

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

老年病の発症に関わる
遺伝—環境ネットワークの解明
(H17-長寿-003)

平成17年度研究報告書
平成18（2006）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

小原克彦（愛媛大学医学部老年医学講座）

名倉潤（愛媛大学医学部老年医学講座）

田原康玄（愛媛大学医学部統合医科学講座）

I. 総括研究報告

老年病の発症に関わる遺伝-環境ネットワークの解明 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. 老年病の発症に関わる遺伝-環境ネットワークの解明 愛媛大学医学部老年医学講座・教授 三木哲郎	-----12
2. MDR法を用いた遺伝-遺伝相互作用のマイニング 愛媛大学医学部老年医学講座・助教授 小原克彦	----15
3. エンドセリン2 遺伝子多型と高血圧ならびに血圧上昇との相関 愛媛大学医学部附属病院・講師 名倉 潤	----19
4. インスリン抵抗性感受性遺伝子多型の探索 愛媛大学医学部統合医科学講座・講師 田原康玄	----22

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----28
---------------------	--------

IV. 研究成果の刊行物・別刷	----29
-----------------	--------

厚生労働科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

老年病の発症に関わる遺伝—環境ネットワークの解明

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

本研究では、老年病の発症に関わる遺伝—環境ネットワークを解明する目的で、環境因子との交互作用を踏まえた高血圧感受性遺伝子の探索を行った。また、高血圧の中間形質としてインスリン抵抗性の感受性遺伝子解析も行った。加えてMDA法を用いた高血圧に対する遺伝—遺伝相互作用の探索も行った。その結果、ウェルナー症候群原因遺伝子のC1367A多型、エンドセリン2遺伝子A985G多型は、種々の共変量や環境因子との交互作用を含めて検討しても、血圧値や高血圧とは相関しなかった。アンジオテンシン変換酵素I/D多型、アンジオテンシノーゲンM235T多型、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素C677T多型、Gタンパク質 β 3サブユニットC825T多型、Gタンパク質 α サブユニットT393C多型についてインスリン抵抗性（HOMA指数、アディポネクチン、高感度CRP）との関連を検討したが、いずれも有意な相関は認められなかった。従前の検討で得られた3つの高血圧感受性遺伝子多型についてMDR法で再解析したところ、2つの遺伝子多型間に交互作用が認められ、その有意水準は各遺伝子多型単独での検討より1桁小さかった。今後、同様の知見を蓄積していくことで、老年病の発症に関わる遺伝—環境ネットワークの解明を進めていく予定である。

三木哲郎 愛媛大学医学部老年医学講座・教授
小原克彦 愛媛大学医学部老年医学講座・助教授
名倉潤 愛媛大学医学部附属病院・講師
田原康玄 愛媛大学医学部統合医科学講座・講師

A. 研究目的

本研究では、老年病の発症に関わる遺伝—環境ネットワークを解明し、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寿命の確保に貢献することを目的とする。

生活習慣病の発症には、複数の遺伝因子と環境因子とが交絡して関与している。このうちライフスタイルなどの環境因子と生活習慣病、あるいは脳卒中や心疾患などとの関連については多くのエビデンスが蓄積されてきた。しかし、その反面で遺伝因子との関連については、未だ多く検討の余地が残されている。今後、遺伝因子に関する多くの知見が集約され、環境因子との交絡を踏まえて疾患発症との関連を明確化することが、健康寿命を確保する上で重要であろう。

そこで本研究では、生活習慣病のうち最も有病率の高い高血圧に着目し、従来の候補遺伝子を中心にその直接的な影響力を大規模一般地域住民を対象に検証するとともに、環境因子との交互作用を踏まえた検討を行った。

加えて生活習慣病などの多因子疾患の発症には、遺伝—遺伝交互作用も重要な因子である。近年、この遺伝—遺伝交互作用を探索する手法としてMDR法が開発された。そこで本研究では、このMDR法の有用性について検証するとともに、本法による高血圧発症に関する遺伝—遺伝交互作用の探索を行った。

近年、高血圧や糖尿病の病態背景として、インスリン抵抗性が存在することが明らかとなってきた。そこで本研究では、血圧と遺伝因子との中間形質としてインスリン抵抗性をマーカーとし、従来の候補遺伝子多型との相関を大規模一般地域住民を対象に検討した。

このような疾患感受性遺伝子解析は、欧米を中心として展開されてきた。しかし、疾患の原因遺伝子やある遺伝子の対立遺伝子頻度が、人種間で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。

B. 研究方法

感受性遺伝子の探索は、愛媛県下でコホート設定しているA町およびB企業、兵庫県下の人間ドック受診者を対象に行った。対象者の一般臨床検査所見は健診や人間ドック時の検査値を利用した。加えて、一部の対象においては、インスリンや高感度 CRP、アディポネクチンなどのインスリン抵抗性マーカーを、末梢血を用いて独自に測定した。測定したインスリン値は、空腹時血糖値とから HOMA 指数を算出して解析に用いた。

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 法により増幅してから分析に供した。解析した遺伝子多型を表 1 に示した。遺伝子多型の解析は、TaqMan プローブ法で行った。解析に用いたプライマー/プローブ

の配列を表 2 に示した。なお、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) の挿入/欠失 (I/D) 多型については、PCR-RFLP 方で解析した。

MDR 法による検討は、ミレニアム・プロジェクトを通じて構築した日本人大規模集団サンプル (約 11000 例) を用いて行った。この集団サンプルは、我が国における 5 つの遺伝疫学コホートを集約したものであり、多くの臨床情報を有する。対象者の DNA は、それぞれのコホートにおいて、末梢血より定法に則って抽出した。抽出した DNA は、DOP-PCR 法により増幅してから分析に供した。遺伝子多型は、ミレニアム・プロジェクトのサブ研究で得られた 3 つの高血圧感受性遺伝子多型について解析した。知的財産権を保全する目的で、解析した遺伝子多型の具体名は表記しない。遺伝子多型の解析は TaqMan プローブ法で行った。

表 1 解析した遺伝子多型

遺伝子	シンボル	多型	rs 番号
ウェルナー症候群原因遺伝子	WRN	C1367A	
エンドセリン 2 遺伝子	EDN2	A985G	rs5800
アンジオテンシン変換酵素	ACE	I/D	
アンジオテンシノーゲン	AGT	M235T	rs699
メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素	MTHFR	C677T	rs2274976
Gタンパク質 β 3 サブユニット	GNB3	C825T	rs543
Gタンパク質 α サブユニット	GNAS	T393C	rs7121

表 2 解析に用いたプライマー/プローブの配列

遺伝子	プローブ	プライマー
ウェルナー症候群原因遺伝子	FAM-CAGGATAGATTAAGTTTC-MGB VIC- CAGGATAGATTCAGTTTC-MGB	5'-ATGACACAACAAGTTACAGGTGAACT-3' 5'- GCCCGCATGGTATGTTCCA-3'
エンドセリン 2 遺伝子	FAM- TGGAGGCTGGATGG-MGB VIC- TGGAGACTGGATGGC-MGB	5'-CCGTGCAGCCACGAACA-3' 5'-GGACACAGCCAGCCAGGAT-3'
アンジオテンシノーゲン	FAM-CTCCCTGACGGGAG-MGB VIC-CTCCCTGATGGGAG-MGB	5'-GGCTGTGACAGGATGGAAGACT-3' 5'-AAGTGGACGTAGGTGTTGAAAGC-3'
メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素	FAM-TGCGGGAGTCGAT-MGB VIC-CGGGAGCCGATTT-MGB	5'-GACCTGAAGCACTTGAAGGAGAAG-3' 5'-AAAGAAAAGCTGCCGTGATGATG-3'
Gタンパク質 β 3 サブユニット	FAM-CACACTCAGGATGTAGT-MGB VIC-CACACTCAGAATGTAGT-MGB	5'-CCTGACCGCTTTGCTAAATCA-3' 5'-AAGTCAAAGTCAGGCACGTTCA-3'
Gタンパク質 α サブユニット	FAM-CTCCCTGACGGGAG-MGB VIC-CTCCCTGATGGGAG-MGB	5'-GGCTGTGACAGGATGGAAGACT-3' 5'-AAGTGGACGTAGGTGTTGAAAGC-3'

(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「生活習慣病と動脈硬化性疾患の発症要因の探索」「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。

同様の手続きが、それぞれのコホートを管理する研究機関において実施されていることを確認した。

C. 研究結果

WRN 遺伝子の C1367A 多型と高血圧との関連を表 3 に、EDN2 遺伝子 A985G 多型と血圧との関連を表 4 に示した。その結果、いずれの多型も血圧値や高血圧と有意に相関しなかった。この結果は共優性モデルのみならず優性モデルや劣性モデルにおいても変わらず、また、性別、年齢、BMI、中性脂肪、コレステロールで補正を行っても変わらなかった。さらに、遺伝子-環境相互作用も考慮して解析を行ったが、いずれの環境要因とも有意な相互作用はみとめられなかった。同様に、インスリン抵抗性を中間形質とした検討でも、解析したアンジオテンシン変換酵素 I/D 多型、アンジオテンシノーゲン M235T 多型、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 C677T 多型、Gタンパク質β3サブユニット C825T 多型、Gタンパク質αサブユニット T393C 多型は、HOMA 指数、アディポネクチン、高感度 CRP と相関しなかった (表 5~9)。

表 3 WRN 遺伝子 C1367A 多型と血圧ならびに臨床情報との関連

Variable	Genotype			P value
	CC (n = 562)	CA (n = 88)	AA (n = 2)	
Sex (male %)	99.5	99.5	100.0	0.92
Age (years)	52.5 (7.4)	52.5 (7.9)	52.5 (7.1)	1.00
Body mass index (kg/m ²)	23.1 (2.7)	23.3 (2.9)	21.1 (0.3)	0.40
Systolic blood pressure (mmHg)	133.3 (17.5)	130.4 (17.3)	140.0 (0.0)	0.29
Diastolic blood pressure (mmHg)	78.9 (10.5)	77.8 (11.4)	85.0 (7.1)	0.49
Triglyceride (mg/dl)	138.7 (80.4)	149.4 (81.3)	143.2 (80.0)	0.49
Total cholesterol (mg/dl)	192.7 (30.4)	195.5 (33.2)	180.4 (5.9)	0.61
Hypertension (%)	38.9	31.5	100.0	0.08

表 4 EDN2 遺伝子 A985G 多型と血圧ならびに臨床情報との関連

Variable	Genotype			P value
	AA (n = 22)	AG (n = 424)	GG (n = 1801)	
Sex (male %)	92.0	86.0	85.6	0.66
Age (years)	50.3 (7.7)	51.3 (8.4)	51.4 (8.5)	0.81
Body mass index (kg/m ²)	23.0 (2.9)	23.0 (3.0)	23.2 (3.1)	0.35
Systolic blood pressure (mmHg)	135.5 (13.1)	132.4 (17.4)	132.3 (16.9)	0.69
Diastolic blood pressure (mmHg)	80.1 (9.4)	77.6 (10.2)	78.0 (10.5)	0.50
Triglyceride (mg/dl)	131.9 (58.8)	137.2 (70.4)	139.1 (82.2)	0.84
Total cholesterol (mg/dl)	205.3 (27.8)	196.5 (30.5)	198.5 (32.0)	0.27
Hypertension (%)	59.1	35.8	38.2	0.08

表5 ACE 遺伝子多型との相関

	遺伝子多型	N	平均	標準偏差	p
血糖値 (mg/dl)	II	890	98.0	21.7	0.681
	ID	967	98.8	21.3	
	DD	292	98.0	20.7	
HbA1C	II	208	5.87	1.27	0.999
	ID	240	5.87	1.27	
	DD	72	5.88	1.34	
HOMA 指数	II	863	1.68	1.51	0.732
	ID	950	1.72	1.90	
	DD	285	1.63	1.33	
アディポネクチン (ug/ml)	II	872	5.98	4.26	0.016
	ID	953	5.92	4.06	
	DD	289	6.73	5.12	
高感度CRP (mg/dl)	II	823	0.11	0.18	0.051
	ID	905	0.09	0.16	
	DD	272	0.10	0.17	

表6 AGT 遺伝子多型との相関

	遺伝子多型	N	平均	標準偏差	p
血糖値 (mg/dl)	MM	69	96.7	21.6	0.776
	MT	610	98.1	22.5	
	TT	1392	98.4	20.9	
HbA1C	MM	16	5.70	1.14	0.842
	MT	139	5.90	1.37	
	TT	341	5.88	1.27	
HOMA 指数	MM	68	1.57	1.32	0.632
	MT	600	1.64	1.56	
	TT	1362	1.70	1.66	
アディポネクチン (ug/ml)	MM	68	6.19	4.13	0.186
	MT	604	5.79	3.96	
	TT	1373	6.17	4.47	
高感度CRP (mg/dl)	MM	65	0.11	0.18	0.970
	MT	572	0.10	0.17	
	TT	1297	0.10	0.17	

表7 MTHFR 遺伝子多型との相関

	遺伝子多型	N	平均	標準偏差	p
血糖値 (mg/dl)	CC	832	97.8	20.0	0.154
	CT	933	97.9	19.6	
	TT	330	100.3	27.5	
HbA1C	CC	203	5.78	1.15	0.230
	CT	217	5.88	1.18	
	TT	85	6.06	1.66	
HOMA 指数	CC	817	1.71	1.65	0.939
	CT	913	1.68	1.75	
	TT	320	1.70	1.57	
アディポネクチン (ug/ml)	CC	821	6.15	4.33	0.725
	CT	921	6.00	4.23	
	TT	324	5.99	4.52	
高感度CRP (mg/dl)	CC	787	0.11	0.18	0.190
	CT	862	0.10	0.15	
	TT	306	0.10	0.17	

表8 GNB3 遺伝子多型との相関

	遺伝子多型	N	平均	標準偏差	p
血糖値 (mg/dl)	CC	517	98.3	20.6	0.952
	CT	1078	98.1	21.1	
	TT	521	98.4	21.8	
HbA1C	CC	141	5.82	1.19	0.889
	CT	246	5.87	1.33	
	TT	123	5.88	1.22	
HOMA 指数	CC	506	1.75	1.82	0.648
	CT	1059	1.66	1.57	
	TT	506	1.70	1.77	
アディポネクチン (ug/ml)	CC	510	5.82	4.38	0.310
	CT	1068	6.17	4.27	
	TT	509	6.08	4.33	
高感度CRP (mg/dl)	CC	482	0.11	0.19	0.592
	CT	1006	0.10	0.16	
	TT	486	0.10	0.17	

表9 GNB3 遺伝子多型との相関

	遺伝子多型	N	平均	標準偏差	p
血糖値 (mg/dl)	TT	670	97.3	18.2	0.102
	TC	1036	99.3	23.2	
	CC	412	97.3	21.0	
HbA1C	TT	168	5.77	0.98	0.475
	TC	260	5.92	1.42	
	CC	85	5.90	1.32	
HOMA 指数	TT	650	1.71	2.02	0.562
	TC	1019	1.72	1.54	
	CC	405	1.62	1.41	
アディポネクチン (ug/ml)	TT	656	6.07	4.31	0.916
	TC	1026	6.03	4.35	
	CC	408	6.14	4.18	
高感度CRP (mg/dl)	TT	624	0.11	0.18	0.347
	TC	970	0.10	0.16	
	CC	384	0.10	0.17	

MDR 法による遺伝-遺伝相互作用の探索において、対象者の臨床的背景を表 10 に示した。高血圧は 140/90 mmHg 以上あるいは降圧薬の服用者と定義した。正常血圧の定義は、降圧薬非服用者で血圧 140/90 未満であり、心血管合併症を有さない、45 歳以上の者と定義した。

解析した遺伝子多型の頻度を表 11 に示した。これら遺伝子多型は、ミレニアム・プロジェクトのサブ研究でスクリーニングされ高血圧感受性遺伝子多型である。大規模集団を対象とした再解析でも#1 と#2 が統計学的有意性を示し、高血圧感受性としての再現性が確認された (表 12)。

表 10 対象者の臨床背景

	全体 (11526)	高血圧群 (3844)	正常血圧群 (3214)	p
男性 (%)	45.8	47.3	48.6	0.27
年齢 (歳)	54.6±14.3	62.4±11.3	57.8±8.5	<0.0001
Body mass index (kg/m ²)	23.0±3.2	23.9±3.2	22.6±2.9	<0.0001
収縮期血圧 (mmHg)	131.4±19.4	148.0±15.5	121.8±11.4	-
拡張期血圧 (mmHg)	78.8±11.6	86.7±10.5	74.3±8.1	-
降圧薬服用 (%)	18.9	46.7	-	
総コレステロール (mg/dl)	200.2±35.1	203.5±34.4	203.4±34.4	0.96
HDL コレステロール (mg/dl)	59.2±15.4	58.6±15.7	59.7±15.5	0.0039
中性脂肪 (mg/dl)	123.5±85.8	135.4±192.9	117.4±73.3	<0.0001
血糖 (mg/dl)	103.8±28.8	109.3±33.3	103.5±28.7	<0.0001
喫煙者 (%)	36.6	34.6	34.9	0.83
脳卒中既往 (%)	2.0	4.0	0	
心疾患既往 (%)	5.0	9.3	0	

表 11 解析した 3 つの遺伝子多型の頻度

		Case (n)			Control (n)		
		AA	AB	BB	AA	AB	BB
#1	A/G	867	1806	1171	703	1620	891
#3	G/A	681	1828	1335	556	1621	1037
#5	C/G	546	1847	1451	499	1465	1250

表 12 解析した 3 つの遺伝子多型と高血圧との相関

	Allele	dominant		recessive		Genotype p
		odds	p	odds	p	
#1	A/G	0.98	0.22	0.876	0.012	0.011
#3	G/A	0.98	0.22	0.90	0.029	0.043
#5	C/G	1.00	0.91	1.050	0.32	0.085

MDR 法で得られた 2 遺伝子と 3 遺伝子モデルの結果を表 5 に示した。モデルの交差妥当性に差は認められなかったが、予測精度は 2 遺伝子モデルが高く、この SNP 間に交互作用が存在すると判断した。

表 5 MDR による探索結果

	Training 精度	Testing 精度	p
#1+#3	0.520	0.520	0.0215
#1+#3+#5	0.519	0.515	0.3438

#1: AA+AG vs GG
 #3: AA vs AG+GG
 #5: GG+CG vs CC

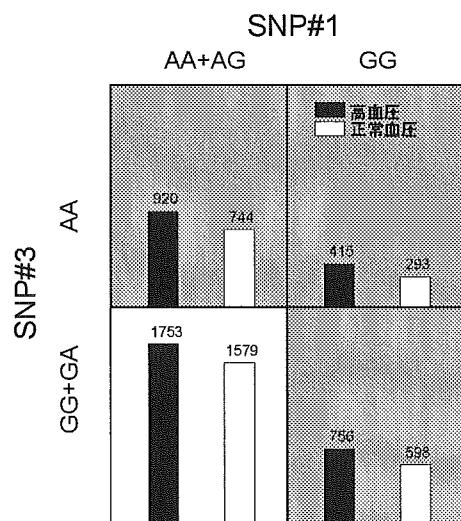


図 1 MDR 法で得られた 2 遺伝子交互作用モデル

MDR により決定された 2 遺伝子交互作用モデルを図 1 に示した。黒色が high risk 多型、白色が low risk 多型で、それぞれの多型の高血圧、正常血圧者数を示した。このモデルについて、大規模集団を用いて再検定すると、high risk 多型の odds 比は 1.07 となり p 値は 0.0031 であった。これは、それぞれの遺伝子単独で検討した場合より 1 桁小さい値であった。

E. 結論

今回の検討において、WRN 遺伝子の C1367A 多型ならびに EDN2 遺伝子の A985G 多型と高血圧とに統計学的に有意な相関を証明することはできなかった。アンジオテンシン変換酵素 I/D 多型、アンジオテンシノーゲン M235T 多型、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 C677T 多型、G タンパク質 β 3 サブユニット C825T 多型、G タンパク質 α サブユニット T393C 多型は、HOMA 指数、アディポネクチン、高感度 CRP を指標としたインスリン抵抗性の遺伝的背景とはならないことが示された。多因子疾患の遺伝-遺伝交互作用を検討する上で MDR 法の有用性が確認されるとともに、高血圧に対する遺伝-遺伝交互作用が見いだされた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H. Combined analysis of polymorphisms in angiotensinogen and adducin genes and their effects on hypertension in a Japanese sample: The Shigaraki Study. *Hypertens Res.* 2005;28:645-50.
- Abe M, Wu Z, Yamamoto M, Jin JJ, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of dopamine beta-hydroxylase polymorphism with hypertension through interaction with fasting plasma glucose in Japanese. *Hypertens Res.* 2005;28:215-21.
- Osawa H, Onuma H, Ochi M, Murakami A, Yamauchi J, Takasuka T, Tanabe F, Shimizu I, Kato K, Nishida W, Yamada K, Tabara Y, Yasukawa M, Fujii Y, Ohashi J, Miki T, Makino H. Resistin SNP-420 determines its monocyte mRNA and serum levels inducing type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;335:596-602.
- Kohara K, Tabara Y, Oshiumi A, Miyawaki Y, Kobayashi T, Miki T. Radial augmentation index: A useful and easily obtainable parameter for vascular aging. *Am J Hypertens* 2005;18:11-14.
- Kawamoto R, Kohara K, Oka Y, Tomita H, Tabara Y, Miki T. An association of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and ischemic stroke. *J stroke cerebro disease* 2005;14:67-74

2. 学会発表

The American Society of Hypertension 20th Annual Scientific Meeting, San Francisco, USA, May14-18, 2005

- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Nakura J, and Miki T. Genetic risk factors for arterial stiffness.
- Kohara K, Fujisawa M, Ando F, Tabara Y, Niino N, Miki T, Shimokata H Matrix Metalloproteinase Gene Polymorphisms and Silent Cerebral Infarcts in a Large Japanese General Population.
- Tabara Y, Kohara K, and Miki T on behalf of the study group of Millennium Genome Project for hypertension. Hunting for hypertension genes: The National Millennium Project in Japan,
- Kohara K, Tabara Y, and Miki T. Systemic multiple candidate genes approach for identification of susceptible genes for hypertension in a Japanese population; on behalf of the study group of Millennium Genome Project for hypertension

The American Society of Human Genetics 55th Annual Meeting, Salt Lake City, USA, October 25-29

- Kondo I, Yamagata H, Tabara Y, Miki T, Yamaguchi F, Kuwajima K. NSD1 polymorphic DNA markers for microdeletion screening in patients with sotos syndrome.
- Miki T, Tabara Y, Nakura J, Kohara K. Genom-wide scan for hypertension: The National Millennium Project in Japan.

第47回日本老年医学会学術集会 平成17年6月15日～17日 東京

- Matric metalloproteinase 遺伝子多型と無症候性閉塞: NLS-ISA スタディ 永井勲久・小原克彦・藤沢道子・安藤富士子・田原康玄・三木哲郎・下方浩史
- 高血圧感受性遺伝子の解析: ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 三木哲郎・小原克彦・名倉潤・田原康玄・ミレニアムゲノムプロジェクト高血圧部会
- 血管壁硬化を中間形質とした脈圧に関連する遺伝要因探索: J-SHIP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 加齢に伴う腎機能低下に関連する遺伝要因の探索: J-SHIP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 虚血性脳卒中と MTHFR 遺伝子多型との関連について 川本龍一・小原克彦・富田仁美・田原康玄・三木哲郎

第12回遺伝子診療学会大会 平成17年8月 松本

- 高血圧感受性遺伝子解析におけるデータマイニングの有用性 三木哲郎, 田原康玄, 名倉潤, 小原克彦

第28回日本高血圧学会総会 平成17年9月 旭川

- Angiotensinogen M235T 多型および α adducin G640W 多型と高血圧の関連～日本人住民での検討 中村保幸・田原康玄・三木哲郎・環 慎二・山本貴子・喜多義邦・岡村智教・上島弘嗣
- 2万個のマイクロサテライトマーカーを用い、本態性高血圧の疾患感受性(成因) 遺伝子同定を目指したゲノムワイド相関解析 谷津圭介・平和伸仁・小川桃子・志和忠志・相馬正義・羽田 明・中尾一和・上島弘嗣・荻原俊男・友池仁暢・田原康玄・三木哲郎・木村彰方・岡 晃・水木信久・猪子俊英・梅村 敏
- マルチプル候補遺伝子アプローチによる高血圧感受性遺伝子、感受性経路の探索～ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 小原克彦・田原康玄・名倉潤・三木哲郎
- Follicle stimulating hormone (FSH) 受容体遺伝子 5' 非翻訳領域の一塩基多型は転写活性に影響し本態性高血圧症と関連する(ミレニアムゲノムプロジェクト) 中山智祥・黒井信宏・佐野守彦・田原康玄・勝谷友宏・荻原俊男・蒔田芳男・羽田明・山田美智子・高橋規郎・平和伸仁・梅村 敏・三木哲郎・相馬正義

- RGS2 遺伝子多型と 12 年間の家庭血圧変化の関連:大迫研究 勝谷友宏・田原康玄・大久保孝義・菊谷昌浩・目時弘仁・戸恒和人・小原克彦・楽木宏美・三木哲郎・今井 潤・荻原俊男
- 高血圧候補遺伝子と脂肪蓄積および血圧の関連性 小川桃子・平和伸仁・遠藤晃彦・谷津圭介・田村 功一・木原 実・戸谷義幸・安田 元・田原康玄・三木哲郎・徳永勝士・梅村 敏

59th Annual Fall Conference and Scientific Sessions of the Council for High Blood Pressure Research in association with the Council on Kidney in Cardiovascular Disease. September 21-24, 2005. Washington, DC

- Tabara Y, Kohara K, Nakura J, Miki T, The study Group of Millennium Genome Project for Hypertension. Whole-genome Candidate Gene Association Study for the Development of Hypertension; The National Millennium Genome Project in Japan
- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Igase M, Nakura J, Miki T. Candidate Gene Approach for Age-related Increase in Pulsere Pressure with an Employment of Arterial Stiffness as an Intermediate Phenotype: J-shipp Study
- Tabara Y, Kohara K, Kawamoto R, Osawa H, Nakura J, Makino H, Miki T. Association Between Adiponectin and C-reactive Protein in Community-based Large Scale Population

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

老年病の発症に関わる遺伝-環境ネットワークの解明

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・血圧上昇の遺伝的背景を明らかにする目的で、大規模一般地域住民を対象に、ウェルナー症候群原因遺伝子（WRN）多型（C1367A）と高血圧との関連を検討した。その結果、当該遺伝子多型と血圧値ならびに高血圧とは有意な相関はみとめられなかった。この結果は共優性モデル、優性モデル、劣性モデルでも同様であり、性別や年齢などの共変量を補正しても変わらなかった。遺伝子-環境相互作用も考慮して解析を行ったが、いずれの環境要因とも有意な相互作用はみとめられなかった。

A. 研究目的

ウェルナー症候群は早老症の代表的疾患の一つであり、顕著な動脈硬化を示すことが知られている。動脈硬化は収縮期高血圧の重要な原因となり、さらにウェルナー症候群原因遺伝子（WRN）多型（C1367A）は心筋梗塞の発症と関連することも知られているため、本研究では、大規模一般地域住民を対象とし、高血圧の感受性遺伝子として可能性のある候補遺伝子多型としてウェルナー症候群原因遺伝子（WRN）多型（C1367A）と高血圧および血圧値との関連について検討を行った。

B. 研究方法

対象は、兵庫県下の一般病院における人間ドック受診者とした。このうち、本研究の趣旨に同意

の得られた約 800 例を解析対象とした。血圧、アルコール摂取量、および血液生化学検査値等の臨床情報は、人間ドック受信時のものを利用した。

対象者のゲノム DNA は末梢血から定法に則って抽出した。WRN 遺伝子 C1367A 多型は、TaqMan プローブ法で解析した。解析に用いたプライマー/プローブの塩基配列を以下に示した。

WRN 遺伝子 C1367A 多型

プローブ FAM- CAGGATAGATTAAGTTTC-MGB
VIC- CAGGATAGATTCAGTTTC-MGB

プライマー 5'-ATGACACAACAAGTTACAGGTGAACT-3'
5'- GCCC GCATGGTATGTTCCA-3'

表 1 WRN 遺伝子 C1367A 多型と血圧ならびに臨床情報との関連

Variable	Genotype			P value
	CC (n = 562)	CA (n = 88)	AA (n = 2)	
Sex (male %)	99.5	99.5	100.0	0.92
Age (years)	52.5 (7.4)	52.5 (7.9)	52.5 (7.1)	1.00
Body mass index (kg/m ²)	23.1 (2.7)	23.3 (2.9)	21.1 (0.3)	0.40
Systolic blood pressure (mmHg)	133.3 (17.5)	130.4 (17.3)	140.0 (0.0)	0.29
Diastolic blood pressure (mmHg)	78.9 (10.5)	77.8 (11.4)	85.0 (7.1)	0.49
Triglyceride (mg/dl)	138.7 (80.4)	149.4 (81.3)	143.2 (80.0)	0.49
Total cholesterol (mg/dl)	192.7 (30.4)	195.5 (33.2)	180.4 (5.9)	0.61
Hypertension (%)	38.9	31.5	100.0	0.08

(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「生活習慣病と動脈硬化性疾患の発症要因の探索」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

WRN 遺伝子の C1367A 多型と高血圧との関連を表 1 に示した。その結果、WRN 遺伝子の C1367A 多型は血圧値とも高血圧とも有意な相関はみとめられなかった。この結果は共優性モデルのみならず優性モデルや劣性モデルにおいても変わらず、また、性別、年齢、BMI、中性脂肪、コレステロールで補正を行っても変わらなかった。さらに、遺伝子-環境相互作用も考慮して解析を行ったが、いずれの環境要因とも有意な相互作用はみとめられなかった。

D. 考察

本研究では、WRN 遺伝子の C1367A 多型の CC 型は CA 型と AA 型に比べて高血圧を発症しやすい傾向はみとめられたが、統計学的に有意な相関を証明するには至らなかった。さらに血圧値についても CC 型は CA 型と AA 型に比べて収縮期、拡張期ともに高い傾向がみとめられたが、統計学的に有意な相関を証明するには至らなかった。

この原因の一つとして、本研究で使用した集団の規模が有意な相関を証明するには不十分であった可能性が考えられるため、今後はさらに大規模な集団において WRN 遺伝子の C1367A 多型と高血圧との相関を検討することが必要となる。また、本集団では環境要因に関する情報が不十分であり、十分に補正ができていない可能性や遺伝子-環境相互作用が検討できていない可能性もある。そのため、今後はさらに喫煙習慣や飲酒習慣、血糖値などの情報を収集することも必要である。

E. 結論

本集団では、WRN 遺伝子の C1367A 多型と高血圧との統計学的に有意な相関を証明することはできなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H. Combined analysis of polymorphisms in angiotensinogen and adducin genes and their effects on hypertension in a Japanese sample: The Shigaraki Study. *Hypertens Res.* 2005;28:645-50.
- Abe M, Wu Z, Yamamoto M, Jin JJ, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of dopamine beta-hydroxylase polymorphism with hypertension through interaction with fasting plasma glucose in Japanese. *Hypertens Res.* 2005;28:215-21.
- Osawa H, Onuma H, Ochi M, Murakami A, Yamauchi J, Takasuka T, Tanabe F, Shimizu I, Kato K, Nishida W, Yamada K, Tabara Y, Yasukawa M, Fujii Y, Ohashi J, Miki T, Makino H. Resistin SNP-420 determines its monocyte mRNA and serum levels inducing type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;335:596-602.

2. 学会発表

The American Society of Hypertension 20th Annual Scientific Meeting, San Francisco, USA, May14-18, 2005

- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Nakura J, and Miki T. Genetic risk factors for arterial stiffness.
- Kohara K, Fujisawa M, Ando F, Tabara Y, Niino N, Miki T, Shimokata H Matrix Metalloproteinase Gene Polymorphisms and Silent Cerebral Infarcts in a Large Japanese General Population.
- Tabara Y, Kohara K, and Miki T on behalf of the study group of Millennium Genome Project for hypertension. Hunting for hypertension genes: The National Millennium Project in Japan,
- Kohara K, Tabara Y, and Miki T. Systemic multiple candidate genes approach for identification of susceptible genes for hypertension in a Japanese population; on behalf of the study group of Millennium Genome Project for hypertension

The American Society of Human Genetics 55th Annual Meeting, Salt Lake City, USA, October 25-29

- Kondo I, Yamagata H, Tabara Y, Miki T, Yamaguchi F, Kuwajima K. NSD1 polymorphic DNA markers for microdeletion screening in patients with sotos syndrome.
- Miki T, Tabara Y, Nakura J, Kohara K. Genom-wide scan for hypertension: The National Millennium Project in Japan.

第 47 回日本老年医学会学術集会 平成 17 年 6 月 15 日～17 日 東京

- Matric metalloproteinase 遺伝子多型と無症候性脳梗塞: NLS-ISA スタディ 永井勲久・小原克彦・藤沢道子・安藤富士子・田原康玄・三木哲郎・下方浩史
- 高血圧感受性遺伝子の解析: ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 三木哲郎・小原克彦・名倉潤・田原康玄・ミレニアムゲノムプロジェクト高血圧部会
- 血管壁硬化を中間形質とした脈圧に関連する遺伝要因探索: J-SHIPP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 加齢に伴う腎機能低下に関連する遺伝要因の探索: J-SHIPP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 虚血性脳卒中と MTHFR 遺伝子多型との関連について 川本龍一・小原克彦・富田仁美・田原康玄・三木哲郎

第 12 回遺伝子診療学会大会 平成 17 年 8 月 松本

- 高血圧感受性遺伝子解析におけるデータマイニングの有用性 三木哲郎, 田原康玄, 名倉潤, 小原克彦

第 28 回日本高血圧学会総会 平成 17 年 9 月 旭川

- Angiotensinogen M235T 多型および α adducin G640W 多型と高血圧の関連～日本人住民での検討 中村保幸・田原康玄・三木哲郎・環 慎二・山本貴子・喜多義邦・岡村智教・上島弘嗣
- 2 万個のマイクロサテライトマーカーを用い、本態性高血圧の疾患感受性 (成因) 遺伝子同定を目指したゲノムワイド相関解析 谷津圭介・平和伸仁・小川桃子・志和忠志・相馬正義・羽田 明・中尾一和・上島弘嗣・荻原俊男・友池仁暢・田原康玄・三木哲郎・木村彰方・岡 晃・水木信久・猪子俊英・梅村 敏
- マルチプル候補遺伝子アプローチによる高血圧感受性遺伝子、感受性経路の探索～ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 小原克彦・田原康玄・名倉潤・三木哲郎

- Follicle stimulating hormone (FSH) 受容体遺伝子 5' 非翻訳領域の一塩基多型は転写活性に影響し本態性高血圧症と関連する (ミレニアムゲノムプロジェクト) 中山智祥・黒井信宏・佐野守彦・田原康玄・勝谷友宏・荻原俊男・蒔田芳男・羽田明・山田美智子・高橋規郎・平和伸仁・梅村 敏・三木哲郎・相馬正義

- RGS2 遺伝子多型と 12 年間の家庭血圧変化の関連: 大迫研究 勝谷友宏・田原康玄・大久保孝義・菊谷昌浩・目時弘仁・戸恒和人・小原克彦・楽木宏美・三木哲郎・今井 潤・荻原俊男

- 高血圧候補遺伝子と脂肪蓄積および血圧の関連性 小川桃子・平和伸仁・遠藤晃彦・谷津圭介・田村功一・木原 実・戸谷義幸・安田 元・田原康玄・三木哲郎・徳永勝士・梅村 敏

59th Annual Fall Conference and Scientific Sessions of the Council for High Blood Pressure Research in association with the Council on Kidney in Cardiovascular Disease. September 21, 24, 2005. Washington, DC

- Tabara Y, Kohara K, Nakura J, Miki T, The study Group of Millennium Genome Project for Hypertension. Whole-genome Candidate Gene Association Study for the Development of Hypertension; The National Millennium Genome Project in Japan
- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Igase M, Nakura J, Miki T. Candidate Gene Approach for Age-related Increase in Pulsere Pressure with an Employment of Arterial Stiffness as an Intermediate Phenotype: J-shipp Study
- Tabara Y, Kohara K, Kawamoto R, Osawa H, Nakura J, Makino H, Miki T. Association Between Adiponectin and C-reactive Protein in Community-based Large Scale Population

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

MDR 法を用いた遺伝-遺伝相互作用のマイニング

分担研究者 小原克彦 愛媛大学医学部老年医学講座・助教授

研究要旨

多因子疾患の遺伝的背景を検討するにあたり、遺伝-遺伝相互作用を探索する1つの手法である多因子次元縮小法（MDR 法）の有用性を検討するとともに、大規模日本人集団サンプルを用いて、高血圧発症に関する遺伝-遺伝相互作用を見いだすことを目的とした。予めスクリーニングされた3つの高血圧感受性遺伝子多型について MDR 法で再解析したところ、2つの遺伝子多型間に相互作用が認められ、その有意水準は各遺伝子多型単独での検討より1桁小さかった。MDR 法の有用性が確認されるとともに、高血圧に対する遺伝-遺伝相互作用が見いだされた。

A. 研究目的

高血圧や糖尿病に代表される生活習慣病の発症には複数の遺伝因子が交絡して関与していると考えられている。そのため、疾患発症あるいは中間形質などの表現型に関して、効率よく遺伝-遺伝相互作用を見いだす手法が必要である。遺伝-遺伝相互作用を探索する1つの手法として、多因子次元縮小法（MDR; multifactor dimensionality reduction）が知られている。MDR 法は Ritchie らにより開発され、これまで多くの研究で遺伝子・遺伝子相互作用を明らかにするために使用されてきた（表1）。

表1 MDR 法を用いた検討成績（例）

JAMA 291, 1642-3 (2004).
Trends in Genetics 20, 640-7 (2004).
BioEssays 26, 170-9 (2004).
Nutrition 20, 69-73 (2004).
Human Heredity 56, 73-82 (2003).
Annals of Medicine 34, 88-95 (2002).
Human Heredity 57, 28-38 (2004).
In Silico Biology 4, 0016 (2004).
BMC Bioinformatics 5, 49 (2004).
Genetic Epidemiology 24, 150-157 (2003).
Bioinformatics 19, 376-382 (2003).
Diabetologia 47, 549-54 (2004).
Circulation 109, 1640-46 (2004).

MDR 法では、全体のデータの9/10を用いて、因子の選択と組み合わせを全て行い、それぞれのモデルにおいて、high risk 多型と low risk 多型

の2つの組み合わせによる dimensionality reduction を行う。次いで、得られたモデルの妥当性を残りの1/10のデータを用いて prediction error として算出し、最も誤差の少ないモデルを選択する。このプロセスをそれぞれ10回繰り返してモデルの検定を行う。

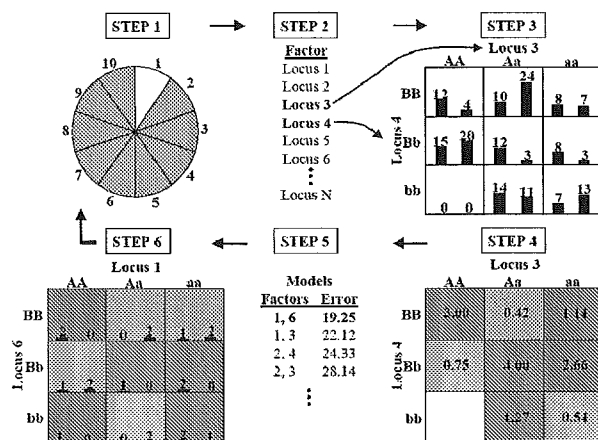


図1 MDR 法の概念図

本研究では、日本人一般地域住民を対象に、この MDR 法を適用し、マイニング手法としての有用性を検討するとともに、高血圧発症に関する遺伝-遺伝相互作用を見いだすことを目的とした。

B. 研究方法

ミレニアム・プロジェクトを通じて構築した日本人大規模集団サンプル（約11000例）を解析に用いた。この集団サンプルは、我が国における5

つの遺伝疫学コホートを集約したものであり、多くの臨床情報を有する。

対象者のDNAは、それぞれのコホートにおいて、末梢血より定法に則って抽出した。抽出したDNAは、DOP-PCR法により増幅してから分析に供した。遺伝子多型は、ミレニアム・プロジェクトのサブ研究で得られた3つの高血圧感受性遺伝子多型について解析した。知的財産権を保全する目的で、解析した遺伝子多型の具体名は表記しない。遺伝子多型の解析はTaqManプローブ法で行った。

(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、研究課題名「生活習慣病と動脈硬化性疾患の発症要因の探索」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。

同様の手続きが、それぞれのコホートを管理する研究機関において実施されていることを確認した。

表2 対象者の臨床背景

	全体 (11526)	高血圧群 (3844)	正常血圧群 (3214)	p
男性 (%)	45.8	47.3	48.6	0.27
年齢 (歳)	54.6±14.3	62.4±11.3	57.8±8.5	<0.0001
Body mass index (kg/m ²)	23.0±3.2	23.9±3.2	22.6±2.9	<0.0001
収縮期血圧 (mmHg)	131.4±19.4	148.0±15.5	121.8±11.4	-
拡張期血圧 (mmHg)	78.8±11.6	86.7±10.5	74.3±8.1	-
降圧薬服用 (%)	18.9	46.7	-	
総コレステロール (mg/dl)	200.2±35.1	203.5±34.4	203.4±34.4	0.96
HDL コレステロール (mg/dl)	59.2±15.4	58.6±15.7	59.7±15.5	0.0039
中性脂肪 (mg/dl)	123.5±85.8	135.4±192.9	117.4±73.3	<0.0001
血糖 (mg/dl)	103.8±28.8	109.3±33.3	103.5±28.7	<0.0001
現喫煙者 (%)	36.6	34.6	34.9	0.83
脳卒中既往 (%)	2.0	4.0	0	
心疾患既往 (%)	5.0	9.3	0	

表3 解析した3つの遺伝子多型の頻度

		Case (n)			Control (n)		
		AA	AB	BB	AA	AB	BB
#1	A/G	867	1806	1171	703	1620	891
#3	G/A	681	1828	1335	556	1621	1037
#5	C/G	546	1847	1451	499	1465	1250

表4 解析した3つの遺伝子多型と高血圧との相関

	Allele	dominant		recessive		Genotype
		odds	p	odds	p	
#1	A/G	0.98	0.22	0.876	0.012	0.011
#3	G/A	0.98	0.22	0.90	0.029	0.043
#5	C/G	1.00	0.91	1.050	0.32	0.085

C. 研究結果

対象者の臨床的背景を表2に示した。高血圧は140/90 mmHg 以上あるいは降圧薬の服用者と定義した。正常血圧の定義は、降圧薬非服用者で血圧140/90 未満であり、心血管合併症を有さない、45歳以上の者と定義した。

解析した遺伝子多型の頻度を表3に示した。これら遺伝子多型は、ミレニアム・プロジェクトのサブ研究でスクリーニングされ高血圧感受性遺伝子多型である。大規模集団を対象とした再解析でも#1と#2が統計学的有意性を示し、高血圧感受性としての再現性が確認された(表4)。MDR法で得られた2遺伝子と3遺伝子モデルの結果を表5に示した。モデルの交差妥当性に差は認められなかったが、予測精度は2遺伝子モデルが高く、このSNP間に交互作用が存在すると判断した。

表5 MDRによる探索結果

	Training 精度	Testing 精度	p
#1+#3	0.520	0.520	0.0215
#1+#3+#5	0.519	0.515	0.3438

#1: AA+AG vs GG
#3: AA vs AG+GG
#5: GG+CG vs CC

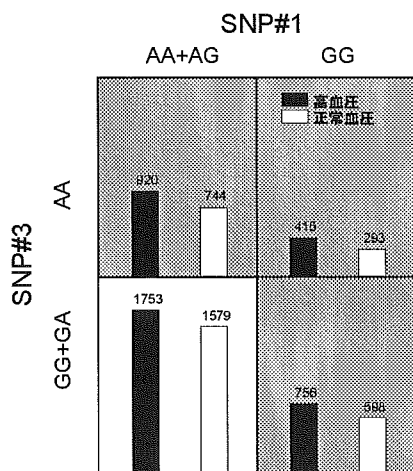


図2 MDR法で得られた2遺伝子交互作用モデル

MDRにより決定された2遺伝子交互作用モデルを図2に示した。黒色がhigh risk多型、白色がlow risk多型で、それぞれの多型の高血圧、正常血圧者数を示した。このモデルについて、大規模集団を用いて再検定すると、high risk多型のodds比は1.07となりp値は0.0031であった。これは、それぞれの遺伝子単独で検討した場合より1桁小さい値であった。

D. 考察

本研究において、多因子疾患の遺伝的背景について、特に遺伝-遺伝交互作用を検討する上でMDR法の有用性が確認されるとともに、既存の成績から高血圧に対する遺伝-遺伝交互作用が見いだされた。反面、得られた有意な遺伝-遺伝交互作用も、高血圧に対するodds比は1.07程度であり、有意性はあるものの、その影響力は大きくないことが示された。この成績は、他の感受性遺伝子多型においても同様であり、従来の1遺伝子多型による担架域では見逃されていた可能性がある。今回の結果からも、高血圧は影響力の小さい遺伝子の相互作用によるpolygenicな影響が考えられるため、今後の検討ではMDR法などを用いることで、遺伝-遺伝交互作用を十分に加味することが必要といえる。

E. 結論

多因子疾患の遺伝-遺伝交互作用を検討する上でMDR法の有用性が確認されるとともに、高血圧に対する遺伝-遺伝交互作用が見いだされた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Kohara K, Tabara Y, Oshiumi A, Miyawaki Y, Kobayashi T, Miki T. Radial augmentation index: A useful and easily obtainable parameter for vascular aging. *Am J Hypertens* 2005;18:11-14.
- Kawamoto R, Kohara K, Oka Y, Tomita H, Tabara Y, Miki T. An association of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and ischemic stroke. *J stroke cerebro disease* 2005;14:67-74
- Abe M, Wu Z, Yamamoto M, Jin JJ, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of dopamine beta-hydroxylase polymorphism with hypertension through interaction with fasting plasma glucose in Japanese. *Hypertens Res.* 2005;28:215-21.

2. 学会発表

The American Society of Hypertension 20th Annual Scientific Meeting, San Francisco, USA, May14-18, 2005

- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Nakura J, and Miki T. Genetic risk factors for arterial stiffness.
- Kohara K, Fujisawa M, Ando F, Tabara Y, Niino N, Miki T, Shimokata H Matrix Metalloproteinase Gene Polymorphisms and Silent Cerebral Infarcts in a Large Japanese General Population.
- Tabara Y, Kohara K, and Miki T on behalf of the study group of Millennium Genome Project for hypertension. Hunting for hypertension genes: The National Millennium Project in Japan,
- Kohara K, Tabara Y, and Miki T. Systemic multiple candidate genes approach for identification of susceptible genes for hypertension in a Japanese population; on behalf of the study group of Millennium Genome Project for hypertension

The American Society of Human Genetics 55th Annual Meeting, Salt Lake City, USA, October 25-29

- Kondo I, Yamagata H, Tabara Y, Miki T, Yamaguchi F, Kuwajima K. NSD1 polymorphic DNA markers for microdeletion screening in patients with sotos syndrome.
- Miki T, Tabara Y, Nakura J, Kohara K. Genom-wide scan for hypertension: The National Millennium Project in Japan.

第 47 回日本老年医学会学術集会 平成 17 年 6 月 15 日 ~17 日 東京

- Matric metalloproteinase 遺伝子多型と無症候性脳梗塞: NLS-LSA スタディ 永井勲久・小原克彦・藤沢道子・安藤富士子・田原康玄・三木哲郎・下方浩史
- 高血圧感受性遺伝子の解析: ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 三木哲郎・小原克彦・名倉潤・田原康玄・ミレニアムゲノムプロジェクト高血圧部会
- 血管壁硬化を中間形質とした脈圧に関連する遺伝要因探索: J-SHIP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 加齢に伴う腎機能低下に関連する遺伝要因の探索: J-SHIP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎
- 虚血性脳卒中と MTHFR 遺伝子多型との関連について 川本龍一・小原克彦・富田仁美・田原康玄・三木哲郎

第 12 回遺伝子診療学会大会 平成 17 年 8 月 松本

- 高血圧感受性遺伝子解析におけるデータマイニングの有用性 三木哲郎, 田原康玄, 名倉潤, 小原克彦

第 28 回日本高血圧学会総会 平成 17 年 9 月 旭川

- Angiotensinogen M235T 多型および α adducin G640W 多型と高血圧の関連~日本人住民での検討 中村保幸・田原康玄・三木哲郎・環 慎二・山本貴子・喜多義邦・岡村智教・上島弘嗣
- 2 万個のマイクロサテライトマーカーを用い、本態性高血圧の疾患感受性 (成因) 遺伝子同定を目指したゲノムワイド相関解析 谷津圭介・平和伸仁・小川桃子・志和忠志・相馬正義・羽田 明・中尾一和・上島弘嗣・荻原俊男・友池仁暢・田原康玄・三木哲郎・木村彰方・岡 晃・水木信久・猪子俊英・梅村 敏
- マルチプル候補遺伝子アプローチによる高血圧感受性遺伝子、感受性経路の探索~ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 小原克彦・田原康玄・名倉潤・三木哲郎
- Follicle stimulating hormone (FSH) 受容体遺伝子 5' 非翻訳領域の一塩基多型は転写活性に影響し本態性高血圧症と関連する (ミレニアムゲノムプロジェクト) 中山智祥・黒井信宏・佐野守彦・田原康玄・勝谷友宏・荻原俊男・蒔田芳男・羽田明・山田美智子・高橋規郎・平和伸仁・梅村 敏・三木哲郎・相馬正義
- RGS2 遺伝子多型と 12 年間の家庭血圧変化の関連: 大迫研究 勝谷友宏・田原康玄・大久保孝義・菊谷昌浩・目時弘仁・戸恒和人・小原克彦・柴木宏美・三木哲郎・今井 潤・荻原俊男
- 高血圧候補遺伝子と脂肪蓄積および血圧の関連性 小川桃子・平和伸仁・遠藤晃彦・谷津圭介・田村功一・木原 実・戸谷義幸・安田 元・田原康玄・三木哲郎・徳永勝士・梅村 敏

59th Annual Fall Conference and Scientific Sessions of the Council for High Blood Pressure Research in association with the Council on Kidney in Cardiovascular Disease. September 21, 24, 2005. Washington, DC

- Tabara Y, Kohara K, Nakura J, Miki T, The study Group of Millennium Genome Project for Hypertension. Whole-genome Candidate Gene Association Study for the Development of Hypertension; The National Millennium Genome Project in Japan
- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Igase M, Nakura J, Miki T. Candidate Gene Approach for Age-related Increase in Pulsere Pressure with an Employment of Arterial Stiffness as an Intermediate Phenotype: J-shipp Study
- Tabara Y, Kohara K, Kawamoto R, Osawa H, Nakura J, Makino H, Miki T. Association Between Adiponectin and C-reactive Protein in Community-based Large Scale Population

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

エンドセリン2 遺伝子多型と高血圧ならびに血圧上昇との相関

分担研究者 名倉 潤 愛媛大学医学部附属病院老年科・講師

研究要旨

高血圧の発症に関わる遺伝-環境ネットワークを解明する目的で、有力な候補遺伝子多型であるエンドセリン2 遺伝子 A985G 多型と高血圧との関連について検討を行った。その結果、EDN2 遺伝子の A985G 多型は血圧値とも高血圧とも有意に相関しなかった。この結果は、種々の共変量を調整しても同様であった。また、環境因子との相互作用についても検討したが、高血圧との有意な相関は認められなかった。

A. 研究目的

高血圧は最も有病率の高い疾患の一つである。高血圧がさらに動脈硬化を介して大きな危険因子となる脳血管障害や心筋梗塞は日本人の主要死因として重要であり、老年者の寝たきりを含む社会的問題としても最重要課題となっている。高血圧症感受性遺伝子を同定することによって各個人の生活指導を適切に行うことが可能となり、オーダーメイド医療や創薬、健康寿命の延長、QOLの向上、医療費の大幅削減など、国民の保健、医療、福祉の向上に貢献できる可能性が考えられる。

そこで本研究では、大規模一般地域住民を対象とし、高血圧の感受性候補遺伝子多型としてエンドセリン2 遺伝子 (EDN2) 多型 (A985G) と高血圧との関連について検討を行った。

B. 研究方法

対象は、愛媛県下でコホート設定しているB企業従業員のうち、本研究の趣旨に同意の得られた約 2000 例とした。対象者の一般臨床検査所見は職域健診時の検査値を利用した。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 法により増幅してから分析に供した。EDN2 遺伝子 A985G 多型の解析は、TaqMan プローブ法で行った。解析に用いたプライマー/プローブの配列を以下に示す。

EDN2 遺伝子 A985G 多型

プローブ FAM- TGGAGGCTGGATGG-MGB
VIC- TGGAGACTGGATGGC-MGB
プライマー 5'-CCGTGCAGCCACGAACA-3'
5'-GGACACAGCCAGCCAGGAT-3'

表1 EDN2 遺伝子 A985G 多型と血圧ならびに臨床情報との関連

Variable	Genotype			P value
	AA (n = 22)	AG (n = 424)	GG (n = 1801)	
Sex (male %)	92.0	86.0	85.6	0.66
Age (years)	50.3 (7.7)	51.3 (8.4)	51.4 (8.5)	0.81
Body mass index (kg/m ²)	23.0 (2.9)	23.0 (3.0)	23.2 (3.1)	0.35
Systolic blood pressure (mmHg)	135.5 (13.1)	132.4 (17.4)	132.3 (16.9)	0.69
Diastolic blood pressure (mmHg)	80.1 (9.4)	77.6 (10.2)	78.0 (10.5)	0.50
Triglyceride (mg/dl)	131.9 (58.8)	137.2 (70.4)	139.1 (82.2)	0.84
Total cholesterol (mg/dl)	205.3 (27.8)	196.5 (30.5)	198.5 (32.0)	0.27
Hypertension (%)	59.1	35.8	38.2	0.08

(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「生活習慣病と動脈硬化性疾患の発症要因の探索」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

EDN2 遺伝子 A985G 多型と血圧との関連を表 1 に示した。その結果、EDN2 遺伝子の A985G 多型は血圧値とも高血圧とも有意な相関はみとめられなかった。この結果は共優性モデルのみならず優性モデルや劣性モデルにおいても変わらず、また、性別、年齢、BMI、中性脂肪、コレステロールで補正を行っても変わらなかった。さらに、遺伝子-環境相互作用も考慮して解析を行ったが、EDN2 遺伝子の A985G 多型は高血圧に関していずれの環境要因とも有意な相互作用は認められなかった。

D. 考察

本研究では、EDN2 遺伝子の A985G 多型の GG 型は AG 型と AA 型に比べて高血圧を発症しやすい傾向は認められたが、有意な相関を証明するには至らなかった。この原因として、第一に本研究で使用した集団の規模が有意な相関を証明するには不十分であった可能性がある。今後はさらに大規模な集団において EDN2 遺伝子の A985G 多型と高血圧との相関を検討することが必要となる。第二に環境要因に関する情報が不十分であり十分に補正ができていない可能性や遺伝子-環境相互作用が検討できていない可能性もある。今後はさらに喫煙習慣や飲酒習慣、血糖値などの情報を収集する必要がある。第三に、本研究は EDN2 遺伝子の A985G 多型についてのみ検討しており遺伝-遺伝相互作用の検討がなされていない。さらに他の高血圧関連遺伝子多型も検討に加える必要がある。最後に、本研究でみられた GG 型が AG 型と AA 型に比べて高血圧を発症しやすい傾向は偶然の産物である可能性もある。これを証明するためにも、やはりさらなる大規模かつ環境要因に関する情報の整った集団における検討が必要となる。

E. 結論

本集団において EDN2 遺伝子 A985G 多型と高血圧や血圧値との有意な相関は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Abe M, Wu Z, Yamamoto M, Jin JJ, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of dopamine beta-hydroxylase polymorphism with hypertension through interaction with fasting plasma glucose in Japanese. *Hypertens Res.* 2005;28:215-21.

2. 学会発表

The American Society of Hypertension 20th Annual Scientific Meeting, San Francisco, USA, May14-18, 2005

- Kohara K, Tabara Y, Nagai T, Nakura J, and Miki T. Genetic risk factors for arterial stiffness.

The American Society of Human Genetics 55th Annual Meeting, Salt Lake City, USA, October 25-29

- Miki T, Tabara Y, Nakura J, Kohara K. Genom-wide scan for hypertension: The National Millennium Project in Japan.

第 47 回日本老年医学会学術集会 平成 17 年 6 月 15 日 ~17 日 東京

- 高血圧感受性遺伝子の解析: ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 三木哲郎・小原克彦・名倉潤・田原康玄・ミレニアムゲノムプロジェクト高血圧部会

- 血管壁硬化を中間形質とした脈圧に関連する遺伝要因探索: J-SHIPP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎

- 加齢に伴う腎機能低下に関連する遺伝要因の探索: J-SHIPP 研究 小原克彦・田原康玄・永井勲久・伊賀瀬道也・名倉潤・三木哲郎

第 12 回遺伝子診療学会大会 平成 17 年 8 月 松本

- 高血圧感受性遺伝子解析におけるデータマイニングの有用性 三木哲郎, 田原康玄, 名倉潤, 小原克彦

第 28 回日本高血圧学会総会 平成 17 年 9 月 旭川

- マルチプル候補遺伝子アプローチによる高血圧感受性遺伝子、感受性経路の探索~ミレニアム・ゲノム・プロジェクト 小原克彦・田原康玄・名倉潤・三木哲郎