

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350881

研究課題名(和文) カテスタチンの多型を指標としたメタボリック症候群の分子診断法と新規治療法開発

研究課題名(英文) A Common Genetic Variant of the Chromogranin A-derived peptide Catestatin is Associated with Atherogenesis and Hypertension in a Japanese Population

研究代表者

竹越 一博 (TAKEKOSHI, Kazuhiro)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：40261804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：1) catestatin CST364S多型の臨床的意義の確立。日本人343名のG364S多型頻度は、6.1%。同多型を有する人は、野生型を有する人に比べてSBP(収縮期血圧)が 138.2 ± 2.7 と 132.0 ± 1.1 ($p=0.040$)に比較して有意に上昇。baPWV(脈波伝搬速度)が 1696.9 ± 60.1 と 1588.4 ± 17.8 ($p=0.017$)比較して有意に亢進していた。G364Sは血圧上昇を介した動脈硬化の進展が疑われる。Replication study計画中。2) PC12を用いてカテコルアミン合成系酵素活性に与える影響を検討したが、有意な変動は見られなかった。

研究成果の概要(英文)：CHGA gives rise to cardiovascular/metabolic regulatory peptides, such as catestatin (CST). While CST is a potent inhibitor of catecholamine secretion. Recently, several SNPs were identified in the CST domains of CHGA locus in different populations. Among the discovered SNPs, CST variant allele Ser-364 was associated with blood pressure alteration. In this study, we examined whether this CST variant alleles exist and influence cardiovascular and metabolic phenotypes in Japanese population. In 343 participants, the minor allele frequency of CST variant Ser-364 was 6.10%. The presence of Ser-364 allele was associated with increased in baPWV (an index of systemic arterial stiffness), suggesting an initiation and/or progression atherogenesis and hypertension. The Ser-364 allele was also associated with elevated systolic blood pressure and pulse pressure, consistent with increased baPWV.

研究分野：内分泌

キーワード：カテスタチン

1. 研究開始当初の背景

日本人の40以降の肥満の割合は増加しつつあり、特に男性は3人に1人がBMI25以上の肥満であり、それに伴いメタボリックシンドローム(MetS)の増加が懸念される。一方、早期診断や病態診断に有用な分子マーカーはほとんど知られていない。

最近、catestatin(CS)の多型 CST364S が MetS のマーカーとなる可能性が外国より報告されている。アメリカで catestatin の多型 CST364S と 血 圧 低 下 (Circulation. 2007;115(17):2271-81) およびインドで中性脂肪・血糖上昇 (J Biol Chem. 2012 ;287(52):43840-52) との相関が報告され MetS の分子マーカーとして有望視されている。一方、日本人における catestatin(CS) の多型については全く不明である。

2. 研究の目的

日本における catestatin CST364S 多型の臨床的意義の確立。

3. 研究の方法

既に日本人 MetS の 384 人のゲノム DNA 検体を保有している。また DNA 検体それぞれに以下の臨床情報 (Gender, Age, 収縮期 BP, 拡張期 BP, HDL, TG, LDL, 血中インスリン濃度, BS, HR, 腹囲, 体重, 動脈硬化の指標である PWV (Pulse Wave Velocity: 脈波伝播速度) と服薬歴が付随している。

4. 研究成果

- (1) 日本人 343 名における Catestatin の G364S 多型の頻度は、6.1% (MAF; minor allele frequency) であった。→地理的、民族的背景な差がありインド 8.0% 南カルフォルニア 3.1 の中間であった。
- (2) 先行研究と異なり、他の多型は検出されなかった。
- (3) Gly/Ser 多型を有する人は、Gly/Gly 型(野生型) を有する人に比べて SBP(収縮期血圧)が 138.2 ± 2.7 と 132.0 ± 1.1 に比

較して有意に上昇していた ($p=0.040$)。

(下記、図C参照)

- (4) Gly/Ser 多型を有する人は、Gly/Gly 型(野生型) を有する人に比べて PP(脈圧)が 56.1 ± 1.9 と 51.7 ± 0.7 ($p=0.021$) に比較して有意に大きかった (下記、図B参照)。
- (5) Gly/Ser 多型を有する人は、Gly/Gly 型(野生型) を有する人に比べて baPWV(脈波伝搬速度; 動脈硬化の指標) 1696.9 ± 60.1 と 1588.4 ± 17.8 ($p=0.017$) 比較して有意に亢進していた (下記、図A参照)。

脈波伝搬速度の亢進は動脈硬化の進行を表しており、日本人では G364S は血圧上昇を介した動脈硬化の進展が疑われる。

[考察]

ところで、本結果は先行研究と結果が異なる。アメリカ白人で catestatin の多型 CST364S と血圧低下の関連が報告された。また、インド人で同多型と中性脂肪と血糖上昇の関連が報告された。したがって G364S は人種や地理的な要因で異なる働きを発揮する可能性が示唆されるが、詳細な機序は不明である。

[今後の計画]

上記の疑問に答えるべく、現在、catestatin(CS)の CST364S 多型と MetS 関連表現型の相関の確立→さらに大規模な(被験者が 1000 人程度)を用いた replication study を計画中である

基礎研究: 培養細胞を用いた catestatin のカテコールアミン合成とシグナル伝達系に対する影響を討した。Catestatin がカテコールアミン合成を抑制する場合は降圧剤等の創薬にもつながる可能性があると考えた。標的分子としては Tyrosine hydroxylase (以下 TH) を考えた。つまり TH は、カテコール

アミン合成の律速酵素であり、抑制されればカテコールアミンの減少を介した血圧低下という他剤に見られない独自の作用が期待できるからである。THは主にリン酸化を介する酵素活性の調節による短期の調節と mRNA から蛋白にいたる中長期の2重の調節を受けている。今回、ラットの褐色細胞腫細胞のセルラインPC12における catestatin による TH 活性に与える影響を検討した。具体的には Catestatin による TH 酵素活性と同酵素活性調節に重要な ser40 と ser31 ser19 のリン酸化の影響とその上流のシグナル伝達系の検討。さらに TH mRNA レベルと同タンパクの増減も検討。もし抑制効果が観察された場合は Catestatin はニコチン受容体を介して作用すると報告されているため、そのノックダウンとニコチン阻害薬で、カテコールアミン合成の抑制の解除を確認する。

[対象と方法]

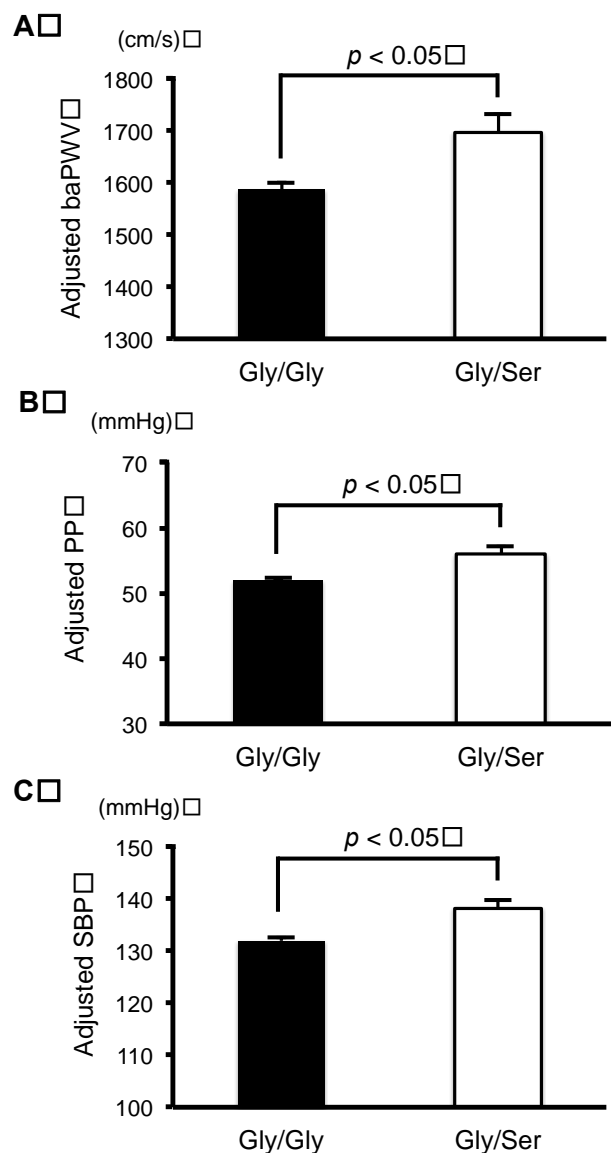
ラット褐色細胞腫の cell line である PC12 細胞を用いた。TH-酵素活性は Nagatsu らの変法を用いた (HPLC)。TH-酵素活性調節に重要な ser40 と ser31 ser19 のリン酸化の検出は Western blot。TH-mRNA は RT-PCR、TH-タンパク測定は、Western blot にて施行。cAMP 活性は kit (Promega)。

[結果]

catestatin 添加による上記のパラメーターには有意な変動は観察されなかった。

[考察]

上記より、少なくとも我々の実験系では catestatin はカテコールアミンの合成系には顕著な影響を与えないと思われた。



Association between baPWV, PP, SBP and CST genotypes.

a) Brachial-ankle pulse wave velocity (baPWV), an index of systemic arterial stiffness, in Gly364Ser and wild-type individuals. The baPWV value was measured according to the method described in experimental procedures. The baPWV values after adjustment for gender, age, BMI, hypertension, diabetes, dyslipidemia and smoking are expressed as mean \pm SE.

b) PP(pulse pressure) in Gly364Ser and wild-type individuals. Brachial pulse pressure

(PP) was calculated from SBP and DBP, both measured with volume plethysmography at the site of the brachial artery. PP values after adjustment for gender, age, BMI, anti-hypertensive medication, diabetes, dyslipidemia and smoking are expressed as mean \pm SE.

c) SBP (systolic blood pressure) in Gly364Ser and wild-type individuals. SBP values after adjustment for gender, age, BMI, anti-hypertensive medication, diabetes, dyslipidemia and smoking are expressed as mean \pm SE.

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 1 件)

1. Choi Y, Miura M, Nakata Y, Sugasawa T, Nissato S, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Kawakami Y, Shimano H, Iijima Y, Tanaka K, Kuno S, Allu PK, Mahapatra NR, Maeda S, Takekoshi K. A common genetic variant of the chromogranin A-derived peptide catestatin is associated with atherogenesis and hypertension in a Japanese population. *Endocr J*. 2015;62(9):797-804. doi: 10.1507/endocrj.EJ14-0471. Epub 2015 Jul 25. (査読有)

[学会発表] (計 1 件)

1. Kazuhiro Takekoshi, Yoshio Nakata, Seiji Maeda, Nitish R. Mahapatra. A Common Genetic Variant of Catestatin (Ser-364) is Associated with Atherogenesis and Hypertension in a Japanese Population. International Conference on Cardiovascular Translational Research & 13th Annual Conference of International Society for Heart Research (Indian Section),

2016/01/21, Chennai, India.

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹越一博 (TAKEKOSHI Kazuhiro)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：40261804

(2) 研究分担者

前田清司 (MAEDA Seiji)
筑波大学・体育系・教授
研究者番号：30282346

中田由夫 (NAKADA Yoshio)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：00375461

島野仁 (SHIMANO Hitoshi)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：20251241

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()