

貫郡大迫町の一般地域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。大迫町は盛岡市の南東 20 km、仙台市の北 100 km に位置し、北上山地に囲まれた農村である。青壮年層の多くは盛岡市内あるいは同町内の企業に勤務しながら果樹栽培を営む兼業農家に属している。大迫町の人口は 6871 人 (2004 年) であり、行政的に内川目、外川目、亀ヶ森、大迫の 4 地区に分かれている。

我々は、昭和 62 年以降、家庭血圧測定を中心とした保健事業を実施している。また、近年の糖尿病、メタボリック症候群の増加を考慮し、平成 11 年 8 月より、大迫研究の一環として経口血糖負荷試験による住民健診 (大迫 GTT 健診) を継続している。本健診は年度ごとに大迫町の 4 地区のうち 1 地区について、家庭血圧を測定した 35 歳以上の住民を対象に参加希望者を募り、質問紙票による調査、身体測定および生化学検査をあわせて実施している。したがって、4 年間で大迫の全地区を調査が一巡するものである。

本研究における大迫 GTT 健診からの解析対象者は、平成 12 年 8 月から平成 16 年 8 月の間に大迫 GTT 健診に参加した 762 人のうち、ウエストを測定した男性 94 人、および女性 235 人とした。このうち 65 歳以上の高齢者は 48% とほぼ半数が高齢者であった。なお、同時期の大迫町全体の人口は男性 3318 名、女性 3619 名で 65 歳以上の高齢者人口は 29.8% である (平成 12 年国勢調査報告)。

#### 降圧治療中の外来患者

一方、市中病院における高血圧外来患者として、仙台市内の病院 (1 施設) を横断的に調査した。本院は仙台市中心部に存在し、高血圧専門外来および一般内科を有する病院である。本研究の対象は、本院に通院中の外来患者でウエストを測定した本態性高血圧 224 人 (男性 123 人、および女性 112 人) である。

## 2. 分析項目、分析方法

大迫一般住民、降圧療法中の外来患者の背景、メタボリック症候群および、その構成要素の頻度を示し、更にウエストのヒストグラムをそれぞれの対象で示した。その後、空腹時血糖およびインスリンのデータを有する大迫一般住民に対して、HOMA-R を指標にしてインスリン抵抗性の頻度を検討した。その際、一般住民に対する研究である端野・壮瞥町研究と比較検討のため札幌医科大学の基準である HOMA-R 1.73 以上を「インスリン抵抗性あり」とした。次に、大迫一般住民を対象にメタボリック症候群とインスリン抵抗性との関連を検討するため、従属変数をインスリン抵抗性、独立変数をメタボリック症候群あるいはメタボリック症候群の構成要素とし、年齢で補正したロジスティック解析を男女別に行った。更に、メタボリック症候群におけるウエストの基準を 5cm 刻みに変化させて、同様にメタボリック症候群とインスリン抵抗性との関連をロジスティック解析にて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東北大学医学部倫理委員会の承認を受けて実施しており、情報提供者のプライバシーの保護には厳重な注意を払っている。

## C. 結果

### 大迫一般住民および降圧療法中の外来患者のメタボリック症候群の頻度

対象者の背景を表 2 に示す。大迫一般住民の平均年齢は男女ともに約 64 歳と比較的高齢であった。降圧治療中の外来患者の年齢も、ほぼ同等であった。しかし、体重、BMI、ウエストについては、大迫一般住民よりも降圧治療中の外来患者において、男女ともに高値であった。空腹時血糖、中性脂肪および高脂血症治療の頻度に関しても降圧治療中の外来患者において高値であり、降圧治療中の外来患者にリスクが集積して

表2 対象者の背景

	大迫一般住民				降圧治療中の外来患者			
	男性 (n=94)		女性 (n=235)		男性 (n=123)		女性 (n=112)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
年齢(歳)	63.7	8.5	63.5	9.1	63.2	10.6	65.2	10.8
身長(cm)	162.8	6.4	150.1	6.1	165.2	5.4	153.4	5.7
体重(Kg)	63.7	10.9	52.9	8.1	69.8	10.0	59.0	10.4
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.9	3.1	23.5	3.0	25.5	3.0	25.0	3.7
ウエスト(cm)	82.5	8.9	75.3	8.0	89.2	7.9	88.6	10.1
随時収縮期血圧(mmHg)	136.6	17.8	133.5	19.5	130.4	17.8	137.1	21.1
随時拡張期血圧(mmHg)	78.7	10.9	78.0	12.7	76.9	10.7	76.1	11.1
家庭収縮期血圧(mmHg)	135.0	16.5	125.6	16.8				
家庭拡張期血圧(mmHg)	79.7	9.0	73.9	9.3				
空腹時血糖(mg/dL)	97.7	14.8	93.4	10.2	112.6	17.7	107.3	18.2
空腹時IRI (mU/L)	6.8	9.6	5.8	3.5				
HOMA-R	1.7	2.6	1.4	0.8				
中性脂肪(mg/dL)	108.7	59.9	95.1	61.9	160.0	111.5	107.6	49.0
HDL(mg/dL)	56.2	16.8	63.0	13.9	49.1	12.9	57.3	13.8
高血圧治療あり(%)	37.2		27.7		100.0		100.0	
糖尿病治療あり(%)	7.5		5.1		13.0		8.9	
高脂血症治療あり(%)	3.2		10.6		22.8		42.9	

いることが分かる。

なお、大迫一般住民に関しては、体格は身長が男性 162cm、女性 150cm であり、60代の全国平均である男性 163cm、女性 151cm とほぼ同等であり、BMI についても男女とも 23~24kg/m<sup>2</sup> で、60代の全国平均 23.5 kg/m<sup>2</sup> 前後と同等である。一方、随時血圧では 60代の全国平均である男性 140.7 / 84 mmHg、女性 135.0 / 80.1 mmHg と比較して、本対象のほうが低い傾向であった(国民栄養の現状)。

メタボリック症候群および、その構成要素の頻度を表 3 に示した。また、この分野のパイオニアである札幌医科大学の端野・壮瞥町研究からも日本版メタボリック症候群診断基準によるメタボリック症候群の頻度を引用し併せて示した。なお、端野・壮瞥町研究は北海道の農村における一般地域住民コホートである。大迫一般住民におけるメタボリック症候群の頻度は男性 20.2%、女性 1.3%と、降圧療法中の外来患者における頻度である 54.5% (男性)、33.0% (女性) よりも低値であった。そこで、大迫一般住民のうち高血圧者の対象 176 人 (男性 55 人、女性 121 人) に絞って再度検討したが、

メタボリック症候群の頻度は 23.6% (男性)、2.5% (女性) と、ほとんど変化がなかった。

次に、大迫一般住民を端野・壮瞥町研究と比較したところ、メタボリック症候群の頻度は男性に関しては大迫一般住民および端野・壮瞥町研究ともに 20% 台であるが、女性では大迫一般住民においてのみ著しく頻度が低く 1.3% しか存在しなかった。

メタボリック症候群構成要素の内訳をみたところ、大迫一般住民は降圧治療中の外来患者に比べ腹部肥満、高 TG 血症または低 HDL 血症、血圧高値および高 FPG 血症の全ての要素で低値であった。しかし、端野・壮瞥町研究の対象者との比較では高 TG 血症または低 HDL 血症、血圧高値、高 FPG および血症男性の腹部肥満(ウエスト 85cm 以上)に関しては、大迫一般住民と同等であり、女性の腹部肥満(ウエスト 90cm 以上)のみ、大迫の女性で 2.1% と著しく低頻度であった。

表3 メタボリック症候群の頻度 (メタボリック症候群診断基準検討委員会による基準)

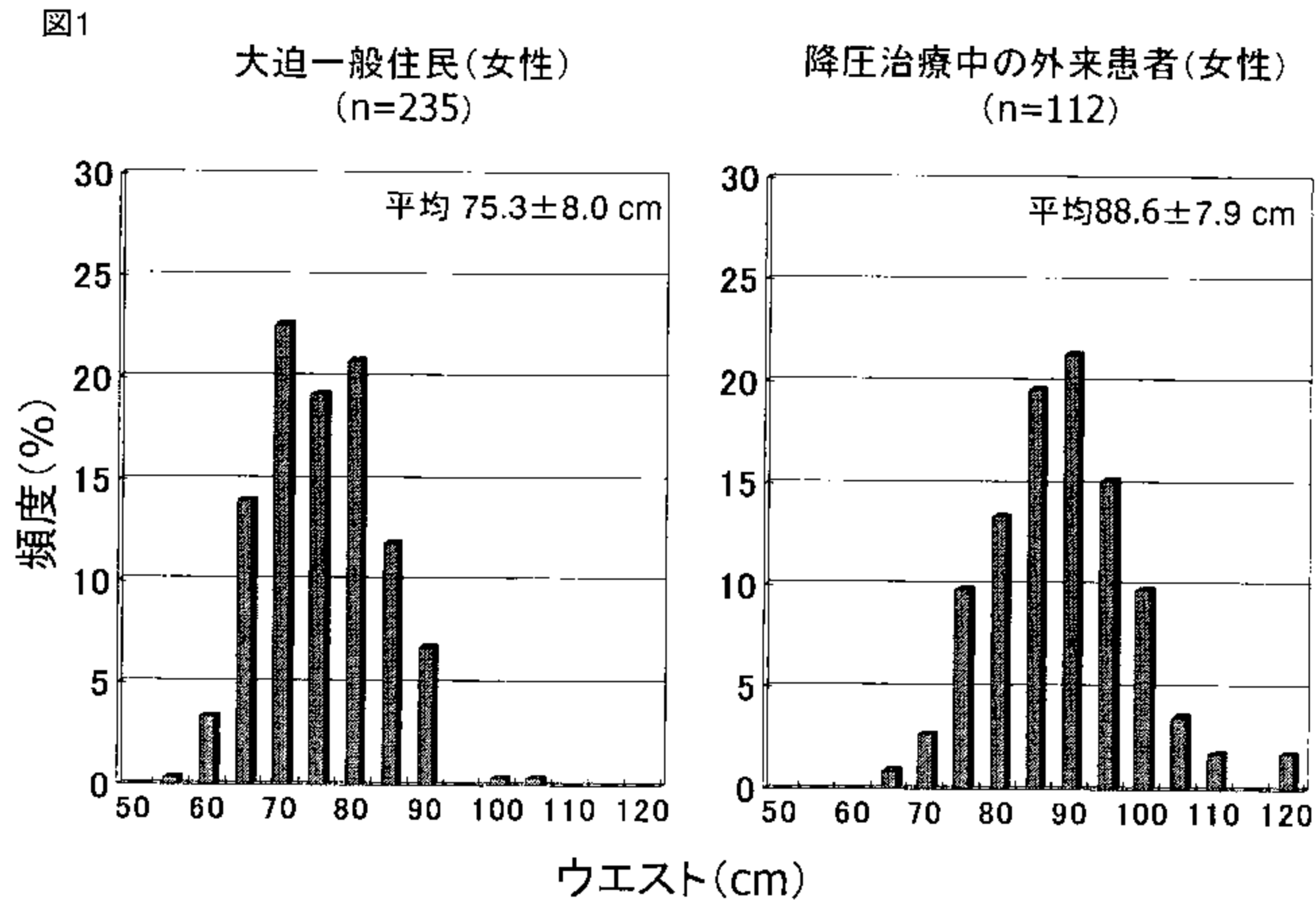
	大迫一般住民		大迫一般住民(高血圧者のみ*)		降圧治療中の外来患者		端野・壮警町研究**	
	男性 (n=94)	女性 (n=235)	男性 (n=55)	女性 (n=121)	男性 (n=123)	女性 (n=112)	男性	女性
メタボリック症候群 (%)	20.2	1.3	23.6	2.5	54.5	33	26.4	8.8
腹部肥満 (%)	42.6	2.1	49.1	3.3	75.6	48.2	59.7	26.2
高TG血症または低HDL血症 (%)	26.6	22.6	21.8	31.4	58.5	52.7	37.8	18.2
血圧高値 (%)	76.6	63.8	100.0	100.0	98.4	100.0	68.5	59.7
高FPG血症 (%)	18.1	9.8	25.5	14.9	48.8	30.4	19.2	10.0

\* 高血圧者: 随時血圧 $\geq$ 140/90mmHgまたは降圧治療中

\*\*端野・壮警町研究: 北海道の農村における一般地域住民コホート

大迫一般住民と降圧治療中の外来患者のウエストのヒストグラムを示す (図 1)。

大迫一般住民の女性のウエスト  $75.3 \pm 8.0$  cm は降圧療法中の外来患者のウエスト



$88.6 \pm 7.9$  cm よりも著しく低値であり、また、大迫女性においては、腹部肥満の基準である 90cm 以上の者がまれであることが分かる。男性においても、大迫一般住民男性のウエスト  $82.5 \pm 8.9$ cm は降圧療法中の外来男性患者のウエスト  $89.2 \pm 10.1$ cm よりも低値であった。大迫一般住民を高血圧者に限定しても、ウエストは限定しない場合と、ほぼ同様であった(女性 121 人では  $77.4 \pm 7.8$  cm、男性 55 人では  $83.2 \pm 8.1$  cm)。

日本版メタボリック症候群診断基準 (表 1) では腹部肥満の存在が必須条件であるため、それ以外の構成要素がどのような内容であってもメタボリック症候群の頻度は腹部肥満の頻度以下となってしまう。したがって、大迫女性におけるメタボリック症候群の頻度の著しい低値は、ウエストの評価が主に関与していることが示唆された。

大迫一般住民におけるメタボリック症候群

#### とインスリン抵抗性の関連

さて、先に述べたようにメタボリック症候群の本態であるインスリン抵抗性に関して、HOMA-R を指標にして、男女別に頻度を検討した。なお、以降の分析は全て、大迫一般住民のみの分析である。HOMA-R は正規分布を取らないため (図 2)、カテゴリー化してあつかった。その際、一般住民に対する研究である端野・壮瞥町研究と比較検討のため札幌医科大学の基準である HOMA-R 1.73 以上を「インスリン抵抗性あり」とした。

大迫一般住民におけるインスリン抵抗性の頻度を、男女別に図 3 に示した。対象の年齢によって異なるが、男性では 20% から 40% 後半、女性では 20% 前後であった。この頻度は端野・壮瞥町研究の男女をあわせた頻度である約 20% に匹敵している。このことから、大迫女性においても、インスリン抵抗性は他の集団と同等に存在している

ことが示唆される。

図2

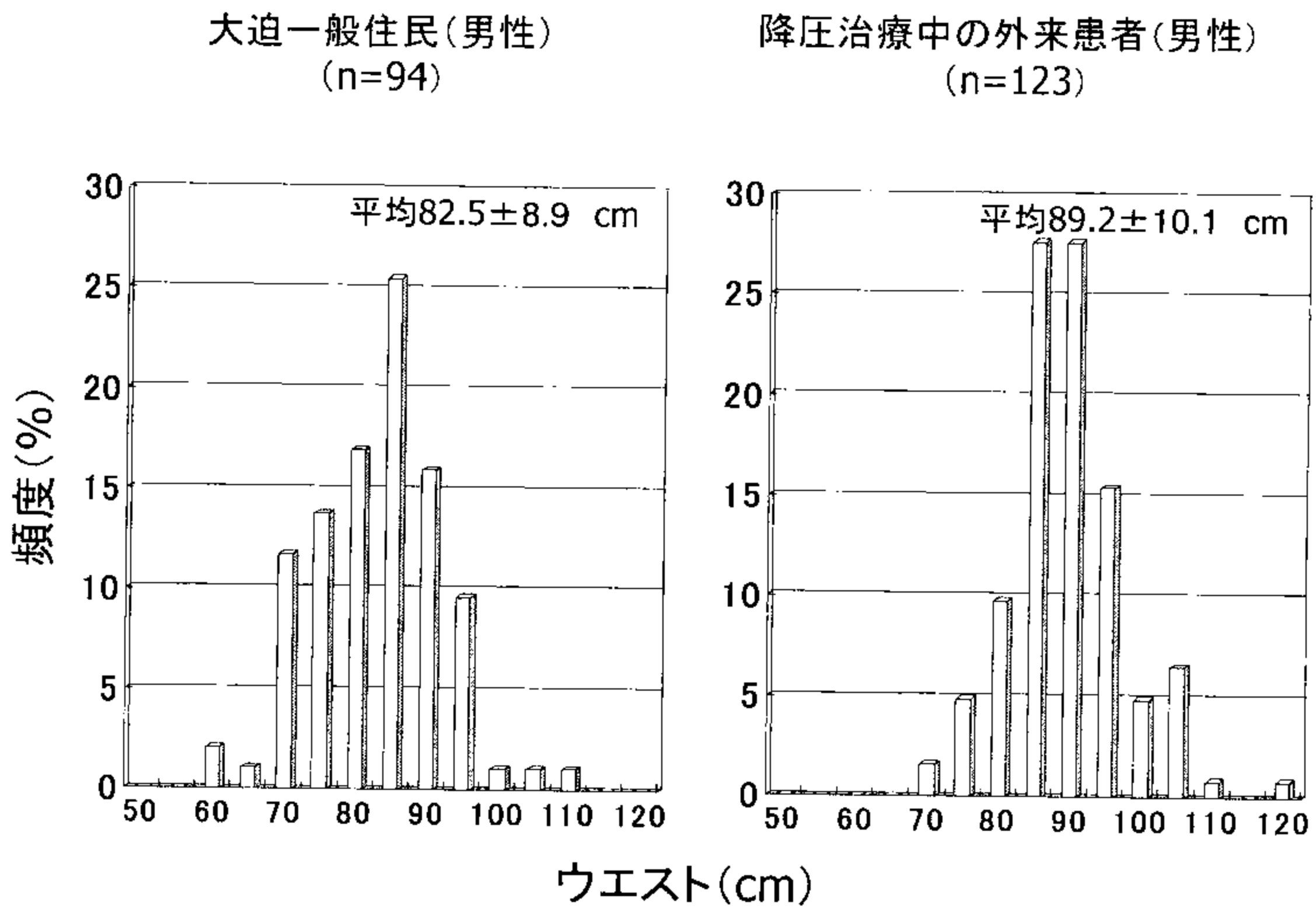
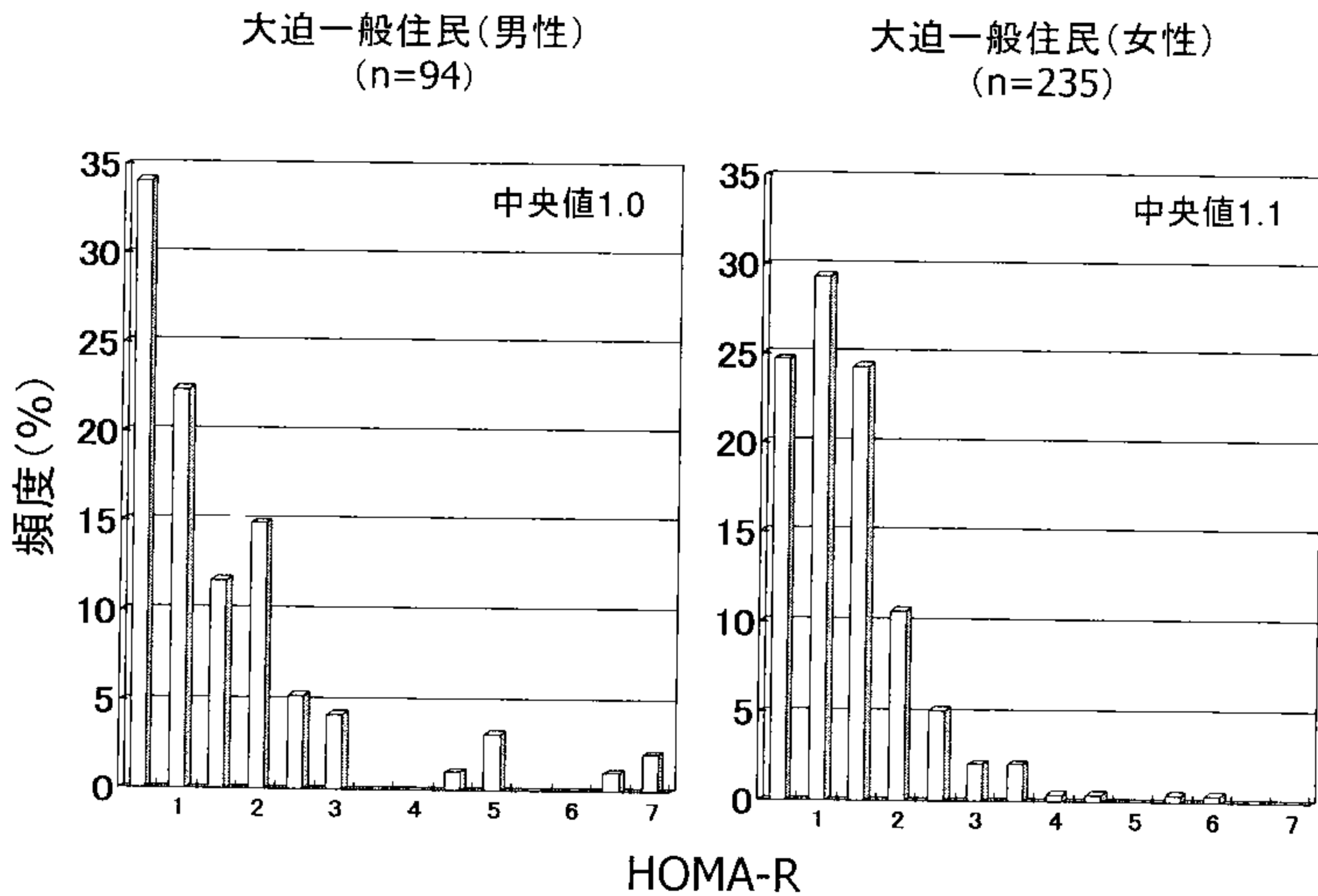


図3



次に、メタボリック症候群とインスリン抵抗性との関連を検討するため、従属変数をインスリン抵抗性 (HOMA-R 1.73 以上)、独立変数をメタボリック症候群とし、年齢で補正したロジスティック解析を男女別に行った (表 4)。男性ではメタボリック症候群のインスリン抵抗性に対するオッズ比は有意に高値であった (オッズ比 14.5, 95% 信頼区間 CI 4.2 - 50.2,  $p < .0001$ )。しかし、女性では有意な結果は得られなかった (オッズ比 1.8, 95% 信頼区間 CI 0.2 - 20.7,  $p < 0.62$ )。独立変数をメタボリック症候群の構成要素として同様に年齢で補正した男女別のロジスティック解析を行ったところ (表 5)、男性では血圧高値を除く、メタボリック症候群の構成要素すべてが有意にインスリン抵抗性と関連したが、女性では関連のある変数は認められなかった。しかし、メタボリック症候群の構成要素を連続変数として、治療の有無を考慮せず、モデルに入れて再度検討したところ、女性において

もウエストおよび空腹時血糖がインスリン抵抗性と強く関連し、HDL もほぼ有意であった (表 6)。そこで、女性におけるメタボリック症候群のウエストの基準を 5cm 刻みに変化させて、同様にメタボリック症候群とインスリン抵抗性との関連を検討したところ (表 7)、90cm ではなく 80cm としたとき、メタボリック症候群のインスリン抵抗性に対するオッズ比が最大となった。このとき、メタボリック症候群の頻度は 11.1%、腹部肥満は 29.8% であった。男性においても同様に検討したところ、メタボリック症候群診断基準検討委員会による診断基準と同じウエスト 85cm でインスリン抵抗性のオッズ比が最大であった (表 8)。以上の検討より、メタボリック症候群診断基準にウエストを指標とした腹部肥満が含まれることに異存はないが、大迫女性においてはウエスト 90cm より厳しいウエストがメタボリック症候群の基準として適切ではないかと考えられた。

表4 メタボリック症候群の構成要素とインスリン抵抗性のオッズ比

	男性 (n=94)				女性 (n=235)			
	オッズ比	95%信頼区間	P	オッズ比	95%信頼区間	P		
年齢(10歳)	0.8	0.5	1.5	0.50	0.8	0.6	1.2	0.27
メタボリック症候群(あり=1,なし=0)	14.5	4.2	50.2	<.0001	1.8	0.2	20.7	0.62

表5 メタボリック症候群の構成要素とインスリン抵抗性のオッズ比

	男性 (n=94)				女性 (n=235)			
	オッズ比	95%信頼区間	P	オッズ比	95%信頼区間	P		
年齢(10歳)	0.8	0.4	1.5	0.49	0.7	0.5	1.0	0.08
腹部肥満(あり=1,なし=0)	6.9	2.0	23.7	0.002	0.7	0.1	6.5	0.74
脂質高値(あり=1,なし=0)	3.9	1.2	12.3	0.02	1.7	0.8	3.5	0.15
血圧高値(あり=1,なし=0)	0.4	0.1	1.7	0.23	1.8	0.8	3.6	0.13
血糖高値(あり=1,なし=0)	9.4	2.1	41.7	0.003	2.4	0.9	6.1	0.07

インスリン抵抗性: HOMA-R 1.73以上 端野・壮警町研究の基準(札幌医科大学)

腹部肥満、脂質高値、血圧高値および血糖高値についてはメタボリックシンドロームの診断基準を適用した。

腹部肥満: 男性85cm以上,女性90cm以上

脂質高値: 中性脂肪150 mg/dL以上またはHDL40 mg/dL未満または高脂血症治療中

血圧高値: 収縮期130、拡張期85mmHg以上または高血圧治療中

血糖高値: 空腹時高血糖110mg/dL以上または糖尿病治療中

表6 メタボリック症候群の構成要素(連続変数)とインスリン抵抗性のオッズ比

	男性 (n=94)			女性 (n=235)		
	オッズ比	95%信頼区間	P	オッズ比	95%信頼区間	P
年齢(10歳)	0.6	0.3 1.3	0.20	0.6	0.4 1.0	0.03
ウエスト(10cm)	2.2	1.0 4.9	0.04	2.6	1.6 4.3	0.0002
中性脂肪(10mg/dL)	1.0	0.9 1.1	0.80	1.0	1.0 1.1	0.57
HDL(10mg/dL)	0.8	0.5 1.3	0.37	0.8	0.6 1.0	0.059
随時収縮期血圧(10mmHg)	1.1	0.8 1.5	0.64	1.0	0.8 1.2	0.93
空腹時血糖(10mg/dL)	2.3	1.4 3.9	0.001	2.0	1.4 2.9	0.0002

インスリン抵抗性: HOMA-R 1.73以上 端野・壮瞥町研究の基準(札幌医科大学)  
治療の有無を考慮していない

表7 メタボリック症候群の構成要素とインスリン抵抗性のオッズ比(女性)

腹部肥満の基準 (ウエストcm)	メタボリック 症候群(%)	腹部肥満(%)	Waldのカイ二乗	インスリン 抵抗性の オッズ比	95%信頼区間	P
55	22.6	100	11.6	3.2	1.6 6.4	0.0011
60	22.1	98.7	12.1	3.3	1.6 6.7	0.0008
65	21.3	92.3	13.3	3.5	1.8 7.2	0.0004
70	19.6	74.5	15.8	4.1	2.0 8.3	0.0001
75	14.5	51.1	24.1	7.2	3.2 15.9	<.0001
80	11.1	29.8	23.3	8.9	3.6 22.0	<.0001
85	5.1	12.8	9.1	5.7	1.7 19.1	0.0044
90	1.3	2.1	1.4	1.8	0.2 20.7	0.62

インスリン抵抗性: HOMA-R 1.73以上 端野・壮瞥町研究の基準(札幌医科大学)  
年齢を補正している

表8 メタボリック症候群の構成要素とインスリン抵抗性のオッズ比(男性)

腹部肥満の基準 (ウエストcm)	メタボリック 症候群(%)	腹部肥満(%)	Waldのカイ二乗	インスリン 抵抗性の オッズ比	95%信頼区間	P
65	33.0	97.9	11.4	4.8	1.9 12.3	0.0012
70	33.0	93.6	11.4	4.8	1.9 12.3	0.0012
75	31.9	80.9	12.2	5.2	2.0 13.4	0.0007
80	24.5	60.6	14.4	7.1	2.5 20.0	0.0002
85	20.2	42.6	18.5	14.5	4.2 50.2	<.0001
90	11.7	18.1	10.5	12.9	2.6 65.1	0.0019
95	6.4	8.5	6.0	12.3	1.4 111.8	0.0259

インスリン抵抗性: HOMA-R 1.73以上 端野・壮瞥町研究の基準(札幌医科大学)  
年齢を補正している

## D, E. 考察および結論

高血圧診療の進歩により日本人の血圧レベルは着実に低下し、脳卒中死亡の減少を見た。しかしながら、脳梗塞の有病率は依然として高いままであり、医療経済の面からも国民に大きな負担を強いている。それどころか、今日、脳血管障害および虚血性心疾患は、本邦の死因の実に2位および3位を占める主要な疾患である。これは従来の高血圧、高脂血症、糖尿病などの危険因子にたいする個別のアプローチでは限界があることを示している。薬物治療の対象とならないような比較的軽度の危険因子であっても、それが集積することによって生ずる強力な危険因子：メタボリック症候群の把握、および厳格な管理が、予防医学における緊急の課題であることは明白である。その意味において、日本版メタボリック症候群診断基準は本邦のメタボリック症候群を標準化するための共通の基盤を与えるものであり非常に重要である。

高齢者が比較的多いコホートである大迫研究によれば、女性において日本版メタボリック症候群診断基準の適用が必ずしも適切ではないと考えられた。本邦の他のコホートおよび臨床現場においても、同様の検討が早急に必要であると考えられる。それはまた、本診断基準の成熟および普及に必須のプロセスであると考えられる。

結論として、日本版メタボリック症候群診断基準は大迫男性については適切であるが、大迫女性ではインスリン抵抗性があると考えられる対象を捉えられない可能性があると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

## 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



厚生労働科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)  
分担研究報告書

テーラーメイド医療に向けた新規遺伝子診断法の開発

分担研究者 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

### 研究要旨

高血圧・糖尿病の発症や病態に関連する遺伝子多型を臨床面で活用し、テーラーメイド(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。わたしたちはこれまでに、イムノクロマトグラフィー試験紙を用いて簡便に遺伝子型が判定できる遺伝子診断法を考案した。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。

### A. 研究目的

ゲノム研究の進展によって生活習慣病に関連した遺伝子多型(そのなかでもとくに SNP と呼ばれる1塩基多型)が次第に明らかにされつつある。これらの遺伝子多型を臨床面で活用し、遺伝子多型に応じたテーラーメイド生活指導を含む予防医療を確立するためには、臨床の場への遺伝子診断の導入が不可欠である。そこで必要となってくるのは、診療の場で簡便・迅速に実施することが可能な遺伝子検査法である。

現在、さまざまな遺伝子多型の検出法が知られているが、現時点では一般病院や診療所などの臨床の現場で施行が可能な SNP 検出法は存在しない。臨床の場で必要とされる SNP 検出には、専門的技術をもたない一般臨床検査技師・医師・看護師によって、短時間のうちにベッドサイドや外来診療の場で判定できることが求められる。

これまでに私たちは、CASSOH 法と命名した独自の SNP 検出法を開発した。この方法は、DNA を抽出することなく血液 0.5 $\mu$ l を直接使用し、2ステップの操作を行うだけの簡便・迅速

な手法である(Figure 1)(Hum Mutat 2003;22:166-172)。遺伝子多型の有無は、イムノクロマトグラフィー試験紙上に現れる紫色の判定線によって、肉眼的におこなわれる。手技的にはインフルエンザウイルス迅速検出検査などに極めてよく似ており、採血から2時間以内に SNP の遺伝子型判定が可能である。

本年度は、この CASSOH 法をさらに発展させるとともに、検体採取と処理にも新しい視点を取り入れて、よりすぐれた手法を開発した。

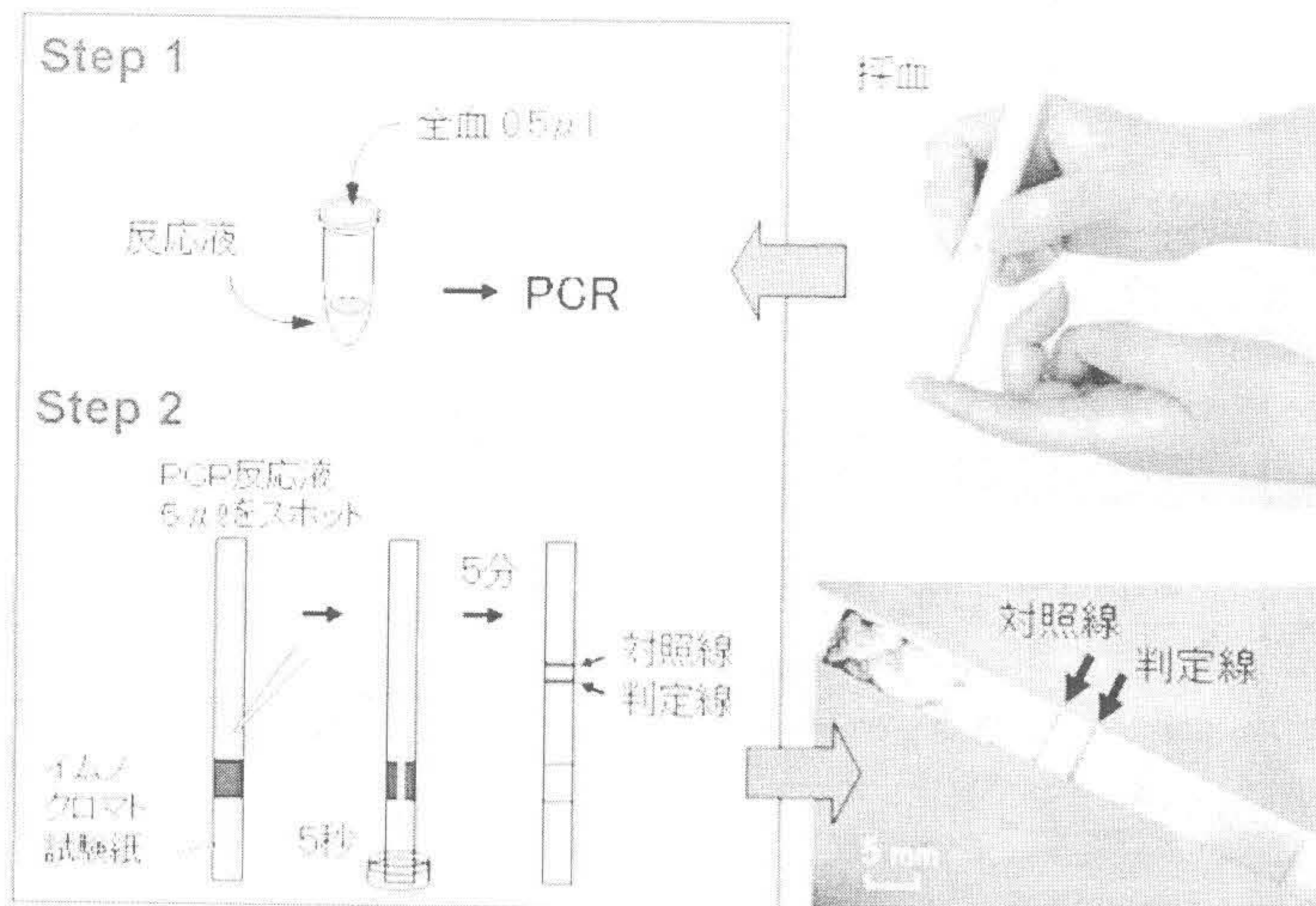
### B. 研究方法

- 1) CASSOH 法のマルチプレックス化について、ELISA を検出段階に用いた手法を検討した。
- 2) 血液ではなく、唾液を用いた非侵襲的な遺伝子診断法の検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、直接ヒトを対象とした研究を行うものではなく、また遺伝子解析そのものを目的とする研究を行うものでもない。本研究で標準検体 DNA を検査法の検定に用いることについては、すでに東北大学医学部倫理委員会の審査を受け、承認されている(承認番号

Figure 1 CASSOH法の原理



2003-105)。

### C. 研究結果

#### 1) CASSOH法のマルチプレックス化

CASSOH法の最終検出ステップに、イムノクロマトグラフィー試験紙ではなくイムノアフィニティーとELISA法を組み合わせた新しい手法を開発した (Figure 2,3)。ここでは、PCR反応液を「イムノチップ」上のメンブレンに吸着させ、試薬を順次加えることによって青の発色で多型の有無を検出する。チップには工夫が加えられており、添加された液はすべてメンブレン下部のパッドに吸収されるため、通常のELISAのように廃液を処理する必要がない。また、多数のイムノチップをケースに収納することによってマルチウェ

ルのフォーマットで用いることを可能にした (Figure 4)。

実際に薬理的遺伝子多型である NAT2\*7(857G>A)の検出を行なった例を示した (Figure 5)。

#### 2) 唾液による非侵襲的な遺伝子診断法の確立

採取した唾液1mlに、今回新たに開発した試薬1mlを混和し、10分間加熱処理を行なった (Figure 6、左)。その後、直接PCR反応液に混和することによって、目的とする遺伝子の増幅を行なうことが可能であった。従来のように血液から抽出操作を行なったDNA検体と比較して、ほとんど遜色なく遺伝子増幅が可能であることを確認した (Figure 6、右)。

Figure 2 CASSOH-ELISA法の原理

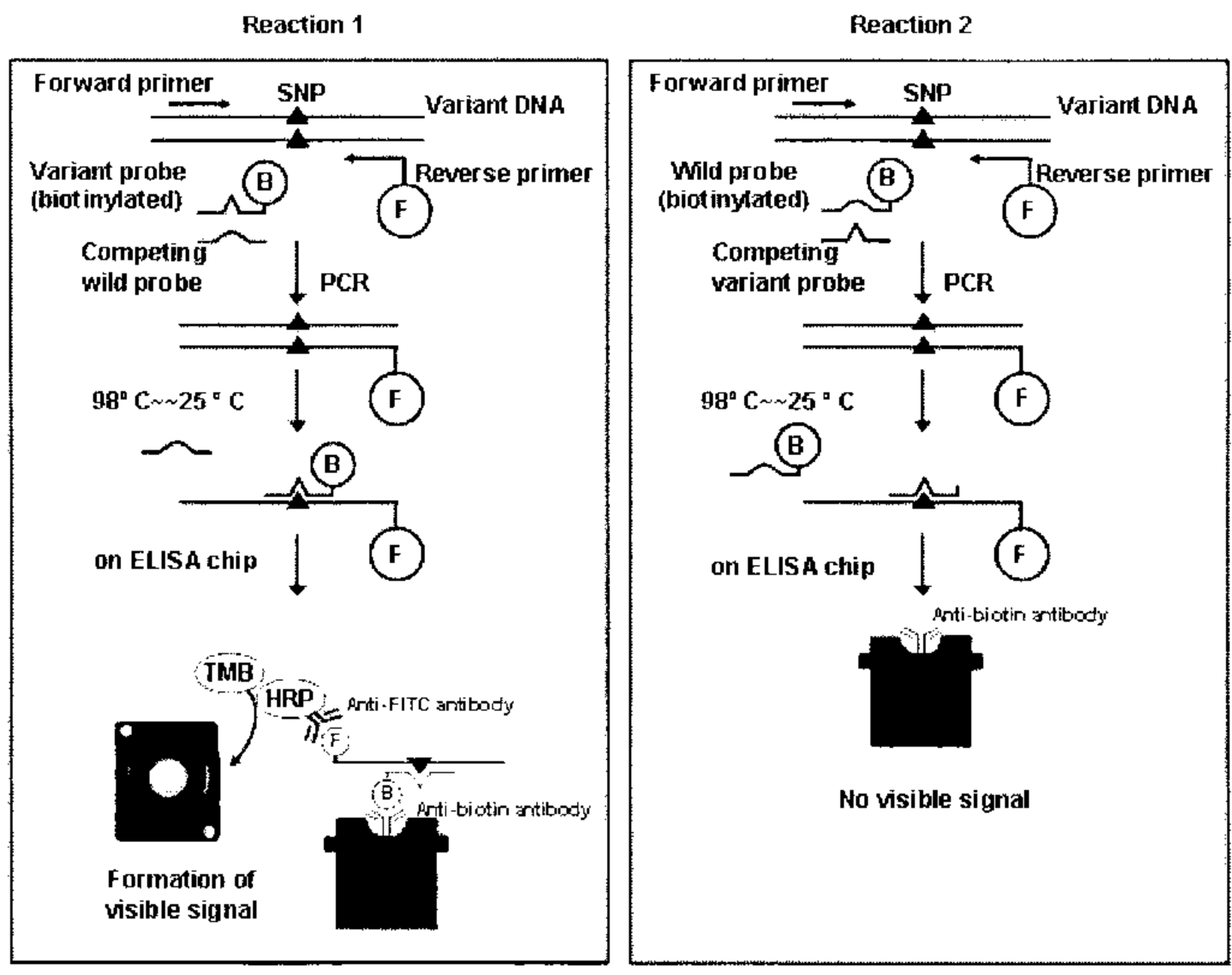


Figure 3 CASSOH-ELISA法の操作手順

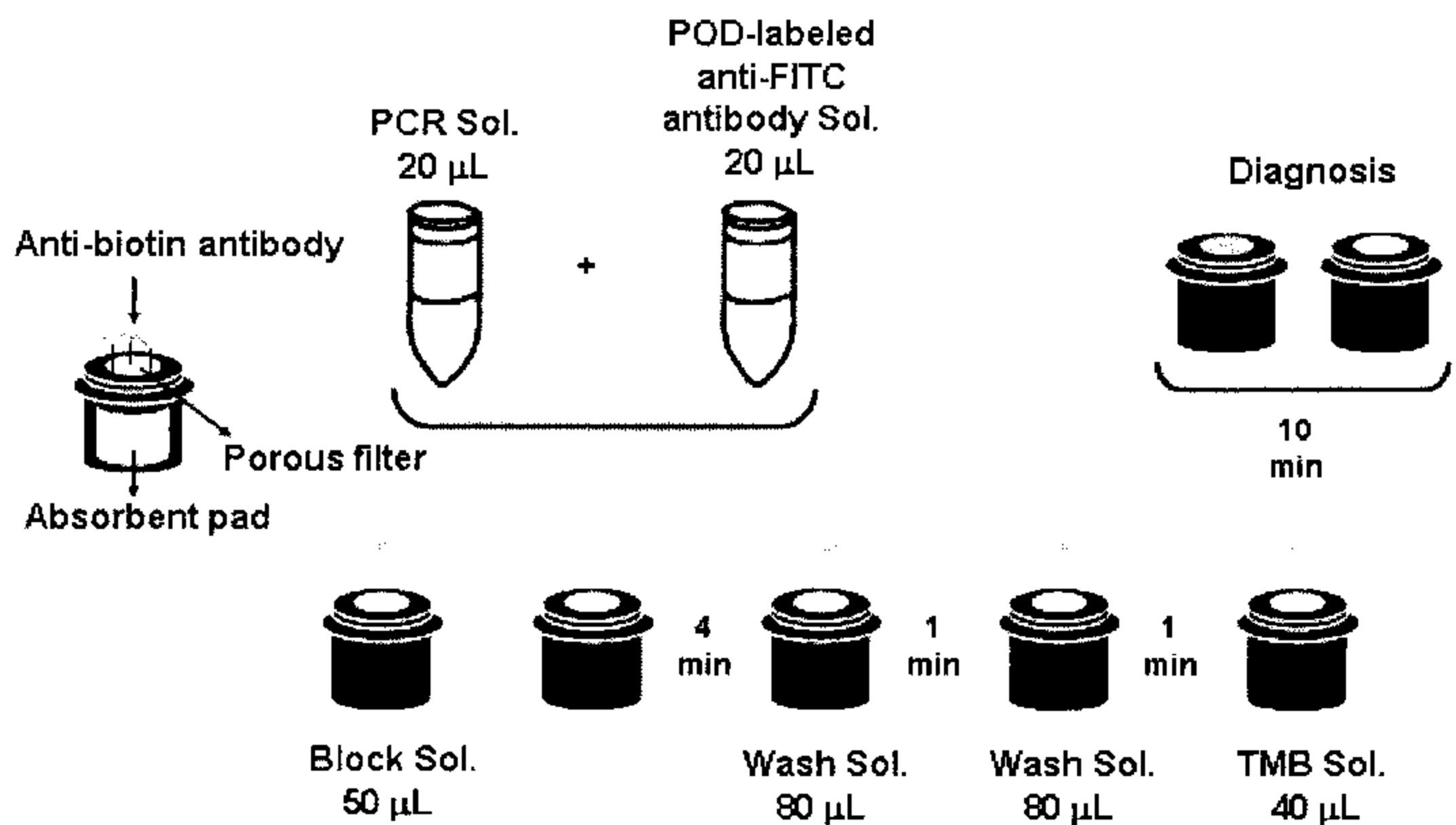


Figure 4 CASSOH-ELISAチップ/プレート

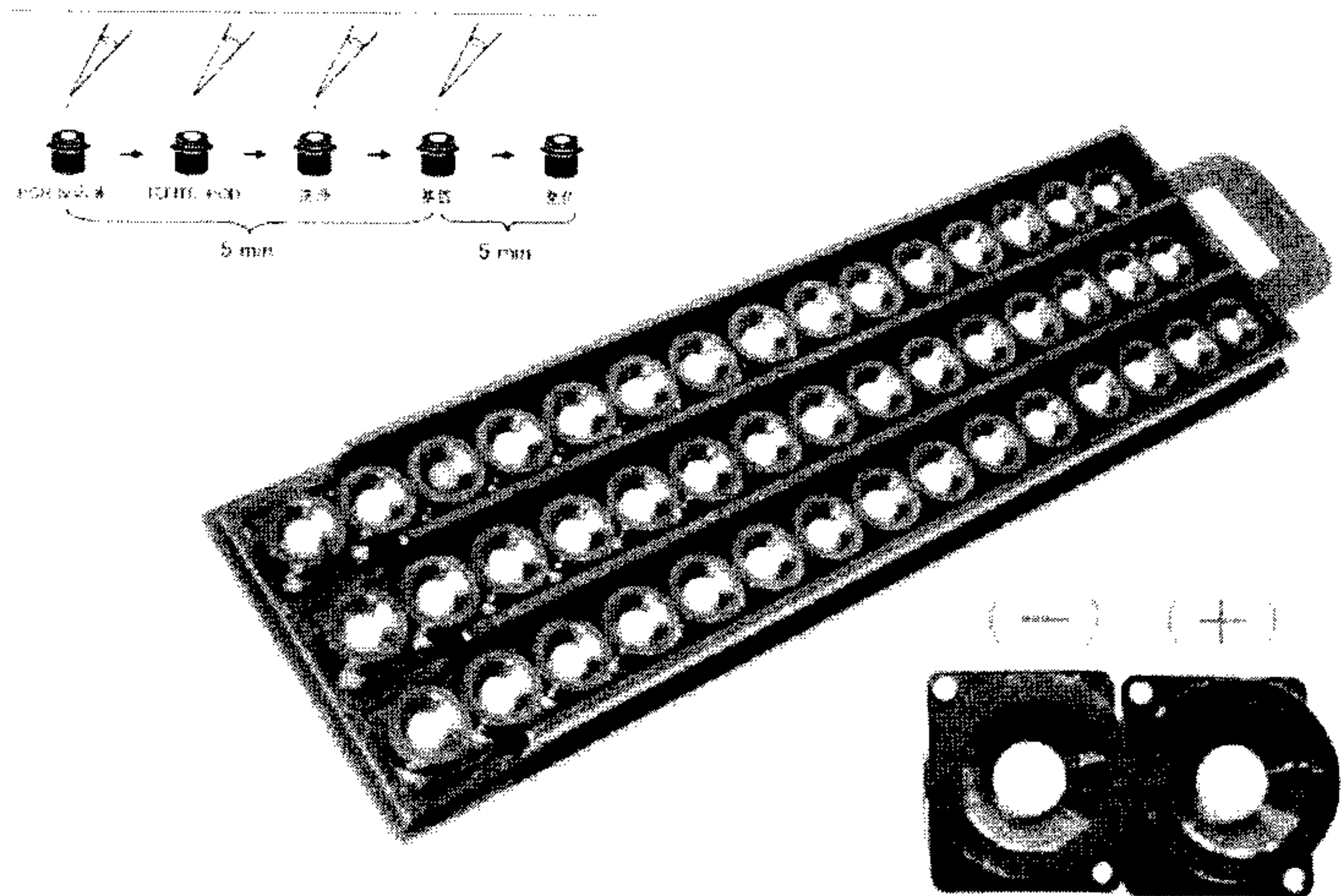


Figure 5 NAT2\*7 857G>Aの検出

DNA :	Normal	Variant
Probe :	Variant	Variant

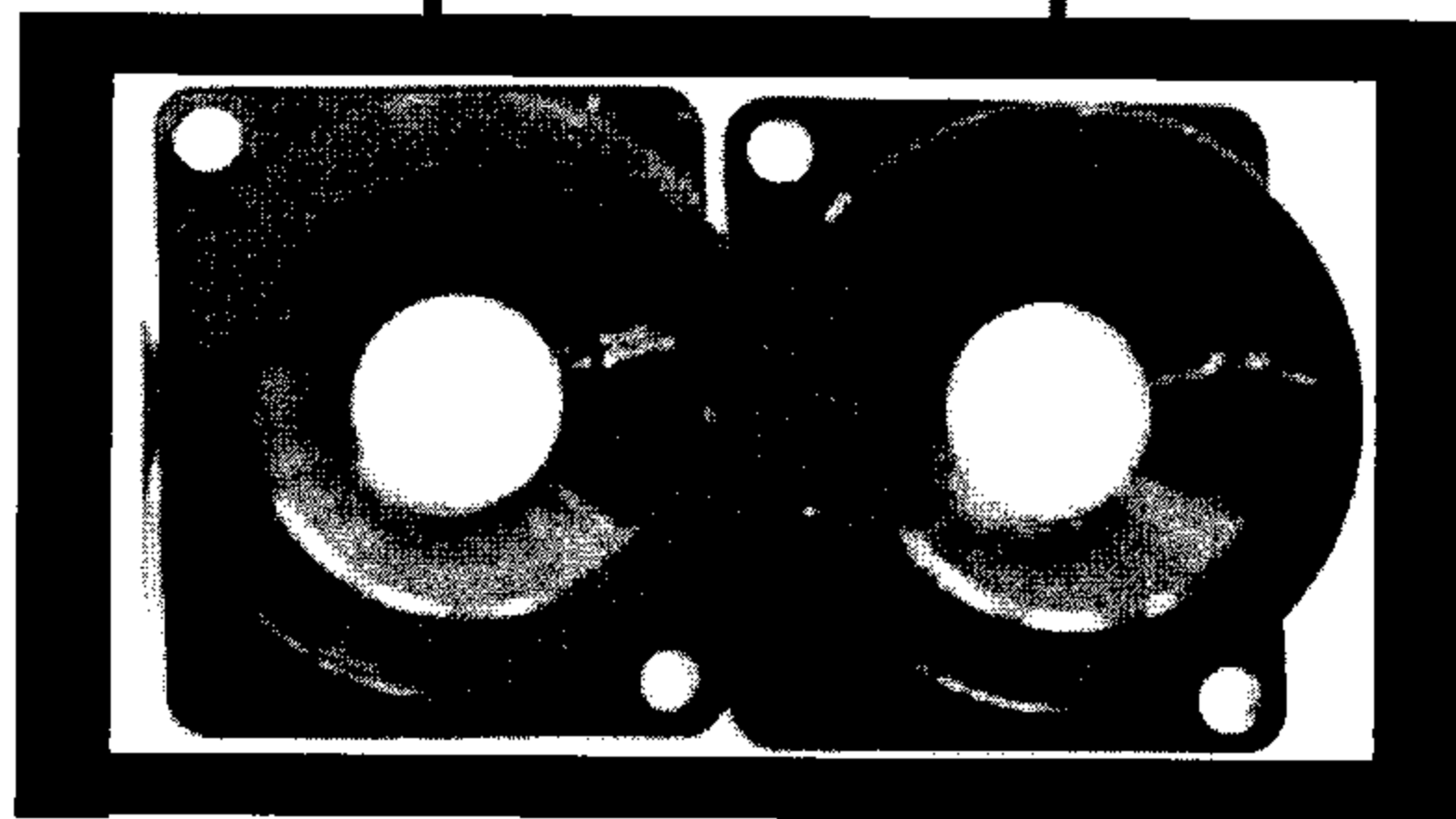
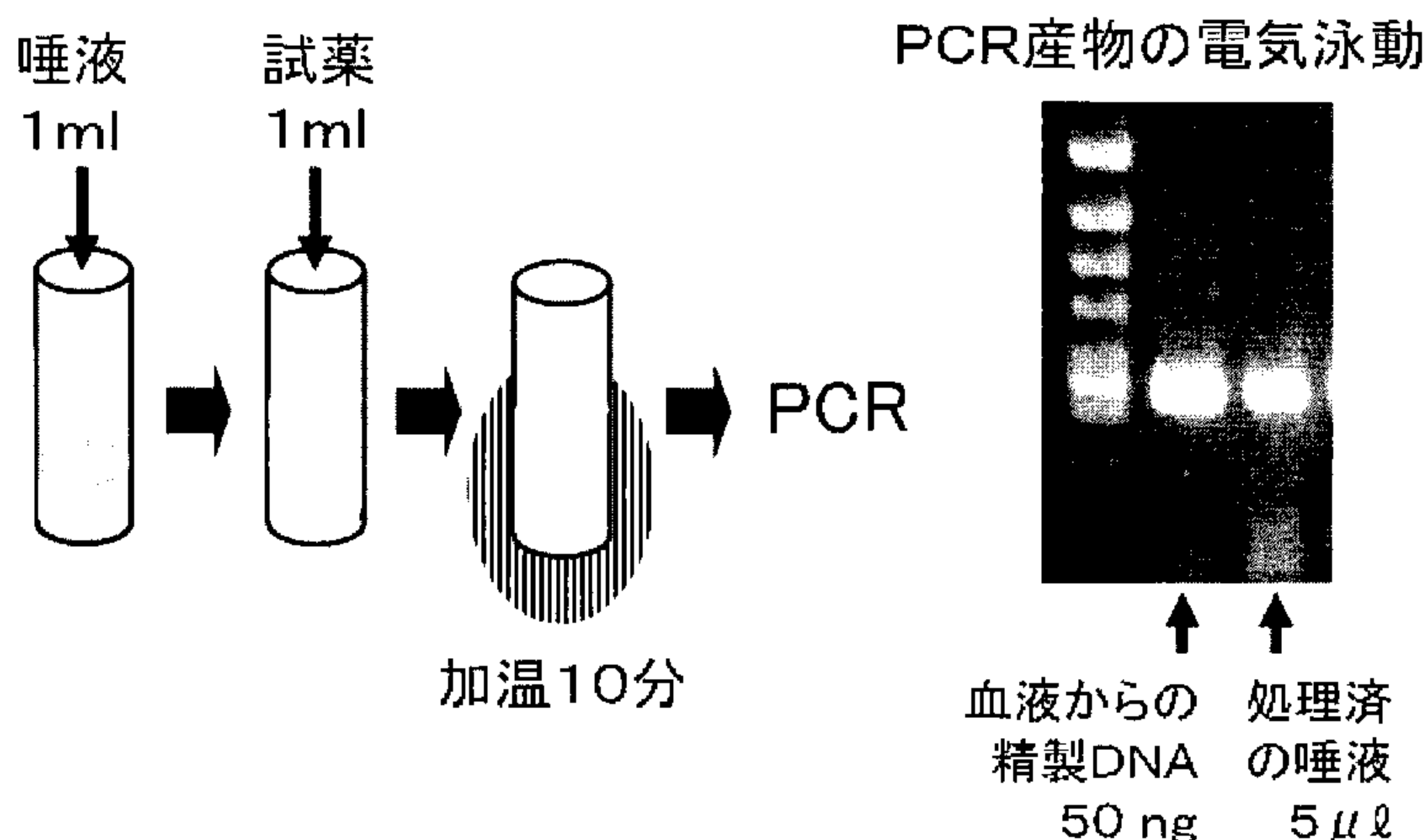


Figure 6 唾液からの簡易DNA調製



#### D. 考察

現在の遺伝子多型 (SNP) 検出法は、DNA チップをはじめヒトゲノム解析研究のために開発・研究された技術を基礎としており、分子遺伝学的手法に長けたテクニシャンによる高額な特殊機器の使用を前提としている。一般病院や診療所でそのような高額機器を導入することは難しく、また一般臨床検査技師を含む医療関係者が実施することは不可能に近い。

私たちはこれまでに簡便迅速な SNP 検出法である CASSOH 法を報告したが、1 試験紙で 1 回に 1 SNP しか検出することができなかった。臨床応用に当たっては、複数の遺伝子変異・多型の同時検出が必要なことも多い。例えば、薬理遺伝学的遺伝子多型では、ある薬剤の代謝に複数の遺伝子多型が関与していることも少なくない(例: NAT2 遺伝子多型)。

今回わたしたちが開発した CASSOH-ELISA 法はマルチウェルのフォーマットを用いることが可能で、一度に複数個の SNP を検出すること

ができる。ヒトゲノム研究の成果を臨床に還元するに際して有力な手法になるものと考えられる。

一方、従来の遺伝子検査には血液検体が用いられることが多く、その侵襲性ととも、肝炎・HIV 感染の危険が危惧される。頬粘膜から抽出した DNA が使用される場合もあるが、収量が極めて低く、また抽出操作が煩雑であった。今回わたしたちは、唾液の簡便な処理によって十分に PCR 増幅が行なえることを示した。このように非侵襲的な検体採取法によって、小児でも抵抗なく、また安全に遺伝子検査を普及することが期待できる。

#### E. 結論

新しく CASSOH-ELISA 法を開発することによって、複数の遺伝子多型の同時検出を可能とした。また、非侵襲的な検体採取・検体処理法を考案した。これらの方法を用い、臨床的有用性の高い疾患発症関連 SNP の検出系を確立

することにより、遺伝子型に応じたテーラーメイド生活指導を含む予防医療への展開が可能と考えられる。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

[1] 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.

[2] 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

[3] 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

[4] 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

[5] 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

[6] Dinopoulos A, Matsubara Y, Kure S: Atypical variants of nonketotic hyperglycinemia. *Mol Gene Metab* 86:61-69, 2005

[7] 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

[8] Suzuki Y, Yang X, Aoki Y, Kure S, Matsubara Y: Mutations in the holocarboxylase synthetase gene HLCS. *Hum Mutat* 26:285-290, 2005

[9] 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

[10] Niihori T, Aoki Y, Narumi Y, Neri G, Cave H, Verloes A, Okamoto N, Hennekam RC, Gillessen-Kaesbach G, Wieczorek 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.

[11] 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)

[12] Kure S, Kato K, Dinopoulos A, Gail C,

deGrauw TJ, Christodoulou J, Bzduch V, Kalmanchev 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)

## 2. 学会発表

[1] 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)

[2] 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

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohkubo T, et al.	The value of self-measured home blood pressure in predicting stroke.	Expert Review of Neurotherapeutics	6	163-173	2006
Metoki H, et al.	Prognostic significance for stroke of a morning pressor surge and a nocturnal blood pressure decline: the Ohasama Study.	Hypertension	47	149-154	2006
Hashimoto J, et al.	Enhanced radial late systolic pressure augmentation in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy.	American Journal of Hypertension	19	27-32	2006
Ohkubo T, et al.	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	46	508-515	2005
Kikuya M, et al.	Ambulatory blood pressure and 10-year risk of cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Ohasama study.	Hypertension	45	240-245	2005
Hashimoto J, et al.	Determinants of the second derivative of the finger photoplethysmogram and brachial-ankle pulse wave velocity: the Ohasama study.	American Journal of Hypertension	18	477-485	2005
Ugajin T, et al.	White-Coat hypertension as a risk factor for development of home hypertension: the Ohasama study.	Archives of Internal Medicine	165	1541-1546	2005
Asayama K, et al.	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	26	2026-2031	2005
Yamaguchi J, et al.	Factors affecting home-measured resting heart rate in the general population: The Ohasama Study.	American Journal of Hypertension	18	1218-1225	2005
Takahashi K, et al.	Expression of urocortin3/stresscopin in human adrenal glands and adrenal tumors.	Peptide	27	178-182	2006
Hirai M, et al.	WRN gene 1367 Arg allele protects against development of type 2 diabetes mellitus.	Diabetes Research Clinical Practice	69	287-292	2005
ISHigaki Y, et al.	Dissipating excess energy stored in the liver is a potential treatment strategy for diabetes associated with obesity.	Diabetes	54	322-332	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Imai J, et al.	Constitutively active PDX1 induced efficient insulin production in adult murine liver.	Biochem and Biophys Research Communication	326	402-409	2005
Iwasaki N, et al.	Genetic variants in the calpain-10 gene and the development of type 2 diabetes in the Japanese population.	J Human Genetics	50	92 -98	2005
Ueda K, et al.	Endoplasmic reticulum stress induces Wfs1 gene expression in pancreatic $\beta$ -cells via transcriptional activation.	European Journal Endocrinology	153	167-176	2005
Masuo K, et al.	Beta2- and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years.	Circulation	111	3429-3434	2005
Masuo K, et al.	Beta2-adrenoceptor polymorphisms relate to insulin resistance and sympathetic overactivity as early markers of metabolic disease in nonobese, normotensive individuals.	Am Journal Hypertension	18	1009-1014	2005
Masuo K, et al.	Rebound weight gain as associated with high plasma norepinephrine levels that are mediated through polymorphisms in the beta2-adrenoceptor.	Am Journal Hypertension	18	1508-1516.	2005
Iwashima Y, et al.	Association of hypoadiponectinemia with smoking habit in men.	Hypertension	45	1094-1100.	2005
Aoki Y, et al.	Germline mutations in HRAS proto-oncogene cause Costello syndrome.	Nature Genetics	37	1038-40	2005
Niihori T, et al.	Functional analysis of PTPN11/SHP-2 mutants identified in Noonan syndrome and childhood leukemia.	Journal of Human Genetics	50	192-202	2005
Otomo J, et al.	Electrophysiological and histopathological characteristics of progressive atrioventricular block accompanied by familial dilated cardiomyopathy caused by a novel mutation of lamin A/C gene.	Journal of Cardiovasc Electrophysiol	16	137-145	2005
Suzuki Y, et al.	Mutations in the holocarboxylase synthetase gene HLCS.	Human Mutation	26	285-290	2005
Niihori T, et al.	Germline KRAS and BRAF mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome.	Nature Genetics	38	294-6	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kurata M, et al.	Association between carotid hemodynamics and asymptomatic white and gray matter lesions in patients with essential hypertension.	Hypertension Research	28	797-803	2005
Manabe S, et al.	Association between carotid haemodynamics and inflammation in patients in patients with essential hypertension.	Journal of Human Hypertension	19	787-791	2005
Manabe S, et al.	Effects of angiotensin II receptor blockade with valsartan on pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension.	Journal of Cardiovascular Pharmacology	46	735-739	2005
Shigematsu Y, et al.	Relation of genetic predisposition and insulin resistance to left ventricular hypertrophy in hypertension.	American Journal of Hypertension	18	457-463	2005
Kurata A, et al.	Sex-related differences in relations of uric acid to left ventricular hypertrophy and remodeling in Japanese hypertensive patients.	Hypertension Research	28	133-139	2005
Ogimoto A, et al.	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