

2004-01278A

厚生労働科学研究費補助金

健康科学総合研究事業

分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 今井 潤

平成17（2005）年 3月

目 次

I. 総括研究報告	
分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入	1
今井 潤	
II. 分担研究報告	
1. 糖尿病発症遺伝子に関する研究	15
岡 芳知	
2. 高血圧発症遺伝子に関する研究	21
荻原 俊男	
3. インスリン抵抗性・炎症関連遺伝子に関する研究	24
檜垣 實男	
4. Urotensin IIの一塩基多型に関する研究	28
戸恒 和人	
5. インスリン抵抗性と糖尿病素因についての横断的検討	33
今井 潤	
6. 血圧値および他の循環器疾患危険因子の相互作用に関する研究	41
今井 潤	
7. 血圧変動に着目した新規高血圧表現型の提唱	51
大久保 孝義	
8. テーラーメイド医療に向けた新規遺伝子診断法の開発	61
松原 洋一	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	67
IV. 研究成果の刊行物・別刷	71

I. 総括研究報告

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)
総括研究報告書

分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入

主任研究者 今井 潤 東北大学大学院薬学(併)医学系研究科臨床薬学分野 教授

研究要旨

岩手県大迫町の一般住民を対象とした高血圧・循環器疾患に関する長期前向きコホート研究である大迫研究において、高血圧・糖尿病と関連する遺伝要因および環境要因についての検討を行い、以下の知見を得た。

1) 味覚細胞うまみ受容体 *TAS1R2* 遺伝子・ウェルナー症候群 *WRN* 遺伝子が糖尿病と、アディポネクチン遺伝子・肝細胞増殖因子遺伝子・サイアザイド感受性 NaCl 共輸送体遺伝子が高血圧と、それぞれ関連していることを明らかにした。また、Urotensin II 遺伝子が高血圧・糖尿病の両者と関連していることを明らかにした。2) 75g 経口糖負荷試験 (OGTT) 2 時間後の血漿インスリン値が糖尿病リスクに関連していることを明らかにした。3) 24 時間血圧・家庭血圧を用いて、他の循環器疾患危険因子の相互作用、および新たな危険因子となる血圧表現型を同定した。4) イムノクロマトグラフィー試験紙を用いて簡便に遺伝子型が判定できる遺伝子診断法を開発した。

今後、24 時間血圧・家庭血圧・OGTT インスリン等の詳細な表現型に基づき、上記の遺伝要因・環境要因の相互作用、および効果的な遺伝子診断・予防的介入方法に関する検討を行うことにより、各個人のライフスタイル・遺伝的要因に応じたよりきめ細かく、かつ無駄のない高血圧・糖尿病の予防対策を可能とするような知見が得られることが期待される。

分担研究者

岡 芳知

東北大学大学院医学系研究科
分子代謝病態学分野・教授

荻原 俊男

大阪大学大学院医学系研究科
加齢医学講座・教授

檜垣 實男

愛媛大学医学部
第二内科学講座・教授

松原 洋一

東北大学大学院医学系研究科
遺伝病学分野・教授

戸恒 和人

東北大学大学院薬学研究科
臨床薬学分野・助教授

大久保 孝義

東北大学大学院薬学研究科
COE フェロー・客員助教授

A. 研究目的

医療費を削減し、国民の健康寿命をより一層延長することは、我が国の厚生労働行政の重要な課題である。そのためには、生活習慣病を疾患確立期前に、予知、予防し、発症者数を減らすとともに、疾患確立期後の患者に対しては合併症への進展を食い止めるための具体的な施策を講じる必要がある。

本研究の目的は、生活習慣病の中でも、重篤な各種合併症を惹起する高血圧および糖尿病の発症、進展機序に関わる遺伝因子及びこれと相互作用をもつ環境要因とを解明するとともに、遺伝子型に応じたオーダーメイド生活指導を含む予防医療を確立することである。

本研究は、岩手県大迫町におけるコホート研究である大迫研究において実施される。大迫研究では、24 時間血圧・家庭血圧に基づく詳細な臨床像および豊富な中間型表現型として利用可能な臨床情報および嗜好・運動・栄養等の詳細な検討が実施されているのみならず、前向きに追跡研究が行えるという特徴がある。本研究は、この大迫研究に遺伝子解析技術を導入することにより、疾患感受性遺伝子を持つ保因者に対する一次ケア手法として、各遺伝子タイプに応じたオーダーメイド生活指導を確立することを目的としている。本研究の成果は具体的な生活習慣病予知・予防方法の確立、合併症への進展防止、ひいては生活習慣病罹患患者数の低減に大いに役立つことが期待される。

B. 研究方法

本研究の対象地域は岩手県稗貫郡大迫町である。大迫町は盛岡市の南東 20km、仙台市の北 100km に位置し、北上山地に囲まれた農村であり、内川目・外川目・亀が森・大迫の 4 地区から構成されている。

平成 12 年国勢調査報告により、大迫町の人口は、男性 3318 名、女性 3619 名の計 6937 名であり、65 歳以上の高齢者人口割合は、29.8%である。

大迫町では、1988-1995 年(第 1 期)、1997-2000 年(第 2 期)、2001-2004 年(第 3 期:現在進行中)の 3 期にわたり、家庭血圧測定を中心とした保健事業を実施しており、第 1 期 4236 名、第 2 期 2460 名、第 3 期 2113 名(進行中)が家庭血圧測定事業に、20 歳以上の対象者中 第 1 期 2035 名が、24 時間自由

行動下血圧測定事業にそれぞれ同意し、測定を行った。

また、家庭血圧測定事業に参加した 55 歳以上の住民に対し、頭部 MRI (Magnetic Resonance Imaging) 撮影を施行した。第 1 期 446 名、第 2 期 638 名、第 3 期 420 名が、頭部 MRI 測定事業にそれぞれ同意し、測定を行った。

さらに、上記の頭部 MRI 測定事業参加者に対して、逐次、頰動脈超音波検査、認知機能検査(ミニメンタルテスト・反応時間)、および動脈硬化関連血液生化学パラメーター(フィブリノーゲン、リポプロテイン(a)、血漿レニン活性、高感度 CRP)、脈波伝播速度、等の測定を開始してきた。

これに加え、近年の糖尿病増加を考慮に入れ、第 2 期より家庭血圧測定事業に参加した 35 歳以上の住民に対し、75g 経口糖負荷試験(OGTT)による糖尿病検診を開始している。第 2 期 592 名、第 3 期 307 名が、これまで本事業に参加し測定を行った。

また、第 1 期の後半より、DNA 抽出のための採血を実施しており、2004 年 8 月末までに、2159 名より DNA 検体を採取している。また、1998 年 2 月に 35 歳以上の全町民を対象に、生活習慣全般についての詳細なアンケート調査を実施し、4268 名より有効回答を得ている。

また、大迫町との業務委託契約に基づき、追跡調査を継続している。

(倫理面への配慮)

大迫研究は、定期的に東北大学倫理委員会の承認をうけて継続されている。また、ヒトの遺伝子解析研究については、ヒト由来試料等の提供者、その家族・血縁者その他関係者の人権及び利益の保護の取扱いについては十分な配慮を行うことと、検体の保存と将来にわたって検体を使用することを盛り込んだ 2001 年 3 月 29 日に交付された 3 省庁合同ガイドライン「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、ヒトゲノム研究審査申請書「高

血圧および関連合併症における疾患感受性遺伝子の解析」に、共同研究先も明記した上で、東北大学・大阪大学・愛媛大学の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

① 糖尿病の遺伝・環境要因相互作用に関する研究(今井・岡・戸恒)

Urotensin II は生体における最も強力な循環調節因子であり、骨格筋などの循環調節を介

して、インスリン感受性を制御することが想定される。そこで2型糖尿病患者と正常対照者、各 20 例を対象に Urotensin II(UTS2) 遺伝子多型を検索し、計 24 個の SNP を同定した。次に2型糖尿病患者 155 例と高齢正常者 147 例を対象に、各 SNP の2型糖尿病を有する頻度を比較したところ、アミノ酸置換(Ser89Asp)を伴う SNP (3836T/C) のアレル頻度が、2型糖尿病患者で対照群の高齢正常者に比べて有意に高いことを見出した(表1)。

表 1. ウロテンシンII 遺伝子 S89N 多型の頻度

Genotype	Elderly controls	NGT	Type 2 diabetes
89Asn/Asn	3 (2.4%)	16 (6.0%)	11 (7.2%)
89Ser/Asn	38 (31.2%)	74 (27.6%)	69 (45.4%)
89Ser/Ser	81 (66.4%)	178 (66.4%)	72 (47.4%)
Sum	122	268	152
P value	0.0042	0.0005	
Allele	Elderly controls	NGT	Type 2 diabetes
89Asn	44 (18.0%)	106 (19.8%)	91 (29.9%)
89Ser	200 (82.0%)	430 (80.2%)	213 (70.1%)
Sum	244	536	304
χ^2_c	9.70	10.6	
Pc value	0.0018	0.0011	
Odds ratio	1.94	1.73	

Means \pm SD. (vs. type 2 diabetes)

舌の甘み受容体から中枢への甘みシグナルは、中枢からの刺激によるインスリン分泌(cephalic phase insulin secretion)の主要な因子であり、2型糖尿病患者やその近親者では遺伝的な甘み感受性の低下が報告されている。そこで、2型糖尿病患者と正常対照者、各 20 例を対象に、甘み受容体遺伝子 TAS1R2 の多型を検索した。TAS1R2 遺伝子の翻訳領域のみ

で、計 13 個の SNP を同定した。次に、2型糖尿病患者 388 例と高齢正常者 176 例、耐糖能正常者 240 例を対象に、各 SNP の頻度を検索し、317Arg (949G/950C) のアレル頻度は、2型糖尿病患者(0.07)で対照群の高齢正常者(0.023, $p=0.0022$)や耐糖能正常者(0.021, $p=0.00023$)に比べて有意に高いことを見出した(表2)。

表 2. 甘み受容体遺伝子TAS1R2 950G/C多型頻度

317 genotype	Elderly subjects	NGT subjects	Type 2 diabetes
C/C	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.5%)
C/G	8 (4.5%)	10 (4.2%)	50 (12.9%)
G/G	168 (95.5%)	230 (96.5%)	336 (86.6%)
Sum	176	240	388
χ^2_c	7.74	11.2	
p_c value	0.021	0.0037	

SNP-950 allele	Elderly control subjects	NGT subjects	Type 2 diabetes
C	8 (2.3%)	10 (2.1%)	54 (7.0%)
G	344 (97.7%)	470 (98.3%)	722 (93.0%)
Sum	352	480	776
χ^2_c	9.35	13.6	
p_c value	0.0022	0.00023	
Odds ratio	3.21	3.52	

(vs Type 2 diabetes)

早期老化症候群の代表的疾患であり、老化、成人病のモデル疾患として注目されているウェルナー症候群の原因遺伝子 WRN 遺伝子 1367 番アミノ酸 Cys/Arg 多型と2型糖尿病発症との関連について検討したところ、図1に示すように Cys/Arg 群の Diabetes-free survival cure は Cys/Cys 群に比して右方へシフトしており、Cys/Arg 群は Cys/Cys 群に比べてより高齢になってから糖尿病を発症していることが示された($p=0.0125$)。

糖尿病の環境要因として、インスリン抵抗性の指標である HOMA 指数はウェスト・ヒップ比よりも、body mass index (BMI) との関連が強いこと(表3)、また 75g 経口糖負荷試験 (OGTT) 2 時間後の血漿インスリン値 (IRI) が糖尿病リスクと関連していることを明らかにした(表4)。

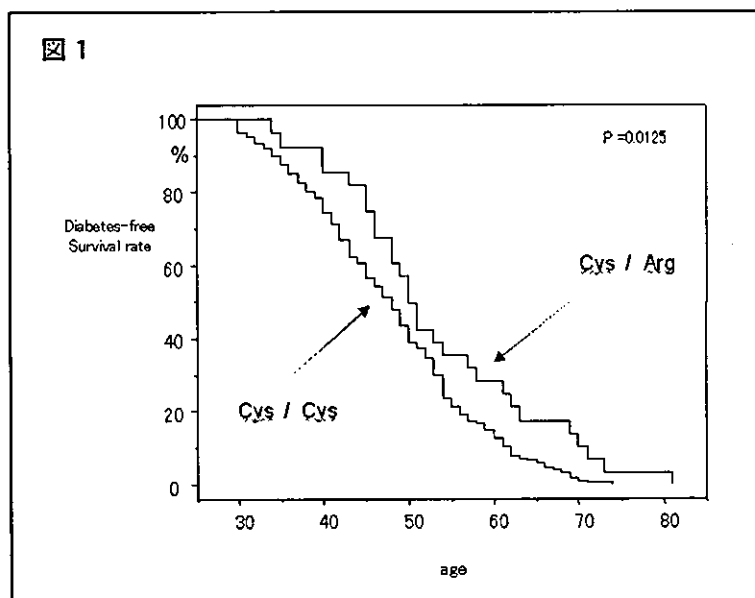


表 3. 多変量解析: インスリン抵抗性 (HOMA 指数 2 以上)のオッズ比

	オッズ比	95%信頼区間	p-value
年齢 (60 歳以上)	0.683	0.349 - 1.337	0.3
性別 (男性)	1.136	0.495 - 2.607	0.8
BMI (25kg/m ² 以上)	3.627	1.789 - 7.356	0.0004
拡張期高血圧 (85mmHg 以上)	1.187	0.521 - 2.704	0.7
ウェスト・ヒップ比 (0.1 上昇毎)	1.051	0.564 - 1.959	0.9
中性脂肪 (1mg/dl 上昇毎)	1.003	0.998 - 1.007	0.3
HDL コレステロール (1mg/dl 上昇毎)	0.954	0.926 - 0.983	0.002

表 4. 多変量解析: 糖尿病型または境界型の、正常型に対するオッズ比

	オッズ比	95%信頼区間	p-value
年齢 (60 歳以上)	2.076	1.158 - 3.724	0.01
BMI (25kg/m ² 以上)	1.340	0.753 - 2.385	0.3
収縮期高血圧 (135mmHg 以上)	1.363	0.790 - 2.352	0.3
ウェスト・ヒップ比 (0.1 上昇毎)	1.216	0.799 - 1.848	0.4
IRI 2 時間値 (64mU/L 以上)	3.757	2.107 - 6.697	<.0001
HOMA 指数 2.0 以上	1.805	0.882 - 3.692	0.07

② 高血圧発症の遺伝・環境要因相互作用に関する研究(今井・荻原・楡垣・戸恒) 高血圧感受性遺伝子として、アンジオテンシン II-1 型受容体遺伝子の A1166C 多型(AT1/A1166C)、アディポネクチン遺伝子の Ile164Thr 多型(ACDC/I164T)、肝細胞増殖因子遺伝子(HGF)のイントロン 13 の C/A 多型、サイアザイド感受性 NaCl 共輸送体遺伝子(TSC) の Arg904Gln(G2736A) 多型(TSC/G2736A)、ウロテンシン II(rs228648 変異)の 5 つを検討した。AT1/A1166C 多型と、高血圧感受性との関連は認められなかったが、メタボリック症候群の主要な関連因子の一つであるアディポネクチン血中濃度が 1/3 に低下する ACDC/I164T 多型保有者では、90%以上の高血圧発症を認めた。一方、TSC/G2736A 多型は、A2736 アレル保有者において高血圧罹

患リスクを 1.8 倍高め、特に若年発症の女性ではその傾向が顕著であった(表5)。A2736 アレル保有者では、食塩感受性が強く、利尿薬反応性に優れる傾向が認められた。また、HGF/A アレル保有者でもオッズ比が 1.7(1.0-2.9)と有意に高値であり、特に非肥満者・女性においてその傾向が顕著であった(表6)。また、ウロテンシン IIrs228648 変異は高血圧リスクと関連しており、とくに夜の家庭拡張期血圧が、mutant homo で高値を示した(p<0.02)。また心筋症が全身のインスリン抵抗性症候群の一つであり Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)遺伝子多型が非家族性心筋症の疾患感受性と関連していることを明らかにした。

表 5. サイアザイド感受性Nacl共輸送体遺伝子 G2736A多型の高血圧リスク(50歳以下, 女性)

	Gアリル	Aアリル	P値	オッズ比(95%CI)	GG	GA+AA	P値	オッズ比(95%CI)
高血圧 (%)	131 (89.8)	15 (10.2)	<0.01	2.9 (1.4-6.1)	59 (80.8)	14 (19.2)	<0.01	3.3 (1.4-8.0)
正常血圧 (%)	352 (96.2)	14 (3.8)			169 (92.3)	14 (7.7)		

Body mass index (BMI) 中性脂肪を補正。 CI;信頼区間

表 6. 肝細胞増殖因子C/A多型と高血圧リスク

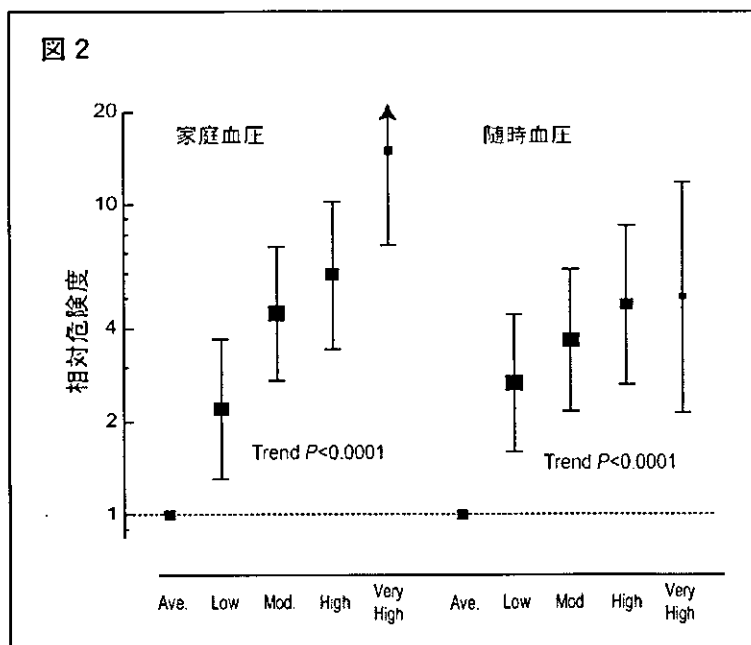
	高血圧(%)		オッズ比(95%CI)	P
	CC	CA, AA		
男性(n=323)	42.4	39.0	1.42 * (0.73-2.86)	0.63
女性(n=331)	46.0	29.1	2.63 * (1.32-5.50)	0.019
非肥満者(n=335)	31.2	14.6	2.79** (1.23-7.25)	0.013
肥満者(n=319)	54.3	46.7	0.84 ** (0.53-1.35)	0.25

* Body mass index (BMI)と年齢を補正。 ** 性・年齢を補正。 CI, 信頼区間

③ 血圧値および他の循環器疾患危険因子の相互作用に関する研究(今井・大久保・戸恒)

JNC-7 ならびに 2003 ESH-ESC で提唱された血圧および他の危険因子に基づいた高血

圧重症度の分類法の脳卒中予測脳を比較したところ、包括的分類である 2003 ESH-ESC リスク分類が脳卒中発症リスクの予測により有用であった(図2)。

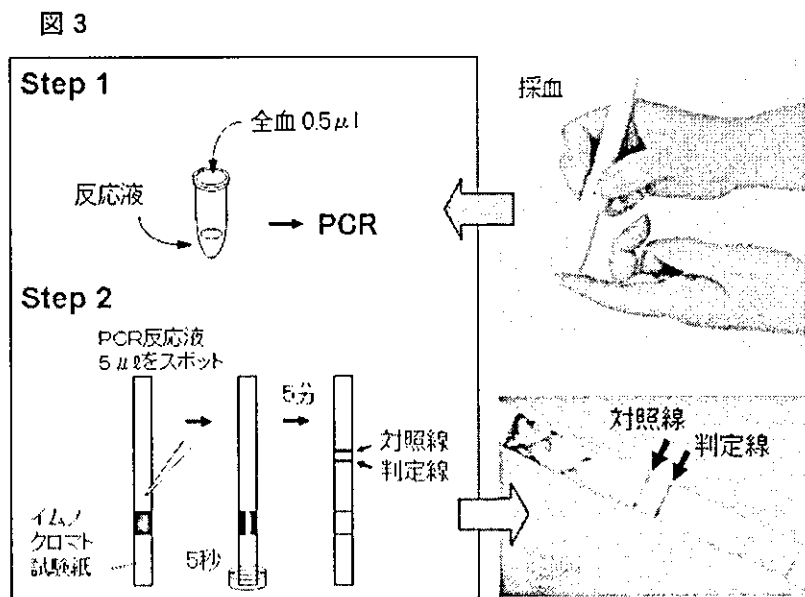


④ 血圧の新規表現型に関する研究(今井・大久保・戸恒)

現在高血圧領域においては高血圧前症の存在、血圧日内変動への着目など、2者択一的な表現系にとらわれない指標が数多く報告され、これらに着目することで高血圧に関連した微細な遺伝子多型を見いだす可能性が示唆される。そこで本研究では、血圧日内変動と脳卒中・心疾患発症死亡に関する詳細な検討を行い、脳梗塞・心疾患に関しては夜中の血圧の関与が高く、日中の血圧の関与が低いこと、一方で、脳出血に関しては日中の血圧レベル、大きい夜間降圧度、大きいモーニングサージが関与していることを明らかにした。

⑤ テーラーメイド医療に向けた新規遺伝子診断法の開発(松原)

高血圧・糖尿病の発症や病態に関連する遺伝子多型(とくにSNP)を臨床面で活用し、オーダーメイド医療として結実させるためには、診療の場で簡便・迅速に実施が可能な遺伝子検査法の開発が求められることから、免疫クロマトグラフィー試験紙を用いて簡便に遺伝子型が判定できる遺伝子診断法を開発した(図3)。



D. 考察

大迫研究において、高血圧・糖尿病と関連する遺伝要因および環境要因についての検討を行い、上記の如くいくつかの関連する因子を同定した。

高血圧・糖尿病をはじめとする生活習慣病は自覚症状に乏しいことから、国民全体に対して、行政主体のキャンペーンを行っても効果には限度がある。具体的な遺伝因子、およびその影響を作用する環境要因を明確にし、個人の体質に応じた個別指導を行うことは、生活習

慣病の発症予防、重篤な合併症への進展予防や循環器死亡の減少が図られるのみならず、多剤服用による医療費の高騰や副作用の軽減、QOLを維持することにより高齢者の自立と介護費用の削減にもつながることが期待される。また日本人の体質に応じた具体的な危険因子の同定およびこれに応じた至適療法の実立は、副作用の予防や無駄な薬剤の投与、非効果的な民間療法などの淘汰にも直結する効果的かつ即効的な施策といえる。

24 時間血圧・家庭血圧に基づく詳細な臨

床像および豊富な中間型表現型として利用可能な臨床情報、詳細な環境因子に関する情報を併せ持つのみならず、前向きに追跡研究が行える本研究より得られる知見は、厚生労働行政において直ちに活用できるものであり、具体的な生活習慣病予知・予防方法の確立、合併症への進展防止、ひいては生活習慣病患者数の低減に大いに役立つことが期待される。

E. 結論

岩手県大迫町の一般住民を対象とした高血圧・循環器疾患に関する長期前向きコホート研究である大迫研究において、高血圧・糖尿病と関連する遺伝要因および環境要因についての検討を行い、いくつかの関連する要因を同定した。

今後、新たな遺伝要因・環境要因の探索を行うとともに、24時間血圧・家庭血圧・OGTTインスリン等の詳細な表現型に基づき、上記の遺伝要因・環境要因の相互作用、および効果的な遺伝子診断・予防的介入方法に関する検討を行うことにより、各個人のライフスタイル・遺伝的要因に応じたよりきめ細かく、かつ無駄のない高血圧・糖尿病の予防対策を可能とするような知見が得られることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- [1] Inukai K, Shewan AM, Pascoe WS, Katayama S, James DE, Oka Y. Carboxy terminus of glucose transporter GLUT3 contains an apical membrane targeting domain. *Mol Endocrinol* 18:339-349, 2004
- [2] Anno T, Uehara S, Katagiri H, Ohta Y, Ueda K, Mizuguchi H, Moriyama Y, Oka Y, Tanizawa Y. Overexpression of

constitutively activated glutamate dehydrogenase induces insulin secretion through enhanced glutamate oxidation. *Am J Physiol.* 286: E280-E285, 2004

[3] Takahashi K, Satoh J, Kojima Y, Negoro K, Hirai M, Hinokio Y, Kinouchi Y, Suzuki S, Matsuura N, Shimosegawa T, Oka Y. Promoter polymorphism of SLC11A1 (formerly NRAMP1) confers susceptibility to autoimmune type 1 diabetes mellitus in Japanese. *Tissue Antigens* 63: 231-236, 2004

[4] Ishihara H, Takeda S, Tamura A, Takahashi R, Yamaguchi S, Takei D, Yamada T, Inoue H, Soga H, Katagiri H, Tanizawa Y, Oka Y. Disruption of the WFS1 gene in mice causes progressive beta-cell loss and impaired stimulus-secretion coupling in insulin secretion. *Hum Mol Genet.* 13:1159-1170, 2004

[5] Suzuki S, Zong Wenyi, Hirai M, Hinokio Y, Suzuki C, Yamada T, Yoshizumi S, Suzuki M, Tanizawa Y, Matsunami A, Oka Y. Genetic variations at urotensin II and urotensin II receptor genes and risk of type 2 diabetes mellitus in Japanese. *Peptides* 25: 1803-1808, 2004

[6] Yamaguchi S, Ishihara H, Tamura A, Yamada T, Takahashi R, Takei D, Katagiri H, and Oka Y. Endoplasmic reticulum stress and N-glycosylation modulate expression of WFS1 protein. *Biochem Biophys Res Commun* 325: 250-256, 2004

[7] Ishigaki Y, Katagiri H, Yamada T, Ogihara T, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Gao Junhong, Ishihara H, Shimosegawa T, Sakoda H, Asano T, and Oka Y. Dissipating excess energy stored in the liver is a potential treatment strategy for diabetes associated with obesity. *Diabetes* 54:

322-332, 2005

[8] Imai J, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Uno K, Hasegawa Y, Ishihara H, Sasano H, Mizuguchi H, Asano T and Oka Y. Constitutively active PDX1 induced efficient insulin production in adult murine liver. *Biochem Biophys Res Commun* 326:402-9, 2005

[9] Hirai M, Suzuki S, Hinokio Y, Yamada T, Yoshizumi S, Suzuki C, Satoh J, Oka Y. WRN Gene 1367 Arg Allele Protects Against Development of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* in press

[10] Sugimoto K, Katsuya T, Ohkubo T, Hozawa A, Yamamoto K, Matsuo A, Rakugi H, Tsuji I, Imai Y, Ogihara T. Association between angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and essential hypertension: the Ohasama Study. *Hypertens Res.* 27: 551-556, 2004

[11] Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Ouchi N, Ohishi M, Sugimoto K, Fu Y, Motone M, Yamamoto K, Matsuo A, Ohashi K, Kihara S, Funahashi T, Rakugi H, Matsuzawa Y, Ogihara T. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension.* 43: 1318-1323, 2004

[12] Ohashi K, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Nagaretani H, Kumada M, Okamoto Y, Nishizawa H, Kishida K, Maeda N, Hiraoka H, Iwashima Y, Ishikawa K, Ohishi M, Katsuya T, Rakugi H, Ogihara T, Matsuzawa Y. Adiponectin I164T mutation is associated with the metabolic syndrome and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 43: 1195-1200, 2004

[13] Matsuo A, Katsuya T, Ishikawa K,

Sugimoto K, Iwashima Y, Yamamoto K, Ohishi M, Rakugi H, Ogihara T. G2736A polymorphism of thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter gene predisposes to hypertension in young women. *J Hypertens.* 22: 2123-2127, 2004

[14] Motone M, Katsuya T, Ishikawa K, Iwashima Y, Sugimoto K, Yamamoto K, Fu Y, Matsuo A, Ohishi M, Rakugi H, Ogihara T. Association between hepatocyte growth factor gene polymorphism and essential hypertension. *Hypertens Res.* 27: 247-251, 2004

[15] Murakami K, Higaki J, et al. Insulin resistance in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation J* 68: 650-655, 2004.

[16] Okura T, Higaki J, et al. Intrarenal and carotid hemodynamics in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens.* 17:240-244, 2004

[17] Totsune K, Kikuya M, Ohkubo T, Hashimoto J, Imai Y et al.: Elevated plasma levels of immunoreactive urotensin II and its increased urinary excretion in patients with Type 2 diabetes mellitus: association with progress of diabetic nephropathy. *Peptides.* 25:1809-1814, 2004.

[18] Totsune K, Takahashi K, Murakami O.: Measurement of urotensin. *Nippon Rinsho.* 62 Suppl 9:705-708, 2004. Review.

[19] Asayama K, Ohkubo T, Kikuya M, Metoki H, Hoshi H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Imai Y. Prediction of stroke by self-measurement of blood pressure at home versus casual screening blood pressure measurement in relation to the JNC-7 classification: the Ohasama study. *Stroke.* 35 : 2356-2361,2004.

[20] Imai Y, Ohkubo T, Asayama K, Metoki

- H, Kikuya M, Hashimoto J, Ugajin T, Totsune K, Satoh H. Epidemiology of hypertension based on ambulatory blood pressure monitoring and self-measurement of blood pressure at home. *Journal of Health Science*. 50: 113-119, 2004.
- [21] Imai Y, Ohkubo T, Kikuya M, Hashimoto J. Practical aspect of monitoring hypertension based on self-measured blood pressure at home. *Internal Medicine*. 43: 771-778, 2004.
- [22] Hozawa A, Ohkubo T, Kikuya M, Ugajin T, Yamaguchi J, Asayama K, Metoki H, Ohmori K, Hoshi H, Hashimoto J, Satoh H, Tsuji I, Imai Y. Prognostic Value of Home Heart Rate for Cardiovascular Mortality in the General Population: The Ohasama Study. *American Journal of Hypertension*. 17: 1005-1010, 2004
- [23] Kimura A, Hashimoto J, Watabe D, Takahashi H, Ohkubo T, Kikuya M, Imai Y. Patient characteristics and factors associated with inter-arm difference of blood pressure measurements in a general population in Ohasama, Japan. *Journal of Hypertension* 22: 2277-2283, 2004.
- [24] Ohkubo T, Asayama K, Kikuya M, Metoki H, Hoshi H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Imai Y. How many times should blood pressure be measured at home for better prediction of stroke risk? : 10-year follow-up results from the Ohasama study. *Journal of Hypertension* 22: 1099-1104, 2004.
- [25] Ohkubo T, Asayama K, Kikuya M, Metoki H, Obara T, Saito S, Hoshi H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Imai Y. Prediction of ischaemic and haemorrhagic stroke by self-measured blood pressure at home: the Ohasama study. *Blood Pressure Monitoring* 9: 315-320, 2004.
- [26] Ichinohe A, Matsubara Y, et al.: Glycine cleavage system in neurogenic regions. *Eur J Neurosci* 19: 2365-2370, 2004.
- [27] Shintaku H, Matsubara Y, et al.: Long-term treatment and diagnosis of tetrahydrobiopterin -responsive hyperphenylalaninemia with a mutant phenylalanine hydroxylase gene. *Pediatr Res*. 55:425-30, 2004.
- [28] Kojima K, Matsubara Y, et al.: Genetic testing of glycogen storage disease type Ib in Japan: mutation spectrum in the *G6PT1* gene and a rapid detection method for a prevalent W118R mutation. *Mol Genet Metab* 81:343-346, 2004
- [29] Shao C, Matsubara Y, et al.: Linkage and association of childhood asthma with the chromosome 12 genes. *J Hum Genet*. 49:115-122, 2004.
- [30] Yang X, Matsubara Y, et al.: Mutation spectrum of the PCCA and PCCB genes in Japanese patients with propionic acidemia. *Mol Genet Metab*. 81:335-342, 2004.
- [31] Kure S, Matsubara Y, et al. : Mild variant of nonketotic hyperglycinemia with typical neonatal presentations: mutational and in vitro expression analyses in two patients. *J Pediatr*. 144:827-829, 2004
- [32] Mochizuki S, Matsubara Y, et al.: Long-term correction of hyperphenylalaninemia by AAV-mediated gene transfer leads to behavioral recovery in phenylketonuria mice. *Gene Ther* 11:1081-1086, 2004.
- [33] Takeda M, Matsubara Y, et al.: Collaboration of breast cancer clinic and genetic counseling division for BRCA1 and BRCA2 mutation family in Japan. *Breast*

- Cancer 11:30-32, 2004.
- [34] Kayano S, Matsubara Y, et al.: A significant association between nonsyndromic oral clefts and arylhydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT). *Am J Med Genet* 130A:40-44, 2004.
- [35] Kanno K, Matsubara Y, et al.: Association between nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and the glutamic acid decarboxylase 67 gene in the Japanese population. *Am J Med Genet* 127A:11-16, 2004.
- [36] Hasegawa K, Matsubara Y, et al.: Variations in C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma. *Hum Genet* 115:295-301, 2004.
- [37] Hiratsuka M, Matsubara Y, et al.: Genotyping of single nucleotide polymorphisms (SNPs) influencing drug response by competitive allele-specific short oligonucleotide hybridization (CASSOH) with immunochromatographic strip. *Drug Metabol Pharmacokin* 19:303-307, 2004
- [38] Kure S, Matsubara Y, et al.: Wild-type phenylalanine hydroxylase activity is enhanced by tetrahydrobiopterin supplementation in vivo: an implication for therapeutic basis of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab.* 83:150-156, 2004.
- [39] Kamada F, Matsubara Y, et al.: Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma. *Genes Immun.* 5(7):540-547, 2004
- [40] Yang X, Matsubara Y, et al.: Mutation analysis of the MMAA and MMAB genes in Japanese patients with vitamin B(12)-responsive methylmalonic acidemia: identification of a prevalent MMAA mutation. *Mol Genet Metab.* 82:329-333, 2004.
- [41] Otomo J, Matsubara Y, et al.: Electrophysiological and Histopathological Characteristics of Progressive Atrioventricular Block Accompanied by Familial Dilated Cardiomyopathy Caused by a Novel Mutation of Lamin A/C Gene. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* (in press)
- [42] Dinopoulos A, Matsubara Y, et al.: Glycine decarboxylase mutations: A distinctive phenotype of nonketotic hyperglycinemia in adults. *Neurol* (in press)
- [43] Flusser H, Matsubara Y, et al.: A large kindred with mild glycine encephalopathy (NKH) due to a silent exonic GLDC splice mutation. *Neurol* (in press)
- [44] Niihori T, Matsubara Y, et al.: Functional analysis of PTPN11/SHP-2 mutants identified in Noonan syndrome and childhood leukemia. *J Hum Genet* (in press)
- [45] Boneh A, Matsubara Y, et al.: A single nucleotide substitution that abolishes the initiator methionine codon of the *GLDC* gene is prevalent among patients with glycine encephalopathy in Jerusalem. *J Hum Genet* (in press)

2. 学会発表

[1] 第47回日本糖尿病学会年次学術集会, 2004年5月13-15日, 東京

(1) 石原寿光, 田村明, 高橋累, 山田高弘, 山口賢, 武井大祐, 岡芳知
糖尿病をきたすウオルフラム症候群原因遺伝子産物 WFS1 蛋白の機能

(2) 長谷川豊, 片桐秀樹, 荻原健英, 石垣泰, 山田哲也, 今井淳太, 宇野健司, 高

俊弘, 檜尾好徳, 鈴木進, 佐藤譲, 岡芳知

骨髄細胞による部分膵切除後の β 細胞再生の可能性

(3)石垣泰, 片桐秀樹, 山田哲也, 高俊弘, 長谷川豊, 宇野健司, 今井淳太, 檜尾好徳, 荻原健英, 鈴木進, 佐藤譲, 岡芳知
肝へのUCP1遺伝子導入による肥満・糖尿病治療の試み

(4)山田哲也, 片桐秀樹, 石垣泰, 荻原健英, 今井淳太, 宇野健司, 長谷川豊, 高俊弘, 檜尾好徳, 鈴木進, 佐藤譲, 岡芳知

内臓脂肪をターゲットにしたUCP1遺伝子導入による肥満2型糖尿病治療の試み

(5)宇野健司, 片桐秀樹, 山田哲也, 荻原健英, 石垣泰, 今井淳太, 長谷川豊, 高俊弘, 檜尾好徳, 鈴木進, 佐藤譲, 岡芳知

肝へのPPAR γ 遺伝子導入による耐糖能改善とその機構

(6)高橋和眞, 佐藤譲, 吉田あゆ美, 平井完史, 石原寿光, 檜尾好徳, 鈴木進, 片桐秀樹, 岡芳知

NODマウス骨髄由来樹状細胞のinterleukin 6低産生性とその意義

(7)田村明, 石原寿光, 高橋累, 山口賢, 山田高弘, 武井大祐, 檜尾好徳, 鈴木進, 荻原健英, 片桐秀樹, 佐藤譲, 岡芳知

WFS1欠損マウスの解析:系統差とアポトーシスの亢進

(8)檜尾好徳, 鈴木進, 平井完史, 鈴木千登世, 善積信介, 山田高弘, 石原寿光, 高橋和眞, 佐藤譲, 荻原健英, 片桐秀樹, 佐々木明德, 秦敬子, 宮城妙子, 岡芳知
ガングリオシド糖鎖異常とインスリン抵抗性

(9)平井完史, 鈴木進, 檜尾好徳, 山田高弘, 善積信介, 石原寿光, 高橋和眞, 鈴木千登世, 荻原健英, 片桐秀樹, 佐藤譲, 岡芳知

2型糖尿病における甘み受容体遺伝子TAS1R2遺伝子多型の関連

[2] Ogimoto A, Higaki J, et al. Effect of the G-protein beta-3 subunit (GNB3) gene variant on cardiovascular event in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. European Society of Cardiology 2004, August 28-September 1, 2004, Munich Germany. [European Heart Journal 25: S356, 2004.]

[3] 檜垣賢男. 腎障害を合併した高血圧患者に対するテーラーメイド治療. 第52回日本心臓病学会学術集会(2004年9月13日-15日, 京都)

[4] Ogimoto A, Higaki J, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (Glu298Asp) in patients with coexistent hypertrophic cardiomyopathy and coronary vasospasm. 第68回日本循環器学会総会(2004年3月27日-29日, 東京)

[5] Shigematsu Y, Higaki J, et al. Genetic predisposition to hypertension versus insulin resistance as risk factor for hypertensive left ventricular hypertrophy. 第68回日本循環器学会総会(2004年3月27日-29日, 東京)

[6] 大木元明義, 檜垣賢男他. 拡張型心筋症の心血管イベント発症に対する各種修飾遺伝子多型の影響. 第101回日本内科学会総会(2004年4月8日-10日, 東京)

[7] 檜垣賢男. 高血圧の成因と最新の治療. 第30回日本内科学会四国支部生涯教育講演会(2004年6月6日, 徳島)

Urotensin IIの一塩基多型の検討. 戸恒和人, 廣瀬卓男, 今井潤他. (第48回日本腎臓学会学術総会 予定)

[8] Asayama K, Ohkubo T, Kikuya M, Hozawa A, Ohmori K, Metoki H, Hoshi H, Hashimoto J, Satoh H, Tsuji I, Imai Y: Prediction of stroke by home versus

screening blood pressure measurements in relation to JNC-7 classification: the Ohasama study. 1st World Congress of Chronobiology, Sapporo, September 2003

[9] Asayama K, Ohkubo T, Kikuya M, Metoki H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Imai Y: Prediction of stroke by home versus screening blood pressure measurements in relation to 2003 ESH-ESC classification: the Ohasama study. European Society of Cardiology (ESC) Congress 2004, Munich, August 2004

[10] 浅山 敬、大久保孝義、菊谷昌浩、目時弘仁、星 晴久、橋本潤一郎、戸恒和人、佐藤 洋、今井 潤: 2003 ESH-ESC 分類に基づいた家庭血圧と随時血圧の脳卒中発症予測能: 大迫研究。第 27 回日本高血圧学会、宇都宮市

[11] Metoki H, Ohkubo T, Kikuya M, Asayama K, Saito S, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Satoh H, Imai Y: Prognostic significance of morning pressor surge and nocturnal dipping for stroke risk: the Ohasama Study.

American Heart Association Scientific Sessions 2004, New Orleans, LA, USA, Nov 2004.

[12] Metoki H, Ohkubo T, Asayama K, Obara T, Hashimoto J, Imai Y: Prognostic significance of night-time, early morning and daytime blood pressures on the risks of cerebro and cardiovascular mortality.

The 69th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, Yokohama, March 2005

[13] 目時弘仁、大久保孝義、菊谷昌浩、浅山敬、齋藤伸、橋本潤一郎、戸恒和人、星晴久、佐藤洋、今井潤:
血圧日内変動と脳卒中発症—大迫研究—

第27回日本高血圧学会(平成16年10月9日栃木)

[14] 菊谷昌浩、大久保孝義、浅山 敬、目時弘仁、星 晴久、橋本潤一郎、戸恒 和人、佐藤 洋、今井 潤. 家庭血圧による血圧日間変動の生命予後予測能. 第27回日本高血圧学会 (平成16年10月9日栃木)

[15] 松原洋一: ベッドサイド遺伝子診断のための簡便な遺伝子多型・変異検出法の開発 第107回日本小児科学会学術集会ワークショップ(平成16年4月9日、岡山)

[16] 鈴木洋一、松原洋一ほか: 喘息発症における receiver-operating characteristic curve を用いた遺伝子検査の有用性 日本人類遺伝学会第49回大会(平成16年10月14日、東京)

[17] Matsubara Y, et al: A novel DNA diagnostic method for point-of-care genetic testing: competitive allele-specific short oligonucleotide hybridization with enzyme-linked immunosorbent assay. 54th annual meeting of the American Society of Human Genetics, October 27, 2004, Toronto.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

糖尿病発症遺伝子に関する研究

分担研究者 岡 芳知 東北大学大学院医学系研究科分子代謝病態学分野・教授

研究要旨

糖尿病候補遺伝子について患者解析を進め、以下の点を明らかにした。1) Urotensin II のインスリン抵抗性への関与が示唆され、血管性因子の異常による2型糖尿病発症という新たな病態が明らかになった。2) うまみ受容体のひとつである TAS1R2 は味覚細胞に特異的に発現しており、317A 多型は中枢からの刺激によるインスリン分泌(cephalic phase insulin secretion)の反応性に影響して、初期インスリン分泌の低反応に関与し、2型糖尿病発症に関わる機序が想定される。3) 加齢と関連するウェルナー症候群遺伝子(WRN 遺伝子)の 1367Arg アレルが日本人2型糖尿病発症に対する防御的な遺伝素因であることを明らかにした。

A. 研究目的

糖尿病の大多数を占める2型糖尿病は遺伝的背景に環境因子が加わって発症する疾患であり、インスリン分泌障害とインスリン作用障害がその病態である。したがって、2型糖尿病の遺伝素因を解明するためには、インスリン分泌と作用における重要分子の遺伝子(候補遺伝子)を取り上げて検討するのが有力な方法のひとつである。そこで、Urotensin II(UTS2)遺伝子、Urotensin II 受容体(GPR14)遺伝子、甘み受容体遺伝子、ウェルナー症候群原因遺伝子について、解析を進めた。

B & C. 研究方法 と結果

1) Urotensin II(UTS2)遺伝子

Urotensin II(UTS2)遺伝子は、Sib-pair 解析より明らかになった日本人、中国人の2型糖尿病感受性遺伝子座、1p36-p32 に存在する。Urotensin II は生体における最も強力な循環調節因子であり、骨格筋などの循環調節を介して、インスリン感受性を制御することが想定される。最近ラット膝灌流系において、グルコース刺激インスリン分泌を強力に抑制することが報告された。UTS2 遺伝子は、2型糖尿病候補

遺伝子の一つと考えられる。2型糖尿病患者と正常対照者、各 20 例を対象に UTS2 遺伝子多型を検索した。計 24 個の SNP を同定した。2型糖尿病患者 155 例と高齢正常者 147 例を対象に、各 SNP の頻度を検索した。

アミノ酸置換(Ser89Asp)を伴う SNP (3836T/C)のアレル頻度は、2型糖尿病患者(0.299)で対照群の高齢正常者(60 歳以上、HbA1c 5.6%以下、糖尿病家族歴なし; 0.18, p=0.0018)や耐糖能正常者(0.198, p=0.0011)に比べて有意に高いことを見出した(表1)。

さらに耐糖能正常者で検討すると、89N 多型を有する症例は、野生型に比べて、HOMA(R), HOMA(beta)が高く、かつ GTT 時の血糖値総和、インスリン値総和も高く、ISI composite は有意に低値であった。すなわち、89N 多型はインスリン抵抗性を生じ、2型糖尿病発症に関わると考えられた(Diabetologia 46: 972-976, 2003; Peptide 25: 1801-1808, 2004)。もう一つのアミノ酸置換(Thr21Met)を伴う SNP (143A/G)アレル頻度は糖尿病患者と高齢正常者の間に有意の差異を認めない。

中国人2型糖尿病でも S89N 多型との強い関連性が明らかになった。UTS2 は日本人、中

国人に共通する2型糖尿病候補遺伝子座の一つ、1p36-32に局在するので、北東アジア人に共通な2型糖尿病発症遺伝子であることが示唆される。

UTS2 遺伝子多型と疾患, urotensin II 分泌動態の関連を検討した報告はない。血漿, 尿中 urotensin II 濃度を RIA で測定した予備

的な臨床解析では, 89N 症例の血漿, urotensin II 濃度は, 89S 症例に比べて高値であり, 分泌の high responder であることが示唆された。

表 1. ウロテンシンII 遺伝子S89N 多型の頻度

Genotype	Elderly controls	NGT	Type 2 diabetes
89Asn/Asn	3 (2.4%)	16 (6.0%)	11 (7.2%)
89Ser/Asn	38 (31.2%)	74 (27.6%)	69 (45.4%)
89Ser/Ser	81 (66.4%)	178 (66.4%)	72 (47.4%)
Sum	122	268	152
P value	0.0042	0.0005	
Allele	Elderly controls	NGT	Type 2 diabetes
89Asn	44 (18.0%)	106 (19.8%)	91 (29.9%)
89Ser	200 (82.0%)	430 (80.2%)	213 (70.1%)
Sum	244	536	304
χ^2_c	9.70	10.6	
Pc value	0.0018	0.0011	
Odds ratio	1.94	1.73	

Means \pm SD. (vs. type 2 diabetes)

2) Urotensin II 受容体(GPR14)遺伝子

17q25.3 に存在する G-protein-coupled receptor 14 (GPR14)が Urotensin II 受容体であることが最近明らかにされたが, 遺伝子解析の報告はない。我々は GPR14 遺伝子構造を決定し, 同遺伝子が 1.17Kb の長さの一つの Exon からなることを明らかにした。糖尿病患者と正常対照者, 各 20 例を対象に, 遺伝子多型を検索した。翻訳領域には多型を認めず, 非翻訳領域に 2 つの SNP (-7841C/T, -7836A/G)を同定した。そこで, GPR14 多型と 2型糖尿病の相関研究として, 2型糖尿病患者 155 例と高齢正常者 147 例を対象に, -7841C/T, -7836A/G の頻度を検索した。-7841C/T, -7836A/G の遺伝子型, アレル頻度は糖尿病患者と高齢正常者の間に有意の差異を認めない。耐糖能正常者を対象に

GPR14 多型と臨床的な指標との関連性を調査したが, 有意の関連性を認めた臨床的な指標は無かった。本研究により, 2型糖尿病発症に GPR14 遺伝子多型の関与は少ないと考えられる(Peptide 25: 1801-1808, 2004)。

なお, urotensin II シグナルとインスリン抵抗性とのかかわりを明らかにする目的で, 野生型 UTS2 の adenovirus ベクターを作成し, マウスの尾静脈へ静注して, 耐糖能, インスリン感受性を検討した。肝臓における UTS2 の発現増加, urotensin II 濃度上昇とともに, 耐糖能, インスリン感受性の有意な改善を認めた。現在, その分子機序を検討中である。

3) 甘み受容体遺伝子

舌の甘み受容体から中枢への甘みシグナルは, 中枢からの刺激によるインスリン分泌

(cephalic phase insulin secretion)の主要な因子であり、2型糖尿病患者やその近親者では遺伝的な甘み感受性の低下が報告されている。2003年、3種の味覚受容体遺伝子が同定され、TAS1R2とTAS1R3はヘテロダイマーを形成して甘み受容体を、TAS1R1とTAS1R3はヘテロダイマーを形成して、うまみ受容体を構成することが明らかになった。さらに、甘み受容体からの下流シグナル分子として、TRPM5 (Transient Receptor Potential like Channel)とPhospholipase C beta 2 (PLCb2)が同定されている。さらに、TAS1R2とTAS1R3は、2型糖尿病候補遺伝子座の一つ、1p36-32に局在する。したがって、甘み受容体シグナル関連遺伝子は、2型糖尿病候補遺伝子の一つである可能性があると考えられる。

そこで、2型糖尿病患者と正常対照者、各20例を対象に、TAS1R2遺伝子多型を検索した。TAS1R2遺伝子の翻訳領域のみで、計13個のSNPを同定した。内、8個のSNPはアミノ酸置換を伴っていた。2型糖尿病患者388例

と高齢正常者176例、耐糖能正常者240例を対象に、各SNPの頻度を検索した。317番目のアミノ酸、Arg(949C/950G: wild type)は、1塩基置換によりGly(949G/950G)へ置換し、更にもう一塩基置換が加わると、Ala(949G/950C)へ置換する。317A(949G/950C)のアレル頻度は、2型糖尿病患者(0.07)で対照群の高齢正常者(0.023, $p=0.0022$)や耐糖能正常者(0.021, $p=0.00023$)に比べて有意に高いことを見出した(表2)。

さらに耐糖能正常者で検討すると、317A多型を有する症例は、野生型に比べて初期インスリン分泌の指標であるinsulinogenic indexが有意に低値であり、GTT時のインスリン値総和が高く、ISI compositeは有意に低値であった。なお、TAS1R2の他のSNPのアレル頻度は糖尿病患者と高齢正常者の間で有意な差を認めなかった。

表2 甘み受容体遺伝子TAS1R2 950G/C多型頻度

317 genotype	Elderly subjects	NGT subjects	Type 2 diabetes
C/C	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.5%)
C/G	8 (4.5%)	10 (4.2%)	50 (12.9%)
G/G	168 (95.5%)	230 (96.5%)	336 (86.6%)
Sum	176	240	388
χ^2_c	7.74	11.2	
p_c value	0.021	0.0037	
SNP-950 allele	Elderly control subjects	NGT subjects	Type 2 diabetes
C	8 (2.3%)	10 (2.1%)	54 (7.0%)
G	344 (97.7%)	470 (98.3%)	722 (93.0%)
Sum	352	480	776
χ^2_c	9.35	13.6	
p_c value	0.0022	0.00023	
Odds ratio	3.21	3.52	

(vs Type 2 diabetes)

4) ウェルナー症候群(WRN 遺伝子)

ウェルナー症候群は早期老化症候群の代表的疾患であり、老化、成人病のモデル疾患として注目されている。1992年その原因遺伝

子が第8染色体短腕のRecQ型DNAヘリカーゼ(WRN遺伝子)であることが判明した。WRN遺伝子1367番アミノ酸Cys/Arg多型が心筋梗塞と関連し、1367Argが心筋梗塞に対して