

厚生労働科学研究費補助金  
がん予防等健康科学総合研究事業

遺伝子解析に基づく循環器病・糖尿病の  
予防医療診療の試み  
(H15-がん予防-040)

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

遺伝子解析に基づく循環器病・糖尿病の予防医療診療の試み  
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. HMG-CoA還元酵素阻害薬の薬効に対するOATP-C遺伝子の影響  
愛媛大学医学部老年医学講座・教授 三木哲郎

-----8

2. 予防医療診療実現に向けたMTHFR遺伝子の疾患感受性の検討  
愛媛大学医学部衛生学講座・教授 近藤郁子

-----13

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

-----16

### IV. 研究成果の刊行物・別刷

-----17

## 遺伝子解析に基づく循環器病・糖尿病の予防医療診療の試み

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

テーラーメイド医療の実現に向け、HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）の血中脂質低下作用に対する肝有機アニオントランスポーターOATP-C 遺伝子多型の影響を検討した。同時に、従来から心血管系疾患の危険因子とされる 5,10-Methylen-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) と冠動脈疾患との相関も検討した。その結果、OATP-C 遺伝子 V174A 多型と脂質低下量とに有意な相関が認められ、アラニン型では脂質低下作用が減弱していた。また、MTHFR 遺伝子 C667T 多型と心筋梗塞の発症とが、特に血糖のコントロール不良を介して相関していることが明らかとなった。今後、機能的な検討を踏まえ、テーラーメイド医療への応用が期待される。

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

高血圧や糖尿病に代表される生活習慣病の発症には、複数の環境要因と遺伝的要因とが相互作用をもって関与し、加齢や性なども修飾因子として働く。このような疾病の予防・治療には、食事内容の是正や定期的な運動の励行など、ライフスタイルの改善が主点となる。折しも、政府主導の「21世紀における国民健康づくり運動（健康日本21）」が展開され、徐々に成果をあげつつあることは、環境要因の重要性を裏付けるものといえよう。

他方、生活習慣病の発症要因のうち、4～6割を占めると考えられている遺伝的要因については、近年、その探索・基盤整備において目覚ましい進歩を遂げた。この成果は、ゲノム創薬への展開もさることながら、予防医学の推進にも応用されるべきである。

そこで本研究では、疾患と明確な関連をもつ遺伝子を探索するとともに、その解析結果を臨床応用することを目的とした。対象疾患は、高血圧・脳血管障害・冠動脈疾患・閉塞性動脈硬化症などの循環器疾患と、糖尿病・高脂血症・肥満などの代謝性疾患を予定している。

国民的疾患である高血圧や糖尿病などについては、その予防・治療的観点から、感受性遺伝子

の探索・同定に多大なエネルギーが傾注されている。その方向性について否定する余地はないが、同時に臨床応用への道筋を構築し知見を集約しておくことは、感受性遺伝子の同定と同様に重要な事象である。未来型医療の大儀は、予防医療の展開と、個別化による適正対応・副作用の軽減、ひいては医療費の削減にある。この点、本研究は21世紀型医療および健康科学の礎となり、多くの貴重な情報を提供しうることが期待される。

### B. 研究方法

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の応答性に関する検討では、愛媛県下でコホート設定しているB町を対象地区とした。同町の住民健診、あるいは町立病院を通じて、本研究に同意の得られた3071例を調査対象とした。このうち、平成15年7月1日から8月28日までに、同町立病院でスタチン系高脂血症薬が処方された101例について追跡調査した。

追跡調査は町立病院の診療録に基づいた。スタチン系薬剤の服薬時期を特定し、その前後での総コレステロール、HDL-コレステロール、および中性脂肪の検査値を転記した。追跡対象101例のうち、投薬前後での検査値が得られた66例を解析対象とした。

一方、従来から心血管系疾患に対する危険因子であることが知られているMTHFR多型に関する検討では、西日本地区の国立病院にて心臓・血管外科を受診し、心筋梗塞のため心臓バイパス手術を施行した306例を対象とした。また、同年齢の健康者81例を対照群とした。

パーキンソン病との MTHFR 遺伝子多型との相関解析では、調査対象を西日本地区の県立病院神経内科受診者から収集した、疾患群は、家族歴のない孤発例（発症年齢 50 歳以上）とした。健常対象者は、同神経内を心身症などで受診し、神経疾

対象者の高分子量 DNA は末梢血由来白血球より抽出した。全ての DNA は、その一部を DOP-PCR 法で 200 倍に増幅し、多型解析に供した。

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

【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、研究課題名「生活習慣病における個別化医療を目指した研究」「遺伝子多型解析による個別化医療を目指した研究」として承認を得ている。

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

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の応答性に関する検討において、調査対象者の平均年齢は 70.4 ± 8.4 歳（男性 17 人/女性 49 人）、平均 BMI は 23.7 ± 2.6 kg/m<sup>2</sup> であった。服用していたスタチン系薬剤の

内訳は、プラバスタチン 22 例、アトルバスタチン 11 例、シンバスタチン 33 例であった。

解析した OATP-C 遺伝子 V174A 多型の頻度は、遺伝子型が決定できなかった 2 例を除き、VV 型 44 例 (66.7%)、VA 型 20 例 (30.3%)、AA 型 0 例であった。

スタチン服薬前後で総コレステロール、LDL コレステロール、および中性脂肪は有意に低下していた。しかし、HDL コレステロールは、服薬前後での変化は認められなかった。

スタチン系薬剤による脂質低下作用について、薬剤間での相違を検討した。その結果、いずれも薬剤間で有意な差は認められなかった。しかし、スタチン系薬剤の脂質低下作用は OATP-C 遺伝子多型で有意に異なっており、A アレルでは V アレルに比し、効果が減弱していた。

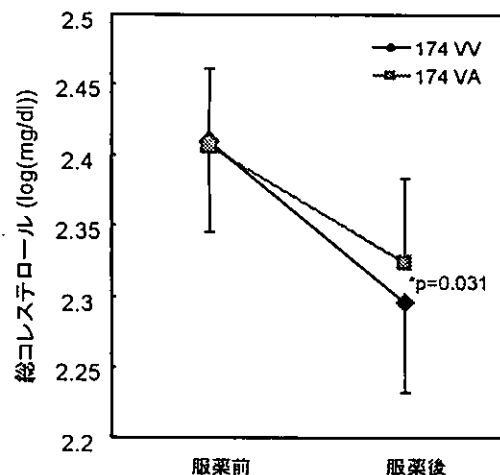


図 スタチン系薬剤による脂質低下作用と OATP-C 遺伝子多型

MTHFR 遺伝子多型と心血管系疾患の発症とを検討した成績では、患者群/健常群における MTHFR 遺伝子型の分布には、統計的有意差は見られなかった。しかし、対象を糖尿病の有無によって層別化して検討したところ、糖尿病を有する心筋梗塞群では、変異型である Val 型の頻度が有意に高値であった ( $\chi^2=4.67$ ,  $df=1$ ,  $p=0.03$ )。Val 型のホモ接合体では野生型のそれに比し、2.77 倍の相対危険度を示した。

同様に、糖化ヘモグロビン (HbA1C) を基準に対象者を層別化して検討したところ、糖尿病のコントロールの不良群では Val 型のホモ接合体が有意に多かった ( $\chi^2=4.63$ ,  $df=1$ ,  $p=0.04$ )。さらに、血中 HbA1C が 7.1%以上の心筋梗塞例はそれ、Val/Val 型の相対危険度は 7.58 であった ( $\chi^2=11.7$ ,  $df=1$ ,  $p<0.001$ )。加えて、Val 型ホモ接合体の頻度は、健常群が 14.8%であったのに対し、

HbA1C 高値群では 44.0%と有意に高かった ( $\chi^2=9.53$ ,  $df=1$ ,  $p=0.002$ )。

一方、パーキンソン病との相関解析では、疾患/健常群間では、遺伝子型分布でも、遺伝子頻度においても有意差はみられなかった ( $\chi^2=0.11$ ,  $df=1$ ,  $p=0.325$ )。

#### D. 考察

スタチン系薬剤による脂質低下作用について、OATP-C 遺伝子多型との関連を、一般地域住民を対象に検討したところ、プラバスタチン・アトルバスタチンにおいて、Aアレルで脂質低下量が減少していた。一方、3種の HMG-CoA 還元酵素阻害剤 (プラバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン) で脂質低下作用に有意差は認められなかった。プラバスタチン・アトルバスタチンは、OATP-C を介して肝へ取り込まれることが報告されている。また、シンバスタチンは、構造上 OATP-C の基質になり得ないと考えられるが、代謝物の関与については現段階では否定できない。各薬剤の詳細な体内動態に関しては今後さらなる解明が必要とされるが、以上の理由から OATP-C 遺伝子多型が総コレステロール低下作用に有意に影響したものと推察された。しかし、従来からの報告通り、OATP-C 遺伝子多型は Aアレルの頻度が低かった。そのため本調査結果では、AA型が解析対象に含まれなかった。今後は対象者数を増加させ、より大規模に検討する必要があると思われる。

MTHFR 遺伝子多型と心血管系疾患の発症とを検討した成績では、C677T 多型の変異型 (Tアレル) は、それ単独では CHD 発症と有意な相関を示さなかった。しかし、血糖値との交互作用を踏まえて検討すると、Tアレル保有者では CHD 発症に対する相対危険度が 2.8 倍であった。このことは、CHD 発症に係る遺伝因子を検出するためには、環境因子の相加的・相乗的効果を考慮して検討すること必要性を示すものである。

一方、MTHFR 遺伝子多型と PD 発症との相関については、特発性 PD 患者群において、MTHFR 多型に有意な頻度差は認められなかった。しかし、現段階では、両者の関連性を確定するには統計学的パワーに欠けている。今後、より対象者数を増加して、相関関係の有無を検証する必要があるといえた。

#### E. 結論

OATP-C を介して肝へ取り込まれるプラバスタチン・アトルバスタチンは、その脂質低下作用に

おいて OATP-C 遺伝子 V174A 多型の影響を受けることが示された。MTFHR 遺伝子は、血糖のコントロール不良を介し、冠動脈疾患と関連することが明らかとなった。これらの成果は、今後の機能的な検討を踏まえ、テーラーメイド医療への応用が期待される。

#### 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.

- 冠動脈疾患の危険因子としての MTHFR 遺伝子多型と糖尿帽の相関 山縣英久、吉村脩、黒河内隆、近藤郁 愛媛医学, 2003;22:115-123

## 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  $\alpha$  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 イソプロスタニン濃度の関連 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 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-SHIPP 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・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

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

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

## HMG-CoA 還元酵素阻害薬の薬効に対する OATP-C 遺伝子の影響

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

HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）の血中脂質低下作用に対する肝有機アニオントランスポーターOATP-C 遺伝子多型の影響を検討した。その結果、V174A 多型と脂質低下量に有意な相関が認められ、アラニン型では脂質低下作用が減弱していた。今後、機能的な検討を踏まえ、テーラーメイド医療への応用が期待される。

### A. 研究目的

近年、社会構造の急変に伴い、個人のライフスタイルも大きく変化した。従来、日本人の死因は脳卒中が大部分を占めていたが、特に食生活の欧風化は高脂血症を増悪させ、心疾患の罹病率をも高率させるにいたった。

高脂血症や高血圧に代表される生活習慣病の治療は、食習慣や運動習慣などのライフスタイルの改善が第一義である。しかし、効果が不十分な場合や、コンプライアンスが悪い場合などは、薬剤による治療を併用する。高脂血症の薬物治療は、HMG-CoA 還元酵素阻害（スタチン）が主流であり、*Penicillium citrinum* から抽出されたプラバスタチン（メバロチン）を皮切りに、現在では第3世代にあたるアトルバスタチン（リピトール）やピタバスタチン（リバロ）も用いられている。

なかでもプラバスタチンは、高脂血症治療薬として、最も高頻度に使用されているスタチン系薬剤である。プラバスタチンは腸管より吸収され、肝臓への取り込みには、肝有機アニオントランスポーターOATP-C（organic anion transporting polypeptide C）を介する。近年 OATP-C 遺伝子に、いくつかの一塩基対多型（SNP; Single Nucleotide Polymorphism）が報告された。機能との関連を *in vitro* でみた成績では、T217C（OATPC\*2）、T521C（OATP-C\*5）、T1058C（OATP-C\*6）、G1463C（OATP-C\*9）、A1964G（OATP-C\*10）多型とに相関が認められている。さらに、プラバスタチン投与後の血中濃度をヒトで評価した成績では、同様に T521C 多型で有意差を認めた。反面、T521C（OATP-C\*5）多型が機能とは無関係であるとの報告もあり、明確な結論は得られていない。

そこで本研究では、スタチン系薬剤の血中コレステロール量に対する影響と OATP-C 遺伝子 V174A（T521C）多型（rs4149056）との関連を、一般地域住民を対象に検討した。テーラーメイド医療の

実現において、薬剤感受性／応答性は主要なテーマである。個人ごとに効果的かつ副作用の少ない薬剤を選択可能にすることは、治療効果の観点から、あるいは医療経済学的にも急務の課題である。この点で、本研究成果は我が国の健康科学の発展と、健康余命の維持に大きく貢献するものである。

### B. 研究方法

愛媛県下でコホート設定している B 町を対象地区とした。同町の住民健診、あるいは町立病院を通じて、本研究に同意の得られた 3071 例を調査対象とした。このうち、平成 15 年 7 月 1 日から 8 月 28 日までに、同町立病院でスタチン系高脂血症薬が処方された 101 例について追跡調査した。

追跡調査は町立病院の診療録に基づいた。スタチン系薬剤の服薬時期を特定し、その前後での総コレステロール、HDL-コレステロール、および中性脂肪の検査値を転記した。追跡対象 101 例のうち、投薬前後での検査値が得られた 66 例を解析対象とした。

対象者の DNA は、末梢血より定法に則って抽出した。抽出した DNA は、DOP-PCR 法により増幅し、分析に供した。遺伝子多型の解析は、TaqMan プローブ法により行った。用いたプライマー／プローブの配列を以下に示す。

Probe1 FAM-CCCATGAACACATATAT-MGB  
Probe2 VIC-CCATGAACGCATATAT-MGB  
Primer1 AGGTTGTTTAAAGGAATCTGGGTCATAC  
Primer2 CTCCTTATCCACGAAGCATATT

（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、研究課題名「生活習慣病における個別化医療を目指した研究」「遺伝子多型解析による個別化医療を目指した研究」として承認を得ている。

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

調査対象者の平均年齢は  $70.4 \pm 8.4$  歳（男性 17 人/女性 49 人）、平均 BMI は  $23.7 \pm 2.6 \text{ kg/m}^2$  であった。服用していたスタチン系薬剤の内訳は、プラバスタチン 22 例、アトルバスタチン 11 例、シンバスタチン 33 例であった。

解析した OATP-C 遺伝子 V174A 多型の頻度は、遺伝子型が決定できなかった 2 例を除き、VV 型 44 例 (66.7%)、VA 型 20 例 (30.3%)、AA 型 0 例であった。

スタチン服薬前後での血中脂質量の変化を図 1～4 に示した。総コレステロール、LDL コレステロール、および中性脂肪は服薬によって有意に低下していた。反面、HDL コレステロールは、服薬前後での変化は認められなかった。

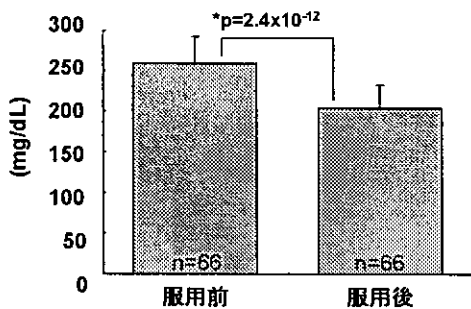


図 1 服薬前後での血中総コレステロール量の変化

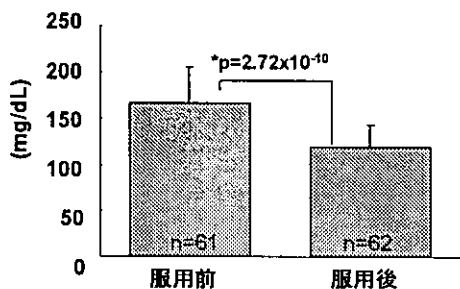


図 2 服薬前後での血中 LDL コレステロール量の変化

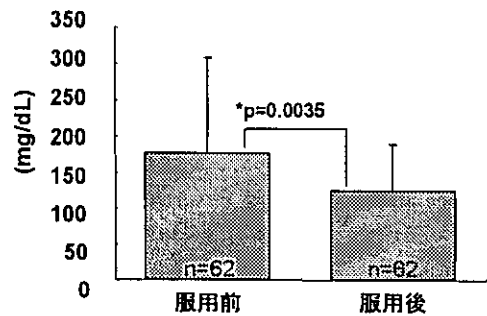


図 3 服薬前後での血中中性脂肪の変化

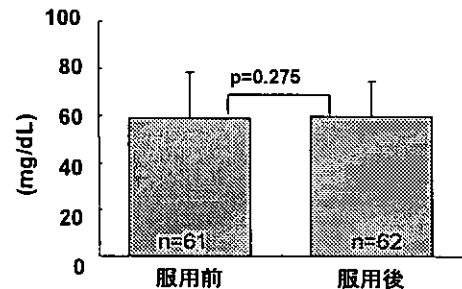


図 4 服薬前後での血中 HDL コレステロール量の変化

スタチン系薬剤による脂質低下作用について、薬剤間での相違を検討した。その結果、総コレステロール (図 5 ;  $p=0.083$ )、LDL コレステロール (図 6 ;  $p=0.102$ )、HDL コレステロール (図 7 ;  $p=0.096$ )、中性脂肪 (図 8 ;  $p=0.308$ ) いずれも薬剤間で有意な差は認められなかった。なお、図 5 から図 8 は、いずれも左からプラバスタチン、シンバスタチン、アトルバスタチン、全数例での集計結果を示す。

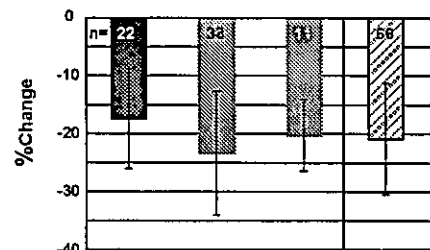


図 5 薬剤別総コレステロール変化量

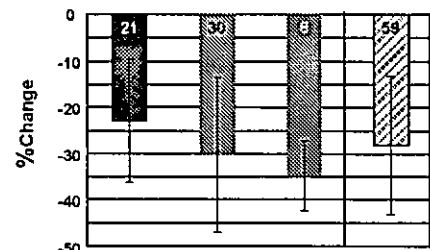


図 6 薬剤別総 LDL コレステロール変化量

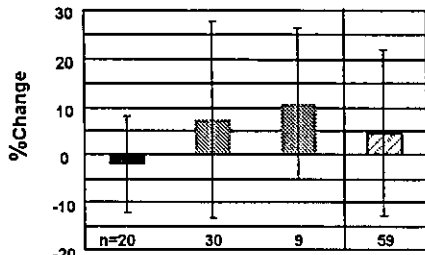


図7 薬剤別 HDL コレステロール変化量

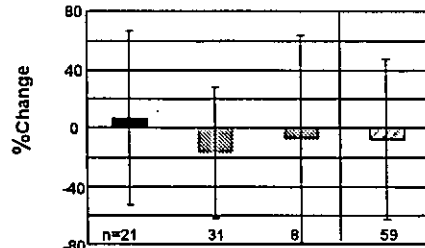


図8 薬剤別中性脂肪変化量

スタチン系薬剤による脂質低下作用について、OATP-C 遺伝子多型との相関を検討した結果を図9に示す。

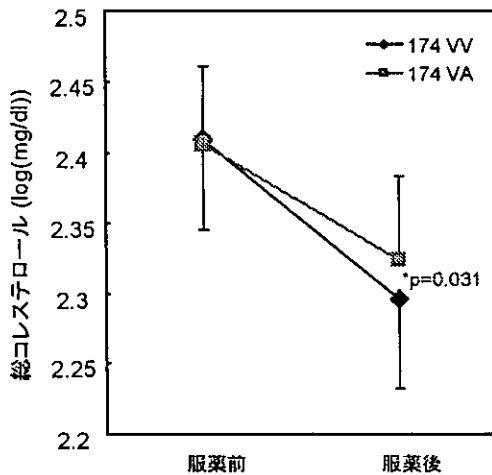


図9 スタチン系薬剤による脂質低下作用と OATP-C 遺伝子多型

スタチン系薬剤の脂質低下作用は OATP-C 遺伝子多型で有意に異なっており、AアレルではVアレルに比し、効果が減弱していた。一方、シンバスタチンに関しては、遺伝子多型による差は認められなかった。

#### D. 考察

本研究では、スタチン系薬剤による脂質低下作用について、OATP-C 遺伝子多型との関連を、一般地域住民を対象に検討した。

その結果、OATP-C 遺伝子多型頻度は既報と同様であり、Aアレルの頻度が低かった。そのため本調査結果では、AA型が解析対象に含まれなかった。今後は対象者数を増加させ、より大規模に検討する必要があると思われる。

スタチン系薬剤による脂質低下作用について、総コレステロール、LDL コレステロールおよび中性脂肪は、いずれも服用により有意な低下を示した。しかし、HDL コレステロールは服薬前後で有意差は認められなかった。スタチン系薬剤の作用機序として、従来より HDL コレステロールに対する影響は少ないことが報告されている。この点で、本研究結果は従来の知見に添うものであった。

OATP-C 遺伝子多型との関連については、プラバスタチン・アトルバスタチンにおいて、Aアレルで脂質低下作用が減弱していた。一方、3種の HMG-CoA 還元酵素阻害剤（プラバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン）で脂質低下作用に有意差は認められなかった。各薬剤と OATP-C の関係については、プラバスタチン・アトルバスタチンは、OATP-C を介して肝へ取り込まれることが報告されている。また、シンバスタチンは、構造上 OATP-C の基質になり得ないと考えられるが、代謝物の関与については現段階では否定できない。各薬剤の詳細な体内動態に関しては今後さらなる解明が必要とされるが、以上の理由から OATP-C 遺伝子多型が総コレステロール低下作用に有意に影響したものと推察された。

#### E. 結論

スタチン系薬剤は、その脂質低下作用において OATP-C 遺伝子 V174A 多型の影響を受けることが示された。

#### 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.
- Angiotensin-converting enzyme gene deletion allele disappear brachial-carotid pulse pressure amplification. Tabara Y, Kohara K, Yamamoto Y, Kawamoto R, Tachibara 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

## 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
- 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膚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

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 a 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 イソプロスタニン濃度の関連 橘理恵子・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-イソプロスタニン濃度に及ぼす 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 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・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・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・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

## 予防医療診療実現に向けた MTHFR 遺伝子の疾患感受性の検討

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

予防医療診療実現に向けた MTHFR 遺伝子の疾患感受性を探る目的で、心筋梗塞およびパーキンソン病との相関解析を行った。その結果、MTHFR 遺伝子 C667T 多型と心筋梗塞の発症とが、特に血糖のコントロール不良を介して相関していることが明らかとなった。本研究成果は、テーラーメイド医療実現への大きな布石となることが期待される。

### A. 研究目的

急速な社会経済活動の変化によって、国民の生活習慣は大きく変貌した。経済活動の成果は医療行政にも大きく貢献し、健康で活動的な中高年者の増加に結びついた。その反面、日常生活に介助を必要とする高齢者も急増しており、わが国の医療保健行政は新たな局面を迎えている。事実、国民の多くは、老後の健康に大きな関心を持たざるを得ない状況になっている。

高齢者疾患のベースは生活習慣病にあり、加齢と共に発症頻度が高まっていく。生活習慣病は、初期では症状が軽微であっても、増悪すれば日常生活に大きく支障を来すばかりでなく、死亡原因ともなりうる。

生活習慣病は、生来の遺伝的背景に、不摂生な生活習慣が積み重なることで発症する多因子遺伝性疾患である。近年、その遺伝的背景を明らかにする研究が精力的に展開されており、多くの候補遺伝子が見いだされた。なかでも食物中の葉酸を補酵素とし、メチオニンをホモシステインに代謝に関与する 5,10-Methylen-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) は重要な候補遺伝子である。MTHFR 遺伝子には多くの遺伝子多型が存在するが、なかでも C667T 多型は、アミノ酸の変化（アラニンからバリン）をもたらし、酵素活性の低下、ひいては血中ホモシステイン濃度の上昇を来す。血中ホモシステインの濃度の上昇、メチオニン濃度の低下は、細胞の増殖・分裂の低下を来すことから、冠動脈疾患の危険因子になると考えられる。

一方、パーキンソン病 (PD) は、運動障害を主症状とする神経難病である。常染色体性優性遺伝や劣性遺伝を示す家族性 PD は希で、殆どの患者は加齢や生活習慣による誘発因子の関与が指摘されている。この場合は、生活習慣病と同様に、

遺伝因子の関与が考えられ、症例一対象研究が精力的に行われている。しかし、現段階で PD の発症と相関しうる明確な遺伝因子は見つかっていない。

PD の発症は、中脳黒質の神経細胞減少が主因であることから、神経細胞の維持に必要な栄養素や遺伝子産物の変異がその背景となる可能性が考えられる。MTHFR によって細胞内に維持されるメチオニンは DNA 合成、遺伝子発現調節に関与するアミノ酸であることから、PD 発症と MTHFR 遺伝子との相関が推察された。

以上の背景から、本研究では、MTHFR 遺伝子と心血管系疾患およびパーキンソン病との相関を検討する目的で、症例一対象研究を行った。本研究成果は、近く実現するであろう予防医療・テーラーメイド医療に大きく貢献するとともに、ひいては健康科学の発展、健康余命の実現にも寄与するものといえる。

### B. 研究方法

心血管系疾患との相関解析では、西日本地区の国立病院にて心臓・血管外科を受診し、心筋梗塞のため心臓バイパス手術を施行した 306 例を対象とした。対象者には、外来通院中に遺伝子解析研究の意義と目的を説明し、研究参加に同意を得た。ほぼ同年齢の健常者 81 例を対照群とした。生活習慣、服薬歴、合併症の有無を把握するとともに、血液生化学的検査も行った。

パーキンソン病との相関解析では、調査対象を西日本地区の県立病院神経内科受診者から収集した、疾患群は、家族歴のない孤発例（発症年齢 50 歳以上）とした。健常対象者は、同神経内を心身症などで受診し、神経疾患を持たない成人とし

た。遺伝子解析にあたっては、その意義と目的を十分に説明し、同意の得られた場合のみを解析対象とした。

DNA は、末梢血から標準的な方法で抽出した。MTHFR 遺伝子の C667T 多型は、制限酵素 HinfI を用いた PCR-RFLP 法にて決定した。

(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承認を得ている。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。

C. 研究結果

患者群/健常群における MTHFR 遺伝子型の分布 (表 1) には、統計的有意差は見られなかった。動脈硬化の危険因子となる糖尿病の有無によって心筋梗塞患者を層別化して検討したところ (表 2)、糖尿病を有する心筋梗塞群では、変異型である Val 型の頻度が有意に高値であった ( $\chi^2=4.67$ ,  $df=1$ ,  $p=0.03$ )。Val 型のホモ接合体では野生型のそれに比し、2.77 倍の相対危険度を示した。

表 1 心筋梗塞患者における MTHFR 遺伝子多型の遺伝子型分布と遺伝子頻度

遺伝子型	Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val	合計
心筋梗塞患者	106	152	48	306
健常対象者	36	33	12	81
遺伝子頻度	Ala	Val		
心筋梗塞患者	0.595	0.405		
健常対象者	0.648	0.352		

表 2 心筋梗塞患者における糖尿病と MTHFR 遺伝子多型

遺伝子型	Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val	合計
糖尿病を持つ心筋梗塞患者	13	31	14	58
糖尿病のない心筋梗塞患者	93	1120	31	244
遺伝子頻度	Ala	Val		
糖尿病を持つ心筋梗塞患者	0.491	0.509		
糖尿病のない心筋梗塞患者	0.627	0.373		

表 3 心筋梗塞患者における糖尿病のコントロール状態と MTHFR 遺伝子多型

遺伝子型	Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val	合計
HbA1c (7.1%以上)の心筋梗塞患者	4	10	11	25
HbA1c (7.1%以下)の心筋梗塞患者	102	142	37	281
遺伝子頻度	Ala	Val		
HbA1c 7.1%以上の心筋梗塞患者	0.360	0.640		
HbA1c 7.1%以下の心筋梗塞患者	0.616	0.384		

表 4 心筋梗塞患者における糖尿病のコントロール状態と MTHFR 遺伝子多型

遺伝子型	Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val	合計
HbA1c (7.1%以上)の心筋梗塞患者	4	10	11	25
HbA1c (7.1%以下)の心筋梗塞患者	102	142	37	281
健常対象者	36	33	12	81
遺伝子頻度	Ala	Val		
HbA1c (7.1%以上)の心筋梗塞患者	0.360	0.640		
HbA1c (7.1%以下)の心筋梗塞患者	0.648	0.352		
健常対象者	0.616	0.384		

同様に、糖化ヘモグロビン (HbA1C) を基準に対象者を層別化して検討したところ(表3・4)、糖尿病のコントロールの不良群では Val 型のホモ接合体が有意に多かった ( $\chi^2=4.63$ ,  $df=1$ ,  $p=0.04$ )。さらに、血中 HbA1C が 7.1%以上の心筋梗塞例はそれ、Val/Val 型の相対危険度は 7.58 であった ( $\chi^2=11.7$ ,  $df=1$ ,  $p<0.001$ )。加えて、Val 型ホモ接合体の頻度は、健常群が 14.8%であった

のに対し、HbA1C 高値群では 44.0%と有意に高かった ( $\chi^2=9.53$ ,  $df=1$ ,  $p=0.002$ )。

一方、パーキンソン病との相関解析では(表5)、疾患/健常群間では、遺伝子型分布でも、遺伝子頻度においても有意差はみられなかった ( $\chi^2=0.11$ ,  $df=1$ ,  $p=0.325$ )。

表5 パーキンソン病患者の MTHFR C677T 遺伝子多型の遺伝子型分布と遺伝子頻度

遺伝子型	Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val	合計
PD 患者	61 (37.7%)	77 (47.5%)	24 (14.8%)	162 (100%)
健常対象者	108 (44.5%)	99 (40.7%)	36 (14.8%)	243 (100%)

遺伝子頻度	Ala	Val
PD 患者	0.614	0.359
健常対象者	0.648	0.352

#### D. 考察

従来の疫学調査によって、喫煙や偏食、運動不足、肥満などが冠動脈疾患 (CHD) 発症の危険因子となることは明らかである。一方、家系を用いた調査から、CHD の発症には遺伝要因も強く関与していることが示されている。しかし、CHD を好発する家族性高コレステロール血症や家族性混合型高脂血症等の常染色体性優性遺伝変異は極めてまれである。そこで本研究では、MTHFR 遺伝子多型と CHD 発症との相関について、ケース/コントロール研究によって検討した。

その結果、MTHFR 遺伝子 C677T 多型の変異型 (T アレル) は、それ単独では CHD 発症と有意な相関を示さなかった。しかし、血糖値との交互作用を踏まえて検討すると、T アレル保有者では CHD 発症に対する相対危険度が 2.8 倍であった。このことは、CHD 発症に係る遺伝因子を検出するためには、環境因子の相加的・相乗的効果を考慮して検討すること必要性を示すものである。

一方、MTHFR 遺伝子多型と PD 発症との相関については、既報ではポジティブ/ネガティブな結果が混在している。本研究では、特発性 PD 患者群において、MTHFR 多型に有意な頻度差は認められなかった。しかし、現段階では、両者の関連性を確定するには統計学的パワーに欠けている。今後、より対象者数を増加して、相関関係の有無を検証する必要があるといえた。

#### E. 結論

MTHFR 遺伝子は、血糖のコントロール不良を介し、冠動脈疾患と相関することが明らかとなった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 冠動脈疾患の危険因子としての MTHFR 遺伝子多型と糖尿病の相関 山縣英久、吉村脩、黒河内隆、近藤郁 愛媛医学, 2003;22:115-123

##### 2. 学会発表

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

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
山縣英久、吉村脩、黒河内隆、近藤郁子	冠動脈疾患の危険因子としての MTHFR 遺伝子多型と糖尿病の相関	愛媛医学	2003	22	115-23



20031374

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。