

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月31日現在

機関番号：34504

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590894

研究課題名（和文） アンジオテンシンⅡ受容体遺伝子多型が高血圧と関連して心血管事故に及ぼす影響の検討

研究課題名（英文） Effect of Angiotensin II Type I Receptor Gene Polymorphism on Cardiac Events in Patients with Hypertension

研究代表者 佐藤 洋（SATO HIROSHI）
関西学院大学・人間福祉学部・教授

研究者番号：10294092

研究成果の概要（和文）：

アンジオテンシン受容体(AT1R)遺伝子多型の子後への影響を心筋梗塞後の臨床例において層別に検討した結果、AT1R(1166A→C)多型が高血圧と関連して心血管事故増大に関与することが示された。関与する機構として、アンジオテンシンⅡ刺激によりそのネガティブフィードバック機構の一部としてマイクロRNA産生が亢進し、AT1R翻訳が抑制されること、また、早期心臓死例では血清中のMiR155濃度が高いことを示した。

研究成果の概要（英文）：

Clinical impact of polymorphism of angiotensin receptor gene(AT1R(1166A→C)) was examined in discharged patients with acute myocardial infarction. This polymorphism related with increased risk for cardiac death especially in patients with hypertension. Furthermore, MicroRNA155, which reduces translation of ATIR, was elevated in patients with cardiac death early after discharge.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1700000	510000	2210000
2010年度	1300000	390000	1690000
2011年度	500000	150000	650000
年度			
年度			
総計	3500000	1050000	4550000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：臨床心血管病態学

1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞は悪性新生物と並び本邦における最も主要な死因の一つである。近年、遺伝子解析の進歩に伴い心筋梗塞においても遺伝的リスクの同定が試みられ、

我々もこれまでにTumor Necrosis Factor (TNF) スーパーファミリーの一員であるリンホトキシン α (LTA) (参考文献1)、およびその結合蛋白であるGalectin-2 (参考文献2)、そしてその他いくつかの遺伝子の多型

が心筋梗塞発症に関与することを報告してきた。しかしながら我々の報告を含めて今までに報告された遺伝子多型はすべて糖尿病・高血圧・高脂血症・喫煙など古典的冠危険因子とは独立して心筋梗塞の発症に関与するとされており、冠危険因子を有する症例において心筋梗塞の発症リスクが増大するという事象を説明できていない。そのため、これら遺伝子多型研究の成果は非常に優れた科学的知見を残しながらも実臨床に応用されてきたとは言い難い。

さて今後、個々の症例、あるいは健常例の遺伝背景を基にした個別医療がクローズアップされてくるものと考えられるが、その実現のためには個々の遺伝背景が各個人においてどのような環境下で作用を発現するかという視点が重要となる。

そこで我々が大阪大学を中心とした多施設共同研究である大阪急性冠症候群研究会（OACIS: Osaka Acute Coronary Insufficiency Study）の遺伝子バンクを用いて、予備的にレニンアンジオテンシン系・交感神経系の遺伝子多型と生活習慣病との関係を探した結果、心筋梗塞発症者の中でアンジオテンシン II 1型受容体（AT1R）遺伝子多型(1166A→C)を有する頻度が高血圧合併症例において有意に高いことを見出した（12.4% vs 17.8%, $p=0.0029$;未発表データ）。このAT1R(1166A→C)多型は一部の人種において若年発症高血圧の発症に関与すると報告はあるが、多くの報告によるとその存在と高血圧発症に関連はないとされており、日本の既報においてもAT1R(1166A→C)多型保有者の頻度は高血圧の有無に係わらず14-5%であって高血圧との関連は報告されていない（参考

文献3,4)。そのため本遺伝子多型は高血圧という環境因子への暴露を背景として心血管事故の増大に関与すると考えられた。すなわち動脈硬化性疾患の代表ともいえる心筋梗塞における生存退院後の予後および心血管事故発生にAT1R(1166A→C)多型が高血圧に関連して関与していることが示唆された。

2. 研究の目的

近年、心血管病や生活習慣病における遺伝リスクの解明が進んでいるが、生活習慣病と関連して心血管事故を増大させる遺伝子多型の報告はない。本研究では、高血圧を合併した心筋梗塞症例においてアンジオテンシン II 1型受容体遺伝子（AT1R）多型(A1166C)が心血管事故に及ぼす影響を検証する。

また今回、その機序の解明を試みることにした。これまでAT1R(1166A→C)部位はAT1R遺伝子3'側の非翻訳領域に位置するため基礎的な検討が難しく、既報においても検討は疫学的範囲にとどまっていたが、近年マイクロRNAを介したAT1R(1166A→C)多型の機能発現制御機構が明らかとなり(参考文献5)、基礎的検討も可能となった。そこで今回我々は高血圧を合併した心筋梗塞症例においてAT1R(1166A→C)多型が動脈硬化、ひいては心血管事故に及ぼす影響とその機序を解明するべく本研究を立案した。

3. 研究の方法

① 臨床例におけるAT1R(1166A→C)多型の影響の確認

前述の如くOACISデータベースはAT1R(1166A→C)多型が高血圧と関連して心血管事故増大に関与することを示唆

しているが (N=2,383)、検定P値0.05前後と十分とはいえない。そのため新たなOACIS研究登録例1000症例においてAT1R(1166A→C)多型の追加解析を行った。

② 各種薬剤によるAT1R(1166A→C)多型の影響の抑制効果の確認

文献的にはアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)およびHMG-CoA阻害薬(スタチン)において単球におけるAT1Rの発現の抑制効果が報告されている(参考文献5)。またレニンアンジオテンシン系の遺伝子多型の影響抑制に関しては当然、レニンアンジオテンシン変換酵素阻害薬(ACEI)、アンジオテンシンII受容体拮抗薬阻害薬(ARB)の有効性が期待され、かつレニンアンジオテンシン系とのクロストークが確認されている交感神経系抑止効果を有するβ遮断薬もそうした効果が期待される。そこでこれらの薬剤に関して検討した。

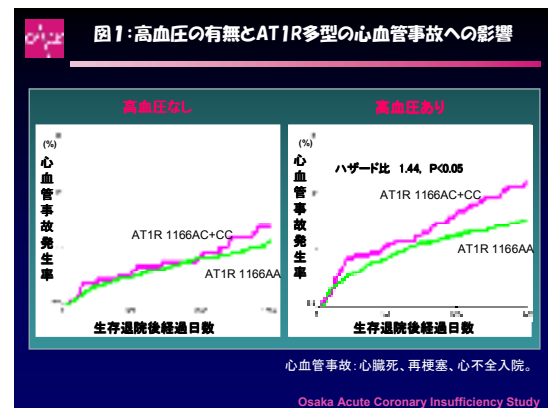
③ 内皮細胞との接着効果および単球細胞の遊走、マクロファージへの分化と泡沫化に関する検討

心筋梗塞を始めとした動脈硬化性疾患の進展、発症には単球細胞の内皮との接着、および内皮下への遊走、その後の、マクロファージへの分化と泡沫化が重要な役割を果たす。そこで本多型の存在が、こうした機序に影響を及ぼすか否かを検討した。

4. 研究成果

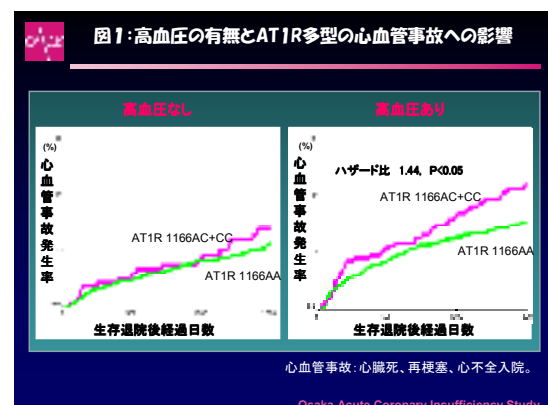
① まずOACISのデータベース(N=2,383)を用いてAT1R(1166A→C)多型が前述の心筋梗塞後の心血管事故に及ぼす影響を検討したところ、

AT1R(1166A→C)多型を有する高血圧症例では累積心血管事故率は上昇し(図1)、また多変量Cox解析によるリスクは高血圧非合併例では増大しないが、高血圧合併症例においては有意に増大することが明らかとなった(ハザード比1.44、95%信頼区間1.01-2.06、 $p=0.046$)。



② 各種薬剤によるAT1R(1166A→C)多型の影響の抑制効果の確認

OACISデータベースを用いて検討した結果、AT1R(1166A→C)多型による心筋梗塞後の心血管事故発生率が、スタチン投与例では低率であることを確認した(図2)。なおACEI、ARB、β遮断薬はそうした効果を有しなかった。

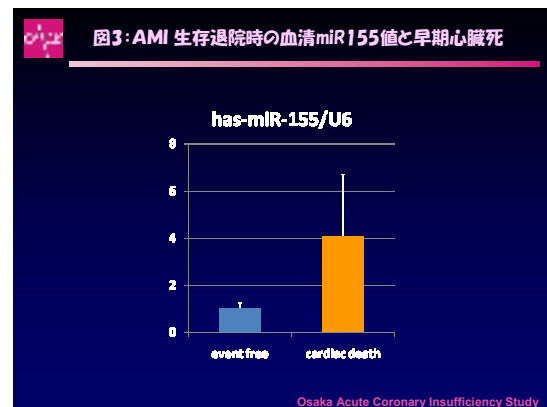


③ 心筋梗塞を始めとした動脈硬化性疾患の進展、発症には単球細胞の内皮との接着、

および内皮下への遊走、その後の、マクロファージへの分化と泡沫化が重要な役割を果たす。そこで最後に本多型の存在が、こうした機序に影響を及ぼすか否かを検討した。しかしながらアンジオテンシン II 刺激によるこれらの事象への誘導が 1.0-1.3 倍程度と軽微であるため、あらゆる細胞種を用いて、またプロトコールを変えて実験を頻回に繰り返したが、有意差を持って仮説を証明するのは困難であった。またこれら細胞に於いてアンジオテンシン II 刺激によりそのネガティブフィードバック機構としてマイクロ RNA (MiR155) の産生が亢進し、AT1R の翻訳が抑制されること、そしてその抑制が多型を有する細胞においては減弱していることを確認することを最低限確認するために、我々の有する個人情報の欠損した 20 例の線維芽細胞を用いた検討も立案したが実現に至らなかった。しかしながら以上の検討により、血管平滑筋細胞や内皮細胞など動脈硬化に関わるすべての細胞に於いてアンジオテンシン II 刺激により、マイクロ RNA (MiR155) が産生されることが確認できた。

ちなみに AT1R 遺伝子の翻訳は AT1R 第 1166 塩基部位に働くマイクロ RNA (MiR155) により調節されている。すなわち MiR155 は AT1R の 1166A 部位と結合して AT1R の翻訳を抑制するが、多型である 1166C とは結合力が弱いため翻訳の抑制は減弱する。一方 MiR155 の 1166A との結合部位を U から A に置換した mut-MiR155 は 1166C に結合して AT1R の翻訳を抑制する (参考文献 6)。また我々の検討からは心筋梗塞生存退院例に於いて早期に心臓死を生じる症例では血清中の MiR155 濃度が高いことが今回明らかとなった (図3、論文投稿中)。現在この心臓死亡が高血圧に関連するものか調査中ではあるが、通常心臓死亡を呈する症例ではレニンアンジオテンシン系が

亢進していることを考え合わせると、レニンアンジオテンシン系亢進に対するネガティブフィードバックとして MiR155 が産生されていたと考えられる。すなわち同じくレニンアンジオテンシン系亢進していると考えられる高血圧症例でも AT1R (1166A→C) 多型と MiR155 に由来するレニンアンジオテンシン系の活性化が心血管事故に關与する可能性を示唆するものと考えられる。



<参考文献>

- 1) Ozaki K et al., Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet.* 2002;32(4):650-4.
- 2) Ozaki K et al., Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin-alpha secretion in vitro. *Nature.* 2004;429(6987):72-5.
- 3) Sugimoto K et al., Association between angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and essential hypertension: the Ohasama Study. *Hypertens Res.* 2004 Aug;27(8):551-6.
- 4) Ono K et al., Lack of association between angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and hypertension in Japanese. *Hypertens Res.* 2003 Feb;26(2):131-4.
- 5) Marino, F., L. Guasti, et al. (2008). "Simvastatin treatment in subjects at high cardiovascular risk modulates AT1R expression on circulating monocytes and T lymphocytes." *J Hypertens* 26(6): 1147-55.

- 6) Martin M et al., The human angiotensin II type 1 receptor +1166A/C polymorphism attenuates microRNA-155 binding. *J Biol Chem.* 2007; 282(33): 24262-24269.

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 6 件)

- ① Sakata Y, Nakatani D, Shimizu M, Suna S, Usami M, Matsumoto S, Hara M, Sumitsuji S, Kawano S, Iwakura K, Hamasaki T, Sato H, Nanto S, Hori M, Komuro I. Oral treatment with nicorandil at discharge is associated with reduced mortality after acute myocardial infarction. *J Cardiol.* 2012; 59:14-21 査読有り
- ② Shiozaki M, Iso H, Ohira T, Nakatani D, Shimizu M, Sakata Y, Komuro I, Sato H. Longitudinal risk of cardiovascular events in relation to depression symptoms after discharge among survivors of myocardial infarction. *Osaka Acute Coronary Insufficiency Study. Circ J.* 2011;75:2878-2884. 査読有り
- ③ Aoki A, Ozaki K, Sato H, Takahashi A, Kubo M, Sakata Y, Onouchi Y, Kawaguchi T, Lin TH, Takano H, Yasutake M, Hsu PC, Ikegawa S, Kamatani N, Tsunoda T, Juo SH, Hori M, Komuro I, Mizuno K, Nakamura Y, Tanaka T. SNPs on chromosome 5p15.3 associated with myocardial infarction in Japanese population. *J Hum Genet.* 2011 Jan;56(1):47-51. 査読有り
- ④ Usami M, Sakata Y, Nakatani D, Shimizu M, Suna S, Matsumoto S, Hori M, Sato H, on behalf of The Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Group. Effect of intracoronary thrombectomy on 30-day mortality in non-diabetic patients with acute hyperglycemia after acute myocardial infarction. *J. Cardiol.* 2009;53(3):429-436. 査読有り
- ⑤ Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, Lin TH, Miyamoto Y, Aoki A, Onouchi Y, Sheu SH, Ikegawa S, Odashiro K, Nobuyoshi M, Juo SH, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. SNPs in BRAP associated with risk of myocardial infarction in Asian populations. *Nat Genet.* 2009;41(3):329-33. 査読有り
- ⑥ Nakatani D, Sakata Y, Mizuno H, Shimizu M, Suna S, Usami M, Ito H, Yasumura Y, Hirayama A, Takeda H, Hori M and Sato H, on behalf of

the Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Group. Impact of Diabetes Mellitus on Rehospitalization for Heart Failure Among Survivors of Acute Myocardial Infarction in the Percutaneous Coronary Intervention Era. *Circ J.* 2009;73(4):662-666. 査読有り

[学会発表] (計 5 件)

- ① Yasuhiko Sakata, Sen Matsumoto, Daisaku Nakatani, Sinichiro Suna, Masaya Usami, Masahiko Hara, Takayuki Kojima, Hiroshi Sato, Masatake Fukunami, Shinsuke Nanto, Masatsugu Hori, and Issei Komuro. Circulating microRNAs may Predict Future Cardiac Remodeling and Heart Failure in Patients after Acute Myocardial Infarction. 2012年3月17日. 第76回日本循環器学会総会. Symposium 6: Diagnosis of Heart Failure Using Genetic Biomarker. Fukuoka. Japan.
- ② Sato H Weekly variation of circadian peaks for the onset of acute myocardial infarction in the working population 2012年3月13日 Cardiovascular Disease Epidemiology and Prevention/ Nutrition Physical Activity and Metabolism Scientific session 2012 Sheraton San Diego Hotel and Marina, San Diego, CA, USA
- ③ 原 正彦、坂田泰彦、松本 専、宇佐美雅也、砂真一郎、中谷大作、佐藤 洋、角辻 暁、西野雅巳、南都伸介、堀 正二、小室一成. レニンアンジオテンシンアルドステロン系の多型が心筋梗塞後の生命予後に及ぼす影響. 2011年11月26日. 第112回日本循環器学会 近畿地方会. 京都テルサ(京都市).
- ④ 松本 専、坂田泰彦、中谷大作、砂真一郎、宇佐美雅也、佐々木達也、佐藤 洋、南都伸介、堀 正二、小室一成. Clinical Impact of Renin Angiotensin Aldosterone System Gene Polymorphisms on Subsequent Cardiac Events after Acute Myocardial Infarction. 2011年8月3日. 第75回日本循環器学会総会. パシフィコ横浜(横浜市).
- ⑤ 佐藤 洋 急性心筋梗塞患者の予後と退院後管理:近年の動向 2011年7月16日 第17回心臓リハビリテーション学会(招待講演)大阪国際会議場(大阪市)

[図書] (計 1 件)

- ① 佐藤 洋 ACSは遺伝するのか「EBM 循環器疾患の治療」中外医学社 2012年 p7-11

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：遺伝子多型による心筋梗塞発症後の心不全発症リスクの診断法

発明者：佐藤洋、堀正二、坂田泰彦

権利者：大阪大学

種類：特願

番号：2009-026315

出願年月日：平成21年2月6日

国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 洋 (SATO HIROSHI)

関西学院大学・人間福祉学部・教授

研究者番号：10294092

(2) 研究分担者

坂田 泰彦 (SAKATA YASUHIKO)

大阪大学大学院・医学系研究科・助教

研究者番号：90379206

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：