

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17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 今井 潤

平成 18 (2006) 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. 分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入 (糖尿病発症遺伝子探索) -----	17
岡 芳知	
2. 分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入 (高血圧発症遺伝子探索) -----	25
荻原 俊男	
3. 分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入 (高血圧発症遺伝子探索) -----	28
檜垣 實男	
4. Urocortin 3の遺伝子多型と高血圧症に関する研究 -----	34
戸恒 和人	
5. 朝晩の家庭血圧測定値の臨床的有用性 -----	39
今井 潤	
6. 親の長寿と子の成人期における血圧 -----	49
今井 潤	
7. 一般地域住民におけるメタボリック症候群の頻度 -----	56
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 -----	66
松原 洋一	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	73
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	77

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

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) RGS2 (regulator of G protein signaling-2) 遺伝子・ウェルナー症候群 WRN 遺伝子の各多型が、それぞれ高血圧発症・糖尿病発症と関連していることを明らかにした。 2) β アドレナリン受容体の各種多型が、肥満に伴う血圧上昇や血圧日間変動に関連すること、Urocortin3 遺伝子多型が医療環境下に血圧上昇(白衣効果)と関連していることを示した。 3) 近年のライフスタイル変化によるインスリン需要増大のなかで膵 β 細胞小胞体ストレス反応関連遺伝子が糖尿病の重要候補遺伝子であることを示した。 4) Interleukin-10 遺伝子多型が長寿と関連している可能性を示した。 5) 詳細な家族歴・血圧情報に基づき、長寿である親の子の血圧レベルは低く、高血圧有病率も低いことを見出した。 6) 大迫女性住民におけるメタボリック症候群の頻度は 1%であるがインスリン抵抗性は 20%に存在することを見出した。 7) 24 時間血圧・家庭血圧を用い、危険因子表現型としての新規血圧パラメーターを同定した。 8) イムノクロマトグラフィ試験紙を用いて簡便に遺伝子型を判定し得る遺伝子診断法 CASSOH 法、および CASSOH 法のマルチプレックス化により複数の遺伝子型判定を可能とした CASSOH-ELISA 法を開発した。また、唾液からの簡易 DNA 調製を行う新技術を開発した。

今後、本研究成果に基づいて効果的な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・糖尿病の予防対策が可能とな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
医薬開発構想寄附講座・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、内川口・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)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 2446 名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 502 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、頚動脈超音波検査、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、2005 年 8 月末までに、2237 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 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・檜垣・戸恒)

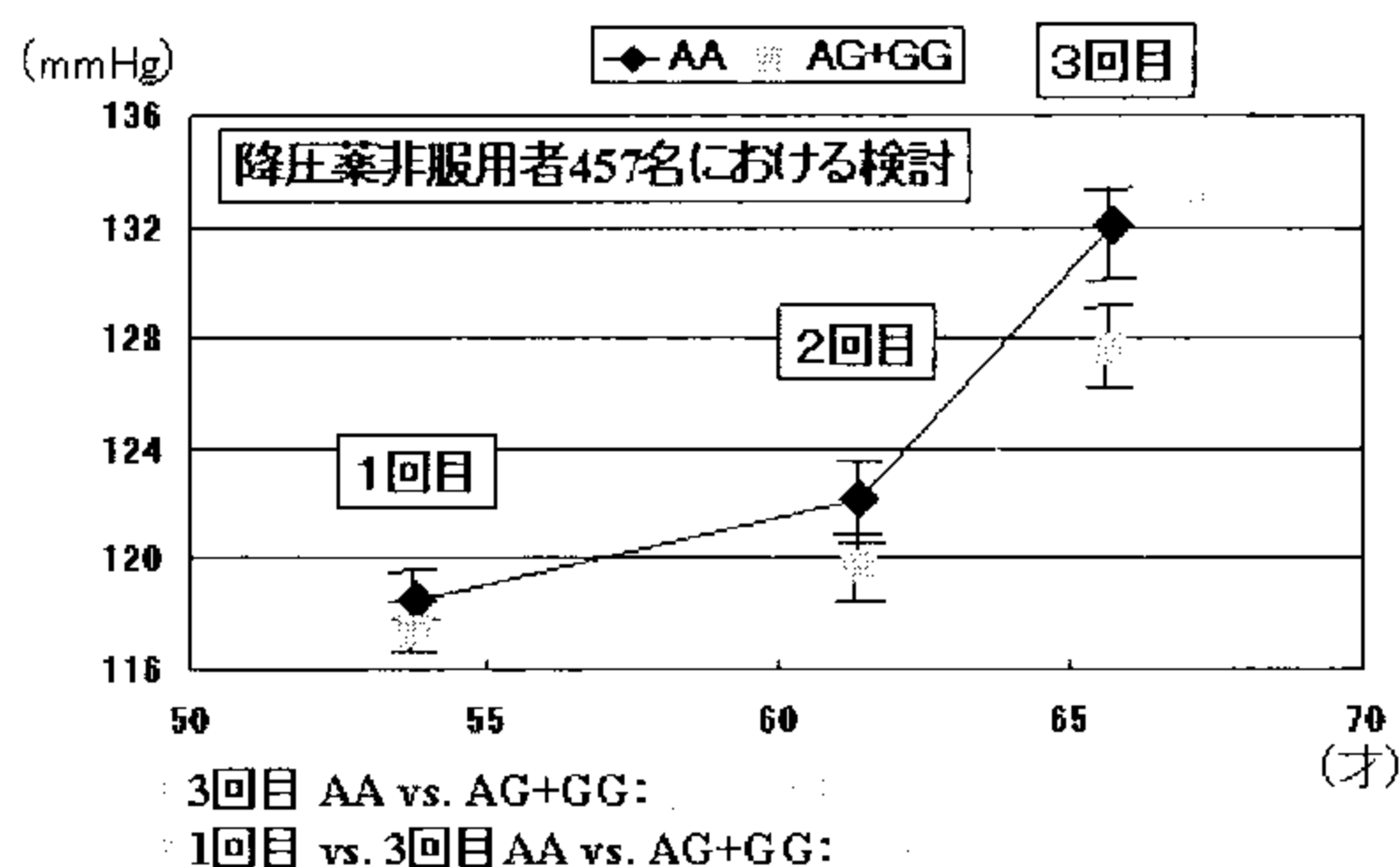
多因子疾患である本態性高血圧の感受性

遺伝子解析では、表現型である血圧測定の信頼性と年齢の影響が結果を大きく左右する。大迫研究では15年以上にわたる随時血圧、家庭血圧のデータ等が蓄積されており、加齢に伴う血圧の変化を高い信頼性で評価できる。

RGS2(Regulator of G protein signaling-2)はノックアウトマウスで50mmHgの血圧変化を示し高血圧感受性遺伝子の候補とされる。このうちの遺伝子A/G多型(rs#3767489)と平均12年の家庭血圧の変化との関連を検討したところ、AA保有者で有意な血圧上昇を認め、交絡因子(性、年齢、BMI)補正後も、12年間にわたる血圧上昇の平均にはAA:

13.5±1.14mmHg, AG+GG: 10.2±0.85mmHgと有意差(p=0.0143)が認められた。(図1)

図1 RGS2遺伝子多型別家庭血圧の変化

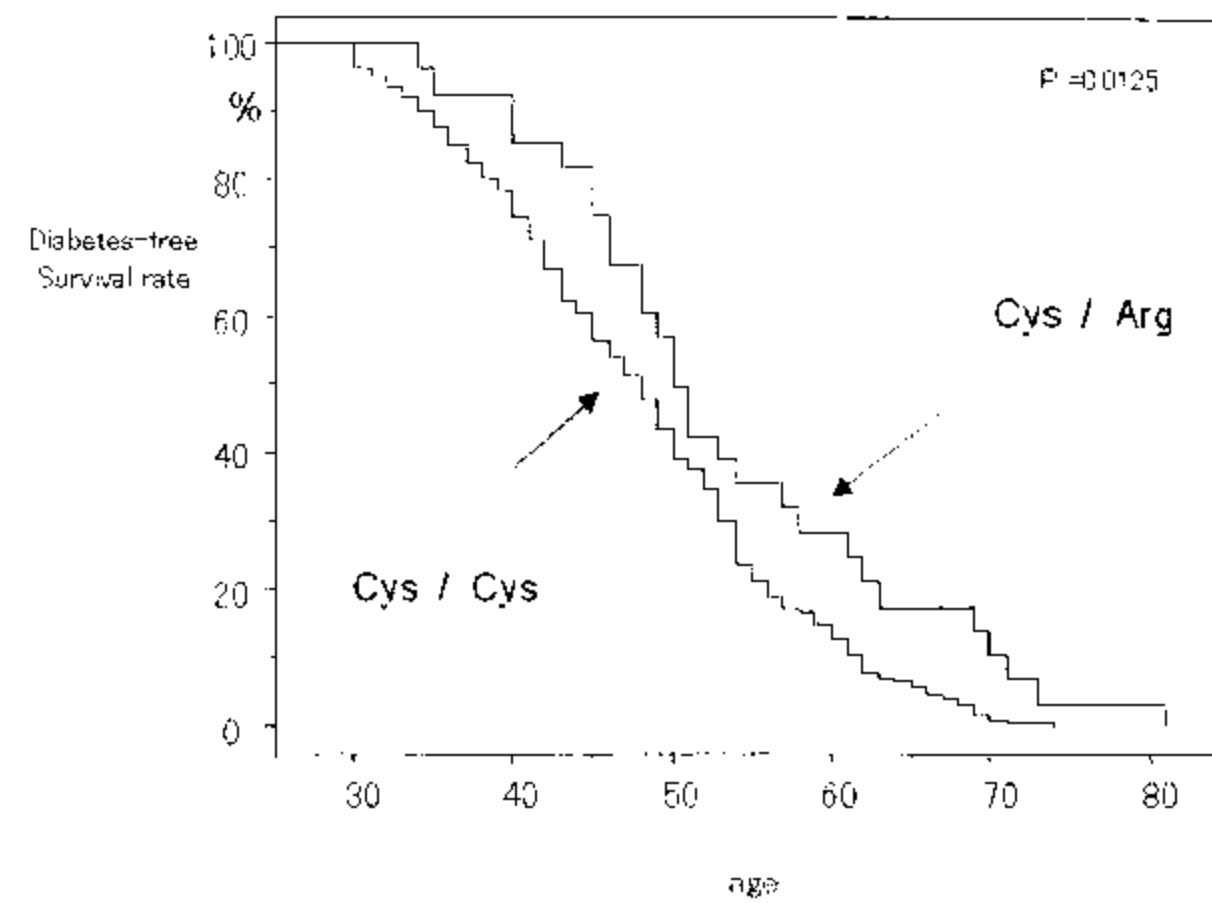


B1アドレナリン受容体遺伝子(ADRB1) Arg389Gly, Ser49Gly多型、B2アドレナリン受容体遺伝子(ADRB2)のArg16Gly, Gln27Glu多型、B3アドレナリン受容体遺伝子(ADRB3)のTrp64Arg多型と高血圧との関連を検討したところ、ADRB1/Arg389ホモ接合体は家庭血圧日間変動の増大と、ADRB1/Ser49アレルは家庭心拍数増加と有意な関連を示した。また、ADRB2/Gly16アレルは、体重増加を伴う血圧

上昇、インスリン抵抗性の増悪・脂肪蓄積・ノルエピネフリン増加、さらには減量後のリバウンドの大きさとも関連することが示された。また内蔵肥満との関連が指摘されるアディポネクチンの血中濃度減少に、喫煙も影響を及ぼすことが明らかになった。

コルチコトロピン放出因子(CRF)ファミリーに属する新規ペプチドでありストレス緩和作用を持つことが報告されている Urocortin III の

図 2



R91G 多型は白衣高血圧と関連しており、ストレス反応時における血圧値の変化に関連していることが示唆された。

抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 -592 C/A 多型の A アレル頻度は高齢者群で若年者に比べ有意に高く、寿命と関連している可能性が示唆された。

家庭血圧に基づいた正確な高血圧者情報、およびアンケート調査により得られた情報をもとに、親の長寿と血圧との関連について検討したところ、両親それぞれにおいて、長寿である親の子の血圧レベルは低く、高血圧有病率も低いことを見出した。またこの関連は家庭血圧を利用することで、より鋭敏に捉えられた。

② 糖尿病の遺伝・環境要因相互作用に関する研究(今井・岡・大久保)

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 2 に示すように Cys/Arg 群の Diabetes-free survival rate 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($p=0.0125$)。

近年のライフスタイル変化によるインスリン需要増大のなかで膵β細胞小胞体ストレス反応関連遺伝子は重要な候補であることを、ウオルフラム症候群原因遺伝子 WFS1 と小胞体ストレスについての検討を通じ明らかにした。

ウエスト周囲径 (男性 85cm 以上、女性 90cm 以上) を必須項目とするメタボリック症候群診断基準検討委員会による新しい診断基準を用いると、大迫女性住民におけるメタボリック症候群の頻度は 1% であるが HOMA-R1.73 以上のインスリン抵抗性は 20% に存在することを見出した。

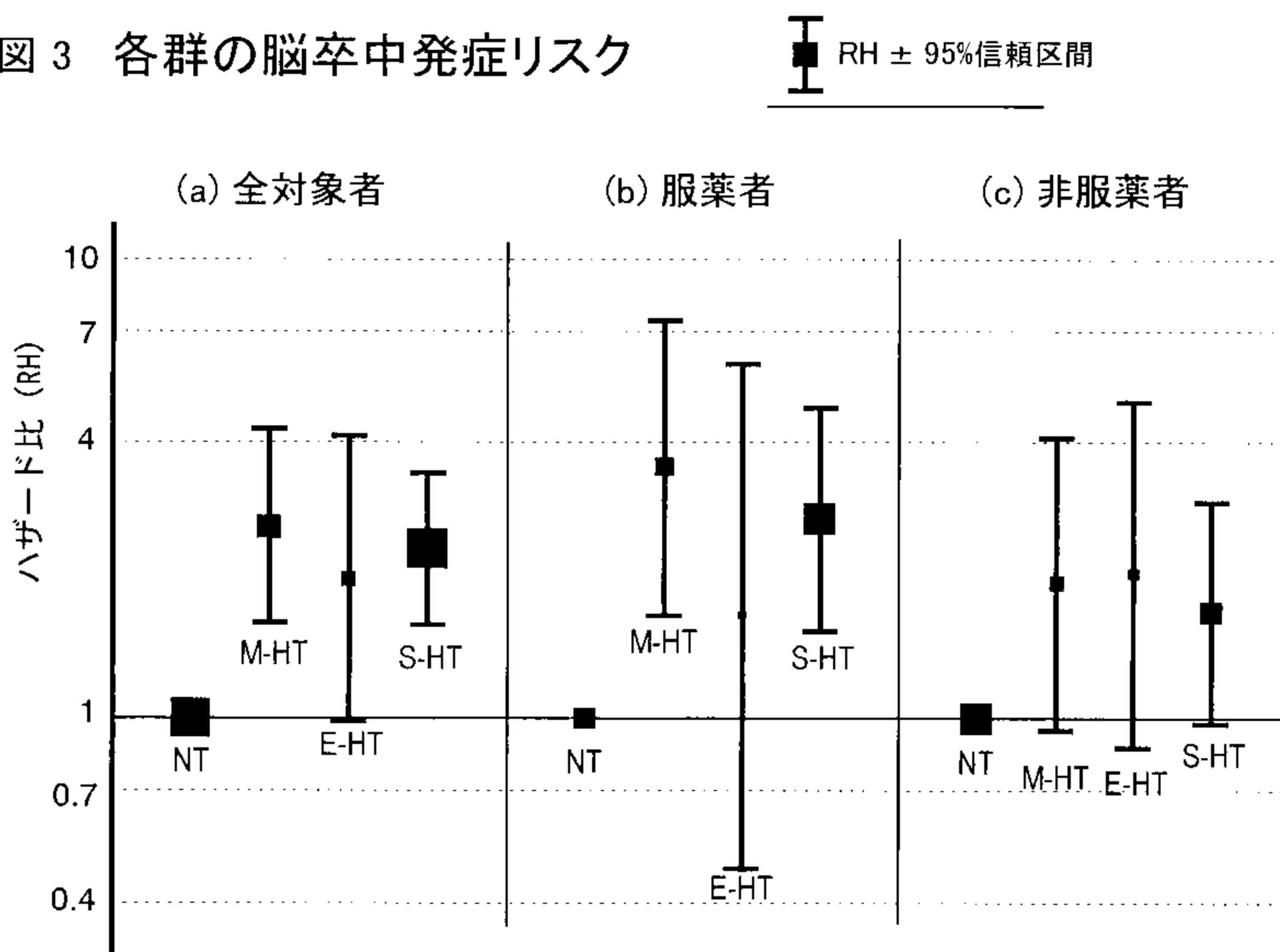
③ 血圧の新規表現型に関する研究(今井・大久保・戸恒)

朝・起床時の家庭血圧測定値と、晩・就寝前の血圧値は異なる場合が多いが、朝・晩それぞれの家庭血圧値の臨床的意義は明らかではなかった。そこで朝の家庭血圧、晩の家庭血圧それぞれの脳卒中予後予測能を比較分析したところ、朝の家庭血圧のみで高血圧の症例は、朝・晩ともに家庭血圧で高血圧と判

定された症例と同程度に高い脳卒中リスクを有していた。一方、晩の家庭血圧のみの高血圧症例は、朝・晩ともに正常血圧域の症例と

脳卒中リスクに有意差がなかった。この傾向は服薬群で一層顕著であり、早朝血圧値の重要性が示唆された。(図 3)

図 3 各群の脳卒中発症リスク



註: 性、年齢、心疾患の既往、糖尿病、高脂血症、喫煙習慣で補正した。

④ 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4)。本年度は、この手法をさらに発展させ、複数の遺伝子多型や複数の検体を同時処理するCASSO-ELISA法を開発した。また、血液ではなく唾液を用いた非侵襲的な遺伝子診断法を確立した。これらの手法は、遺伝子型に基

づく予防医療への展開を容易にするものと考えられる。

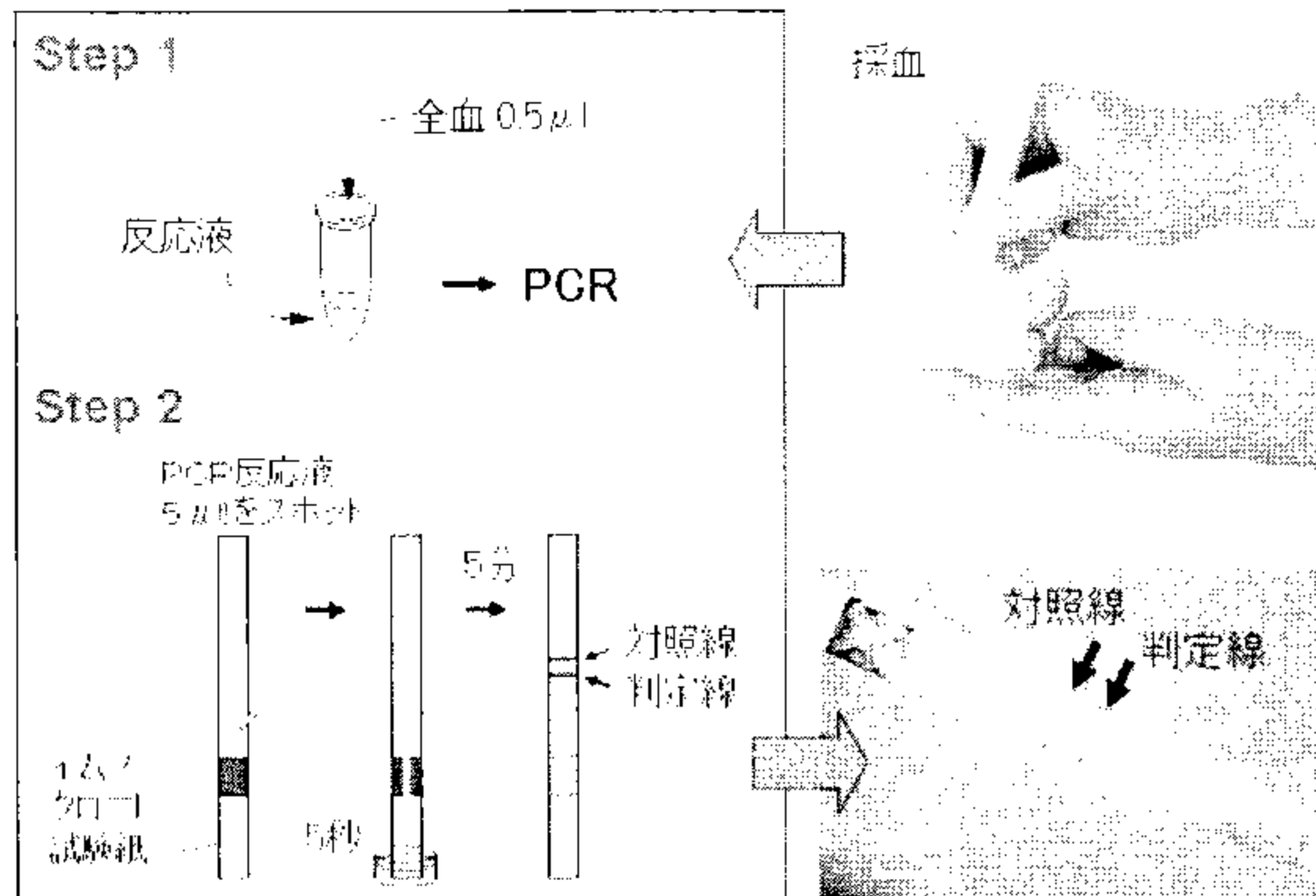
D. 考察

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。

特に、家庭血圧の経時的変化を指標にした感受性遺伝子解析は、テーラーメイド医療実施のための有用な手法と考えられる。

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

図 4



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・予防方法の実立、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] 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.* 69: 287-92, 2005
- [2] 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
- [3] 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
- [4] Iwasaki N, Horikawa Y, Tsuchiya T, Kitamura Y, Takahiro Nakamura, Tanizawa Y, Oka Y, Hara K, Kadowaki T, Awata T, Honda M, Yamashita K, Oda N, Li Y, Yamada N, Ogata M, Kamatani N, Iwamoto Y, del Bosque-Plata L, Hayes MG, Cox NJ, Bell GI. Genetic variants in the calpain-10 gene and the development of type 2 diabetes in the Japanese population. *J Hum Genet.* 50, 92 -98, 2005
- [5] Ueda K, Kawano J, Takeda K, Yujiri T, Tanabe K, Anno T, Akiyama M, Nozaki J, Yoshinaga T, Koizumi A, Shinoda K, Oka Y, Tanizawa Y. Endoplasmic reticulum stress induces *Wfs1* gene expression in pancreatic β -cells via transcriptional activation. *Eur J Endocrinol.* 153: 167-176, 2005
- [6] Satoh J, Takahashi K, Takizawa Y, Ishihara H, Hirai M, Katagiri H, Hinokio Y, Suzuki S, Tsuji I, Oka Y. Secondary sulfonylurea failure: Comparison of period until insulin treatment between diabetic patients treated with gliclazide and glibenclamide. *Diabetes Res Clin Pract.* 70: 291-7, 2005
- [7] Marthinet E, Bloc A, Oka Y, Tanizawa Y, Wehrle-Haller B, Bancila V, Dubuis JM, Philippe J, Schwitzgebel VM. Severe Congenital Hyperinsulinism due to a Mutation in the Kir6.2 Subunit of the KATP Channel Impairing Trafficking and Function. *J Clin Endocrinol Metab.* 90: 5401-5406, 2005
- [8] Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, Tuck ML. Beta2- and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation.* 2005;111(25):3429-3434.
- [9] Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, Tuck ML. Beta2-adrenoceptor polymorphisms relate to insulin resistance and sympathetic overactivity as early markers of metabolic disease in nonobese, normotensive individuals. *Am J Hypertens.* 2005;18(7): 1009-1014.
- [10] Masuo K, Katsuya T, Kawaguchi H, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, Tuck ML. Rebound weight gain as associated with high plasma norepinephrine levels that are mediated through polymorphisms in the beta2-adrenoceptor. *Am J Hypertens.* 2005;18(11):1508-1516.
- [11] Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Kida I, Ohishi M, Horio T, Ouchi N, Ohashi K, Kihara S, Funahashi T, Rakugi H, Ogihara T. Association of hypoadiponectinemia with smoking habit in men. *Hypertension.* 2005;45(6):1094-1100.
- [12] Kurata M, Okura T, Watanabe S, Higaki J. Association between carotid hemodynamics and asymptomatic white and gray matter lesions in patients with

essential hypertension. *Hypertension Research* 28: 797-803, 2005.

[13] Manabe S, Okura T, Watanabe S, Higaki J. Association between carotid haemodynamics and inflammation in patients in patients with essential hypertension. *Journal of Human Hypertension* 19: 787-791, 2005.

[14] Manabe S, Okura T, Watanabe S, Fukuoka T, Higaki J.

Effects of angiotensin receptor blockade with valsartan on pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 46: 735-739, 2005.

[15] Shigematsu Y, Hara Y, Ohtsuka T, Ogimoto A, Inoue K, Higaki J. Relation of genetic predisposition and insulin resistance to left ventricular hypertrophy in hypertension. *American Journal of Hypertension* 18: 457-463, 2005.

[16] Kurata A, Shigematsu Y, Higaki J. Sex-related differences in relations of uric acid to left ventricular hypertrophy and remodeling in Japanese hypertensive patients. *Hypertension Research* 28: 133-139, 2005.

[17] Morioka N, Shigematsu Y, Hamada M, Higaki J. Circulating levels of heart-type fatty acid-binding protein and its relation to thallium-201 perfusion defects in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *American Journal of Cardiology* 95: 1334-1337, 2005.

[18] Ohtsuka T, Inoue K, Hara Y, Morioka N, Ohshima K, Suzuki J, Ogimoto A, Shigematsu Y, Higaki J. Serum markers of angiogenesis and myocardial ultrasonic tissue characterization in patients with

dilated cardiomyopathy. *The European Journal of Heart Failure* 7: 689-695, 2005.

[19] Ogimoto A, Shigematsu Y, Nakura J, Hara Y, Ohtsuka T, Kohara K, Hamada M, Miki T, Higaki J. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) in patients with coexistent hypertrophic cardiomyopathy and coronary spastic angina. *Journal of Molecular Medicine* 83: 619-625, 2005.

[20] Takahashi K, Totsune K, Saruta M, Fukuda T, Suzuki T, Hirose T, et al. Expression of urocortin3/stresscopin in human adrenal glands and adrenal tumors. *Peptide* 2006; 27: 178-82.

[21] Ohkubo T, Asayama K, Imai Y. The value of self-measured home blood pressure in predicting stroke. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2006; 6:163-173.

[22] Metoki H, Ohkubo T, Kikuya M, Asayama K, Obara T, Hoshi H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Imai Y. Prognostic significance for stroke of a morning pressor surge and a nocturnal blood pressure decline: the Ohasama Study. *Hypertension*, 2006; 47:149-154.

[23] Hashimoto J, Watabe D, Hatanaka R, Hanasawa T, Metoki H, Asayama K, Ohkubo T, Totsune K, Imai Y. Enhanced radial late systolic pressure augmentation in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *American Journal of Hypertension*, 2006; 19: 27-32.

[24] Ohkubo T, Kikuya M, Metoki H, Asayama K, Obara T, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Satoh H, Imai Y. Prognosis of "masked hypertension" and "white-coat hypertension" detected by 24-Hour ambulatory blood pressure monitoring: 10-year follow-up from the Ohasama study.

- Journal of the American College of Cardiology, 2005;46:508-515.
- [25] Kikuya M, Ohkubo T, Asayama K, Metoki H, Obara T, Saito S, Hashimoto J, Totsune K, Hoshi H, Satoh H, Imai Y. Ambulatory blood pressure and 10-year risk of cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Ohasama study. *Hypertension*, 2005;45:240-245.
- [26] Verdecchia P, Reboldi G P, Angeli F, Schillaci G, Schwartz J E, Pickering T G, Imai Y, Ohkubo T, Kario K. Short- and long- term incidence of stroke in white-coat hypertension. *Hypertension*. 2005;45:203-208.
- [27] Hashimoto J, Watabe D, Kimura A, Takahashi H, Ohkubo T, Totsune K, Imai Y. Determinants of the second derivative of the finger photoplethysmogram and brachial-ankle pulse wave velocity: the Ohasama study. *American Journal of Hypertension*, 2005;18:477-485.
- [28] Ugajin T, Hozawa A, Ohkubo T, Asayama K, Kikuya M, Obara T, Metoki H, Hoshi H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Tsuji I, Imai Y. White-Coat hypertension as a risk factor for development of home hypertension: the Ohasama study. *Archives of Internal Medicine*, 2005;165:1541-1546.
- [29] Asayama K, Ohkubo T, Kikuya M, Metoki H, Obara T, Hoshi H, Hashimoto J, Totsune K, Satoh H, Imai Y. Use of 2003 European Society of Hypertension - European Society of Cardiology guidelines for predicting stroke using self-measured blood pressure at home: the Ohasama study. *European Heart Journal*, 2005;26:2026-2031.
- [30] Yamaguchi J, Hozawa A, Ohkubo T, Kikuya M, Ugajin T, Ohmori K, Hashimoto J, Hoshi H, Satoh H, Tsuji I, Imai Y. Factors affecting home-measured resting heart rate in the general population: The Ohasama Study. *American Journal of Hypertension*, 2005;18:1218-1225.
- [31] Aoki Y, Niihori T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Tanaka Y, Filocamo M, Kato K, Suzuki Y, Kure S, Matsubara Y.: Germline mutations in HRAS proto-oncogene cause Costello syndrome. *Nat Genet* 37:1038-40, 2005.
- [32] Flusser H, Korman SH, Sato K, Matsubara Y, Galil A, Kure S: Mild glycine encephalopathy (NKH) in a large kindred due to a silent exonic GLDC splice mutation. *Neurology* 64:1426-30, 2005
- [33] Niihori T, Aoki Y, Ohashi H, Kurosawa K, Kondoh T, Ishikiriyama S, Kawame H, Kamasaki H, Yamanaka T, Takada F, Nishio K, Sakurai M, Tamai H, Nagashima T, Suzuki Y, Kure S, Fujii K, Imaizumi M, Matsubara Y: Functional analysis of PTPN11/SHP-2 mutants identified in Noonan syndrome and childhood leukemia. *J Hum Genet* 50:192-202, 2005
- [34] Otomo J, Kure S, Shiba T, Karibe A, Shinozaki T, Yagi T, Naganuma H, Tezuka F, Miura M, Ito M, Watanabe J, Matsubara Y, Shirato K: Electrophysiological and histopathological characteristics of progressive atrioventricular block accompanied by familial dilated cardiomyopathy caused by a novel mutation of lamin A/C gene. *J Cardiovasc Electrophysiol* 16:137-45, 2005
- [35] Boneh A, Korman SH, Sato K, Kanno J, Matsubara Y, Lerer I, Ben-Neriah Z, Kure S: 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* 50:230-4, 2005
- [36] Dinopoulos A, Matsubara Y, Kure S: Atypical variants of nonketotic hyperglycinemia. *Mol Gene Metab* 86:61-69, 2005
- [37] Salvi F, Aoki Y, Della Nave R, Vella A, Pastorelli F, Scaglione C, Matsubara Y, Mascalchi M: Adult Alexander's disease without leukoencephalopathy. *Ann Neurol* 58:813-814, 2005
- [38] Suzuki Y, Yang X, Aoki Y, Kure S, Matsubara Y: Mutations in the holocarboxylase synthetase gene HLCS. *Hum Mutat* 26:285-290, 2005
- [39] Gripp KW, Lin AE, Stabley DL, Nicholson L, Scott Jr. CI, Doyle D, Aoki Y, Matsubara Y, Zackai EH, Lapunzina P, Gonzalez-Meneses A, Holbrook J, Agresta CA, Gonzalez IL, Sol-Church K: HRAS mutation analysis in Costello syndrome: Genotype and phenotype correlation. *Am J Med Genet* 140 A:1-7, 2006
- [40] Niihori T, Aoki Y, Narumi Y, Neri G, Cave H, Verloes A, Okamoto N, Hennekam RC, Gillessen-Kaesbach G, Wiczorek D, Kavamura MI, Kurosawa K, Ohashi H, Wilson L, Heron D, Bonneau D, Corona G, Kaname T, Naritomi K, Baumann C, Matsumoto N, Kato K, Kure S, Matsubara Y. Germline KRAS and BRAF mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Nat Genet* 38:294-6, 2006.
- [41] Sato K, Kanno J, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S: De novo and salvage pathways of DNA synthesis in primary cultured neural stem cells. *Brain Res* (in press)
- [42] Kure S, Kato K, Dinopoulos A, Gail C, deGrauw TJ, Christodoulou J, Bzduch V, Kalmancey R, Fekete G, Trojovský A, Plecko B, Breningstall G, Tohyama J, Aoki Y, Matsubara Y: Comprehensive mutation analysis of GLDC, AMT, and GCSH in nonketotic hyperglycinemia. *Hum Mutat* (in press)
- [43] Dinopoulos A, Kure S, Chuck G, Sato K, Gilbert DL, Matsubara Y, Degrauw T. Glycine decarboxylase mutations: A distinctive phenotype of nonketotic hyperglycinemia in adults. *Neurology*. 64:1255-7, 2005.
- [44] Masuo K, Katsuya T, Kawaguchi H, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, Tuck ML. Rebound weight gain as associated with high plasma norepinephrine levels that are mediated through polymorphisms in the beta2-adrenoceptor. *Am J Hypertens*. 18:1508-16, 2005.
- [45] Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Kida I, Ohishi M, Horio T, Ouchi N, Ohashi K, Kihara S, Funahashi T, Rakugi H, Ogihara T. Association of hypoadiponectinemia with smoking habit in men. *Hypertension*. 45:1094-100, 2005.

2.学会発表

[1] The 65rd scientific sessions of American Diabetes Associations. 6.10-6.14, 2005, San Diego, USA

(1) Poster Presentation : A Role of eNOS in Pancreatic β Cell Regeneration After Bone Marrow Transplantation in Streptozotocin-induced Diabetic Mice.

Hasegawa Y, Katagiri H, Ogihara T, Ishigaki Y, Yamada T, Imai J, Uno K, Gao Junhong, Oka Y

(2) Poster Presentation : Depression-associated factors in Japanese subjects with diabetes.

Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, Awata S, Yamashita M, Ohara A, Hinokio Y, Sora I, Matsuoka H, Oka Y

(3) Poster Presentation : Hepatic PPAR γ expression induced redistribution of fat storage and improved insulin resistance in obese mice.

Uno K, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Imai J, Hasegawa Y, Oka Y

(4) Poster Presentation: Dissociation of 5-HT_{2C} receptor signaling and central melanocortin pathways in the regulation of appetite

Nonogaki K, Oka Y

(5) Poster Presentation: Modulation of Hypothalamic Leptin Resistance by Signals from Intra-Abdominal Fat Tissue.

Yamada T., Katagiri H., Ishigaki Y., Oka Y.

[2] 第48回日本糖尿病学会年次学術集会
2005年5月12日-14日, 神戸市

(1) heme oxygenase 遺伝子プロモーター多型と2型糖尿病の臨床像との関連

檜尾 好徳、鈴木 進、鈴木千登世、沖本久志、善積 信介、山田 高弘、平井 完史、石垣 泰、石原 寿光、高橋 和眞、荻原 健英、片桐 秀樹、岡 芳知

(2) NOD マウスにユニークな CD204 陽性樹状細胞のフェノタイプと機能に関する研究

高橋 和眞、佐藤 譲、石垣 泰、平井 完史、石原 寿光、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知

(3) WFS1 欠損膵 β 細胞における小胞体ストレス下の代謝分泌関連

石原 寿光、田村 明、高橋 累、山田 高弘、山口 賢、鴫田 藍、武井 大祐、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、宮崎 純一、岡 芳知

(4) WFS1欠損膵島における小胞体ストレス応答の検討

山田 高弘、石原 寿光、鴫田 藍、山口

賢、高橋 累、田村 明、武井 大祐、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知

(5) WFS1 欠損マウスにおける小胞体ストレス応答ならびに β 細胞脱落への遺伝的背景の関与

高橋 累、石原 寿光、田村 明、山田 高弘、山口 賢、鴫田 藍、武井 大祐、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知

(6) WFS1 蛋白による細胞内カルシウム動態制御機構の解析

武井 大祐、石原 寿光、田村 明、高橋 累、山田 高弘、山口 賢、鴫田 藍、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知

(7) 肝臓のエネルギー消費亢進が脂肪組織・筋肉・視床下部に及ぼす影響

石垣 泰、片桐 秀樹、山田 哲也、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、岡 芳知

(8) 肝における PPAR γ 過剰発現は脂肪肝の増悪をきたすが耐糖能を改善する

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、岡 芳知

(9) 肝へのガングリオシド特異的シアリダーゼ NEU3 遺伝子導入によるインスリン感受性と耐糖能改善の分子機序

善積 信介、鈴木 進、鈴木千登世、山田 高弘、沖本 久志、平井 完史、檜尾 好徳、荻原 健英、片桐 秀樹、山口 壹範、宮城 妙子、岡 芳知

(10) 急性の高インスリン血症は血中アディポネクチン濃度を低下させる

平井 完史、石垣 泰、野々垣勝則、檜尾 好徳、山田 高弘、善積 信介、沖本 久志、高橋 和眞、石原 寿光、荻原 健英、片桐 秀樹、鈴木 進、岡 芳知

(11) 血中グレリン濃度と脳内メラノコルチン

系による食欲調節機構

野々垣勝則、岡 芳知

(12) 骨髄移植に伴う STZ 膵 β 細胞障害後の再生における eNOS の役割

荻原 健英、片桐 秀樹、長谷川 豊、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、岡 芳知

(13) 骨髄移植による WFS1 遺伝子欠損マウスにおける慢性 β 細胞障害の改善

長谷川 豊、片桐 秀樹、荻原 健英、石原 寿光、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、岡 芳知

(14) 新規動脈硬化診断法(血管壁弾性特性測定)の糖尿病患者での有用性

沖本 久志、石垣 泰、小岩 喜郎、長谷川 英之、金井 浩、荻原 尚、反中 由直、檜尾 好徳、平井 完史、山田 高弘、善積 信介、田村 明、山田 哲也、石原 寿光、高橋 和真、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知

(15) 腹腔内脂肪組織による視床下部レプチン感受性調節

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、岡 芳知

(16) マウス肝への活性型 PDX1 遺伝子導入によるインスリン欠乏糖尿病の治療

今井 淳太、片桐 秀樹、荻原 健英、石垣 泰、山田 哲也、宇野 健司、長谷川 豊、高 俊弘、檜尾 好徳、鈴木 進、岡 芳知

(17) マウス肝臓への活性型 PDX1 遺伝子導入の効果

今井 淳太、片桐 秀樹、長谷川 豊、宇野 健司、山田 哲也、石垣 泰、鈴木 進、荻原 健英、岡 芳知

(18) ミニマルモデル検査によるインスリン感受性 SI 腸腰筋 CT 値との関連の検討

鈴木 慎二、赤井 裕輝、福澤 正光、平井 敏、早坂 恭子、永富 良一、岡 芳知

(19) 余剰脂肪蓄積が糖代謝に及ぼす影響
高 俊弘、片桐 秀樹、石垣 泰、山田 哲也、荻原 健英、今井 淳太、宇野 健司、長谷川 豊、檜尾 好徳、鈴木 進、岡 芳知

[3] 41st Annual Meeting of the European Association for the study of Diabetes. 9.11-15, 2006, Athens, Greece.

(1) Type 2 arginase gene promoter microsatellite polymorphism influences development of type 1 diabetes mellitus in Japanese.

Takahashi K, Maruyama T, Shimada A, Kinouchi Y, Suzuki S, Shimosegawa T, Satoh J, Oka Y

(2) Increased Hepatic Levels of plasma membrane-associated sialidase, NEU3, Induce insulin sensitivity and glucose tolerance.

Suzuki S, Yoshizumi S, Hirai M, Hinokio M, Yamada T, Yamaguchi K, Miyagi T, Oka Y.

[4] Keystone Symposia: Diabetes Mellitus and the Control of Cellular Energy Metabolism. 1.21-1.26, 2006, Vancouver, British Columbia, Canada

(1) Role of eNOS in Beta Cell Regeneration after Bone Marrow Transplantation in STZ-Diabetic Mouse Models (Oral presentation)

Ogihara T, Katagiri H, Hasegawa Y, Oka Y.

[5] 15th European Meeting of Hypertension, Katsuya T, Fu Y, Ohkubo T, Sugimoto K, Kikuya M, Metoki H, Totsune K, Rakugi H, Imai Y, Ogihara T. Beta 1 adrenoceptor gene polymorphism increase the risk for hypertension in hypertensive patients, 2005.6.19 Milan, Italy.

[6] 59th Annual Fall Conference and Sessions of the Council for High Blood

Pressure Research, Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakuugi H, Ogihara T, Tuck ML, 2005.9.23 Washington D.C. U.S.A.

[7] 第 28 回日本高血圧学会総会、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、樂木宏実、三木哲郎、今井潤、荻原俊男、RGS2 遺伝子多型と 12 年間の家庭血圧変化の関連：大迫研究, 2005.9.17, 旭川

[8] Kurata M et al. Carotid hemodynamics and white matter lesions in patients with essential hypertension. American Society of Hypertension 20 th Annual Meeting and Scientific Exposition, May 14-18, 2005, San Francisco, USA. (American Journal of Hypertension 18: 167A, 2005)

[9] Manabe S, et al. Angiotensin II receptor antagonist improves renal function by the reduction of renal peripheral artery resistance. American Society of Hypertension 20 the Annual Meeting and Scientific Exposition, May 14-18, 2005, San Francisco, USA. (American Journal of Hypertension 18: 131A, 2005).

[10] Watanabe S, et al. Improvement of insulin resistance and microalbuminuria in patients with essential hypertension by the angiotensin II receptor blocker. Fifteenth European Meeting on Hypertension, June 17-21, 2005, Milano, Italy. (Journal of Hypertension 23: S106, 2005).

[11] Kurata M, et al. The relation between plasma osteopontin levels and target organ damages in patients with essential hypertension. American Heart Association Scientific Session 2005. November 13-16, 2005, Dallas, Texas, USA. (Circulation 112: Suppl II -607, 2005)

[12] Ogimoto A, et al. Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric

oxide synthase gene and cardiovascular events in patients with hypertrophic cardiomyopathy. American Heart Association Scientific Session 2005. November 13-16, 2005, Dallas, Texas, USA. (Circulation 112: Suppl II -410, 2005)

[13] Urocortin III (Ucn III)の遺伝子多型と高血圧症と関連の検討. 前嶋 隆弘, 戸恒和人, 広瀬 卓男, 今井潤 他. 第 28 回日本高血圧学会総会(2005 年 9 月 16 日:旭川)

[14] Urocortin III polymorphism is associated with blood pressure. K Totsune, T Maejima, T Hirose, Y Imai, et al. ASN 38th Annual Renal Week Meeting (Nov. 8-13, 2005 in Philadelphia)

[15] 第 28 回日本高血圧学会総会 2005 年 9 月 15 日-17 日, 旭川市

(1) 朝晩の家庭血圧測定値の臨床的有用性～脳卒中発症予測能の観点から～:大迫研究

浅山 敬、大久保 孝義、小原 拓、菊谷昌浩、目時 弘仁、井上 隆輔、星 晴久、橋本 潤一郎、戸恒 和人、佐藤 洋、今井潤

(2) 24 時間自由行動下血圧測定から得られる 4 つの血圧因子(収縮血圧、拡張期血圧、平均血圧および脈圧)の脳卒中発症予測能

井上 隆輔、大久保 孝義、菊谷 昌浩、浅山 敬、目時 弘仁、小原 拓、橋本 潤一郎、戸恒 和人、星 晴久、今井 潤

(3) 白衣高血圧・仮面高血圧の頸動脈病変:大迫研究

原 梓、大久保 孝義、菊谷 昌浩、小原拓、目時 弘仁、井上 隆輔、浅山 敬、橋本 潤一郎、戸恒 和人、星 晴久、佐藤洋、今井 潤

(4) 異なる病型の脳卒中発症に対する 1 日の各時間帯における血圧のリスクの比較検

討-大迫研究

目時 弘仁、大久保 孝義、菊谷 昌浩、浅山 敬、小原 拓、橋本 潤一郎、戸恒 和人、星 晴久、佐藤 洋、今井 潤

(5) 自由行動下血圧測定による血圧短期変動および心拍短期変動の脳卒中予後予測能-大迫研究

菊谷 昌浩、大久保 孝義、浅山 敬、目時 弘仁、井上 隆輔、小原 拓、橋本 潤一郎、戸恒 和人、星 晴久、佐藤 洋、今井 潤

(6) 家庭血圧による夜間血圧、夜間血圧降下度の評価 -大迫研究-

細畑 圭子、菊谷 昌浩、大久保 孝義、浅山 敬、目時 弘仁、小原 拓、井上 隆輔、星 晴久、橋本 潤一郎、戸恒 和人、佐藤 洋、今井 潤

[16] European Society of Cardiology (ESC) Congress. Sep, 2005, Stockholm, Sweden.

(1) Prognostic significance of night-time and daytime blood pressures for stroke incidence: The Ohasama Study.

H Metoki, T Ohkubo, M Kikuya, K Asayama, T Obara, J Hashimoto, K Totsune, Y Imai.

[17] 4th Asian-Pacific Congress of Hypertension. Jun, 1-4, 2005, Seoul, Korea.

(1) Predictive value of circadian blood pressure variation for cerebro and cardiovascular mortality and morbidity : The Ohasama Study

H Metoki, T Ohkubo, M Kikuya, K Asayama, T Obara, J Hashimoto, K Totsune, H Hoshi, H Satoh, Y Imai.

[18] Fifteenth European Meeting on Hypertension. Jun, 2005, Milan, Italy.

(1) Prediction of stroke by self-measured blood pressure at home in the morning versus in the evening: the Ohasama study

K Asayama, T Ohkubo, M Kikuya, H Metoki, T Obara, H Hoshi, J Hashimoto, K

Totsune, H Satoh, Y Imai.

(2) Prediction of stroke by four blood pressure indexes determined by 24-hour ambulatory blood pressure monitoring in a general population: The Ohasama Study.

R Inoue, T Ohkubo, M Kikuya, H Metoki, K Asayama, T Obara, H Hoshi, J Hashimoto, K Totsune, H Satoh, Y Kondo, Y Imai.

(3) Prognostic significance of night-time, early morning and daytime blood pressures on the risks of cerebro and cardiovascular mortality.

H Metoki, T Ohkubo, M Kikuya, K Asayama, T Obara, J Hashimoto, K Totsune, H Hoshi, H Satoh, Y Imai.

[19] Twentieth Annual Scientific Meeting American Society of Hypertension. May, 2005, San Francisco, America.

(1) Prognostic significance of day-by-day variability of self-measured blood pressure at home : The Ohasama Study.

M Kikuya, T Ohkubo, K Asayama, H Metoki, T Obara, J Hashimoto, K Totsune, H Satoh, Y Imai.

(2) Prognostic significance of nocturnal dipping for stroke and heart disease mortality risk : The Ohasama Study.

H Metoki, T Ohkubo, M Kikuya, K Asayama, T Obara, J Hashimoto, K Totsune, H Hoshi, H Satoh, Y Imai.

[20] 呉 繁夫、松原洋一ほか:13C グリシン呼気試験による高グリシン血症の新しい診断法の開発 第48回日本先天代謝異常学会(平成17年11月16日、熊本)

[21] 新堀哲也、松原洋一ほか:ヌーナン症候群の酵素活性測定による診断法の開発 日本人類遺伝学会第50回大会(平成17年9月20日、倉敷)

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

分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入(糖尿病発症遺伝子探索)

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

2型糖尿病の進行性はagingと密接にかかわる可能性がある。そこで、加齢と関連するウェルナー症候群遺伝子(WRN 遺伝子)に着目して患者解析を進め、WRN 遺伝子1367Cys/Arg 多型が日本人2型糖尿病発症と関わることを明らかにして論文発表した。また、2型糖尿病の発症関連遺伝子をさらに進めるため、近年のライフスタイル変化によるインスリン需要増大のなかで発症が増加していることに着目して、膵β細胞への負荷による小胞体ストレスが2型糖尿病発症と関わりを考え、この機構のなかから2型糖尿病発症関連遺伝子を探索した。

A. 研究目的

2型糖尿病は進行性疾患であることに着目した。2型糖尿病は、発症初期は食事・運動療法だけで血糖コントロールが可能であるが、次には経口糖尿病薬が必要となり、次第に強力なものに切り替えざるを得ず、最終的には、インスリン注射が必要となることも多い。

1)このような経過を考えると、糖尿病発症は加齢による病態と関わる可能性が浮かび上がってくる。そこで、加齢現象と関わりと考えられている遺伝子を糖尿病発症関連遺伝子として解析する。

2)また、このような2型糖尿病の進行性は膵β細胞機能の進行性低下のためであることが知られているが、その実態は膵β細胞量の減少であるとの説が有力になりつつある。したがって、膵β細胞の維持・再生に関わる遺伝子は2型糖尿病発症関連遺伝子の有力な候補と考えられ、これを切り口とする。

B. 研究方法

(1)候補遺伝子アプローチ

我々が収集した2型糖尿病患者と、正常対照者として60歳以上で糖尿病を発症しておら

ず、2親等内に糖尿病患者がいない者(いわばスーパーノーマル者)の間で、候補遺伝子について解析する。すなわち、case-control studyを行う。さらに、遺伝子変異(多型)と糖尿病の臨床像との関連を検討する。また、糖負荷試験時に血中インスリンも同時に測定した耐糖能正常者ではインスリン分泌不全とインスリン抵抗性が評価できるので、この群でも遺伝子変異(多型)がインスリン分泌不全あるいはインスリン抵抗性と関連するかを検証する。これによって、case-control studyの結果を、さらに補強することができる。

(2)膵β細胞維持再生機構からみた候補遺伝子の探索

ウオルフラム症候群原因遺伝子 WFS1 の機能解析から明らかになる WFS1 関連遺伝子は糖尿病発症関連遺伝子の有力な候補と考えられる。そこで WFS1 欠損マウスを作成し、マウス個体の病態解析ならびに WFS1 蛋白の機能解析を進める。これによって、糖尿病発症機構についての新しい領域を開拓するとともに、新たな候補遺伝子を見出すことができる。