

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ~ 2009

課題番号：20700591

研究課題名 (和文) 高血圧症の背景となる ET-1 遺伝子多型の同定とその成果に基づく
栄養管理法の確立研究課題名 (英文) Association of genetic polymorphisms of ET-1 related genes with
progression of target organ damages in hypertensive patients

研究代表者

坂野 麻里子 (BANNO MARIKO)

山形大学・地域教育文化学部・准教授

研究者番号：90400530

研究成果の概要 (和文): エンドセリン 1 (ET-1) は主に血管内皮細胞で産生される生理活性ペプチドであり、強力な血管収縮作用を有することから、高血圧及び関連疾患の病態との関わりが注目されている。本研究では、日本人高血圧患者の ET-1 関連遺伝子解析を推進し、血圧上昇や合併症発症にかかわる遺伝子多型を探索した。ET-1 関連遺伝子の計 19 SNP について、まず 24 時間血圧変動との関連を検討した結果、*ECE2* 遺伝子の G28372A 多型および C28586T 多型が、日本人高血圧患者の睡眠時血圧上昇と相関を示すことが明らかとなった。ET-1 系は血圧日内変動に関わっており、その遺伝子解析から高血圧患者の心血管イベント発症リスクを予測できる可能性がある。また、日本人高血圧患者の慢性腎臓病 (CKD) 発症に関わる ET-1 関連遺伝子多型を解析した結果、*EDNRA* 遺伝子の T54204C、G54240A および A57938G 多型が高血圧患者の CKD 発症と相関を示すことが明らかとなった。*EDNRA* シグナルを遮断する食品や薬剤を、高血圧性 CKD の効率的な予防、治療に利用できる可能性がある。

研究成果の概要 (英文): Endothelin-1 (ET-1) system plays a crucial role in vasoconstriction and is a promising target for the genetic analysis of hypertension and its complications. Blood pressure (BP) variations, especially non-dipping patterns during sleep, are known to be associated with progression of cardiovascular target organ damages in hypertensive patients. In this study, we investigated the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in ET-1 related genes and circadian variation of BP in Japanese hypertensives. We genotyped 19 SNPs in ET-1 related genes of 334 essential hypertensive subjects and found that SNPs in *ECE2* (G28372A and C28586T) were significantly associated with the non-dipping pattern of BP. We also examined the association between SNPs of ET-1 related genes and prevalence of chronic kidney disease (CKD) complication in Japanese hypertensives. We observed significant association between the SNPs in *EDNRA* (T54204C, G54240A and A57938G) and CKD in Japanese patients with essential hypertension. Taken together, our results revealed the ET-1 system as an important system involved in target organ damages in essential hypertension in Japanese.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：栄養学、食品、循環器・高血圧

1. 研究開始当初の背景

高血圧症をはじめとする種々の心血管疾患の発症時には、血管内皮細胞でのサイトカイン、接着分子およびエンドセリン1 (ET-1) 等の生理活性物質の産生が亢進し、これらによって引き起こされる血管壁の機能破綻が病態悪化を加速する。中でもET-1は強力かつ持続性の血管収縮作用を持つことから、その循環調節作用、さらには高血圧症や虚血性心血管疾患の病因あるいは増悪因子としての役割が注目されている。近年、ET-1遺伝子に存在する-134delAおよびLys198Asn多型は、血中ET-1濃度および本態性高血圧症や肥満高血圧症の発症に影響することが報告されている。したがって、ET-1-ECE系の遺伝子多型は、個人のET-1産生量に影響を及ぼし、高血圧症や他の心血管疾患発症の遺伝的背景となっている可能性が高いと考えられていた。

2. 研究の目的

(1)高血圧患者において、睡眠時血圧の上昇は脳卒中や虚血性心疾患をはじめとする心血管イベント発症リスクを亢進させることが知られている。本研究では、日本人高血圧患者における24時間血圧変動とET-1関連遺伝子多型との関連を解析し、高血圧発症のリスクとなるET-1遺伝子多型

を明確にすることを目的とした。

(2)高血圧に起因する慢性腎臓病 (CKD) の併発は、重篤な心血管イベント発症リスクを高めることから、CKDの予防対策が世界的に注目されている。そこで、日本人高血圧患者のET-1関連遺伝子解析を推進し、発症や重症度にかかわる遺伝子多型を解析する。それにより高血圧及び関連疾患のリスク保有者を特定し、早期からの効果的な栄養管理の実現を目指した。

3. 研究の方法

(1)高血圧患者の血圧日内変動に関わるET-1関連遺伝子多型の同定

ゲノムDNA抽出およびダイレクトシーケンシング

本態性および二次性 (腎血管性、アルドステロン症性、甲状腺機能低下症性、肥満) 高血圧患者の血液サンプルよりゲノムDNAを抽出し、ET-1関連遺伝子 (EDN1、EDN2、EDN3、ECE1、ECE2、EDNRA、EDNRB) の全エキソンとプロモーター領域をPCR増幅後、ダイレクトシーケンシングにより新規一塩基多型 (SNP) を探索した。

TaqMan PCR法

ET-1関連遺伝子 (EDN1、EDN2、EDN3、ECE1、

ECE2、EDNRA、EDNRB) の DNA シークエンス解析により、新たに同定した SNP と両アレル頻度が 5%以上の既知 SNP について、全対象患者の遺伝子型を TaqMan PCR 法を用いて判定した。得られた多型情報と 24 時間血圧変動または慢性腎臓病 (CKD) 有病率との相関を解析し、血圧変動異常および CKD 発症リスクとなる SNP を同定した。

24 時間血圧測定法

対象患者の 24 時間血圧を 30 分間隔で測定した (TM-2421、A&D 社)。対象者の睡眠時と覚醒時の平均収縮期血圧差を比較し、「24 時間血圧計の使用基準に関するガイドライン」に従って、睡眠時に 10%以上の低下が見られた例を Dipper、10%未満の低下であった例を Non-Dipper とした。

(2) 高血圧患者の慢性腎臓病発症に関わるエンドセリン関連遺伝子多型の同定

対象患者の血清クレアチニン値を Jaffe 法により測定した。日本腎臓学会による「日本人のための GFR 推算式」に従って、クレアチニン値、年齢、性別より推算糸球体濾過量 (eGFR) を算出した。eGFR が 60ml/分/1.73m² 未満は CKD と定義されており、これに基づいて対象者の CKD の有無を判定した。

4 . 研究成果

(1) 高血圧患者の血圧日内変動に関わるエンドセリン関連遺伝子多型の同定

ET 関連遺伝子 (EDN1、EDN2、EDN3、ECE1、ECE2、EDNRA、EDNRB) の計 19 SNP について、24 時間血圧との関連を検討した結果、ECE2 (エンドセリン変換酵素-2) 遺伝子の G28372A 多型および C28586T 多型が、日本人高血圧患者の睡眠時血圧上昇と相関を示すことが明らかとなった。ET-1 系は血圧日内変動に関わっており、その遺伝子解析から高血圧患者の心血管イベント発症リスクを予測できる可能性が示唆される。

(2) 高血圧患者の慢性腎臓病発症に関わるエンドセリン関連遺伝子多型の同定

高血圧性慢性腎不全発症に関わる解析の結果、EDNRA (エンドセリン A 型受容体) 遺伝子の T54204C、G54240A、A57938G 多型が本邦高血圧患者の CKD 発症と相関を示すことが明らかとなった。EDNRA シグナルを遮断する食品や薬物は高血圧性 CKD の予防や治療に有効な可能性がある。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

Miwa Y, Kamide K, Takiuchi S, Yoshii M, Horio T, Tanaka C, Banno M, Miyata T, Kawano Y, Association of PLA2G7 polymorphisms with carotid atherosclerosis in hypertensive Japanese, *Hypertension Research*, 査読有, 32, 1112-1118, 2009.

楠本健二、山岸あづみ、戸嶋ひろ野、坂野麻里子、大森桂、大貫義人、田村朝子、山形県内の小学校における食に関する指導の実態、*日本家政学会誌*、査読有、59、517-524、2008.

[学会発表] (計 2 件)

Banno M, Kamide K, Horio T, Miyata T, Kawano Y, Genetic polymorphisms of endothelin-related genes associated with twenty-four hours blood pressure variations in Japanese hypertensives, *The International Society on Thrombosis and Haemostasis XXII Congress*, 2009 年 7 月 15 日, Boston Convention & Exhibition Center (Boston, USA).

森田真菜、佐々木仁美、坂野麻里子、緑色野菜のビタミン K 含量に及ぼす調理の影響、*日本食品科学工学会第 5*

5回大会、2008年9月7日、京都大学（京都）。

〔図書〕（計1件）

坂野麻里子、宮田敏行、高ホモシステイン血症は心血管疾患の病因か？、**脳卒中診療:こんなときどうするQ&A**、中外医学社、324-326、2008。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂野 麻里子 (BANNO MARIKO)
山形大学・地域教育文化学部・准教授
研究者番号：90400530