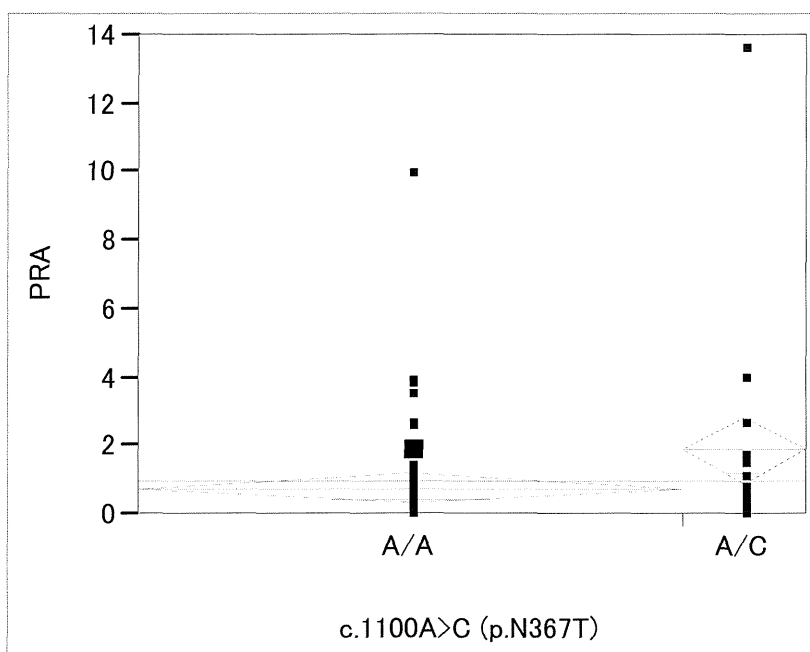


図1 HSD3B1のゲノム構造と一塩基多型

図2 c.1100A>C (p.N367T)によるPRAの一元配置分析



一元配置の分散分析

あてはめの要約

R2乗	0.04888
自由度調整R2乗	0.03782
RMSE	1.887162
応答の平均	0.971591
オブザベーション(または重みの合計)	88

t検定

等分散を仮定

	差分	t検定	自由度	p値(Prob >  t )
推定値	-1.0965	-2.102	86	0.0385
標準誤差	0.5216			
下側95%	-2.1334			
上側95%	-0.0597			

分散分析

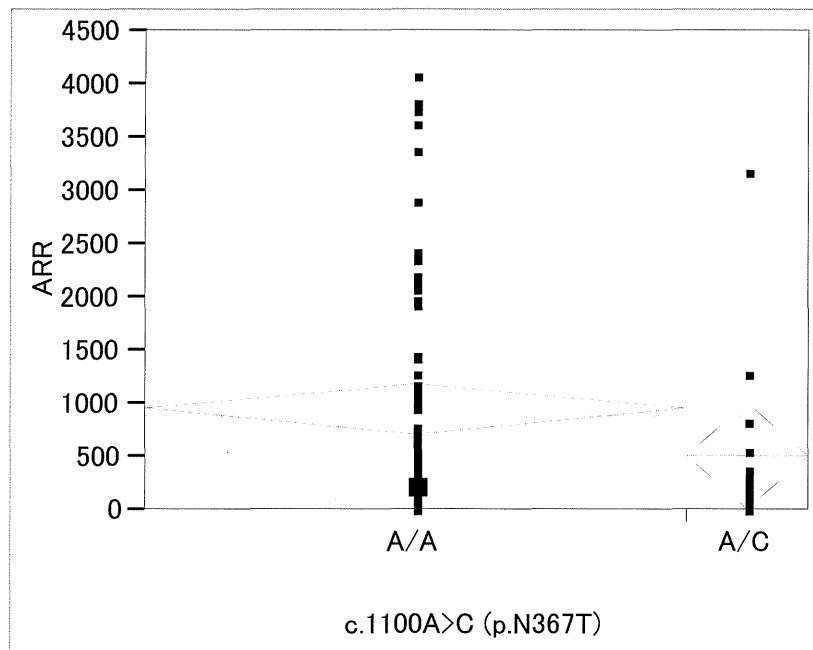
要因	自由度	平方和	平均平方	F値	p値(Prob>F)
c.1100A>C (p.N367T)	1	15.74016	15.7402	4.4197	0.0385
誤差	86	306.27882	3.5614		
全体(修正済み)	87	322.01898			

各水準の平均

水準	数	平均	標準誤差	下側95%	上側95%
A/A	72	0.77222	0.22240	0.33010	1.2143
A/C	16	1.86875	0.47179	0.93086	2.8066

平均の標準誤差および信頼区間は、各グループの誤差分散がすべて等しいと仮定したときのものです

図3 c.1100A>C (p.N367T)によるARRの一元配置分析



**一元配置の分散分析**

**あてはめの要約**

R2乗	0.028641
自由度調整R2乗	0.017346
RMSE	1001.212
応答の平均	876.5028
オブザベーション(または重みの合計)	88

**t検定**

等分散を仮定

	差分	t検定	自由度	p値(Prob >  t )
推定値	440.65	1.592	86	0.1150
標準誤差	276.72			
下側95%	-109.45			
上側95%	990.75			

**分散分析**

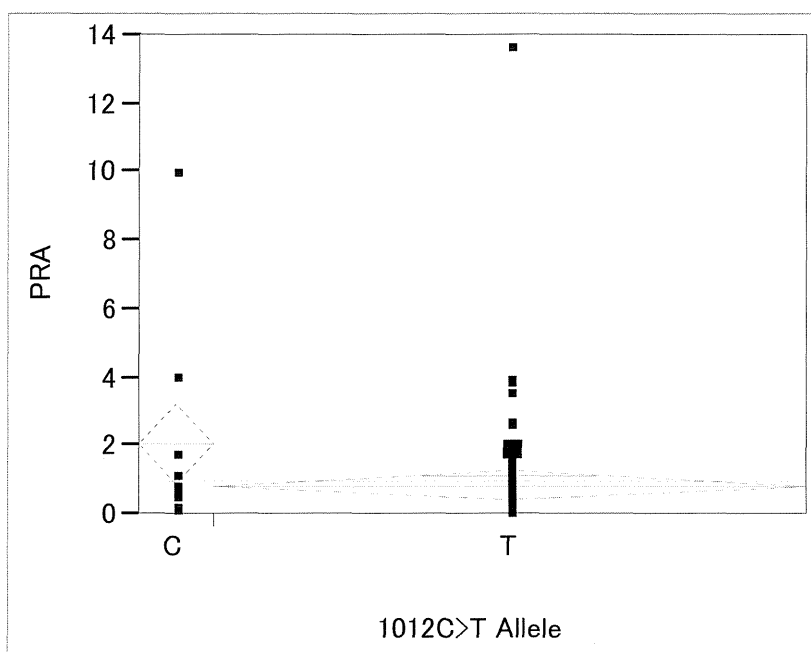
要因	自由度	平方和	平均平方	F値	p値(Prob>F)
c.1100A>C (p.N367T)	1	2541926	2541926	2.5358	0.1150
誤差	86	86208539	1002425		
全体(修正済み)	87	88750464			

**各水準の平均**

水準	数	平均	標準誤差	下側95%	上側95%
A/A	72	956.622	117.99	722.06	1191.2
A/C	16	515.969	250.30	18.38	1013.6

平均の標準誤差および信頼区間は、各グループの誤差分散がすべて等しいと仮定したときのものです

図4： 1012C>T AlleleによるPRAの一元配置分析



一元配置の分散分析

あてはめの要約

R2乗	0.040745
自由度調整R2乗	0.029591
RMSE	1.895215
応答の平均	0.971591
オブザベーション(または重みの合計)	88

t検定

等分散を仮定

	差分	t検定	自由度	p値(Prob >  t )
推定値	1.2167	1.911	86	0.0593
標準誤差	0.6366			
下側95%	-0.0488			
上側95%	2.4821			

分散分析

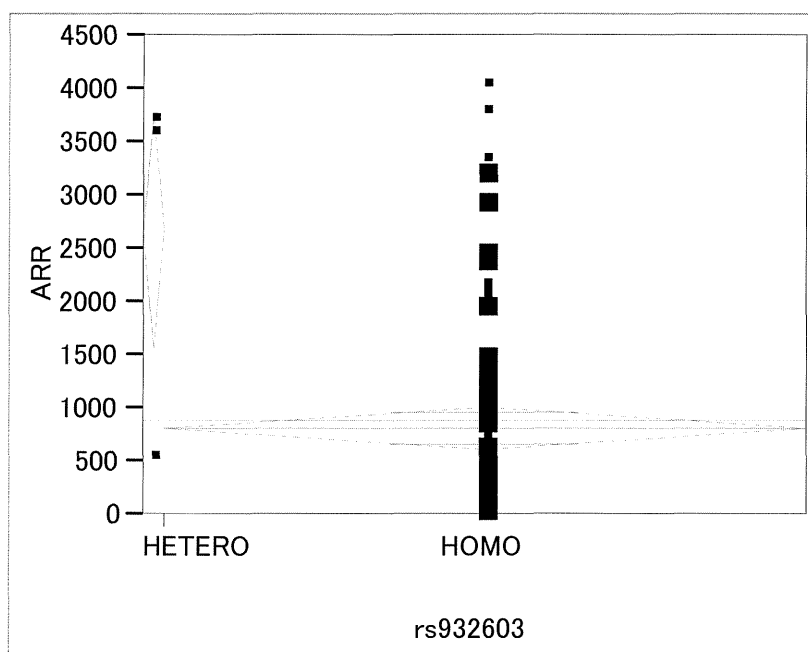
要因	自由度	平方和	平均平方	F値	p値(Prob>F)
1012C>T Allele	1	13.12064	13.1206	3.6529	0.0593
誤差	86	308.89833	3.5918		
全体(修正済み)	87	322.01898			

各水準の平均

水準	数	平均	標準誤差	下側95%	上側95%
C	10	2.05000	0.59932	0.85859	3.2414
T	78	0.83333	0.21459	0.40674	1.2599

平均の標準誤差および信頼区間は、各グループの誤差分散がすべて等しいと仮定したときのものです

図5 rs932603によるARRの一元配置分析



一元配置の分散分析

あてはめの要約

R2乗	0.112778
自由度調整R2乗	0.102461
RMSE	956.8687
応答の平均	876.5028
オブザベーション(または重みの合計)	88

t検定

等分散を仮定

	差分	t検定	自由度	p値(Prob >  t )
推定値	1858.52	3.306	86	0.0014
標準誤差	562.11			
下側95%	741.08			
上側95%	2975.97			

分散分析

要因	自由度	平方和	平均平方	F値	p値(Prob>F)
rs932603	1	10009057	10009057	10.9317	0.0014
誤差	86	78741407	915597.75		
全体(修正済み)	87	88750464			

各水準の平均

水準	数	平均	標準誤差	下側95%	上側95%
HETERO	3	2671.67	552.45	1573.4	3769.9
HOMO	85	813.14	103.79	606.8	1019.5

平均の標準誤差および信頼区間は、各グループの誤差分散がすべて等しいと仮定したときのものです

	(1)	1	10	20	30	40	55
hHSD3B1	(1)	MTGWSCLVTGAGGFLGQRIIRLLVKEKELKEIRVLDKAFGPRLREEFKQLQNKTK					
hHSD3B2	(1)	-MGTWSCLVTGAGGLLGQRIIRLLVEKELKEIRALDKAFRPELREEFKQLQNKTK					
	(56)	56	70	80	90	100	110
hHSD3B1	(56)	LTVLEGDILDEPFLKRACQDVSVILHTACIIDVFGVTHRESIMNVNVKGTQLLLE					
hHSD3B2	(55)	LTVLEGDILDEPFLKRACQDVSVVILHTACIIDVFGVTHRESIMNVNVKGTQLLLE					
	(111)	111	120	130	140	150	165
hHSD3B1	(111)	ACVQASVPVFLYTSSIEVAGPNSYKELLONGHEEPLNTWLEAPYPHSKKLAEKA					
hHSD3B2	(110)	ACVQASVPVFLYTSSIEVAGPNSYKELLONGHEEPLNTWLETPYFYSKKLAEKA					
	(166)	166	180	190	200	210	220
hHSD3B1	(166)	VLAANGWNLKNGDTLYTCALRPMYIYCEGSRFELSASINEALNNNCILSSVQKFSST					
hHSD3B2	(165)	VLAANGWNLKNGDTLYTCALRPTYIYCEGSGPFELSASINEALNNNCILSSVQKFSST					
	(221)	221	230	240	250	260	275
hHSD3B1	(221)	VNPVYVGNVAWAHILALRALQDPRKAPSIRGQFYYSDDTPHQSVDNINILSKE					
hHSD3B2	(220)	VNPVYVGNVAWAHILALRALRDPKAPSIRGQFYYSDDTPHQSVDNINILSKE					
	(276)	276	290	300	310	320	330
hHSD3B1	(276)	EGLRLDSRWSFLPLSLMYWIGFLLLVSFLLRPLYTIRPPFNRIIVTLENSVETFS					
hHSD3B2	(275)	EGLRLDSRWSLPLSLMYWIGFLLLVVSELLSPLYEIQPPFNRIIVTLENSVETFS					
	(331)	331	340	350	360	374	
hHSD3B1	(331)	YKKAQRDLAYKPLYSWEEAKQKTVEWVCSLVDRHKETLKSKTQ-					
hHSD3B2	(330)	YKKAQRDLAYKPLYSWEEAKQKTVEWVCSLVDRHKETLKSKTQ-					

図6. ヒト HSD3B1 と HSD3B2 のアミノ酸配列の比較

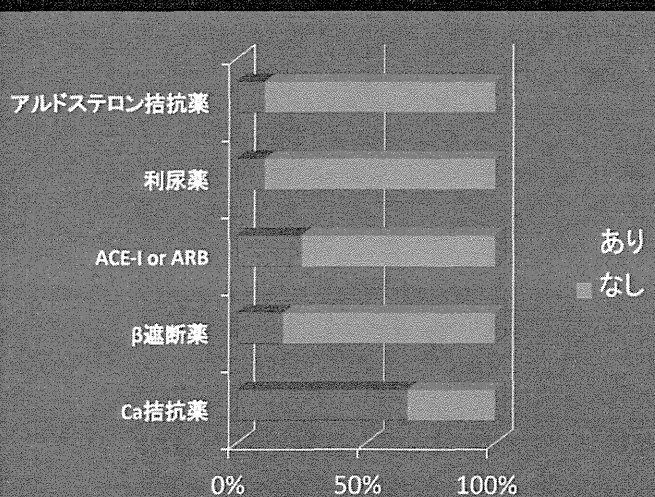
灰色の背景は2種のアイソザイムで共通するアミノ酸配列を示す。

## 原発性アルドステロン症患者の血圧日内変動についての検討

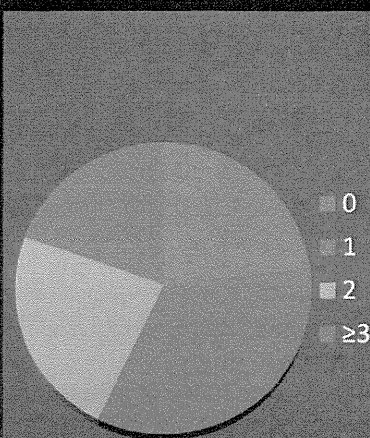
### 対象

原発性アルドステロン症を診断された高血圧患者 56名(男性25名、平均62.9±10.5歳)

### 降圧薬



### 降圧薬の種類



## 原発性アルドステロン症患者の24時間、日中、夜間血圧

24時間平均血圧 (mmHg)

143.9±16.2/ 85.4±11.7

24時間平均心拍数 (bpm)

64.6±9.6

日中平均血圧 (mmHg)

145.8±15.8/ 87.0±11.4

日中平均心拍数 (bpm)

67.3±10.1

夜間平均血圧 (mmHg)

140.2±19.4/ 82.2±13.3

夜間平均心拍数 (bpm)

59.2±10.1

Dipper or Non-dipper type?

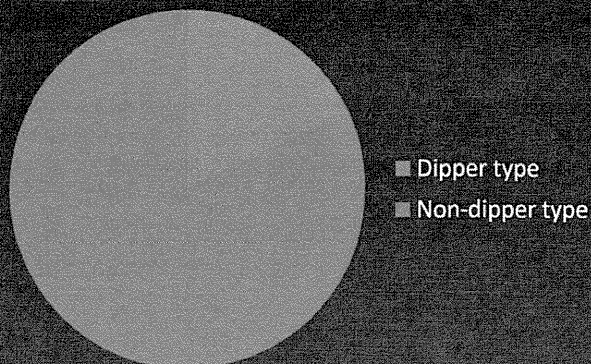


図7 原発性アルドステロン症患者の血圧の24時間、日中、夜間血圧

# 資料



# 原発性アルドステロン症の診断・治療のためのトランスレーショナル リサーチ

## Translational Research for the Diagnosis and Treatment of Primary Aldosteronism

京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻システムバイオロジー

Kyoto University, Grad sch Pharm Sci, Dpt Systems Biology

岡村 均

Hitoshi Okamura

### 1. はじめに

グローバル化の席卷する現代、我々は明暗リズムが破壊された環境下で生活することになり、その結果、多くのヒトは知らず知らずのうちに、体内リズムに変調をきたしている。血圧は体内リズムに制御されている代表的な生理現象であり、我が国の約4000万人の高血圧症患者にとっては、リズム異常は大きな増悪因子である。しかるに、生体リズムがどのような機構で血圧に影響を及ぼすかは全く不明であった。

時計遺伝子のクローニングから分子機構までを手がけたパイオニアとして、現在我々は、時計遺伝子異常による病気の分子機構の解明に全力をあげている。最近では、リズム異常マウスの病理・病態を総合的に探求し、実際のヒトの疾病を分子時計という全く新しい切り口から解明する「時計—疾患プロジェクト Chrono-disease Project」を立ち上げ、生体リズム異常による疾病機構を分子レベルで解明する試みに着手している (1)。従来からの脳機能障害（睡眠覚醒異常・夜間徘徊）のみならず、特に注目するのは臨床

疫学的にリズム異常と関係深い高血圧症、発癌、糖代謝異常などの生活習慣病の発症機構である。

我々は、時計遺伝子 *Cry1/Cry2* が欠失し生体リズムが消失したマウスが食塩感受性高血圧を示すことを明らかにした (2)。その原因は、副腎アルドステロン産生細胞に特異的に発現する時計遺伝子にコントロールされる新型 3 $\beta$ -水酸化ステロイド脱水素酵素 (3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase-isomerase: 3 $\beta$ -HSD) がリズム不全で活性化することによるアルドステロン産生増大であることが明らかとなった。本稿ではこの所見を中心に、時計遺伝子による新しい生体リズムシステムを解説し、ヒトにもあるこのアルドステロン産生量を制御する新しい調節酵素のゲノム研究の重要性、またこの酵素の新しい創薬ターゲットとしての可能性を述べる。

## 2. 血圧の日周リズム

血圧のような古くから探求されてきた生理現象も、分子レベルでそのメカニズムを述べることは一筋縄では行かない。生理学的には、血圧は心拍出量と末梢血管抵抗の積 (血圧 = 心拍出量  $\times$  末梢血管抵抗) によって規定される。すなわち、高血圧はこの積が上昇することである。生体には血圧を制御する体内システムとしては、自律神経系 (交感神経系と副交感神経系) と体液情報 (ホルモン) システムがある。交感神経系の活性化 (副交感神経系の抑制) は心拍出量を増加させる。また、レニン・アンギオテンシン系の活性化はアルドステロンの増加を促し、腎尿細管からの Na の再吸収とともに水分再吸収で体液量は増加する。アンギオテンシン II や血管自身の局所因子は、血管を収縮させ末梢血管抵抗を増加させる。生体にとって血圧を維持することは、固体を構成する細胞を生かして十分機能させることは最重要項目であって、そのため上述のような多角的な制御機構を取っている。

血圧の重要な特質の一つに日周リズムがある。すなわち、血圧は明け方から上昇に

転じ、午前中上昇し続け昼にピークに達し、午後減少し、深夜最低値に至る（図 1）。この血圧リズムは通常の高血圧患者にも見られるが、夜間血圧が増大し、日周リズムが消失する non-dipper という病態では、心血管障害の罹患率上がる要注意群とされ、インテンシブなケアが必要とされている（3）。しかも、交代性勤務など生体リズム（biological rhythms）と異なる勤務形態では、血圧は上昇するとされている（4）。このように、生体リズムと血圧の制御は大変関係が強い。もちろん、従来から言われている交感神経系活動の日内変動もその大きな要因で有ることは違いない。従来まで、多くの研究がなされているが、各要因がどの程度であるのかは、まだほとんど解明されていないのが実情である。現状では、多くの要因の相加的なのが実際の血圧に反映されていると考えてよいであろう。

生体リズムという現象は、有史以前から皆が知っているが、長らく近代科学が説明できない神秘のベールが覆っている生体现象の一つであった。このことが、血圧の日内変動の科学的な研究が遅れていた大きな原因であるが、生体リズムに関しては、1997 年に哺乳類の遺伝子が発見されることで一変した。今や、リズム発振の分子機構が解明され、生体リズムは遺伝子から生理現象までが解明された重要な生体システムとして注目されている。では、まずこの新しい生体リズムシステムについて述べよう。

### 3. 生体リズムへの分子システム

生体リズムの発振は、全身のほとんど全ての細胞で起こっている。すなわち、全身にはリズムに発現する時計遺伝子が構成する数十兆の細胞時計がある（図 1 下）。時計の中心にいるのは *Per* 遺伝子群（*Per1*, *Per2*, *Per3*）で、強い転写リズムを起こす（1）。このリズム的な転写は、促進因子である CLOCK と BMAL1 が二量体を形成し、プロモーター上の E-box に結合し、*Per* 遺伝子群の転写を促進し、産生された mRNA から PER 蛋白質群ができ、これが核の中へ入って転写抑制因子である CRY 蛋白質群

(CRY1, CRY2) と結合して、転写促進因子を抑制し、フィードバックループが閉じて転写が減少する (図 1 上)。このループは多重のサブグループにより調整を受けている。リズム発振とともに、生体リズムにとっての重要な事項に、振動子自身の外界リズム周期とのリズム位相の同調 *entrainment* がある。このうち、最も重要なのは、環境の明暗周期との同調であり、これには、Per 遺伝子上の *cis-element* の  $Ca^{2+}$ /cAMP response element (CRE) が関与し、体内の細胞同士の同期では、リズムックに変動するグルココルチコイドシグナルを受容する *glucose responsive element (GRE)* が重要になる。

こんなたくさんの時計はバラバラに時を打っているのでしょうか？これらの数十兆個もの末梢（細胞）時計を統合する時計が脳の視交叉上核にある中枢時計である。視交叉上核は数千個の細胞からなる時間発振に特化した神経核でありほぼ恒久的に自発的にリズムを発振することができ、ここからのシグナルは、交感神経系、副交感神経系、副腎皮質ホルモン系に変換され、全身の末梢時計を統括している (図 1 右)。この視交叉上核を破壊すると、生体リズムは消失する。すなわち、生体のリズムシステムは、全身の末梢（細胞）時計の上に、視交叉上核という強力な振動システムを持った神経核が上に乗っているという機構である。

#### 4. 時の止まったマウス *Cry-null* ではアルドステロンの過剰産生による高血圧が起こる

生体に異常を来たすのは並大抵のことではない。というのは、生体は重要な機能に関しては、細胞、細胞間、個体システムなど、全てのレベルで補償することが常態だからである。個体にとっての基本的で、上述のように遺伝子、細胞、臓器レベルと多層レベルで展開している生体リズムシステムに関しても同様であることが想定される。従って、リズムによる異常を検出するには、多層の全てのレベルでのリズムが障害されている、という重篤なケースでの病態解明が重要ではないかと考え、そのためには完全に時が止

まっているマウスの開発を急いだ。それが、哺乳類初の中枢時計も末梢時計も完全にリズムの止まった *Cry1/Cry2* ダブルノックアウトマウス(以下 *Cry-null* マウス)である(5,6)。

早速このマウスの血圧の日周変動の測定に用いたが、この測定が成功するには開始して約7年の歳月を要した。最終的には、マウス用テレメトリープローブ (PA-C10 pressure transmitter (Data Sciences International)) を用い、血圧の日周リズムの安定した測定が可能となった。野生型 (WT) マウスでは平均動脈圧 (mean arterial pressure: MAP) は24時間リズムを描くが、*Cry-null* マウスではリズムでは日周リズムは消失していた。しかし、血圧そのものは、通常給餌では変化無かった。そこで、従来より食塩負荷により給餌に3%食塩負荷を行ったところ、MAPは食塩負荷後日ごとに上昇し、一週間後には30mmHgも上昇し140mmHg程度までになり、その後は高血圧が持続した(図2左上)。すなわち、*Cry-null* マウスは食塩感受性の、しかも non-dipper 型の高血圧となったのである。

食塩負荷は、腎尿細管からの Na の再吸収の増大とそれに伴う水の吸収増加による容量負荷が考えられる。我々は、直接これをコントロールするアルドステロンに着目した。血漿アルドステロン濃度 (PAC) は、WT マウスは弱いながら24時間リズムを示したが、驚くべきことに *Cry-null* マウスでは、WT マウスにくらべ、5倍から10倍の非常に高いレベルを示した(図2上)。血漿レニン活性が *Cry-null* では低下していることでレニン・アンギオテンシン系は抑制されており(図2上)、副腎を摘出後培養液中へのアルドステロン放出は *Cry-null* で WT の数倍に達することで、PAC 高値は副腎のアルドステロン合成および放出の増大によることが判明した。このアルドステロン増大が高血圧を引き起こしていることは、アルドステロン受容体阻害剤エプレレノン投与により、血圧が正常化することでも明らかである。

一般にステロイド産生はその合成酵素の活性により決定される。そこで、我々は、DNA マイクロアレイ(図2右)を4時間毎にサンプルした WT と *Cry-null* の副腎に適用することにした。ステロイド合成に関与する数十種の酵素のうち、新しいタイプの

3 $\beta$ -HSD が、*Cry-null* で非常に高く発現していることが明らかとなった。この新タイプ 3 $\beta$ -HSD は *Hsd3b6* であって、従来副腎にあると言われていた *Hsd3b1* とは異なるものであった (図 3)。 *Hsd3b6* mRNA の定量を Real time PCR でおこなうと、WT に比して、常に 10 倍以上の増加を検出した (図 2 下)。

この酵素の副腎皮質の中の局在を調べたところ、この *Hsd3b6* は副腎の球状層にのみ特異的に発現し、束状層には発現していなかった (図 2 中)。 3 $\beta$ -HSD 活性を持つ酵素は pregnenolone を progesterone に変換するので、性ステロイド、グルココルチコイド、ミネラルコルチコイドの全てに必須の酵素であるが、新タイプである HSD3b6 の局在は、このサブタイプがアルドステロンの合成のみに関与することを示している。

アルドステロン細胞にも末梢 (細胞) 時計があり、様々な遺伝子の 24 時間リズムを制御していると考えられる (図 3)。 今回の *Hsd3b6* の転写は時計遺伝子により、DBP を介して正の制御を受け、E4BP4 を介して負の制御を受ける。*Cry-null* マウスの副腎では E4BP4 に比して DBP は常に高いので、*Hsd3b6* は一日を通して転写の増大が見られ、高いレベルで発現が維持され、その結果として惹起された 3 $\beta$ -HSD の活性の上昇が球状層におけるアルドステロンの合成を常に増大させていると考えられる。

## 5. *Cry-null* マウスはヒト特発性アルドステロン症 IHA 様の病態を示す

さらに我々は、蛋白質レベルでも、酵素活性のレベルでも *Cry-null* で HSD3b6 の発現上昇が起こっていることを証明した (図 2 下)。 さらに実際に *Cry-null* マウスの過剰なアルドステロン分泌を 3 $\beta$ -HSD 阻害薬であるトリロスタンを用いてブロックできることから (図 2 左)、増大した HSD3b6 が *Cry-null* マウスのアルドステロン過剰産生を誘導する主要原因分子であると結論づけた。

この *Cry-null* マウスでの食塩感受性高血圧は、ヒトの病態に何に当たるのであろうか。 ヒトでは、副腎のアルドステロンの過剰分泌による高血圧は原発性アルドステロン症

(Primary Aldosteronism) と呼ばれ、低レニン・高アルドステロン血症が特徴である。副腎の病理は、良性腫瘍である腺腫(aldosterone producing tumor (APA))と過形成 hyperplasia である特発性アルドステロン症 (ideopathic hyperaldosteronism:IHA)にわかれる。片側性は APA が多く、患側副腎摘出術の適応となるが、IHA は両側性であるため、原則としてアルドステロン受容体拮抗薬などによる薬物療法を行う。我々の今回の *Cry-null* は、両側性にアルドステロン産生が亢進していることから、IHA 様の病態を示すといえる (8)。ところが、この IHA については特発性という名の通り、いまだもって病因が特定されておらず、有効な薬物治療法を確立するためには最適な実験動物モデルの樹立と詳細な病態解析が必要とされていた。それゆえ、IHA 様の病態を示す *Cry-null* マウスの存在は、IHA 病態解明を含む原発性アルドステロン症自身のための有力なモデルとなると考えられる。

## 6. ヒトにもあるアルドステロン産生を調節する新型 3 $\beta$ -HSD と高血圧

アルドステロン産生量を決めている球状層特異的な 3 $\beta$ -HSD の存在は、これまでの副腎の常識を覆すものであるが、このような酵素はヒトにあるのであろうか？これまで、ヒトには 3 $\beta$ -HSD は副腎では HSD3B2 という酵素一種類しかないとされてきたが、本当にそうであろうか？ヒト染色体 1p12 にある *HSD3B* 遺伝子部位では、*HSD3B1* と *HSD3B2* という 2 種の発現する遺伝子がある（ここで用いられるネーミングは、発見された年代順に遺伝子名が付けられているのであって、同じ名前であっても機能の類似性を指すものでないことに留意）。我々は、ヒト副腎球状層をレーザーマイクロダイセクション法で採取し、従来無いと思われていた *HSD3B1* がヒトの副腎皮質において球状層特異的に発現することを明らかにした (図 2 中)。すなわち、マウス *Hsd3b6* に機能的に対応するヒト遺伝子は *HSD3B1* と思われる。

## 7. ヒト新型 *HSD3B1* の遺伝子多型と高血圧

この *HSD3B1* の多型に関しては興味深いデータが報告されている。スウェーデンの1944年生まれの健常者の *HSD3B1* のエキソン4の rs6203 の T→C 変異 (Leu338 は変わらない) に関する検討では、収縮期血圧と拡張期血圧がこの多型を有する対象者で上昇した (7)。また、下平らは日本人の本態性高血圧患者を検査し、*HSD3B1* の同部位の T→C 多型の男性患者や、また他の部位ミスセンス多型 (rs1047303 の A→C 変異) に、血圧や血漿アルドステロンの高値を示す傾向を認めた (8)。これらの報告と、マウスの *HSD3b6* 酵素活性によるアルドステロン産生調節という今回の所見を考え合わせると、ヒト *HSD3B1* 遺伝子がアルドステロン産生を介して血圧をコントロールしている可能性を示している。その意味で、*Cry-null* マウスの病態に近い原発性アルドステロン症患者でのゲノム検索を行う、今回の「厚生省科学研究費補助金難治性疾患克服事業ゲノム解析による原発性アルドステロン症の原因診断の再構築」の研究進行は重要である。

高血圧症は全成人の 30–40%にも達し、心血管障害を引き起こす要因として極めて重要である。興味深いことに、本態性高血圧に分類される疾患のなかで、高アルドステロン値、低レニン値を示すが、原発性アルドステロン症とまでは言えない症例が極めて多いことが注目される。これらの患者は本態性高血圧の 10–20%を占める。これらの患者での *HSD3B1* の発現動態が注目される。

マウスに戻るが、*Cry-null* マウスの *HSD3b6* の過剰発現は、トリロスタンによる酵素阻害により、アルドステロン減少と血圧の改善をもたらしている。この結果は、球状層にある対応する酵素であるヒト *HSD3B1* の過剰発現が高血圧を引き起こす可能性があり、この酵素サブタイプに対する特異的阻害剤はアルドステロンを直接下げる原因治療薬として注目される。トリロスタンは *HSD3B1* 及び *HSD3B2* 両方とも活性を阻害するので、临床上は用いられない。しかし、*HSD3B1* 特異的阻害剤の開発はアルドステロン特異的に産生を落とし、アルドステロン受容体阻害剤とともに、アルドステロンによる



病態改善に寄与する可能性が高く、開発が待たれる。

## 8. おわりに

最後になったが、このアルドステロンの異常に高い *Cry-null* マウスの血圧調節はどうなっているのでしょうか。我々はこのマウスを7年前のプロジェクト創始時に、圧トランスデュサー法にて検索している。その結果、MAP は $\alpha 1$  受容体アゴニスト Phenylephrin に対する反応性が極端に減少し、圧反射性心拍応答が亢進していた (9)。すなわち、収縮する機能が落ちており、圧反射による心機能の亢進で血圧を保っている状況であった。当時はこの現象は理解できなかったが、現在では、*Cry-null* マウスのアルドステロンにより血管内の伸展度は相当高く、その血管伸展による局所効果によって、 $\alpha 1$  受容体の低発現が補償として起こったのではないかと推測している。

今回、全身の時間が止まった *Cry-null* マウスの検索から、食塩感受性高血圧を引き起こす新しいアルドステロン産生調節酵素である球状層特異的  $3\beta$ -HSD サブタイプを同定した。この結果は、直接的には、リズム失調に伴う高血圧の発症の分子機構を示すのみならず、間接的には、この新タイプの酵素異常によるアルドステロン産生亢進を通じた新しい高血圧発症機構を示すものである。

アルドステロンは臓器障害を来たすと言われ、実際、原発性アルドステロン症は薬物抵抗性を示すだけでなく、心血管系の合併症が多い。今回登場した HSD3B1 は、従来全くアルドステロンの産生と関係あるとは知られていなかった。現在、その生理的発現動態、その細胞内シグナル伝達、その病態時における発現、また特異的阻害剤の開発を行っているが、原発性アルドステロン症のゲノム解析では、日本の臨床グループの協力を得て、副腎のアルドステロン細胞に発現するステロイド合成酵素の遺伝子解析を行っている。特に着目するのは、今回発見したアルドステロン合成の重要な酵素である新  $3\beta$ -HSD の制御部位を含めた詳細なゲノムレベルでの解析である。現在は、まだ道が途

上であるが、すでに数個の可能性有る部位が見つかっており、研究班終了後も検索を続けるつもりである。さらには食塩感受性高血圧の成因に PA 関連遺伝素因の関与があるか否かを明らかにすることまで計画している。本研究班の研究により 3 $\beta$ -HSD が APA、IPA の病態の本態をなす可能性が益々強まってきた。本研究の成果により、高血圧患者の約 3-10%存在するとされる PA の診断および治療に、サブタイプ特異的アンタゴニストの開発により、新しい方向性（合成の減弱治療）が可能となるかも知れない。さらに、ゲノム診断が実用化されれば、検査が容易となることが期待され、高血圧診療に与えるインパクトは計り知れないほど大きい。また未だ原因の本態が不明である本態性高血圧の機序の解明にもつながる成果になる可能性があり、新規創薬のシーズに成り得ると考えられる。国際的に見ても原発性アルドステロン症の遺伝子素因の本格的な解明に関する研究は皆無に近く、本研究は世界をリードする研究である。

## 文献

1. Okamura H, Doi M, Fustin JM, Yamaguchi Y, Matsuo M. Mammalian circadian clock system: molecular mechanisms for pharmaceutical and medical sciences. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010, 62, 876-84.
2. Doi M, Takahashi Y, Komatsu R, Yamazaki F, Yamada H, Haraguchi S, Emoto N, Okuno Y, Tsujimoto G, Kanematsu A, Ogawa O, Todo T, Tsutsui K, van der Horst GTJ, Okamura H: Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nature Medicine*, 16, 67-74, 2010.

3. Sega R, Facchetti R, Bombelli M, Cesana G, Corrao G, Grassi G, Mancia G. Prognostic values of ambulatory and home blood pressure compared with office blood pressure in the general population follow up results from the Pressioni Arteriose Monitorate e Loro Associazioni (PAMELA) study, *Circulation*. 2005 Apr 12;111(14):1777-83.
4. Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 17;106(11):4453-8.
5. Okamura H, Miyake S, Sumi Y, Yamaguchi S, Yasui A, Muijtjens M, Hoeijmakers JHJ, van der Horst GTJ: Photic induction of mPer1 and mPer2 in Cry-deficient mice lacking a biological clock. *Science*, 286:2531-2534, 1999.
6. Yagita K, Tamanini F, van der Horst GTJ, Okamura H: Molecular mechanisms of the biological clock in cultured fibroblasts. *Science*, 292, 278-292, 2001.
7. Rosmond R, Chagnon M, Bouchard C, Björntorp P. Polymorphism in exon 4 of the human 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type I gene (HSD3B1) and blood pressure. *Biochem Biophys Res Commun*. 293, 629-32, 2002.
8. Shimodaira M, Nakayama T, Sato N, Aoi N, Sato M, Izumi Y, Soma M, Matsumoto K. Association of HSD3B1 and HSD3B2 gene polymorphisms with essential hypertension, aldosterone level, and left ventricular structure. *Eur J Endocrinol*. 163, 671-680, 2010.
9. Masuki S., Todo T, Nakano Y, Okamura H, Nose H: Reduced alpha-adrenoceptor responsiveness and enhanced baroreflex sensitivity in Cry-deficient mice lacking biological clock. *J. Physiology (London)*, 566, 213-224, 2005.

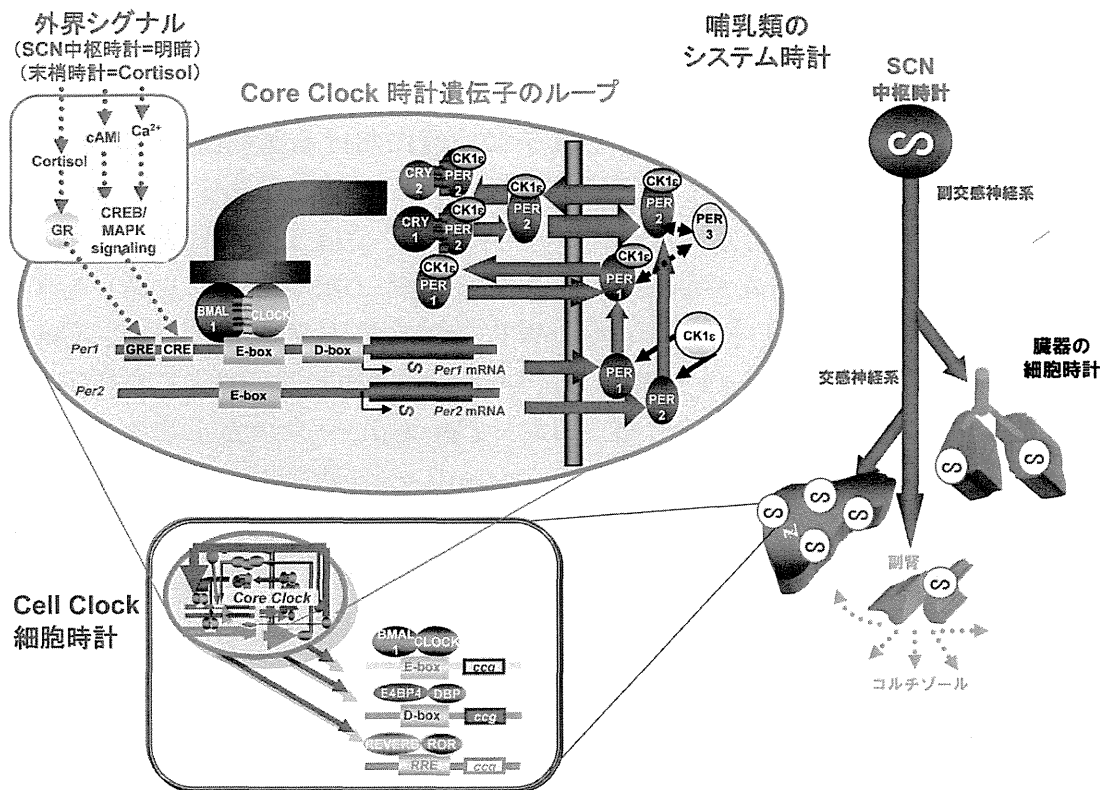


図1. 哺乳類における生体リズムの仕組み。

哺乳類における生体時計を、遺伝子レベル（上）、細胞レベル（下）、生体レベル（右）で示す。（上）時計遺伝子のコア・フィードバックループは赤い太い矢印で示す。（上左）外界シグナルはコルチゾール、cAMP、Ca<sup>++</sup>のシグナルとして細胞内に入り、時計遺伝子のプロモーターに到達する。（下）細胞時計のアウトプット コアクロックからのシグナルのアウトプットは E-box, D-box, RRE をプロモーター部位に持っている数千の遺伝子を制御する。（右）生体時計システムの概念図。生体は数十兆の細胞時計がある。主時計である視交叉上核は主に交感神経、副交感神経、グルココルチコイドを利用して、全身の細胞時計を同期させる。詳細は本文及び文献1 参照。