

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293196

研究課題名(和文)ゲノムワイド解析から同定した新規高血圧遺伝子：ATP2B1,LPIN1の機能解析

研究課題名(英文)Analysis of new candidate genes for essential hypertension: ATP2B1 gene and LPIN1 gene

研究代表者

梅村 敏(UMEMURA, Satoshi)

横浜市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00128589

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：ATP2B1遺伝子の血管平滑筋、血管内皮、遠位尿細管、全身ヘテロの臓器特異的ノックアウトマウスの解析および、期間内に血管平滑筋特異的遺伝子過剰発現マウスの作成に成功し、現在、機能解析を進めている。

LPIN1遺伝子に関しては、その発現に日内変動があることが示されており、期間内に血圧概実リズム制御へ果たすLPIN1の役割を解明し、新たな高血圧発症の機序の一部を解明した。現在、これまでの結果で論文投稿準備中である。上記が本研究の期間内のまとめである。

研究成果の概要(英文)：We have made four tissue specific ATP2B1 KO mice and overexpression ATP2B1 mice for these 3 years. Then, we reported the paper "Impaired nitric oxide production and increased blood pressure in systemic heterozygous ATP2B1 null mice." (J Hypertens. 2014 Jul;32(7):1415-23). LPIN1 gene is a key regulator of circadian rhythm for blood pressure control. Now, we are making preparation for submitting these data as the first report of key regulator of circadian rhythm for blood pressure control.

研究分野：高血圧

キーワード：ATP2B1遺伝子 LPIN1遺伝子 本態性高血圧

1. 研究開始当初の背景

近年の飛躍的な遺伝子解析技術の進歩により、全染色体を対象とした網羅的疾患感受性遺伝子解析 (genome-wide association study: GWAS) が可能となった。我々は、2000年から本態性高血圧症に対するミレニアムゲノムプロジェクトに参加、その結果を報告してきた (Yatsu K, et al. Hypertension. 2007 Mar;49(3):446-52, Kohara K, et al. Hypertens Res. 2008 Feb;31(2):203-12, Tabara Y, et al. Hypertension. 2010 Nov;56(5):973-80)。さらに、2007年世界的に数万人を対象とするGWASのさきがけとなった報告 (The Wellcome Trust Case Control Consortium, Nature. 2007 Jun 7;447(7145):661-78。) がなされ、現在までに本態性高血圧症を含め多数の報告 (Newton-Cheh C, et al. Nat Genet. 2009 Jun;41(6):666-76。他) が続いている。最初の2報から LPIN1 遺伝子、ATP2B1 遺伝子 を同定した2つの遺伝子について分子生命科学の手法を用い、総合的に解析し高血圧症に対する新規創薬、臓器障害の予防へつなげる。

2. 研究の目的

我々は、本態性高血圧症に対してミレニアムゲノムプロジェクトのもと、マイクロサテライトマーカーやSNPを利用したゲノムワイド相関解析ならびに候補遺伝子解析から、複数の新規候補遺伝子を同定し報告してきた。

(1)LPIN1 遺伝子 (2)ATP2B1 遺伝子 に着目し、日本人の前向きコホート集団、異なる人種集団や遺伝子改変マウス等を利用し、高血圧発症のメカニズムならびに臓器合併症・環境との相互作用の解明を目指す。上記2つの遺伝子は、従来の解析方法では明らかにされなかった新しい成・治療のターゲットとなりうる。

3. 研究の方法

3年間で2つの遺伝子の疾患感受性遺伝子としての機能解明を行い、報告していく。

(1)LPIN1 遺伝子 前向きコホート集団での疫学解析、ならびに Vanderbilt 大学との共同研究で、他人種での replication study を、さらに同遺伝子全体を re-sequence を行い新規変異の同定を行う。ヒト内臓脂肪を約 40 検体収集しており、脂肪分化に關与する組織発現の特徴を検討する。

(2)ATP2B1 遺伝子 血管平滑筋特異的ノックアウトマウスに加えて、血管内皮細胞(TEK)特異的ノックアウトマウスの作成を行い、機能解析を行い高血圧発症のメカニズムにせまる。また、可能であれば同遺伝子の集団遺伝学的な解析を行いリスクアレルの検討をする。

4. 研究成果

(1) LPIN1 遺伝子と血圧の関連について解析を行うため、fld マウスを用いて血圧解析を行った。テイルカフ法およびテレメトリー法において、fld マウスは control 群において有意な血圧上昇を認め、血圧上昇のメカニズムを明らかにするためホルモン検査を実施したところ、尿中ノルアドレナリンの上昇を認め、fld マウスの血圧上昇には交感神経活性が関与している可能性を示した。さらに2014年第37回日本高血圧学会総会(10月19日、横浜)のポスター発表で、「LPIN1欠損マウスを用いたLPIN1遺伝子の血圧制御の機能解析」で優秀演題賞を獲得した。

(2)ATP2B1 遺伝子の血管平滑筋、血管内皮、遠位尿細管、全身ヘテロの臓器特異的ノックアウトマウスの解析および、期間内に血管平滑筋特異的遺伝子過剰発現マウスの作成に成功し、現在、機能解析を進めている。

2014年に全身ヘテロノックアウトマウスの作成に成功し、血圧が上昇することも報告している。(Fujiwara A, et al. J Hypertens. 32: 1415-1423, 2014)

さらに、2014年第37回日本高血圧学会総会(10月19日、横浜)の口演で、「Ca transporter (PMCA1)をコードするATP2B1

の SNP 多型を用いたテーラーメイド医療の可能性「GEANE 研究サブスタディ」を発表している。

また、腎臓での ATP2B1 の血圧への影響を検討するため遠位尿細管～集合管特異的 ATP2B1 欠損マウス(ATP2B1^{-/-})を作成し解析を行った。ATP2B1^{-/-}では、テイルカフ法およびテレメトリー法において有意な血圧の差異は認められなかった。一方で、ATP2B1^{-/-}は多飲・多尿・低浸透圧尿・高 Ca 尿を呈していた。遠位尿細管での ATP2B1 発現低下は、尿中の Ca 再吸収を抑制し、高 Ca 尿を引き起こすことが明らかとなった。さらに尿中での Ca²⁺排泄増加は集合管領域において管腔側の CaSR を活性化し、AQP2 の細胞膜上への移動を抑制することで多尿を呈することを示した。本態性高血圧の感受性遺伝子の 1 つとして考えられている ATP2B1 遺伝子の腎臓、とくに遠位尿細管領域での発現低下は Ca 排泄量を増加させたが、血圧へは影響を与えなかった。本研究では高血圧がなくとも高 Ca 尿を呈したことから少なくとも高 Ca 尿は高血圧の 2 次的な影響ではないことを示したと言える。

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 3 件)

Fujiawa A, Keisuke Yatsu(18 人中 6 番目), Satoshi Umemura (18 人中 18 番目), et al. Impaired nitric oxide production and increased blood pressure in systemic heterozygous ATP2B1 null mice. *J Hypertens.* **32**: 1415-1423, 2014. 査読あり
Akira Oka(9 人中 1 番目), Keisuke Yatsu(9 人中 7 番目), et al. IL12B and IL23R gene SNPs in Japanese psoriasis. *Immunogenetics* **65**: 823-828, 2013. 査読あり

Fujiawa A, Hirawa N, Umemura S. ATP2B1

and blood pressure: from associations to pathophysiology. *Curr Opin Nephrol hypertens.* **22**: 177-184, 2013. 査読あり

〔学会発表〕(計 17 件)

第 51 回高血圧関連疾患モデル学会、2015 年 10 月 30 日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市) ポスター

奥山由紀, 平和伸仁, 鍵本美奈子, 江原洋介, 勝又真理, 藤田恵美, 藤原亮, 小林雄祐, 坂早苗, 谷津圭介, 戸谷義幸, 梅村敏

「高血圧感受性遺伝子 ATP2B1 の血管平滑筋における役割～血管平滑筋特異的 ATP2B1KO マウスを用いた降圧薬の効果比較～」

第 51 回高血圧関連疾患モデル学会、2015 年 10 月 30 日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市) ポスター

「全身ヘテロ ATP2B1 欠損マウスにおける高血圧と低 Ca 血症の関連について」

江原洋介, 藤原亮, 平和伸仁, 角田剛一郎, 奥山由紀, 藤田恵美, 勝又真理, 小林雄祐, 坂早苗, 谷津圭介, 戸谷義幸, 安田元, 梅村敏

第 51 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会、2015 年 10 月 30 日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市) 口演(優秀演題賞)

藤田恵美、平和伸仁、江原洋介、奥山由紀、谷津圭介、梅村敏

「遠位尿細管特異的 ATP2B1 欠損マウスは食塩感受性高血圧を呈する」

第 38 回日本高血圧学会総会、2015 年 10 月 10 日、愛媛県民文化会館(愛媛県松山市) 口演

「全身ヘテロ ATP2B1 欠損マウスにおける高血圧と低 Ca 血症の関連について」

江原洋介, 藤原亮, 平和伸仁, 角田剛一郎, 奥山由紀, 藤田恵美, 勝又真理, 小林雄祐, 坂早苗, 谷津圭介, 戸谷義幸, 安田元, 梅村敏

第 52 回日本臨床分子医学会、2015 年 4 月 10 日、みやこめっせ(京都府京都市)ポスター

奥山由紀、藤原亮、平和伸仁、鍵本美奈子、江原洋介、勝又真理、藤田恵美、小林雄祐、坂早苗、谷津圭介、戸谷義幸、梅村敏

「ATP2B1 の血管内皮における血圧への影響：血管内皮特異的ノックアウトマウスを用いた検討。」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 19 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)口演

谷津圭介、神出計、平和伸仁、奥山由紀、江原洋介、藤田恵美、藤原亮、小林雄祐、坂早苗、戸谷義幸、花田裕典、宮田敏行、河野雄平、梅村敏

「Ca transporter (PMCA1) をコードする ATP2B1 の SNP 多型を用いたテーラーメイド医療の可能性-GEANE 研究サブスタディー-」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 18 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)ポスター(高得点演題)

奥山由紀、谷津圭介、江原洋介、勝又真理、藤田恵美、藤原亮、小林雄祐、坂早苗、平和伸仁、戸谷義幸、梅村敏

「LPIN1 欠損マウスを用いた LPIN1 遺伝子の血圧の制御機能の解析」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 18 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)ポスター

藤田恵美、平和伸仁、江原洋介、奥山由紀、藤原亮、坂早苗、小林雄祐、谷津圭介、戸谷義幸、梅村敏

「高血圧感受性遺伝子 ATP2B1 遠位尿細管特異的欠損マウスの解析」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 18 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)ポスター

中山雄太、藤田恵美、平和伸仁、江原洋介、奥山由紀、勝又真理、藤原亮、小林雄祐、坂早苗、谷津圭介、戸谷義幸、梅村敏

「長期にわたる遠位尿細管 ATP2B1 欠損がおよぼす影響 高齢マウスを用いた検討」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 18 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)口演(シンポジウム)

平和伸仁

「本態性高血圧の成因における遺伝子変異 ~GWAS の意義と ATP2B1 の働き~」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 17 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)口演

藤原 亮、平和伸仁、江原 洋介、奥山 由紀、藤田 恵美、勝又 真理、小林 雄祐、坂 早苗、谷津 圭介、戸谷 義幸、梅村 敏

「ATP2B1 遺伝子の全身ヘテロノックアウトマウスにおける臓器障害とカルシウム代謝」

第 37 回日本高血圧学会総会、2014 年 10 月 17 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)口演(シンポジウム)

谷津圭介、平和伸仁、奥山由紀、江原洋介、藤田恵美、藤原亮、小林雄祐、坂早苗、戸谷義幸、梅村敏

「遺伝子解析からモデル動物での機能解析への戦略：ATP2B1 遺伝子欠損マウス」

14th Asian Pacific Congress of Nephrology、2014 年 5 月 15 日、品川プリンスホテル(東京都品川区)口演
M Fujita, N Hirawa, Y Okuyama, A Fujiwara, Y Kobayashi, S Saka, K Yatsu, S Umemura

「Distal tubules-specific knockout of ATP2B1 is associated with severe polyuria and hypercalciuria without hypertension」

第 36 回日本高血圧学会総会、2013 年 10 月 25 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)口演

新居田翔子、小林雄祐、藤川哲也、富田啓

人、奥山由紀、鈴木将太、藤田恵美、藤原亮、坂早苗、谷津圭介、橋本達夫、平和伸仁、戸谷義幸、小林英雄、梅村敏

起立性低血圧における動脈硬化指標 CAVI と自律神経機能の関連の評価

第 36 回日本高血圧学会総会、2013 年 10 月 24 日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）ポスター

富田啓人、小林雄祐、藤川哲也、新居田翔子、奥山由紀、鈴木将太、藤田恵美、藤原亮、坂早苗、谷津圭介、橋本達夫、平和伸仁、戸谷義幸、小林英雄、梅村敏

「脂質異常症症例における CAVI を用いた動脈硬化の進展程度評価とその関連因子の検討」

第 36 回日本高血圧学会総会、2013 年 10 月 24 日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）口演

藤原 亮、平和伸仁、奥山 由紀、藤田 恵美、小林雄祐、谷津圭介、戸谷 義幸、梅村敏

「ATP2B1 遺伝子の全身ヘテロノックアウトマウスにおける血圧上昇と NO 産生の低下」

第 56 回日本腎臓学会学術総会、2013 年 5 月 11 日、東京国際フォーラム（東京都千代田区）ポスター

藤田 恵美、平和伸仁、奥山 由紀、藤原亮、坂 早苗、小林雄祐、涌井 広道、橋本 達夫、長濱 清隆、山本 有一郎、谷津圭介、梅村敏

「高血圧感受性遺伝子 ATP2B1 の機能：遠位尿細管特異的 ATP2B1 欠損マウスを用いた検討」

〔図書〕(計 3 件)

若年発症、遺伝歴が濃厚な高血圧は遺伝性か 谷津圭介・梅村敏
血圧 2015 年 Vol.22 No.10 39-43、先端医学社

ゲノムワイド解析から同定した新規高血圧遺伝子 ATP2B1 - ノックアウトマウスの解

析 藤原 亮・梅村 敏

医学のあゆみ 2015 年 Vol. 253 No.13 1251-1252、医歯薬出版

高血圧関連遺伝子と創薬の可能性 谷津圭介・梅村敏

循環器内科 2014 年 Vol.76 No.4 422-26、科学評論社

〔産業財産権〕

取得状況(計 4 件)

名称：高血圧感受性遺伝子群の同定

発明者：梅村敏、平和伸仁（三木哲郎、田原康玄、小原克彦、名倉潤（愛媛大学）、上島弘嗣、喜多義邦、中村保幸（滋賀医科大学））
権利者：公立大学法人横浜市立大学、国立大学法人愛媛大学、国立大学法人滋賀医科大学
種類：ヨーロッパ特許

番号：2256193

取得年月日：2015/12/16

国内外の別：ヨーロッパ

名称：高血圧感受性遺伝子群の同定

発明者：梅村敏、平和伸仁（三木哲郎、田原康玄、小原克彦、名倉潤（愛媛大学）、上島弘嗣、喜多義邦、中村保幸（滋賀医科大学））
権利者：公立大学法人横浜市立大学、国立大学法人愛媛大学、国立大学法人滋賀医科大学
種類：中国特許

番号：ZL201310537894.3

取得年月日：2015/11/11

国内外の別：中国

名称：高血圧感受性遺伝子群の同定

発明者：梅村敏、平和伸仁（三木哲郎、田原康玄、小原克彦、名倉潤（愛媛大学）、上島弘嗣、喜多義邦、中村保幸（滋賀医科大学））
権利者：公立大学法人横浜市立大学、国立大学法人愛媛大学、国立大学法人滋賀医科大学
種類：韓国特許

番号：10-1458730 号

取得年月日：2014/10/30

国内外の別：韓国

名称：高血圧感受性遺伝子群の同定

発明者：梅村敏、平和伸仁（三木哲郎、田原康玄、小原克彦、名倉潤（愛媛大学）、上島弘嗣、喜多義邦、中村保幸（滋賀医科大学））

権利者：公立大学法人横浜市立大学、国立大学法人愛媛大学、国立大学法人滋賀医科大学

種類：日本特許

番号：特許第 5608944 号

取得年月日：2014/9/12

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅村 敏 (UMEMURA, Satoshi)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：00128589

(2) 研究分担者

水木 信久 (MIZUKI, Nobuhisa)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：90336579

平和 伸仁 (HIRAWA, Nobuhito)

横浜市立大学・市民総合医療センター・准教授

研究者番号：20315766

岡 晃 (OKA, Akira)

東海大学・付置研究所・講師

研究者番号：80384866

谷津 圭介 (YATSU, Keisuke)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：10457856

小林 雄祐 (KOBAYASHI, Yusuke)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：60612629