH3	0.495	0.505	0.235	0.520	0.246	0.435	0.840	0.837
NR2E3	0.344	0.656	0.116	0.455	0.429	0.095	0.563	0.561

D. 考察

本研究では、ゲノム・ワイドに候補遺伝子を選択し、SNP をマーカーとして LOAD との相関を検討した。その結果、解析した 89SNP のうち、3 SNP に統計学的な有意差が認められた。しかし、いずれも LOAD との相関は弱く、統計学的な補正を行うと、有意性があるとは言いがたい。

その一つの原因は、設定した SNP マーカーに偏りがあったことが考えられる。今後は、既報を元に、より LOAD に特化したマーカーを設定し、検

討する必要があると考えられた。また、ゲノムスクランの成績から、既に LOAD との相関が報告されている第 9、10、12 染色体を中心としたアプローチも展開していく必要があると思われる。さらに、今回対象とした検体は、各群 380 例ずつであるが、統計学的パワーを考えると、対象者数の増加も視野に入れる必要があるいえよう。

E. 結論

ゲノム・ワイドに候補遺伝子を選択し、LOADとの相関を検討した。解析した89SNPのうち、3SNPに統計学的な有意差が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Leonard H, Colvin L, Christodoulou J, Schiavello T, Williamson S, Davis M, Ravine D, Fyfe S, de Klerk N, Matsuishi T, Kondo I, Clarke A, Hackwell S, Yamashita Y. Patients with the R133C mutation: is their phenotype different from patients with Rett syndrome with other mutations? J Med Genet 2003;40:e52
- Shimizu A, Asakawa S, Sasaki T, Yamazaki S, Yamagata H, Kudoh J, Minoshima S, Kondo I, Shimizu N. A novel giant gene CSMD3 encoding a protein with CUB and sushi multiple domains: a candidate gene for benign adult familial myoclonic epilepsy on human chromosome 8q23.3-q24.1. Biochem Biophys Res Commun. 2003;12;309:143-54.

2. 学会発表

第24回 日本老年医学会学術集会 平成15年6月18日～20日 名古屋

- プレセニリン1遺伝子変異とアポE4変異の合併は進行性皮質下グリオーシスの表現型をとる 山縣英久・田原康玄・近藤郁子・名倉潤・小原克彦・三木哲郎・満田憲昭・田辺敬貴

第75回日本神経学会中国・四国地方会 平成15年12月6日 岡山

- 発症12年後に診断された皮質基底核変性症の1例 山縣英久, 近藤郁子, 牧徳彦, 池田学, 銚石和彦, 田辺敬貴, 山田泰司, 山岡正規

The 7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology Tokyo Japan, 2003.11.24-27

- Progress toward the identification of the chromosome 10 q locus for late onset Alzheimer's disease. Yamagata H, Kondo I, Chen Y, Kohara K, Miki T, Kamino K, Takeda M

第73回日本衛生学会 平成15年3月26日～29日 大分

- MTHFR 遺伝子多型と先天異常-1 Rett 症候群 近藤郁子

第45回日本小児神経学会総会 平成15年5月22日～24日 福岡

- Rett 症候群におけるMECP2変異誘発遺伝子の検索 近藤郁子, 松石豊次郎, 山下裕史郎, 桑島克子, 大守伊織, 岡鋈次

53rd Annual Meeting, the American Society of Human Genetics. Los Angeles, CA 2003.11.04-08

- MECP2 mutations in 217 patients with RTT syndrome. Kondo I, Ishihara I, Miyamoto K, Matsuishi T, Yamashita Y, Kuwajima K, Iwai T, Endo S, Sone M, Yamagata H, Tabara Y, Ohmori I, Oka E

XIX International Congress of Genetics Melbourne, Australia, 2003.7.6-7.11

- MECP2 mutations in 215 Japanese patients with Rett syndrome. kondo I, Yamagata H, Yamashita Y, Kuwajima K, Ohmori I, Nitta H, Nagamitsu S, Tabara Y, Oka E, Miki T

日本人類遺伝学会第48回大会 平成15年10月21～24日 長崎

- MECP2 以外の Rett 症候群原因遺伝子の検索 宮本憲一, 山下裕史郎, 永光信一郎, 松石豊次郎, 桑島克子, 家島厚, 山口文佳, 田原康玄, 山縣英久, 近藤郁子

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	出版年	巻号	ページ
Yamamoto M, Abe M, Jin JJ, Wu Z, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J.	Association of GNB3 gene with pulse pressure and clustering of risk factors for cardiovascular disease in Japanese.	Biochem Biophys Res Commun.	2004	316(9)	744-8
Tabara Y, Kohara K Yamamoto Y, Igase M Nakura J, Kondo I, Miki T.	Polymorphism of the monocyte chemoattractant protein (MCP-1) gene is associated with the plasma level of MCP-1 but not with carotid intima-media thickness.	Hypertens Res.	2003	26(9)	677-83
Jin JJ, Nakura J, Wu Z Yamamoto M, Abe M, Chen Y Tabara Y, Yamamoto Y Igase M, Bo X, Kohara K Miki T.	Association of angiotensin II type 2 receptor gene variant with hypertension.	Hypertens Res.	2003	26(7)	547-52
Wu Z, Nakura J, Abe M, Jin JJ, Yamamoto M, Chen Y, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T.	Genome-wide linkage disequilibrium mapping of hypertension in Japan.	Hypertens Res.	2003	26(7)	533-40
Chen Y, Nakura J, Jin JJ, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Bo X, Kohara K, Miki T.	Association of the GNAS1 gene variant with hypertension is dependent on alcohol consumption.	Hypertens Res.	2003	26(6)	439-44
Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Kohara K, Miki T.	Association of endothelin-1 gene variant with hypertension.	Hypertension	2003	41(1)	163-7
Leonard H, Colvin L, Christodoulou J, Schiavello T, Williamson S, Davis M, Ravine D, Fyfe S, de Klerk N, Matsuishi T, Kondo I, Clarke A, Hackwell S, Yamashita Y.	Patients with the R133C mutation: is their phenotype different from patients with Rett syndrome with other mutations?	J Med Genet	2003	40(5)	e52
Shimizu A, Asakawa S, Sasaki T, Yamazaki S, Yamagata H, Kudoh J, Minoshima S, Kondo I, Shimizu N.	A novel giant gene CSMD3 encoding a protein with CUB and sushi multiple domains: a candidate gene for benign adult familial myoclonic epilepsy on human chromosome 8q23.3-q24.1.	Biochem Biophys Res Commun.	2003	309(12)	143-54