

腎機能低下に関わるリスク因子として年齢、BMI、血圧、血清総コレステロール値、HDL コレステロール値、中性脂質、空腹時血糖を評価した。加齢に伴う腎機能低下に関連する遺伝子として、高血圧や動脈硬化との関連性がある交感神経系より表に示す5遺伝子の多型を検討した。

統計解析

多型間の比較は、ANOVA を用いて行った。GLM を用いて他の危険因子による補正を行った。加齢に伴う腎機能変化に対する遺伝的影響は、年齢と遺伝子多型の交互作用として解析した。

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、動脈硬化性疾患、ならびに抗加齢に関する遺伝疫学研究」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。

表 3. ADRB1 遺伝子型と GFR

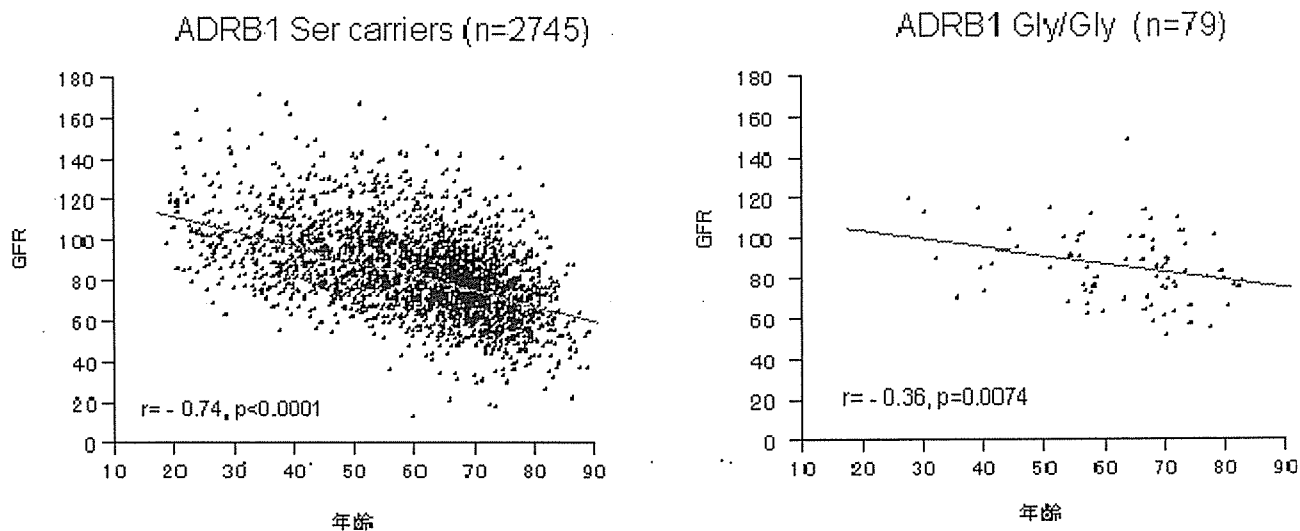
ADRB1 遺伝子型	N	GFR Mean	Std Dev
Ser/Ser	2023	82.8	20.6
Ser/Gly	720	82.9	20.3
Gly/Gly	79	84.6	17.5

遺伝子間の検定
Gene: p=0.0125
Gene*age: p=0.0086

Ser 優性モデルの検定 (Gly/Gly vs. Ser carriers)
Gene: p=0.0047
Gene*age: p=0.0027

表 4. 他の交絡因子を含む多変量解析 (GML)

因子	Type III SS	Mean Square	F	p
性別	36554.37516	36554.37516	127.45	<.0001
BMI	21581.38319	21581.38319	75.25	<.0001
Age	13566.15620	13566.15620	47.30	<.0001
空腹時血糖	6280.22222	6280.22222	21.90	<.0001
HDL コレステロール	3620.09269	3620.09269	12.62	0.0004
Age*ADRB149_3	3046.68658	3046.68658	10.62	0.0011
ADRB149_3	2603.94946	2603.94946	9.08	0.0026
総コレステロール	1793.37991	1793.37991	6.25	0.0125
収縮期血圧	1606.98002	1606.98002	5.60	0.0180
中性脂肪	396.65139	396.65139	1.38	0.2397



ANCOVA: $F[1, 2820]=7.199, p=0.0076$

図 1. ADRB1 Ser49Gly 多型と加齢に伴う腎機能変化

C. 研究結果

対象例の臨床的背景を表 2 にまとめる。全集団において、年齢と GFR との間には、 $r=-0.736$ ($p<0.0001$) の有意な負の相関が認められた。ADRB149 遺伝子多型が、GFR と有意な相関を示した。さらに、年齢との間にも有意な交互作用が認められた(表 3)(図 1)。他の交絡要因の影響を除外するため、GFR に対して、年齢以外に性別、BMI、収縮期血圧、総コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪、空腹時血糖、の要因を加味した多変量解析を行った。その結果、ADRB1 多型は、他の要因とは独立して、加齢に伴う腎機能低下に関連していることが示された(表 4)。

D. 考察

交感神経系遺伝子を用いた候補遺伝子的アプローチにより、アドレナリン $\beta 1$ 受容体遺伝子 (ADRB1 Ser49Gly) 多型が、糸球体濾過値の加齢性低下に関連していることが示された。Gly/Gly 多型群は、Ser carrier に比し、GFR が有意に高値を示した。さらに、年齢と GFR との回帰直線の傾きに 2 群間に有意な差が存在し、Gly/Gly 多型群では、Ser carrier に比し加齢に伴う腎機能低下が軽度であった。

ADRB1 Ser49Gly は、これまで安静時の心拍数や、

心不全例の β ブロッカー治療の反応性に関連することが報告されている。 β 受容体機能は、加齢とともに低下することが知られているが、 β 受容体の加齢変化に関連する腎機能変化に遺伝的要因が影響しているものと考えられる。

近年、軽度腎機能障害が心血管リスクとして重要であることが明らかにされており、本研究の見解は、心血管系リスク評価の面からも重要な知見であると考えられる。

E. 結論

ADRB1 Ser49Gly 多型が加齢による腎機能低下の遺伝的要因であることが示された。

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. Relationship between metabolic syndrome and Trp64arg

polymorphism of the beta-adrenergic receptor gene in a general sample: the Shigaraki study. *Hypertens Res.* 2006;29:891-6.

- Omi T, Kumada M, Kamesaki T, Okuda H, Munkhtulga L, Yanagisawa Y, Utsumi N, Gotoh T, Hata A, Soma M, Umemura S, Ogihara T, Takahashi N, Tabara Y, Shimada K, Mano H, Kajii E, Miki T, Iwamoto S. An intronic variable number of tandem repeat polymorphisms of the cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) gene modifies gene expression and is associated with essential hypertension. *Eur J Hum Genet.* 2006;14:1295-305.
- Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M. Mutation of the follicle-stimulating hormone receptor gene 5'-untranslated region associated with female hypertension. *Hypertension.* 2006;48:512-8.
- Yamamoto M, Jin JJ, Wu Z, Abe M, Tabara Y, Nagai T, Yamasaki E, Igase M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Interaction between serotonin 2A receptor and endothelin-1 variants in association with hypertension in Japanese. *Hypertens Res.* 2006;29:227-32.

2. 学会発表

The 70 th Anniversary Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society Nagoya, March 24-28, 2006 Japan

- Is interleukin-10 promoter polymorphism associated with life-span?; The Ohasama Study. Ogimoto A, Okura T, Okayama H, Ohtsuka T, Tabara Y, Kohara K, Miki T, Ohkubo T, Imi Y, Higaki J.

第 49 回日本腎臓学会、平成 18 年 6 月 14~16 日 東京

- 遺伝因子-環境因子相互作用、遺伝因子-遺伝因子相互作用を考慮した高血圧感受性遺伝子の探索、小原克彦・名倉 潤・田原康玄・三木哲郎

第 13 回日本遺伝子診療学会大会、平成 18 年 7 月 28~29 日 東京

- Endothelin-1 -134delA 遺伝子多型と遺伝子発現の関連性、山本美由紀、名倉潤、安部道子、田原康玄、小原克彦、三木哲郎
- アルデヒド脱水素酵素遺伝子多型と血圧上昇ならびに動脈硬化との関連、田原康玄、小原克彦、山本美由紀、名倉潤、三木哲郎
- Dual-Luciferase Assay 法による SCNN1A A2139G 多型の遺伝子発現の検討、安部道子、名倉潤、山本美由紀、田原康玄、小原克彦、三木哲郎

The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension Fukuoka, October 15-19, 2006, Japan

- Genome-wide association mapping for essential hypertension with high-density microsatellite markers. Yatsu K, Hirawa N, Ogawa M, Soma M, Hata A, Nakao K, Ueshima H, Ogihara T, Tomoike H, Kimura A, Tabara Y, Miki T, Oka A, Inoko H, Umemura S
- Elevated Plasma HDL-cholesterol Levels By CETP Gene Polymorphism And Atherosclerosis; The J-SHIP Study. Guo H, Tabara Y, Tachibana-Iimori R, Yamamoto M, Nakura J, Miki T, Kohara K
- Relationship between the metabolic syndrome and Trp64Arg polymorphism of the β 3 adrenergic receptor gene in a general sample (The Shigaraki Study). Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H
- Functional Analysis of SCNN1A A2139G Polymorphism in the Promoter Region for

Their Expression in vitro. Abe M, Nakura J, Yamamoto M, Tabara Y, Kohara K, Miki T

- Association of Endothelin-2 Gene Polymorphism with Hypertension. Abe M, Nakura J, Yamamoto M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
- Association of -134delA Polymorphism with Endothelin-1 Gene Expression. Nakura J, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
- The Effects of Leptin Receptor Gene Polymorphism on Visceral Fat Accumulation and Blood Pressure. Ogawa M, Hirawa N, Shiwa T, Endo T, Umemura M, Yatsu K, Saka S, Tamura K, Ishigami T, Yasuda G, Toya Y, Tabara Y, Miki T, Tokunaga K, Umemura S
- Functional mutation of the 5' untranslated region of the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene associated with female essential hypertension. Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M

日本人類遺伝学会第 51 回大会、平成 18 年 10 月
17～22 日 米子

- 女性の本態性高血圧発症と TNFRSF4 遺伝子、真下洋一・鈴木洋一・鳥羽加寿子・田原康玄・三木哲郎・徳永勝士・羽田明

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Catalase 遺伝子多型と高血圧との相関

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 Catalase 遺伝子のプロモーター領域に存在する C-844T 多型と本態性高血圧との関連を検討した。その結果、高血圧に関し Catalase 遺伝子 C-844T 多型 (TT+TC/CC) と中性脂肪の間に名目上有意な交互作用が認められたが、Catalase 遺伝子 C-844T 多型と高血圧の間には有意な相関がみとめられなかった。

A. 研究目的

高血圧は最も有病率の高い疾患の一つであり、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ることから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。活性酸素がもたらす血管内皮の損傷、血栓形成や内膜肥厚および炎症は結果的に動脈硬化、高血圧を引き起こす要因であると言われており、抗酸化酵素である Catalase は活性酸素の影響を軽減することから、高血圧の発症に関与する可能性がある。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 Catalase 遺伝子のプロモーター領域に存在する C-844T 多型と本態性高血圧との関連を検討した。

B. 研究方法

対対象は、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 2500 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、詳細なアンケート

調査から生活習慣の情報を得た。対象者の DNA は末梢血より定法に則って抽出した。Catalase 遺伝子 C-844T 多型は MGB プローブによる TaqMan PCR 法で決定した。解析に用いたプライマー/プローブの配列を以下に示す。

Catalase 遺伝子 C-844T 多型

プローブ Fam -ATTTTACTCCCAGGTAAG- MGB
Vic - CCAAATTTTACCCCCAGGT- MGB
プライマー 5'-AAGACACAAAGCTTTTCAAATTCCT-3'
5'-TGGCTTCTTAAACACTGGAGAAAT-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、動脈硬化性疾患、ならびに抗加齢に関する遺伝疫学研究」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

Catalase 遺伝子 C-844T 多型と高血圧との関連を表 1 に示した。アリル (T/C) および遺伝子型についてカイ自乗検定を行った結果、ともに有意

性は示されなかった。また、TT+TC/CC 遺伝子型と中性脂肪の間で有意な交互作用が示され、中性脂肪 150mg/d l 以上の高中性脂肪者では、平均収縮期血圧値が TT+TC 遺伝子型は CC 遺伝子型に対して有意に高く (137.8mmHg、135.7mmHg、p

=0.03)、正常中性脂肪者では差が認められなかった (130.0mmHg、129.6mmHg、p=0.30) (表 2)。

表 1 Catalase 遺伝子 C-844T 多型と高血圧との関連

	高血圧者群 (688)	健常者群 (1563)	P値	オッズ比	95% 信頼区間
CAT 遺伝子型					
TT	106 (15.4%)	218 (13.9%)	0.32		
TC	320 (46.5%)	718 (45.9%)			
CC	262 (38.1%)	627 (40.1%)			
TT+TC	426 (61.9%)	936 (59.9%)	0.17	0.88	0.72-1.05
CC	262 (38.1%)	627 (40.1%)			
TT	106 (15.4%)	218 (13.9%)	0.30	0.87	0.67-1.14
TC+CC	582 (84.6%)	1345 (86.1%)			
CAT アリル					
T	532 (38.7%)	1154 (36.9%)	0.27	0.93	0.82-0.95
C	844 (61.3%)	1972 (63.1%)			

表 2 中性脂肪に関する層別化と血圧値と遺伝子型の相関解析

	収縮期血圧値 (mmHg)		拡張期血圧値 (mmHg)	
	平均値	P値	平均値	P値
中性脂肪 150 mg/dl 未満				
TT+TC	130.1 (15.4)	0.341	75.6 (9.2)	0.177
CC	129.6 (15.4)		75.2 (9.1)	
中性脂肪 150 mg/dl 以上				
TT+TC	137.7 (15.6)	0.030	80.4 (9.3)	0.076
CC	135.7 (15.5)		79.4 (9.3)	
全対象者				
TT+TC	132.5 (15.9)	0.050	77.1 (9.5)	0.038
CC	131.5 (15.7)		76.5 (9.4)	

D. 考察

本研究では、Catalase 遺伝子 C-844T 多型のアリル、遺伝子型、ともに高血圧に対し有意な相関はみとめられなかった。また、TT+TC/CC 遺伝子型と中性脂肪の間で名目上有意な交互作用が示され、T アリルキャリアは中性脂肪 150mg/d l 以上の条件下で平均収縮期血圧値が CC 遺伝子型を有意に上回る傾向が示されたが、抗酸化酵素である Catalase が活性酸素の影響を軽減して高血圧に影響する作用と中性脂肪の間の関係についての十分なエビデンスが存在しないため、偶然の結果とも考えられる。したがって中性脂肪、

Catalase、活性酸素および高血圧の関係につき、今後のさらなる生物学的研究が必要であると考えられる。

E. 結論

高血圧に関し Catalase 遺伝子 C-844T 多型 (TT+TC/CC) と中性脂肪の間に名目上有意な交互作用がみとめられ、T アリルキャリアは中性脂肪 150mg/d l 以上の条件下で平均収縮期血圧値が CC 遺伝子型を有意に上回る傾向が示されたが、Catalase 遺伝子 C-844T 多型と高血圧との間には

有意な相関がみとめられなかった。中性脂肪、Catalase、活性酸素および高血圧の関係については、今後のさらなる生物学的研究が必要であると考えられる。

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. Relationship between metabolic syndrome and Trp64arg polymorphism of the beta-adrenergic receptor gene in a general sample: the Shigaraki study. *Hypertens Res.* 2006;29:891-6.
- Omi T, Kumada M, Kamesaki T, Okuda H, Munkhtulga L, Yanagisawa Y, Utsumi N, Gotoh T, Hata A, Soma M, Umemura S, Ogihara T, Takahashi N, Tabara Y, Shimada K, Mano H, Kajii E, Miki T, Iwamoto S. An intronic variable number of tandem repeat polymorphisms of the cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) gene modifies gene expression and is associated with essential hypertension. *Eur J Hum Genet.* 2006;14:1295-305.
- Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M. Mutation of the follicle-stimulating hormone receptor gene 5'-untranslated region associated with female hypertension. *Hypertension.* 2006;48:512-8.
- Yamamoto M, Jin JJ, Wu Z, Abe M, Tabara Y, Nagai T, Yamasaki E, Igase M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Interaction between serotonin 2A receptor and endothelin-1 variants in association with hypertension in Japanese. *Hypertens Res.* 2006;29:227-32.

2. 学会発表

The 70 th Anniversary Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society Nagoya, March 24-28, 2006 Japan

- Is interleukin-10 promoter polymorphism associated with life-span?; The Ohasama Study. Ogimoto A, Okura T, Okayama H, Ohtsuka T, Tabara Y, Kohara K, Miki T, Ohkubo T, Imi Y, Higaki J.

第 49 回日本腎臓学会、平成 18 年 6 月 14~16 日 東京

- 遺伝因子-環境因子相互作用、遺伝因子-遺伝因子相互作用を考慮した高血圧感受性遺伝子の探索、小原克彦・名倉 潤・田原康玄・三木哲郎

第 13 回日本遺伝子診療学会大会、平成 18 年 7 月 28~29 日 東京

- Endothelin-1 -134delA 遺伝子多型と遺伝子発現の関連性、山本美由紀、名倉潤、安部道子、田原康玄、小原克彦、三木哲郎
- アルデヒド脱水素酵素遺伝子多型と血圧上昇ならびに動脈硬化との関連、田原康玄、小原克彦、山本美由紀、名倉潤、三木哲郎
- Dual-Luciferase Assay 法による SCNN1A A2139G 多型の遺伝子発現の検討、安部道子、名倉潤、山本美由紀、田原康玄、小原克彦、三木哲郎

The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension Fukuoka, October 15-19, 2006, Japan

- Genome-wide association mapping for essential hypertension with high-density microsatellite markers. Yatsu K, Hirawa N, Ogawa M, Soma M, Hata A, Nakao K, Ueshima H, Ogihara T, Tomoike H, Kimura A, Tabara Y, Miki T, Oka A, Inoko H, Umemura S

- Elevated Plasma HDL-cholesterol Levels By CETP Gene Polymorphism And Atherosclerosis; The J-SHIP Study. Guo H, Tabara Y, Tachibana-Iimori R, Yamamoto M, Nakura J, Miki T, Kohara K
 - Relationship between the metabolic syndrome and Trp64Arg polymorphism of the $\beta 3$ adrenergic receptor gene in a general sample (The Shigaraki Study). Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H
 - Functional Analysis of SCNN1A A2139G Polymorphism in the Promoter Region for Their Expression in vitro. Abe M, Nakura J, Yamamoto M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
 - Association of Endothelin-2 Gene Polymorphism with Hypertension. Abe M, Nakura J, Yamamoto M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
 - Association of -134delA Polymorphism with Endothelin-1 Gene Expression. Nakura J, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
 - The Effects of Leptin Receptor Gene Polymorphism on Visceral Fat Accumulation and Blood Pressure. Ogawa M, Hirawa N, Shiwa T, Endo T, Umemura M, Yatsu K, Saka S, Tamura K, Ishigami T, Yasuda G, Toya Y, Tabara Y, Miki T, Tokunaga K, Umemura S
 - Functional mutation of the 5' untranslated region of the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene associated with female essential hypertension. Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogiwara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M
- 17~22日 米子
- 女性の本態性高血圧発症と TNFRSF4 遺伝子、真下洋一・鈴木洋一・鳥羽加寿子・田原康玄・三木哲郎・徳永勝士・羽田明
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

日本人における INSIG2 rs7566605 遺伝子多型と肥満との相関

分担研究者 田原 康 玄 愛媛大学大学院医学系研究科統合医科学・講師

研究要旨

最近、白人を対象に見出された肥満感受性遺伝子多型（INSIG2 遺伝子 rs7566605 多型）について、日本人における再現性を検討した。愛媛県下の一般地域住民 1976 例を対象に検討したところ、BMI や肥満の有無と当該遺伝子多型とに有意な相関は認められなかった。肥満に関連する血液成分であるアディポネクチンやインスリン抵抗性の指標である HOMA 指数とも有意差は認められなかった。当該遺伝子多型は日本人においてマイナーアレル頻度が低いことから、肥満の感受性遺伝子多型とはなり得ないことが示された。

A. 研究目的

肥満、特に内臓脂肪の蓄積は、インスリン抵抗性を介して高血圧や耐糖能異常等を引き起こす。これらの病態は心血管系イベントの重要な危険因子であることから、肥満の感受性遺伝子解析が世界的になされてきた。最近、白人において INSIG2 遺伝子の上位に位置する rs7566605 多型が肥満と相関することが報告された。

多因子疾患の成因には多くの遺伝因子と環境因子とが複雑に交絡している。また、一つ一つの遺伝因子の影響力は比較的弱く、その総和として肥満や疾患発症と関連していることから、感受性遺伝子を同定する上では、独立した複数の集団で再現性が確認されることが必須である。その点、INSIG2 rs7566605 多型については、別の 4 集団で再現性が確認されており、今までの報告と比べると信頼性が極めて高い。

しかし、対象集団が白人または黒人に限られており、日本人をはじめとするアジア人での検討成績は報告されていない。また肥満には食事などの生活習慣が重要な影響力を持つが、日本の食生活はアメリカやヨーロッパのそれと大きく異なる。加えて遺伝子多型によっては、その頻度が白人とアジア人で大きく異なることも既知である。このような背景から、日本人において当該遺伝子多型の肥満感受性に関する検討が必要不可欠である。

そこで本研究では、愛媛県下の一般地域住民を

対象に、INSIG2 遺伝子 rs7566605 多型と肥満との関連を検討した。

B. 研究方法

対象は、愛媛県下でコホート設定している A 町住民のうち、老人保健法に基づく一般住民検診を受診し、かつ本研究の趣旨に同意の得られた約 3000 例とした。このうち、遺伝子解析に加え、肥満に関連する血液成分の測定を行った 1976 例を解析対象とした。

対象者の一般臨床検査所見は健診時の検査値を利用した。加えて、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。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、動脈硬化性疾患、ならびに抗加齢に関する遺伝疫学研究」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。

表1 対象者の基本属性

	Male (860)	Female (1116)
Age (years)	61±14	63±12
BMI (kg/m ²)	24±3	23±3
Frequency of obesity		
BMI ≥ 25 (%)	30.0	30.5
BMI ≥ 30 (%)	2.8	3.7
Systolic BP (mmHg)	141±20	139±23
Diastolic BP (mmHg)	85±11	80±12
Total cholesterol (mg/dl)	193±34	211±32
HDL cholesterol (mg/dl)	58±15	65±16
Triglyceride (mg/dl)	126±100	103±54
Fasting blood glucose (mg/dl)	101±24	96±19
Medication for Hypertension (%)	24.1	25.8
Diabetes mellitus (%)	4.0	3.3
Hyperlipidemia (%)	4.2	6.7
Smoking (current/ past/ never (%))	34.7/26.2/39.1	1.7/1.0/97.3
Alcohol consumption (units)	0.9±1.0	0.1±0.3

表2 rs7566605多型とBMIおよび肥満

	SNP rs7566605			p value (GG/GC/CC)		p value (GG+GC/CC)	
	GG	GC	CC	crude	age- adjusted	crude	age- adjusted
Male (n)	(382)	(364)	(114)				
BMI (kg/m ²)	24±3	24±3	24±3	0.462	0.467	0.231	0.238
Obesity BMI ≥ 25 (%)	29.3	31.0	28.9	0.846		0.827	
BMI ≥ 30 (%)	2.9	2.7	2.6	0.988		0.999	
Female (n)	(469)	(509)	(138)				
BMI (kg/m ²)	23±3	23±3	23±3	0.879	0.867	0.617	0.611
Obesity BMI ≥ 25 (%)	31.1	30.6	27.5	0.717		0.489	
BMI ≥ 30 (%)	3.0	4.5	2.9	0.389		0.809	

表3 rs7566605多型と肥満/インスリン抵抗性関連血液成分

	SNP rs7566605			p value (GG/GC/CC)	p value (GG+GC/CC)
	GG	GC	CC		
Male					
HDL-cholesterol (mg/dl)	59±15	58±15	59±16	0.873	0.885
Triglyceride (mg/dl)	124±104	126±96	135±94	0.581	0.318
Fasting blood glucose (mg/dl)	102±24	101±25	100±21	0.649	0.381
HMW adiponectin (μg/ml)	4.3±3.1	3.9±2.5	3.9±2.6	0.165	0.415
Resistin (mg/dl)	10.9±7.1	11.3±7.3	10.4±5.6	0.481	0.331
HOMA-IR	1.6±1.5	1.6±1.8	1.7±1.7	0.767	0.474
haCRP (mg/dl)	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.1	0.245	0.173
Female					
HDL-cholesterol (mg/dl)	64±16	65±15	66±17	0.103	0.298
Triglyceride (mg/dl)	107±56	102±54	99±46	0.241	0.336
Fasting blood glucose (mg/dl)	95±16	97±22	98±20	0.276	0.258
HMW adiponectin (μg/ml)	7.8±4.9	7.5±4.2	7.8±5.1	0.475	0.685
Resistin (mg/dl)	12.1±6.5	11.9±7.1	12.3±7.7	0.748	0.630
HOMA-IR	1.8±1.4	1.8±1.7	1.9±2.4	0.809	0.527
hsCRP (mg/dl)	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	0.689	0.797

C. 研究結果

対象者の臨床背景を表1に示した。平均のBMIは白人を対象とした既報より低値であった。肥満者の頻度 (BMI 30 kg/m² 以上、あるいは 25 kg/m² 以上) も白人より低値であった。

rs7566605 多型のアレル頻度は、G; 0.652, C; 0.348 でありハーディーウエイベルグの法則に一致していた。既報の白人における頻度とにも有意差は認められなかったが、肥満のリスクアレルであるCアレルの頻度が日本人でやや高値であった。

rs7566605 多型とBMIならびに肥満との相関を表2に示した。男女とも、当該遺伝子多型と肥満とに有意な相関は認められなかった。男女含めた解析や、40代から70代までの年齢階級別解析でも同様に有意差は認められなかった。

遺伝子多型間で肥満 (BMI ≥ 30 kg/m²) の頻度に有意差は認められなかった (GG; 2.9%, GC; 3.8%, CC; 2.8%, p=0.549) (表2)。これは肥満の定義を (BMI ≥ 25kg/m²) とした場合でも同様であった (GG; 30.3%, GC; 30.8%, CC; 28.2%, p=0.729) (表2)。

内臓脂肪の蓄積やインスリン抵抗性の血中指標と遺伝子多型との相関を検討した (表3)。ア

ディポネクチンは内臓脂肪に比例して減少することが知られている。HOMA 指数やレジスチンはインスリン抵抗性の指標として、高感度CRPは炎症マーカーとなる。しかしながら、これら指標はいずれもrs7566605多型と有意な相関を示さなかった。

D. 考察

本研究の優位性は、rs7566605多型と肥満との関連を、BMIなどの身体的指標のみならず、関連する血中マーカーを含めて検討したことにある。

アディポネクチンは内臓脂肪の蓄積を反映する指標である。本研究で当該遺伝子多型とアディポネクチンとに相関が認められなかったことは、この多型が、BMIなどの体格指標のみならず、脂肪の蓄積とも相関しない可能性を示唆するものである。

欧米人と日本人とで、多型と肥満度との相関に乖離が見られた一つの理由として、対象者のBMIの分布の差が挙げられる。既報でも指摘されているように、当該遺伝子多型の肥満感受性は、特に過体重例で顕著である。この点、日本人の体重分布は、欧米人に比して低値側に寄ることから

rs7566605 多型が日本人において肥満感受性を示さなかったものと推察される。

E. 結論

INSIG2 遺伝子 rs7566605 多型は、日本人において肥満感受性遺伝子多型とはならないことが示された。

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. Relationship between metabolic syndrome and Trp64arg polymorphism of the beta-adrenergic receptor gene in a general sample: the Shigaraki study. *Hypertens Res.* 2006;29:891-6.
- Omi T, Kumada M, Kamesaki T, Okuda H, Munkhtulga L, Yanagisawa Y, Utsumi N, Gotoh T, Hata A, Soma M, Umemura S, Ogihara T, Takahashi N, Tabara Y, Shimada K, Mano H, Kajii E, Miki T, Iwamoto S. An intronic variable number of tandem repeat polymorphisms of the cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) gene modifies gene expression and is associated with essential hypertension. *Eur J Hum Genet.* 2006;14:1295-305.
- Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M. Mutation of the follicle-stimulating hormone receptor gene 5'-untranslated region associated

with female hypertension. *Hypertension.* 2006;48:512-8.

- Yamamoto M, Jin JJ, Wu Z, Abe M, Tabara Y, Nagai T, Yamasaki E, Igase M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Interaction between serotonin 2A receptor and endothelin-1 variants in association with hypertension in Japanese. *Hypertens Res.* 2006;29:227-32.

2. 学会発表

The 70 th Anniversary Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society Nagoya, March 24-28, 2006 Japan

- Is interleukin-10 promoter polymorphism associated with life-span?; The Ohasama Study. Ogimoto A, Okura T, Okayama H, Ohtsuka T, Tabara Y, Kohara K, Miki T, Ohkubo T, Imi Y, Higaki J.

第 49 回日本腎臓学会、平成 18 年 6 月 14~16 日 東京

- 遺伝因子-環境因子相互作用、遺伝因子-遺伝因子相互作用を考慮した高血圧感受性遺伝子の探索、小原克彦・名倉 潤・田原康玄・三木哲郎

第 13 回日本遺伝子診療学会大会、平成 18 年 7 月 28~29 日 東京

- Endothelin-1 -134delA 遺伝子多型と遺伝子発現の関連性、山本美由紀、名倉潤、安部道子、田原康玄、小原克彦、三木哲郎
- アルデヒド脱水素酵素遺伝子多型と血圧上昇ならびに動脈硬化との関連、田原康玄、小原克彦、山本美由紀、名倉潤、三木哲郎
- Dual-Luciferase Assay 法による SCNN1A A2139G 多型の遺伝子発現の検討、安部道子、名倉潤、山本美由紀、田原康玄、小原克彦、三木哲郎

The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension Fukuoka, October 15-19, 2006, Japan

- Genome-wide association mapping for essential hypertension with high-density microsatellite markers. Yatsu K, Hirawa N, Ogawa M, Soma M, Hata A, Nakao K, Ueshima H, Ogihara T, Tomoike H, Kimura A, Tabara Y, Miki T, Oka A, Inoko H, Umemura S
 - Elevated Plasma HDL-cholesterol Levels By CETP Gene Polymorphism And Atherosclerosis; The J-SHIP Study. Guo H, Tabara Y, Tachibana-Iimori R, Yamamoto M, Nakura J, Miki T, Kohara K
 - Relationship between the metabolic syndrome and Trp64Arg polymorphism of the β 3 adrenergic receptor gene in a general sample (The Shigaraki Study). Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H
 - Functional Analysis of SCNN1A A2139G Polymorphism in the Promoter Region for Their Expression in vitro. Abe M, Nakura J, Yamamoto M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
 - Association of Endothelin-2 Gene Polymorphism with Hypertension. Abe M, Nakura J, Yamamoto M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
 - Association of -134delA Polymorphism with Endothelin-1 Gene Expression. Nakura J, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Kohara K, Miki T
 - The Effects of Leptin Receptor Gene Polymorphism on Visceral Fat Accumulation and Blood Pressure. Ogawa M, Hirawa N, Shiwa T, Endo T, Umemura M, Yatsu K, Saka S, Tamura K, Ishigami T, Yasuda G, Toya Y, Tabara Y, Miki T, Tokunaga K, Umemura S
 - Functional mutation of the 5' untranslated region of the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene associated with female essential hypertension. Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M
- 日本人類遺伝学会第 51 回大会、平成 18 年 10 月 17~22 日 米子
- 女性の本態性高血圧発症と TNFRSF4 遺伝子、真下洋一・鈴木洋一・鳥羽加寿子・田原康玄・三木哲郎・徳永勝士・羽田明
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	出版年	巻号	ページ
Yamamoto M, JIn JJ, Wu Z, Abe M, Tabara Y, Nagai T, Yamasaki E, Igase M, Kohara K, Miki T, Nakur J	Interaction between Serotonin 2A Receptor and Endothelin-1 Variants in Association with Hypertension in Japanese	Hypertens Res.	2006	4	227-32
Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M	Mutation of the Follicle-Stimulating Hormone Receptor Gene 5'-Untranslated Region Associated With Female Hypertension.	Hypertension.	2006	48	512-8
Omi T, Kumada M, Kamesaki T, Okuda H, Munkhtulga L, Yanagisawa Y, Utsumi N, Gotoh T, Hata A, Soma M, Umemura S, Ogihara T, Takahashi N, Tabara Y, Shimada K, Mano H, Kajii E, Miki T, Iwamoto S.	An intronic variable number of tandem repeat polymorphisms of the cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) gene modifies gene expression and is associated with essential hypertension.	Eur J Hum Genet	2006	14	1295-305
Tamaki S, Nakamura Y, Tabara Y, Okamura T, Kita Y, Kadowaki T, Tsujita Y, Horie M, Miki T, Ueshima H.	Relationship between metabolic syndrome and Trp64arg polymorphism of the beta-adrenergic receptor gene in a general sample: the Shigaraki study.	Hypertens Res.	2006	29	891-896

研究成果の刊行物・別刷

Original Article

Interaction between Serotonin 2A Receptor and Endothelin-1 Variants in Association with Hypertension in Japanese

Miyuki YAMAMOTO¹⁾, Jing Ji JIN¹⁾, Zhihong WU¹⁾, Michiko ABE¹⁾, Yasuharu TABARA¹⁾,
Tokihisa NAGAI¹⁾, Eiji YAMASAKI¹⁾, Michiya IGASE¹⁾, Katsuhiko KOHARA¹⁾,
Tetsuro MIKI¹⁾, and Jun NAKURA¹⁾

Serotonin has been implicated in the pathogenesis of hypertension because of its ability to induce vasoconstriction *via* stimulation of serotonin 2 (5-HT₂) receptors. Recently, an association between the T102C functional polymorphism of the serotonin 2A (5-HT_{2A}) receptor gene and hypertension in the UK has been reported. Another association study, however, failed to replicate this association in a Chinese population. We therefore investigated the possible association between the 5-HT_{2A} T102C polymorphism and hypertension in two large Japanese populations ($n=2,968$ total). We also investigated the possible interaction between the 5-HT_{2A} T102C polymorphism and the G/T (Lys198Asn) polymorphism of the endothelin-1 (ET-1) gene, based on robust biological evidence for the existence of an interaction between the serotonin and endothelin systems. The results showed that there was no significant difference in the frequencies of the alleles and genotypes between the hypertensive and normotensive subjects. However, a significant interaction between the 5-HT_{2A} T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with hypertension ($p=0.0040$) and with diastolic blood pressure ($p=0.0013$) was revealed. A marginally significant interaction in the association with systolic blood pressure was also shown ($p=0.045$). The associations of the 5-HT_{2A} T102C polymorphism with hypertension and diastolic blood pressure in ET-1 T allele carriers were significant ($p=0.0056$ and 0.021 , respectively). The association of the 5-HT_{2A} T102C polymorphism with systolic blood pressure in ET-1 T allele carriers was marginally significant ($p=0.054$). Thus, the present study suggests that the 5-HT_{2A} T102C and ET-1 G/T polymorphisms are interactively associated with hypertension. (*Hypertens Res* 2006; 29: 227–232)

Key Words: serotonin receptor, endothelin, hypertension, genetics, polymorphism

Introduction

Serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) is a naturally occurring vasoactive monoamine and is widely distributed in the human organism (1). Serotonin executes diverse cardiophysio-

logical actions, which are mediated by different subtypes of serotonin receptors. Currently, serotonin receptors are divided into seven groups (5-HT₁–7). Among these groups, 5-HT₂ receptors mediate the vasoconstrictive actions of serotonin, and these are further categorized into three subtypes (A, B, and C). Among these three subtypes, the 5-HT_{2A}

From the ¹⁾Department of Geriatric Medicine, School of Medicine, Ehime University, Toon, Japan.

This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas (C), "Medical Genome Science," from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan and a Grant-in-Aid for Research on the Human Genome, Tissue Engineering, and Food Biotechnology from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Address for Reprints: Jun Nakura, M.D., Department of Geriatric Medicine, School of Medicine, Ehime University, Toon 791-0295, Japan. E-mail: nakura@m.ehime-u.ac.jp

Received August 15, 2005; Accepted in revised form January 13, 2006.

Table 1. Characteristics of Participants According to Hypertension Status

Variable	Population 1		Population 2	
	Normotensive (n=1,364)	Hypertensive (n=852)	Normotensive (n=502)	Hypertensive (n=250)
Sex (male %)	84.8	89.4*	77.1	78.2
Age (years)	49.5±9.0	53.8±6.6*	52.4±8.8	57.2±8.3*
Body mass index (kg/m ²)	22.6±2.8	24.2±3.2*	22.5±2.8	23.8±2.7*
Systolic blood pressure (mmHg)	122.7±10.7	148.7±12.7*	112.4±10.6	143.4±17.0*
Diastolic blood pressure (mmHg)	72.3±7.3	87.3±8.4*	72.1±8.9	89.4±9.3*
Total cholesterol (mg/dl)	195.4±32.1	203.2±31.6*	198.5±30.9	201.8±36.3
High density lipoprotein cholesterol (mg/dl)	60.8±13.3	60.8±13.2	54.1±14.7	52.1±14.8
Triglyceride (mg/dl)	127.0±75.9	155.3±85.4*	107.9±76.3	137.3±126.8*

Data are mean±SD. * $p < 0.05$ vs. normotensives. Blood pressure readings before the start of antihypertensive medication were not available for 705 hypertensive subjects whose values were measured under treatment.

receptor is the primary receptor mediating vasoconstriction under conditions of normal blood pressure (2). Thus, the 5-HT_{2A} receptor may play an important role in the regulation of blood pressure.

The 5-HT_{2A} receptor gene is located on chromosome 13. Given the biological evidence for a relation between the 5-HT_{2A} receptor and blood pressure, it is important to evaluate how variations in the 5-HT_{2A} receptor gene are associated with blood pressure as genetic factors. In this context, a functional polymorphism (T102C) of the 5-HT_{2A} receptor gene has been investigated in relation to hypertension. An initial study showed that increased frequency of the 102C allele was significantly associated with hypertension in female UK residents (3). Another association study, however, failed to show a significant association between the 5-HT_{2A} T102C polymorphism and hypertension in a Chinese population (4).

Generally, inconsistent associations could result from various factors, including racial difference, insufficient statistical power, and interactions of polymorphisms with other genetic and environmental factors (5). In this context, it may be of significance that the serotonin system has been shown to biologically interact with the endothelin system (6–14). This interaction could modify the association between the 5-HT_{2A} T102C polymorphism and hypertension. However, whether genetic interactions between polymorphisms corresponding to the biological interaction significantly influence blood pressure in the general population remains to be assessed. We therefore analyzed the association between the 5-HT_{2A} T102C polymorphism and hypertension in two large Japanese populations, with consideration of the interaction between the 5-HT_{2A} T102C polymorphism and the G/T (Lys198Asn) polymorphism in exon 5 of the endothelin-1 (ET-1) gene, because the ET-1 system (15), especially the ET-1 G/T polymorphism (16), has been shown to be involved in the development of hypertension.

Methods

Subjects

The clinical characteristics of the subjects included in the study are shown in Table 1. Population 1 ($n=2,216$) originated from the Ehime region of Japan, and population 2 ($n=752$) from the Hyogo region of Japan (17). All subjects were Japanese urban residents. Subjects in population 1 participated in medical check-ups 1–11 times (average 6.2 times per person), and the mean values of variables in their personal health records were used in the analyses. Subjects in population 2 also underwent a medical check-up, and the values of variables in their personal health records were used in the analyses. All subjects provided informed consent for participation in the molecular-genetic studies. The ethics committee of Ehime University approved the study.

Diagnostic Categories

Each subject was assigned to one of the blood pressure diagnostic categories defined by the following criteria. Hypertensive subjects had a previous diagnosis of hypertension and were being treated with antihypertensive medication, or their systolic/diastolic blood pressure (SBP/DBP) was $>140/90$ mmHg. Normotensive subjects had never been treated with medication for hypertension, and their SBP/DBP was $<140/90$ mmHg. Blood pressure was measured in the sitting position with the use of a standard sphygmomanometer during medical check-ups.

DNA Analysis

The TaqMan chemical method, which is an established and frequently used method (18–21), was used to detect the 5-HT_{2A} T102C polymorphism. The forward primer was 5'-AAATGATGACACCAGGCTCTACAGT-3', the reverse

Table 2. 5-HT2A Genotype and Allele Frequencies in Hypertensive and Normotensive Subjects

Genotype and allele	Population 1			Population 2			Populations 1 and 2		
	Normotensive	Hypertensive	<i>p</i> value	Normotensive	Hypertensive	<i>p</i> value	Normotensive	Hypertensive	<i>p</i> value
5-HT2A genotypes (<i>n</i> (%))									
CC	344 (25.2)	230 (27.0)	0.38	123 (24.5)	68 (27.2)	0.15	467 (25.0)	298 (27.0)	0.48
CT	645 (47.3)	409 (48.0)		254 (50.6)	108 (43.2)		899 (48.2)	517 (46.9)	
TT	375 (27.5)	213 (25.0)		125 (24.9)	74 (29.6)		500 (26.8)	287 (26.0)	
5-HT2A alleles (<i>n</i> (%))									
C	1,333 (48.9)	869 (51.0)	0.17	500 (49.8)	244 (48.8)	0.71	1,833 (49.1)	1,113 (50.5)	0.30
T	1,395 (51.1)	835 (49.0)		504 (50.2)	256 (51.2)		1,899 (50.9)	1,091 (49.5)	

5-HT2A, serotonin 2A.

primer was 5'-TGTCCAGTTAAATGCATCAGAAGTG-3', the T-allele specific probe was 5'-FAM-AACTCTGGAGAA GCT-MGB-3', and the C-allele specific probe was 5'-VIC-AACTCCGGAGAAGC-MGB-3'. The person who assessed the genotype was blinded to the clinical data of the subjects from whom the samples originated. The ET-1 G/T polymorphism was previously determined in our populations (17).

Statistical Methods

Comparisons of categorical variables were performed using the χ^2 test. Analysis of variance was used to assess differences in the means and variances of continuous variables. Because of a skewed distribution of data, logarithmically transformed plasma triglyceride values (TG) were used in the analysis. Logistic regression models were used to assess whether the 5-HT2A T102C polymorphism made a statistically significant contribution to the prediction of hypertension, with consideration of the interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms. General linear models were used to assess whether the 5-HT2A T102C polymorphism made a statistically significant contribution to the prediction of blood pressure, with consideration of the interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms. *p* values less than 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was performed with SPSS statistical software.

Results

Association of the 5-HT2A T102C Polymorphism with Hypertension

Table 1 presents the clinical characteristics of the participants in populations 1 and 2. In population 1, the relative frequencies of the CC, CT and TT genotypes were 25.9%, 47.6% and 26.5%, respectively. In population 2, the relative frequencies of the CC, CT and TT genotypes were 25.4%, 48.1% and 26.5%, respectively. In population 1, the allele frequencies were 49.7% and 50.3% for the C and T alleles, respectively. In population 2, the allele frequencies were 49.5% and 50.5%

for the C and T alleles, respectively. These results are consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium. There was no significant difference in the frequencies of the alleles ($p=0.17$) and genotypes ($p=0.38$) between the hypertensive and normotensive subjects in population 1 (Table 2). There was no significant difference in the frequencies of the alleles ($p=0.71$) and genotypes ($p=0.15$) between the hypertensive and normotensive subjects in population 2. Finally, there was no significant difference in the frequencies of the alleles ($p=0.30$) and genotypes ($p=0.48$) between the hypertensive and normotensive subjects in the combined group of populations 1 and 2.

Interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T Polymorphisms in Association with Hypertension

We next analyzed the interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with hypertension. This analysis showed a significant interaction in population 1 ($p=0.012$, odds ratio [OR]=0.74, 95% confidence interval [95% CI]=0.58–0.94) and failed to show a significant interaction in population 2 ($p=0.14$, OR=0.73, 95% CI=0.48–1.11). Finally, analysis combining populations 1 and 2 yielded a lower *p* value of 0.0040 (OR=0.74, 95% CI=0.60–0.91) for the interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with hypertension. The interaction was also significant after adjustment for sex and age ($p=0.0022$), and for sex, age, body mass index (BMI), plasma total cholesterol, high density lipoprotein (HDL)-cholesterol, and TG ($p=0.050$). Table 3 shows the opposite directions of the association of the 5-HT2A T102C polymorphism with hypertension between the ET-1 genotypes. The association of the 5-HT2A T102C polymorphism with hypertension in ET-1 T allele carriers was significant ($p=0.0056$). The association of the ET-1 G/T polymorphism with hypertension also showed opposite directions between the 5-HT2A genotypes (Table 4). The association of the ET-1 G/T polymorphism with hypertension in 5-HT2A CC homozygotes was significant ($p=0.028$). The

Table 3. 5-HT2A Genotype Frequency in Hypertensives and Normotensives According to ET-1 Genotype

ET-1 genotype	5-HT2A genotype	Genotype frequency (n (%))		p value	OR	95% CI
		Normotensive (n=1,866)	Hypertensive (n=1,102)			
GG	CC	256 (26.4)	139 (24.7)	0.20	1.10	0.95–1.26
	CT	460 (47.4)	258 (45.8)			
	TT	255 (26.3)	166 (29.5)			
GT+TT	CC	211 (23.6)	159 (29.5)	0.0056	0.81	0.70–0.94
	CT	439 (49.1)	259 (48.1)			
	TT	245 (27.4)	121 (22.4)			

ET-1, endothelin-1; 5-HT2A, serotonin 2A; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Table 4. ET-1 Genotype Frequency in Hypertensives and Normotensives According to 5-HT2A Genotype

5-HT2A genotype	ET-1 genotype	Genotype frequency (n (%))		p value	OR	95% CI
		Normotensive (n=1,866)	Hypertensive (n=1,102)			
CC	GG	256 (54.8)	139 (46.6)	0.028	1.39	1.04–1.86
	GT+TT	211 (45.2)	159 (53.4)			
CT	GG	460 (51.2)	258 (49.9)	0.65	1.05	0.85–1.31
	GT+TT	439 (48.8)	259 (50.1)			
TT	GG	255 (51.0)	166 (57.8)	0.064	0.76	0.57–1.02
	GT+TT	245 (49.0)	121 (42.2)			

ET-1, endothelin-1; 5-HT2A, serotonin 2A; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

association of the ET-1 G/T polymorphism with hypertension in 5-HT2A TT homozygotes was also marginally significant ($p=0.064$).

Interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T Polymorphisms in Association with Blood Pressure

Given the marginally significant interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with hypertension, we next analyzed the possible interactions between these polymorphisms in their association with blood pressure in the combined group of populations 1 and 2. This analysis showed a marginally significant interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with SBP ($p=0.045$). This interaction was also marginally significant after adjustment for sex and age ($p=0.045$), and for sex, age, BMI, plasma total cholesterol, HDL-cholesterol, and TG ($p=0.058$). Moreover, there was a significant interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with DBP ($p=0.0013$). This interaction was also significant after adjustment for sex and age ($p=0.0018$), and for sex, age, BMI, plasma total cholesterol, HDL-cholesterol, and TG ($p=0.0023$). Table 5 shows the opposite directions of the association of the 5-HT2A T102C polymorphism with blood pressure between the ET-1 genotypes. The association of the

5-HT2A T102C polymorphism with SBP in ET-1 T allele carriers was marginally significant ($p=0.054$), and the association of the 5-HT2A T102C polymorphism with DBP in ET-1 T allele carriers was significant ($p=0.021$). Table 6 again shows the opposite directions of the association of the ET-1 G/T polymorphism with blood pressure between the 5-HT2A genotypes. The association of the ET-1 G/T polymorphism with DBP in 5-HT2A CC homozygotes was significant ($p=0.0013$).

Discussion

Given the biological evidence for a relation of the 5-HT2A receptor to blood pressure, a functional polymorphism (T102C) of the 5-HT2A receptor gene has been investigated in relation to hypertension. An initial study showed that increased frequency of the 102C allele was significantly associated with hypertension in female UK residents (3). A subsequent study failed to show a significant association between the 5-HT2A T102C polymorphism and hypertension in a Chinese population (4). Consistent with the results of the latter study, the present study failed to show a significant association, although increased frequency of the 102C allele was non-significantly associated with hypertension in the combined group of populations 1 and 2, in line with the results of the former study.

This failure could be attributable to racial difference. How-

Table 5. Blood Pressure for 5-HT2A Genotype According to ET-1 Genotype

BP	ET-1 genotype	5-HT2A genotype			p value	
		CC	CT	TT	For regression	For interaction
SBP (mmHg)	GG	129.9±18.2	129.3±19.1	130.4±17.7	0.61	
	GT+TT	132.0±18.0	130.3±18.1	128.8±17.9	0.054	0.045
DBP (mmHg)	GG	77.4±10.6	77.7±11.7	78.5±10.6	0.33	
	GT+TT	79.9±11.2	77.6±10.9	77.4±10.7	0.021	0.0013

Data are mean±SD. 5-HT2A, serotonin 2A; ET-1, endothelin-1; BP, blood pressure; SBP, systolic BP; DBP, diastolic BP.

Table 6. Blood Pressure for ET-1 Genotype According to 5-HT2A Genotype

BP	5-HT2A genotype	ET-1 genotype		p value	
		GG	GT+TT	For regression	For interaction
SBP (mmHg)	CC	129.9±18.2	132.0±18.0	0.11	
	CT	129.3±19.1	130.3±18.1	0.29	
	TT	130.4±17.7	128.8±17.9	0.21	0.045
DBP (mmHg)	CC	77.4±10.6	79.9±11.2	0.0019	
	CT	77.7±11.7	77.6±10.9	0.98	
	TT	78.5±10.6	77.4±10.7	0.14	0.0013

Data are mean±SD. ET-1, endothelin-1; 5-HT2A, serotonin 2A; BP, blood pressure; SBP, systolic BP; DBP, diastolic BP.

ever, genetic effects are usually consistent across human populations (22). Therefore, the failure might be rather attributable to gene–environmental and/or gene–gene interactions, because such interactions could modify or mask associations. In this respect, the present study revealed a statistically significant interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with hypertension. Consequently, increased frequency of the 5-HT2A 102C allele is significantly associated with hypertension in ET-1 T allele carriers, consistent with the initial study (3). However, it should be noted that this interaction was significant in population 1 and in the combined group of populations 1 and 2, but not in population 2, despite the fact that the OR for the interaction were very similar between the two populations. This implies that studies with modest sample sizes can fail to detect interactions, and a combination of samples will be required to achieve adequate statistical power.

Moreover, the present study showed a significant interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with blood pressure. In particular, the interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in their association with DBP was significant in both populations 1 and 2 (data not shown), constituting strong evidence in favor of the existence of this interaction.

A genetic interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms is also supported by persistent biological evidence for the existence of interactions between the serotonin and endothelin systems. For example, subthreshold concentrations of ET-1 amplify the vasoconstrictor effect of serotonin in human arteries (6, 7, 9, 10) and in the guinea pig

trachea (11). Preincubation of a platelet suspension with ET-1 has been shown to inhibit the serotonin-mediated platelet response (8). ET-1 has been shown to inhibit serotonergic amplification of epinephrine-induced aggregation of platelets (8). Pre-treatment of rabbit platelets with ET-1 has been shown to enhance serotonin-promoted protein tyrosine phosphorylation (12). In the rabbit platelet membrane, ET-1 has been shown to enhance serotonin binding and inhibit its internalization (12). On the other hand, serotonin also potentiates ET-1-induced vascular smooth muscle cell proliferation (13).

The T102C polymorphism is located in the coding sequence in exon 1 of the 5-HT2A receptor gene and does not change any amino acid, and thus it is a silent polymorphism in that both nucleotides result in a codon that encodes Ser at amino acid position 34 (23). Nevertheless, the T102C polymorphism results in a differential gene expression (24). This functionality of the 5-HT2A T102C polymorphism also increases the plausibility of a genetic interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms.

In conclusion, the present study revealed a significant interaction between the 5-HT2A T102C and ET-1 G/T polymorphisms in the pathogenesis of hypertension in two large Japanese populations. This interaction was supported by several lines of molecular biological evidence. Nevertheless, association studies are often irreproducible, warranting further studies in large populations to investigate the interactions between the serotonin and endothelin systems, with consideration of various gene–environment and gene–gene interactions.