

C. 研究結果

1) WRN 遺伝子多型と2型糖尿病発症

ウェルナー症候群は早期老化症候群の代表的疾患である。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、本遺伝子と糖尿病など加齢に伴う疾患との関連が注目されている。今回、2型糖尿病患者における WRN 遺伝子変異および多型の頻度を健常者と比較検討した。

2型糖尿病症例および対照者では、遺伝子変異は認められなかったが、多型として Cys1367Arg 多型を同定した。Cys1367Arg 多

型は糖尿病患者、正常者間で頻度に差を認めなかった。しかし、1367Arg アレルを有するものが、60 歳未満の糖尿病患者 (6.4%) で耐糖能正常者 (15.2%) に比して有意に少ないこと ($P < 0.05$)、また糖尿病発見時年齢 45 歳未満の糖尿病患者で発見時 45 歳以上のものと比して有意に少ないことが明らかとなった ($P < 0.05$)。このことより、1367Arg アレルが加齢に伴う2型糖尿病発症に対して防御的に関与している可能性が示唆された。なお、これらの結果は論文発表した (論文発表1)。

ウェルナー症候群と 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。

ウェルナー症候群は高率に糖尿病、動脈硬化性疾患を合併し、WRN 遺伝子と糖尿病など一般の加齢に伴う疾患との関連が注目されており、最近本遺伝子1367番アミノ酸 Cys/Arg 変異と心筋梗塞との関連が報告された (Matsumoto T et al. Hum Genet 100: 123, 1997)

日本人2型糖尿病患者における WRN 遺伝子1367番アミノ酸変異と糖尿病との関連性を検討した。



Wild / Wild

Wild / Mutant

Mutant / Mutant

Clinical characteristics of all 272 diabetic subjects and their subgroups based on WRN1367 Cys/Arg genotypes.

	DM total	WRN1367 genotype in DM		p	
		Cys/Cys	Cys/Arg		
N(M/F)	272(124 / 148)	244(112 / 132)	28(12 / 16)	0.759*	
age (y)	64.5 ± 11.1	63.9 ± 11.1	69.1 ± 10.1	0.021*	
age at diagnosis (y)	48.6 ± 10.5	48.0 ± 10.2	53.3 ± 11.8	0.011*	
diabetes duration (y)	15.9 ± 9.9	15.9 ± 9.8	15.8 ± 11.5	0.934*	
BMI (kg/m ²)	23.5 ± 3.5	23.5 ± 3.4	23.6 ± 4.1	0.848*	
fasting plasma glucose (mg/dl)	135.3 ± 26.2	135.9 ± 26.8	130.5 ± 20.0	0.277*	
HbA1c (%)	6.78 ± 1.10	6.82 ± 1.11	6.45 ± 0.91	0.085*	
therapy	diet	47 (17.3%)	40 (16.4%)	7 (2.5%)	0.107*
	oral agent	85 (31.3%)	81 (33.2%)	4 (14.3%)	
	insulin	140 (51.5%)	123 (50.4%)	17 (60.7%)	

Data are means ± SD unless otherwise specified. P values were obtained by comparing the two genotype groups. *Chi square test, *Student t test. DM diabetes mellitus.

結果

WRN 遺伝子1367番アミノ酸 Cys/Arg 多型はこれまで心筋梗塞患者で頻度が低く、心筋梗塞に対して防御的に関与している可能性が報告されている。(Ye L et al American Journal of Medical Genetics 68: 494-498, 1997)

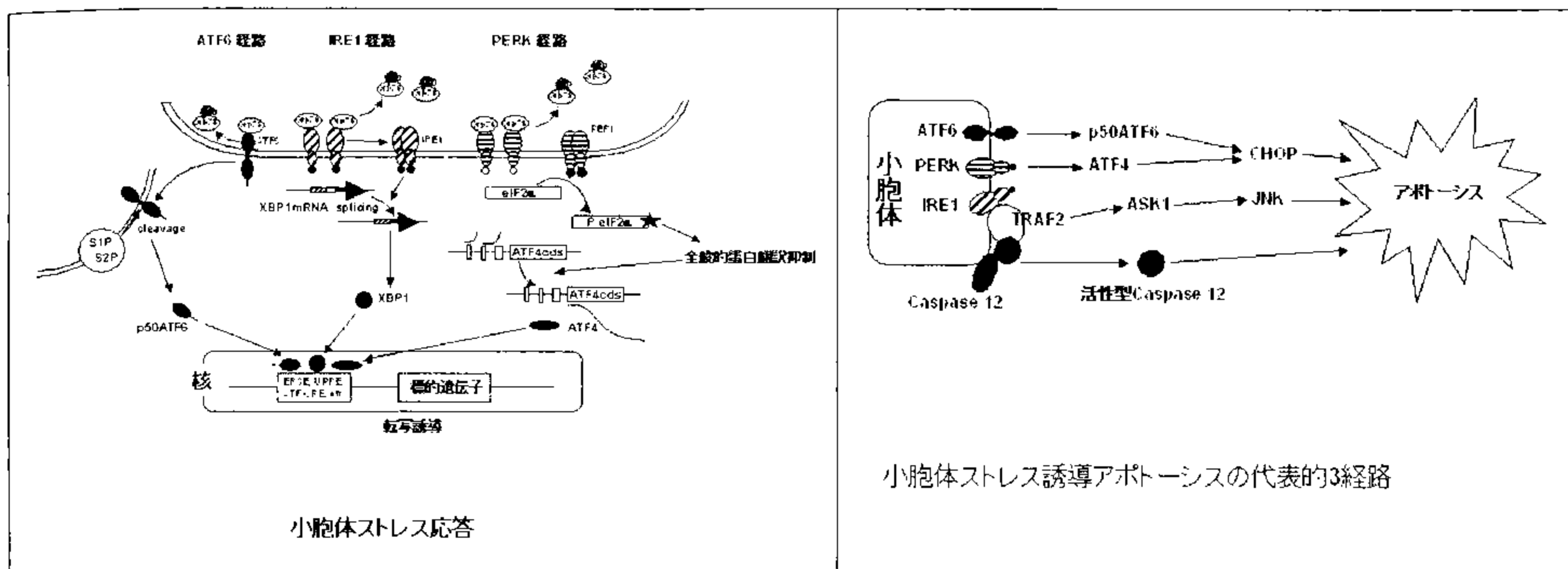
今回、2型糖尿病では1367Argアレルを有する者は有さない者に比して、有意に高い年齢で診断されていることが明らかとなったことより、1367Argアレルが加齢に伴う2型糖尿病発症に対して防御的に関与している可能性が示唆された。

(2) 膵β細胞維持再生機構からみた候補遺伝子

膵β細胞維持再生と小胞体ストレス反応

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細胞では小胞体ストレスが増加していると考えられるが、その際の

細胞の小胞体ストレス反応は **unfolded protein response (UPR)**とも呼ばれている。現在のところ考えられている **UPR** の全体像を図左に示した。小胞体ストレスが過大で十分対処できない場合の細胞側の反応のひとつがアポトーシスである(図下)。



ウオルフラム症候群原因遺伝子 **WFS1** と小胞体ストレス

WFS1 蛋白は、890 個のアミノ酸からなる小胞体の膜蛋白であり、アミノ酸配列から、9-10 個の膜貫通領域を持つことが推定されていた。我々は、**HA** エピトープをアミン末端あるいはカルボキシル末端に付加した **WFS1** 蛋白のトリプシン消化に対する感受性の違いから **WFS1** 蛋白は 9 回の膜貫通領域を持ち、アミノ末端が細胞質側に、カルボキシル末端が小胞体内腔に伸びていることを明らかにした。さらに、部位特異的変異導入により、マウスの **WFS1** 蛋白では663番目と748番目のアスパラギン酸残基が糖鎖修飾を受ける部位であることを見出した。これらの解析により、**WFS1** 蛋白は、小胞体の膜蛋白であり細胞質側に約 330 個、小胞体内腔に約 230 個のペプチドが伸びていることが予想され、これらの領域が他の蛋白との結合等を介して機能を発揮している可能性が示唆されている。

WFS1 蛋白が、小胞体に存在することが明らかになって以来、**WFS1** 蛋白と小胞体ストレス応答との関連に興味を持たれてきた。そこで、我々はマウス膵島を小胞体ストレス誘導物質であるタブシガルギンおよびヂチオスレイトールで処理した際の **WFS1** 蛋白の発現を検討し、**WFS1** 蛋白の発現が、小胞体ストレスにより増強することを明らかにした。このことは、**WFS1** が、小胞体ストレス応答のコンポーネントの 1 つであり、小胞体ストレスから細胞を守る働きを担う可能性を示唆している。

さらにウオルフラム症候群における糖尿病の成因を明らかにするために、**WFS1** 欠損マウスを作製した。129 系統の **WFS1** 欠損マウスを、5 世代にわたって **B6** マウスに交配し、129/**B6** 混合系統の **WFS1** 欠損マウスと共に随時血糖測定とブドウ糖負荷試験を行ったところ、129/**B6** 混合系統の **KO** マウスでは、60%以上のマウスで明らかな高血糖を認めた。**B6** 系統の **WFS1** 欠損マウスでは、糖負荷試験で有

意な血糖値の上昇と、インスリン分泌反応の低下を認めた。膵島所見としては、いずれのマウスの系統においても、膵β細胞数の進行性の減少が認められ、これがインスリン分泌低下の原因と考えられた。

ついで、WFS1 が、小胞体ストレス応答のコンポーネントの 1 つであり、小胞体ストレスから細胞を守る働きを担う可能性が示唆されていたので、B6 系統の WFS1 欠損単離膵島を用い小胞体ストレスによるアポトーシスの誘導を解析したところ、小胞体ストレス惹起物質であるタブシガルギンおよびツニカマイシンに対し、WFS1 欠損マウスの膵島ではアポトーシスによる DNA 断片化が亢進していた。しかし、小胞体ストレス経路とは異なる経路でアポトーシスを誘導する TNFα と IFNγ による DNA 断片化については、野生型マウス膵島と差を認めなかった。すなわち、WFS1 欠損膵島では小胞体ストレスに対する応答が脆弱になっていると考えられた。そこで、さらに我々は、WFS1 欠損膵島での小胞体ストレス応答の詳細を検討した。小胞体ストレス応答では、PERK のリン酸化を起点とする翻訳抑制、ATF6 の活性化や IRE1 による XBP1 の活性化に始まるシャペロン蛋白の発現誘導が惹起される。WFS1 欠損膵島では、PERK リン酸化の亢進、XBP1 mRNA のスプライシング増強による XBP1 蛋白発現の亢進、ATF6 の誘導によるシャペロン蛋白の発現増加が認められ、小胞体ストレス応答が亢進していることが観察された。また、小胞体ストレス応答の亢進に伴って CHOP の発現および caspase-3 の切断の亢進も認められ、アポトーシスシグナルが活性化されていることも明らかにした。さらに、興味深いことに、WFS1 欠損膵島では BrdU の取り込みが減少しており、β細胞の増殖障害が認められることが明らかとなった。その分子機構に関与するものとして、p21cip1 の発現亢進を見出し、また、単離膵島および MIN6 細胞を用いた検討から、小胞体ストレスが p21cip1 の発現を転写レベルで増強

することを明らかにした。

さらに、WFS1 欠損マウス膵島およびアデノウイルスベクターにより WFS1 蛋白を過剰発現させた膵島の細胞内カルシウム動態、インスリン分泌を検討した。小胞体からのカルシウム放出を介してインスリン分泌を惹起するカルバコールおよびグルコースで WFS1 欠損膵島を刺激すると、インスリン分泌は約 30%低下していた。また細胞質のカルシウム濃度変化をβ細胞で測定すると、どちらの刺激に対しても WFS1 欠損β細胞において 30-40%の低下を認めた。一方、WFS1 蛋白を過剰発現させた膵島では、インスリン分泌が両刺激に対し 35-50%増加した。そこで、細胞内カルシウム動態制御における WFS1 蛋白の役割を解析するため、ドキシサイクリン誘導性に WFS1 蛋白を過剰発現あるいはノックダウンする HEK293 細胞を作製し解析した。その結果、過剰発現細胞では小胞体カルシウム濃度が増加し、さらに小胞体カルシウム枯渇により惹起される容量性カルシウム流入の増加が認められた。対照的に、WFS1 蛋白をノックダウンする HEK293 細胞では、小胞体カルシウム濃度および容量性カルシウム流入の減少が認められた。

以上のことから WFS1 蛋白は、小胞体カルシウムの恒常性の維持に重要な役割を果たしていると考えられる。ウオルフラム症候群では、WFS1 蛋白の欠損が小胞体の機能異常を来しインスリン分泌低下をもたらすとともに、小胞体ストレスによるβ細胞の増殖抑制・アポトーシスの亢進によってβ細胞量の低下に至る結果、糖尿病を発症すると考えられる。

D. 考察

加齢と関連するウェルナー症候群遺伝子 (WRN 遺伝子)多型が 2 型糖尿病発症年齢と関わることを示唆する結果を得たことは、2 型糖尿病発症機構に加齢に伴う遺伝子発現変化などが関わる可能性を支持している。また、2 型糖尿病の発症関連遺伝子の観点から、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増加している膵β細胞小胞体ストレスに着目することは重要と思われる。

E. 結論

1) 加齢と関連するウェルナー症候群遺伝子 (*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が示唆された。

2) 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(UPR)関連遺伝子は重要な候補である。

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

2. 学会発表

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 βCell 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.

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 陽性樹状細胞のファ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連関

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 B 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 B 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 和眞、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

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.

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.

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

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)

分担研究者 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

研究要旨

本研究では、候補遺伝子アプローチによる高血圧感受性遺伝子解析を行い、高血圧罹患との関連のみならず、本年度診断基準が発表となったメタボリックシンドロームとの関連も検討した。その結果、 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(*ADRB2*/Gly16)や血圧日間変動(*ADRB1*/)に関連することを新たに同定した。*ADRB2*/Gly16の影響はノルエピネフリンやレプチン上昇とも密接に関連しており、メタボリックシンドロームにおける交感神経調節の重要性を示唆したほか、喫煙が低アディポネクチンを惹起することも明らかになった。今後、これら環境・遺伝相互作用を、大迫研究を中心に経時的な変化において検証する必要があると考えられた。

研究協力者

勝谷友宏

大阪大学大学院医学系研究科

加齢医学講座・講師

レナリン受容体遺伝子(*ADRB2*)の Arg16Gly, Gln27Glu 多型、 β 3 アドレナリン受容体遺伝子(*ADRB3*)の Trp64Arg 多型、 α 2 アドレナリン受容体(*ADRA2*)の Lys418Asn 多型、RGS2(Regulator of G protein signaling-2)遺伝子 A/G 多型(rs#3767489)を検討した。統計学的解析は JMP5.1.1(SAS Inc.)を用いて行った。

(倫理面への配慮)研究計画の大阪大学ヒトゲノム研究倫理委員会による承認後、対象者から文書でインフォームドコンセントを得た。

A. 研究目的

超高齢化社会において、重篤な循環器疾患の発症は、高齢者 QOL(quality of life)の著しい低下と社会負担増を招く。循環器疾患発症予防のためには、個人の体質にあった個別の施策を勘案することが厚生労働行政において重要と考える。本研究では大迫研究での高血圧感受性遺伝子解析を通じて、遺伝子多型解析の有効な活用法を検討した。

B. 研究方法

本研究は東北大学大学院臨床薬学との共同研究によって実施された。対象者として遺伝子解析へのインフォームドコンセントの得られた大迫研究参加者ならびに大阪大学医学部附属病院老年・高血圧内科および関連病院受診者を対象として、 β 1 アドレナリン受容体遺伝子(*ADRB1*)Arg389Gly, Ser49Gly 多型、 β 2 アド

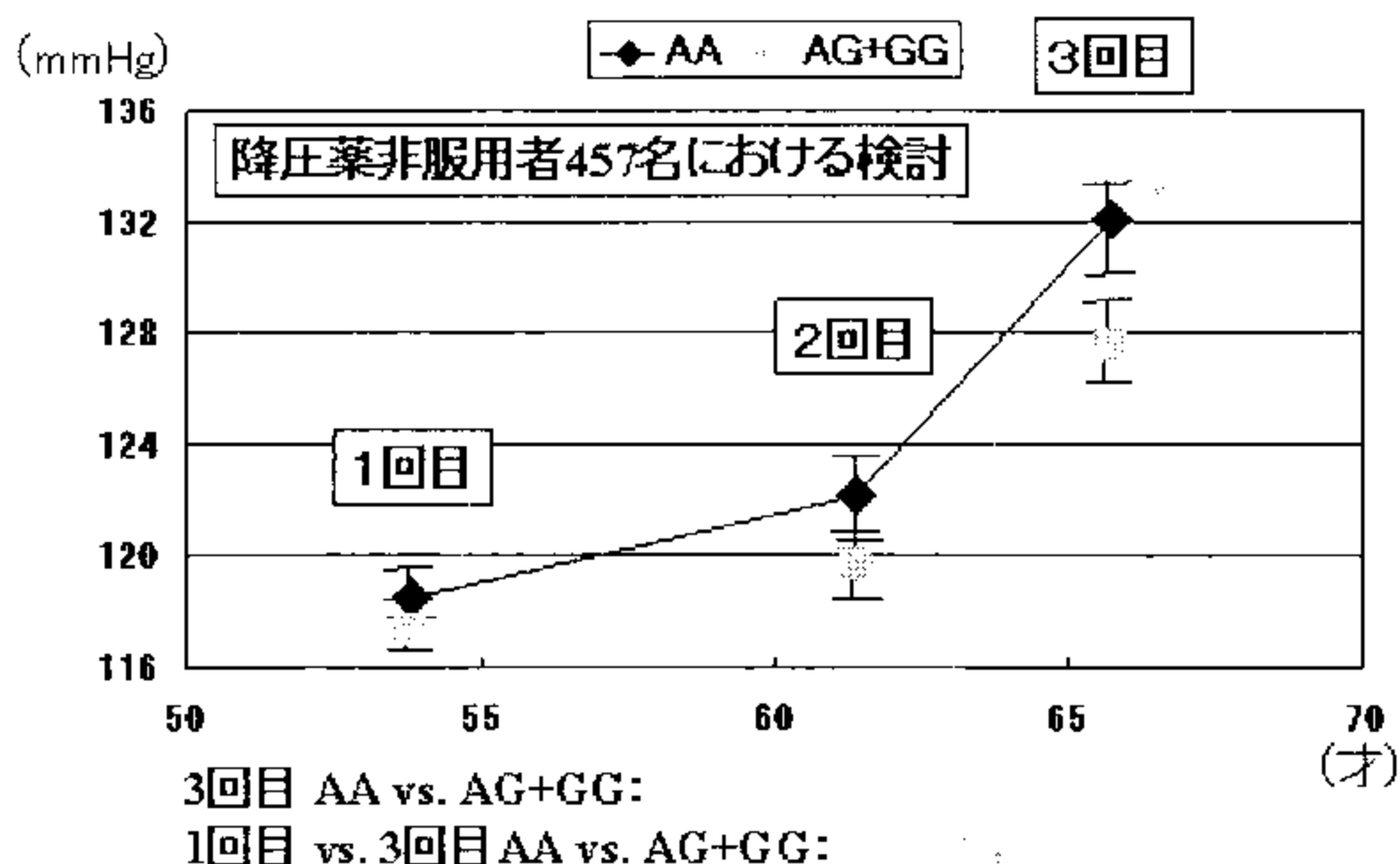
C. 研究結果

無症候性脳梗塞のリスクとして、食塩感受性、インスリン抵抗性、交換神経活性亢進などが知られ、non-dipper 型血圧日内変動や早朝高血圧との関連も示唆されている。今回、大迫研究において *ADRB1*/Arg389 ホモ接合体は血圧日間変動の上昇と、*ADRB1*/Ser49 アレルは心拍数増加と有意に相関を示し、いずれの多型もラクスコア増加リスクとしてはたらい。RGS2 遺伝子多型は経時的な血圧変化への影響が観察された。第1回目測定(平均年齢 53.8 才)時

には、家庭血圧(朝)における収縮期血圧の平均がAA: 118.5 ± 0.81 mmHg, AG+GG: 117.4 ± 0.60 mmHg と有意差を認めなかったが、第2回(61.4才)時にはAA: 122.2 ± 0.94 mmHg, AG+GG: 119.7 ± 0.70 mmHg ($p=0.0317$)、第3回(65.7才)時にはAA: 132.1 ± 1.17 mmHg, AG+GG: 127.6 ± 0.87 mmHg ($p=0.0013$)と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 ± 1.14 mmHg, AG+GG: 10.2 ± 0.85 mmHgと有意差($p=0.0143$)が認められた。(図1)

一方大阪大では、5年間にわたる血圧、体重の変動を詳細に検討した集団において、*ADRB2*/Gly16 アレル保有者は、体重増加を伴う血圧上昇を示す一方、*ADRB2*/Gln27、*ADRB3*/Trp64 アレルは血圧上昇のみと関連を示した¹。Gly16 アレルは、インスリン抵抗性の増悪や脂肪蓄積、ノルエピネフリン増加とも関連し²、減量後のリバウンドも大きいことが示された³。また内臓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⁴。

図1 RGS2遺伝子多型別家庭血圧の変化



D. 考察

高齢者の脳虚血病変は認知機能障害や老年症候群とも密接に関係しており、生活の質を著しく低下させる。我々はこれまでに食塩感受性に関わる遺伝因子の重要性と日本人において頻度の高いことを示してきたが、本年度の検討により、交感神経調節に関わる遺伝因子も血圧日間変動や心拍数亢進を介して、無症候性脳梗塞リスクとしてはたらくことが示された。一方、内臓肥満との関連で知られるメタボリックシンドロームの視点から、血圧上昇リスクと肥満、交感神経活性亢進に着目し、各種多型との相関解析を行った結果、 $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝

子多型が血圧とBMI増加を共に促すことが示された。また、内臓肥満の基本であるアディポネクチン濃度低下に喫煙も影響すること示され、遺伝子型に応じた生活習慣改善の有効性を示唆する結果となった。

E. 結論

疾患感受性遺伝子多型を活用し、個人の体質に応じた予防的介入の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

[1] 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.

[2] 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.

[3] 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.

[4] 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.

2. 学会発表

[1] 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.

[2] 59th Annual Fall Conference and Sessions of the Council for High Blood Pressure Research, Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakugi

H, Ogihara T, Tuck ML, 2005.9.23 Washington D.C. U.S.A.

[3] 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、楽木宏実、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

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

分子疫学に基づいた高血圧・糖尿病の予防的介入(高血圧発症遺伝子検索)

分担研究者 檜垣寛男 愛媛大学医学部内科学第二講座 教授

研究要旨

本態性高血圧患者において、動脈硬化の進展に炎症が深く関与している。これまでに、Interleukin(IL)-6 などの促炎症性サイトカインの遺伝子多型と高血圧の関連が検討されているが、現在のところ明らかな関連は不明である。本研究では、抗炎症性サイトカインの一つである IL-10 遺伝子多型(-592A/C)と高血圧発症との関連について、大迫研究の遺伝子研究に同意の得られた一般住民を対象として検討した。その結果、血圧と年齢、IL-10 遺伝子多型(-592A/C)との関連が認められたが、血圧の独立した規定因子は、年齢と性別のみであった。このため年齢により若年群および高齢群の2群に分けて、IL-10 遺伝子多型(-592A/C)を比較した結果、高齢群において IL-10 遺伝子多型-592A アレル頻度が有意に高く、IL-10 遺伝子多型(-592A/C)と寿命との関連が示唆された。

研究協力者

大蔵隆文

愛媛大学医学部

内科学第二講座・助教授

A. 研究目的

高血圧患者は、動脈硬化の進展が早くこの原因として血圧高値に加えて、炎症の関与が報告されている。その中で、促炎症性サイトカインである Interleukin(IL)-6 などの遺伝子多型と高血圧の関連が検討されているが、今のところ明らかな関連は報告されていない。本研究では抗炎症性サイトカインの一つである IL-10 遺伝子多型に注目し、高血圧、心血管性疾患および加齢との発症との関連について検討した。

B. 研究方法

対象は、大迫研究で遺伝子解析に同意を得られた一般住民で、臨床検査データとの関連が解析可能な 1659 人を対象とした。東北大

学で採取され、匿名化された DNA および臨床検査データを使用した。IL-10 遺伝子多型解析は、IL-10 に特異的なプライマーを作製し、TaqMan™ PCR 法を用いた。遺伝子多型部位は、IL-10 の血中濃度との関連が報告されている-592A/C 多型を検討した。統計は、Chi-square 検定、Mann-Whitney U 検定、Kruskal-Wallis 検定を Stat View J 5.0 を用いて解析した。P<0.05 をもって有意差ありとした。

(ヒト由来試料を用いた遺伝子解析研究と疫学研究に対する倫理面の配慮)

ヒトの遺伝子解析については、ヒト由来試料等の提供者、その家族・血縁者その他関係者に人権および利益の保護の取り扱いについては十分配慮を行うことと、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研究計画書を愛媛大学倫理委員会で承諾を得た。また個人情報には匿名化している。また、共同研究機関である東北大学医学系研究科も倫理委員会の承認済みである。また、ヒトゲノム・遺

伝子解析については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守した。

C. 研究結果

1. IL-10 遺伝子-592A/C 多型と臨床検査データ

IL-10 遺伝子-592A/C 多型で、C/C、C/A、およびA/A 多型の頻度はそれぞれ222人(13%)、762人(46%)および675人(41%)であった。こ

の3群間で臨床検査データを比較したところ、年齢、 γ -GTPの分布に差が認められた(表1)。さらにC/C+C/A(984人)群およびA/A群に分け解析を行ったところ、年齢、収縮期および拡張期血圧、 γ -GTPはA/A群で有意に高く、血清蛋白量は有意に低値であった(表2)。虚血性心疾患の発症に差を認めなかった。さらに、血圧の独立した規定因子を共分散分析で検討した結果、年齢および性別が規定因子であり、IL-10 遺伝子-592A/C 多型は独立した規定因子ではなかった。

表1 IL-10 遺伝子-592A/C 多型と臨床検査成績(1)

	C/C (n=222)	C/A (n=762)	A/A (n=675)	P value
年齢(歳)	57±11	57±12	58±11	0.03*
男性(%)	94 (42%)	290 (38%)	260 (39%)	ns**
Body Mass Index (kg/m ²)	23.7±3.2	23.7±3.2	23.8±3.2	ns*
収縮期血圧 (mmHg)	131±14	131±15	133±14	0.08*
拡張期血圧 (mmHg)	74±9	74±9	75±10	0.14*
Hb (g/dl)	13.5±1.4	13.4±1.5	13.4±1.5	ns*
Total Protein (g/dl)	7.9±0.4	7.9±0.5	7.8±0.5	0.06*
γ -GTP (IU/L)	25±22	26±38	29±41	0.02*
Uric acid (mg/dl)	4.4±1.3	4.4±1.3	4.4±1.3	ns*
T-Chol (mg/dl)	196±37	193±33	195±34	ns*
HDL-C (mg/dl)	55±14	55±14	54±15	ns*
虚血性心疾患	0 (0%)	10 (1.3%)	14 (2.1%)	0.07**
心房細動	3 (1.4%)	4 (0.5%)	4 (0.6%)	ns**

*Kruskal-Wallis検定, **Chi-square検定

表 2 IL-10 遺伝子-592A/C 多型と臨床検査成績 (2)

	C/C+C/A (n=984)	A/A (n=675)	P value
年齢 (歳)	57±11	58±11	0.01*
男性 (%)	384 (39%)	260 (39%)	ns**
Body Mass Index (kg/m ²)	23.7±3.2	23.8±3.2	ns*
収縮期血圧 (mmHg)	131±14	133±14	0.03*
拡張期血圧 (mmHg)	74±9	75±10	0.05*
Hb (g/dl)	13.4±1.5	13.4±1.5	ns*
Total Protein (g/dl)	7.9±0.5	7.8±0.5	0.02*
γ-GTP (IU/L)	26±35	29±41	0.01*
Uric acid (mg/dl)	4.4±1.3	4.4±1.3	ns*
T-Chol (mg/dl)	194±34	195±34	ns*
HDL-C (mg/dl)	55±14	54±15	ns*
虚血性心疾患	10 (1.0%)	14 (2.1%)	0.08**
心房細動	7 (0.7%)	4 (0.6%)	ns**

*Mann-Whitney検定, **Chi-square検定

2. IL-10 遺伝子-592A/C 多型と年齢

IL-10 遺伝子-592A/C 多型と年齢との関連が認められたため、1659 人を年齢 (59 歳) により、若年群 (854 人) および高齢群 (805 人) の 2 群に分けて、遺伝子多型を比較検討した結果、アレル A が高齢群で有意に高頻度に認められ

た (表 3)。さらに、70 歳以上の高齢者 220 人を抽出し、ほぼ同人数 (222 人) の 43 歳以下の若年者と IL-10 遺伝子-592A/C 多型を比較したところ、高齢者で A アレルが有意に高頻度に認められた (表 4)。

表 3 IL-10 遺伝子-592A/C 多型と年齢 (1)

	Younger Group (n=854)	Older Group (n=805)	P value
CC	118 (14%)	104 (13%)	0.028
CA	415 (49%)	347 (43%)	
AA	321 (37%)	354 (44%)	
CC+CA	533 (63%)	451 (56%)	0.008
AA	321 (37%)	354 (44%)	
Allele C	651 (0.38)	555 (0.34)	0.029
Allele A	1057 (0.62)	1055 (0.66)	

年齢の中央値である59歳で2群に分割, Younger Group: 59歳以下 P Value: Chi-square検定

表 4 IL-10 遺伝子 592A/C 多型と年齢 (2)

	Younger Group (n=222)	Older Group (n=220)	P value
CC	32 (14%)	26 (12%)	0.012
CA	114 (51%)	88 (40%)	
AA	76 (34%)	106 (48%)	
CC+CA	146 (66%)	114 (52%)	0.003
AA	76 (34%)	106 (48%)	
Allele C	178 (0.40)	140 (0.32)	0.010
Allele A	266 (0.60)	300 (0.68)	

Older Group: 70歳以上, Younger Group: 43歳以下, P Value: Chi-square検定

D. 考察

動脈硬化の発症、進展に炎症が重要な役割を演じていることが報告されている。特に催炎症性サイトカインである IL-6 や Tumor Necrosis Factor α などは、高血圧患者で動脈硬化の程度と相関し、レニン-アンジオテンシン系の阻害薬で低下することが報告されている。そして、これらの遺伝子多型と高血圧や動脈硬化との関連も検討されているが、現在のところ明らかでない。一方動脈硬化抑制性のサイトカインとして IL-10 が報告されている。この遺伝子多型の一つである-592A/C 多型は機能性を表し、A アレルを有する場合血中 IL-10 濃度が高値であることが報告されている。本研究ではこの IL-10 遺伝子-592A/C 多型に注目し、高血圧、心血管疾患、年齢などとの関連を検討した。IL-10 遺伝子-592A/C 多型と血圧に独立した関連は認めなかったものの、年齢との関連性が認められた。高齢者ほど-592A アレルを有する頻度が増加し、このことは-592A アレルが長寿と関連することが示唆された。-592A アレルを有する場合、血中 IL-10 濃度が高値である可能性があり、このことが抗炎症的に作用し、長寿に繋がると考えられた。

E. 結論

IL-10 遺伝子-592A/C 多型は、年齢と関連し、-592A アレルは長寿と関連することが示唆された。今後炎症関連遺伝子と、高血圧、循環器疾患の発症、進展との関連を明らかにすることは、その発症予測を事前に予測することが可能となり極めて重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

[1] 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.

[2] 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.

[3] 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.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 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.

[7] 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.

[8] 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.

2. 学会発表

[1] 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)

[2] 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).

[3] 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).

[4] 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 -607, 2005)

[5] 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-410, 2005)

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

Urocortin 3 の遺伝子多型と高血圧症に関する研究

分担研究者 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

研究要旨

Urocortin3 (UCN3)は、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、CRF₂受容体に特異的に結合する内因性のリガンドである。UCN3 は、ストレス応答性ホルモンであり、血管拡張による降圧作用を持つことが報告されている。また、CRF₂受容体ノックアウトマウスは高血圧症を自然発症することが報告されている。UCN3 の遺伝子多型が血圧に及ぼす影響についての研究はこれまで行われていない。今回、我々は日本人における UCN3 遺伝子多型と高血圧症との関連を検討した。岩手県大迫町における一般住民より、血圧測定及び遺伝子解析に対しインフォームドコンセントの得られた住民 1084 人を対象とした。UCN3 遺伝子の Exon 領域に存在する E77K と R91G の二つの一塩基多型(SNP)について、PCR-RFLP 法を用いて遺伝子型を決定した。随時血圧、24時間自由行動下血圧、家庭血圧について SNP との関連を検討した。E77K 多型は日本人では確認されなかった。R91G 多型の変異について、3群比較では随時平均血圧、白衣効果、HDL が、GG 型で有意に低値を示した。また、2群比較では随時収縮期血圧、随時拡張期血圧、随時平均血圧、白衣効果及び HDL が A allele 無し(GG 型)で有意に低値を示した。R91G 多型は随時血圧と関連性を持ち、GG 型で血圧値が低い傾向を示した。従って、UCN3 の遺伝子多型が血圧値と関連する可能性が示唆された。

研究協力者

前嶋 隆弘

東北大学大学院薬学研究科

医薬開発構想寄附講座・大学院生

ミリーには、UCN3 の他に CRF, UCN1, UCN2 (SRP)が存在する[3]。CRF と UCN1 は CRF1 受容体と CRF2 受容体の両方に結合する。しかし、UCN2 と UCN3 は CRF1 受容体とはほとんど結合せず、CRF2 受容体と特異的に結合する。CRF1 受容体を介した作用として、ACTH 放出を担い、催不安作用、血圧上昇などのストレス行動様反応を示す。逆に、CRF2 受容体は、抗不安作用、血管拡張作用、心筋陽性変力作用などの抗ストレス様作用を示す。

A. 研究目的

UCN3 は、2001 年にヒトゲノムデータベースの探索により二つの研究グループからほぼ同時に発見されたペプチドであり[1, 2]、各グループにおいて各々 Urocortin3, Stresscopin と名付けられた。前者は 38 個のアミノ酸より構成され、40 個のアミノ酸からなる後者の 3-40 に相当する。プロセッシングの部位の解釈の違いによって、アミノ酸数が多少異なるが、コードする遺伝子や cDNA は両者で同一と考えてよい。

UCN3 は、ヒトにおいて、中枢神経系や末梢組織のあらゆる臓器に分布している。末梢組織では、特に心臓、腎臓、膵β細胞、消化管、副腎に発現している[4, 5, 6, 7]。また、CRF2 受容体も UCN3 とほぼ同様の臓器に発現している[8]。

UCN3 は、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る。CRF ファ

また、CRF2 受容体ノックアウトマウスにおいて、

高血圧症を自然発症することが報告されている[9]. 従って, UCN3 は循環器系の働きに重要な役割を担っている可能性が示唆される.

UCN3 遺伝子は 10p15.1 領域に位置している. この領域には多数の遺伝子変異がデータベースに登録されているが, そのほとんどは intron 領域に位置しており, 機能性変異として考えられるものは, 第二 exon 領域に位置している二つの一塩基多型(SNP)のみであった (Figure 1).

これらの UCN3 遺伝子の多型の解析はいまだ不十分であり, その頻度が不明な SNP も多数存在している. また, UCN3 遺伝子の多型と高血圧との関連は未だ報告はない. そこで今回, 日本人の UCN3 遺伝子上の SNP 発現を解析し, また高血圧表現型との関連を検討した.

B. 研究方法

岩手県大迫町における一般住民コホートで血圧測定及び遺伝子解析に対し, インフォー

Sequence of Urocortin 3 (10p15.1)

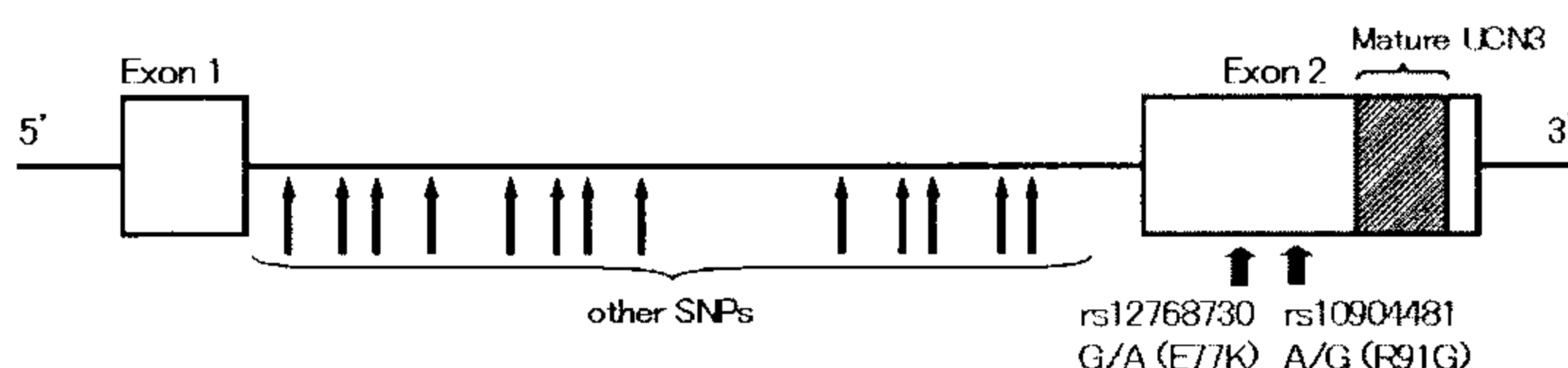


Figure 1. Urocortin 3 の遺伝子構造と解析を行った SNP

ムドコンセントの得られた住民 1276 人を対象とした. また, このうち血圧値のデータが揃っている 1084 人を関連解析の対象とした.

対象者群の臨床的特徴は, 平均年齢 63.7 ± 10.2 歳, 男性比率 31.6%, BMI 23.7 ± 3.2 kg/m², 喫煙既往歴 21.8%, 飲酒既往歴 31.1%, 降圧薬服用者 44.2%, 心血管疾患既往歴 15.3%, 外来時血圧は収縮期血圧 135.7 ± 19.0 mmHg, 拡張期血圧 74.7 ± 10.5 mmHg, 24 時間血圧測定(ABPM)収縮期血圧 124.4 ± 12.4 mmHg, 拡張期血圧 72.0 ± 7.2 mmHg であった.

DNA サンプルは, 対象者の白血球から抽出・精製した. Genotype の決定には PCR-RFLP 法を用いた. 本研究で頻度解析を行った SNP は, Urocortin 3 遺伝子の第二 Exon 領域に存在する SNP, rs12768730 G/A

(以下 E77K), rs10904481 A/G (以下 R91G) である.

統計学的解析には, JMP version 5.0.1 (SAS Institute Inc)を使用した. 値は, mean ± SEM で示した. また, P < 0.05 を統計学的に有意とした.

(倫理面への配慮)

本研究中のヒト遺伝子解析研究は, 3 省庁合同指針「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して計画, 実施され, 東北大学医学部倫理委員会により承認を受けている. また, 十分な説明を行った上で全対象者からインフォームドコンセントを取得している.

C. 研究結果

PCR-RFLP 法による Genotype を行った結果を Figure 2 に示す.

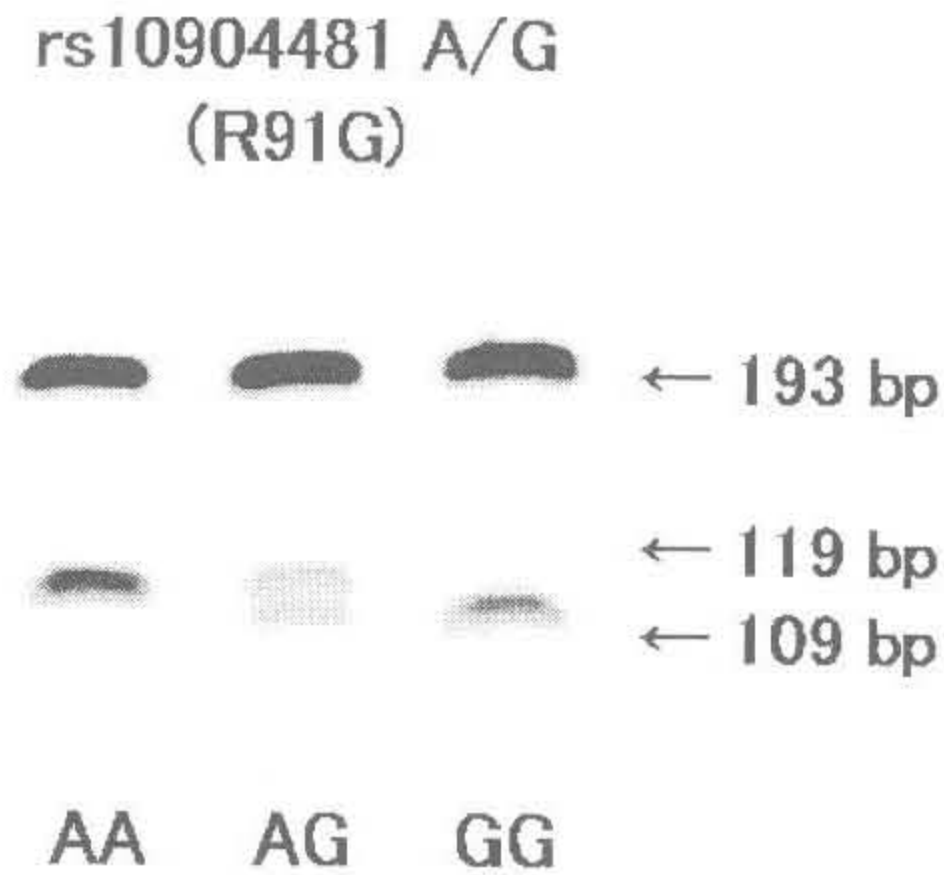


Figure 2. PCR-RFLP法による多型の検出

E77K については、101 サンプルを解析したところその全てが GG であり、本研究で解析を行った対象では A allele が確認されなかった。よって、多型の定義を満たさなかったため、血圧値との関連解析は行わなかった。R91G において、遺伝子型頻度(genotype frequency)は AA が 233/1276 (18.3%)、AG が 631/1276 (49.4%)、GG が 412/1276 (32.3%)であった。対立遺伝子頻度(allele frequency)は A allele が 1097/2552 (43.0%)、G allele が 1455/2552 (57.0%)であった。この SNP において、Hardy-Weinberg 平衡からのずれは確認されなかった(P=0.751)。

R91G において、血圧値に影響を与える年齢、性別、BMI、飲酒歴、喫煙歴、降圧薬服用の有無で補正後の3群比較を行ったところ、随時収縮期血圧においてGG型で有意に低値を示した (AA 135.0±1.3mmHg, AG 137.2±0.8mmHg, GG 133.9±1.0mmHg; P=0.018)。また、AA と AG を1つの群として同様に2群比較を行うと随時収縮期血圧に加え、随時拡張期血圧においてもGG型で有意に低値を示した (AA+AG 75.1±0.4mmHg, GG 73.8±0.5mmHg; P=0.041)。また、白衣効果を「随時血圧値と家庭血圧値(朝)の差」あるいは「随時血圧値と自由行動下血圧値(昼間)

の差」と定義した時、どちらの場合においても白衣効果の値はGG型において有意に低値を示した(AA+AG 7.1±0.6, GG 4.0±1.0; P=0.008, AA+AG 9.4±0.6, GG 6.5±0.9; P=0.007)。さらに、HDL についてもGG型において有意に低値を示した(P=0.005)。

D. 考察

本研究では、日本人におけるUCN3 遺伝子上の二つの SNP の頻度を検討し、高血圧との関連を調べた。この対象におけるE77Kは、本研究で解析を行った対象で多型が確認されず、全てG alleleであった。従って、このSNPは日本人において非常に低い頻度で存在していることが示唆された。R91G の genotype frequency 及び allele frequency は、先行研究において報告されているものは無いが、国際HapMap 計画によって示された日本人における頻度とほぼ一致している。よって、本研究により日本人におけるR91G の SNP の頻度が再確認された。

本研究において多型が確認された1つのSNPであるR91Gについて、随時血圧がmutant homo で低値を示したことはUCN3 遺伝子多型がヒトの血圧調節に関与している可能性を示唆する。一方、正常者群と高血圧者群間で

genotype の分布に有意差が認められなかったことから、UCN3 がどのようなメカニズムで血圧調節機構に関与しているかは本研究では明らかではない。しかし、家庭血圧や自由行動下血圧との間には関連が認められず、随時血圧との間に関連が認められたこと、つまり白衣効果との間に関連が認められたことから、何らかの精神的な影響に対する感受性の違いがメカニズムの一因として存在していることが示唆される。

E. 結論

日本人を代表する単一コホートにおいて UCN3 遺伝子上の SNP の頻度を決定した。また、日本人における UCN3 遺伝子多型がヒトの血圧調節に関与している可能性が示唆された。

参考文献

- [1]Hsu SY, Hsueh AJ. Human stresscopin and stresscopin-related peptide are selective ligands for the type 2 corticotropin-releasing hormone receptor. *Nat Med* 2001; 7: 605-11.
- [2]Lewis K, Li C, Perrin MH, Blount A, Kunitake K, Donaldson C, et al. Identification of urocortin III, an additional member of the corticotropin-releasing factor (CRF) family with high affinity for the CRF2 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 7570-5.
- [3]Takahashi K. Translational medicine in fish-derived peptides: from fish endocrinology to human physiology and diseases. *Endocr J* 2004; 51: 1-17.
- [4]Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Saruta M, Nakabayashi M, Suzuki T, et al. Expression of urocortin III/stresscopin in human heart and kidney. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1897-903.

[5]Li C, Chen P, Vaughan J, Blount A, Chen A, Jamieson PM, et al. Urocortin III is expressed in pancreatic β cells and stimulates insulin and glucagon secretion. *Endocrinology* 2003; 144: 3216-24.

[6]Saruta M, Takahashi K, Suzuki T, Fukuda T, Torii A, Sasano H. Urocortin 3/stresscopin in human colon: possible modulators of gastrointestinal function during stressful conditions. *Peptides* 2005; 26: 1196-206.

[7]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.

[8]Hiroi N, Wong ML, Licinio J, Park C, Young M, Gold PW, et al. Expression of corticotropin releasing hormone receptors type I and II mRNA in suicide victims and controls. *Mol Psychiatry* 2001; 6: 540-6.

[9]Coste SC, Kesterson RA, Heldwein KA, Stevens SL, Heard AD, Hollis JH, et al. Abnormal adaptations to stress and impaired cardiovascular function in mice lacking corticotropin-releasing hormone receptor-2. *Nat Genet.* 2000; 24: 403-9.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

[1]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.