

特集 (多因子性疾患の遺伝解析と臨床応用)

本態性高血圧症の発症に関わるアンギオテンシノーゲン遺伝子多型

中島 敏晶 江見 充
日本医科大学老人病研究所分子生物学部門

Molecular variants of the human angiotensinogen gene associated with essential hypertension

Toshiaki Nakajima and Mitsure Emi
Department of Molecular Biology, Institute of Gerontology, Nippon Medical School

急速かつ深刻な高齢化社会を迎えるわが国において、生活習慣病の成因解明、発症前診断、新しい治療法の開発は急務である。中でも本態性高血圧症は最も頻度の高い疾患である。日本には3,000万人以上の高血圧症患者がいると推測されているが、その9割以上が本態性高血圧症であるとされている。本態性高血圧症が脳卒中、心筋梗塞の基礎疾患でもあることは周知の事実であり、その成因解明は医学のみならず社会的要求が強い。本態性高血圧症が多因子疾患であり、その発症には食事などの環境因子のみならず遺伝的因子が関与することが知られているが、成因解明には本態性高血圧症の原因遺伝子の解明が不可欠である。本態性高血圧症の発症には複数個の遺伝子が関与することが予想されており、精力的に原因遺伝子の解明が進められている。

疾患の原因遺伝子座を同定する方法としてパラメトリック連鎖解析法、ノンパラメトリック連鎖解析法、患者・対照関連試験が知られている(図1)。家系を用いたパラメトリック連鎖解析法では常染色体優性、劣性などの遺伝形式をはっきりさせる必要があり、複数の遺伝子が関与する疾患の原因遺伝子座の解析には適さない。また、発症年齢が高く世代を隔てた家系を集めるのが困難であることや、浸透度の低いこと、phe-

nocopy の存在なども本態性高血圧症の原因遺伝子座の同定方法としてパラメトリック連鎖解析法が適さない理由としてあげることができる。複数の遺伝子が関与する疾患の原因遺伝子座の解析にはノンパラメトリック連鎖解析法が頻用されている。ノンパラメトリック連鎖解析法には同胞対解析法、罹患した同胞対のみを用いた罹患同胞対解析法、家系内で患者を集めた Affected member pedigree 法などがある。図2に理解を簡単にするために罹患同胞間でのアレル共有を調べる identical by descent (IBD) 解析に基づいた罹患同胞対解析法の原理をしめすが、罹患同胞間で共有するアレルの数(観測値)と帰無仮説に基づく数(期待値)とを検定することにより、連鎖を検討する方法である。罹患同胞対解析法では検定力が弱いこと、遺伝マーカーの情報度に影響を受けやすい、遺伝マーカーとの距離が推測できないなどの欠点があるものの、遺伝形式の情報が必要でなく、複数の原因遺伝子が存在しても解析が可能といった長所がある。

われわれは罹患同胞対連鎖解析、および患者・対照関連試験などの分子遺伝学的手法を駆使することにより、本態性高血圧症の原因(責任)遺伝子のひとつとしてアンギオテンシノーゲン遺伝子が関与していることを明らかにしてきた。アンギオテンシノーゲンは血

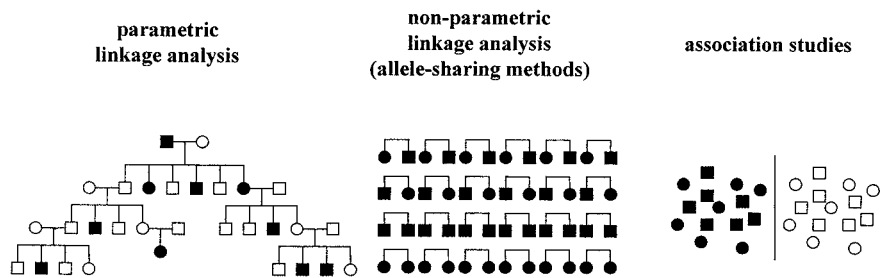


図1 多因子疾患の原因遺伝子解析法

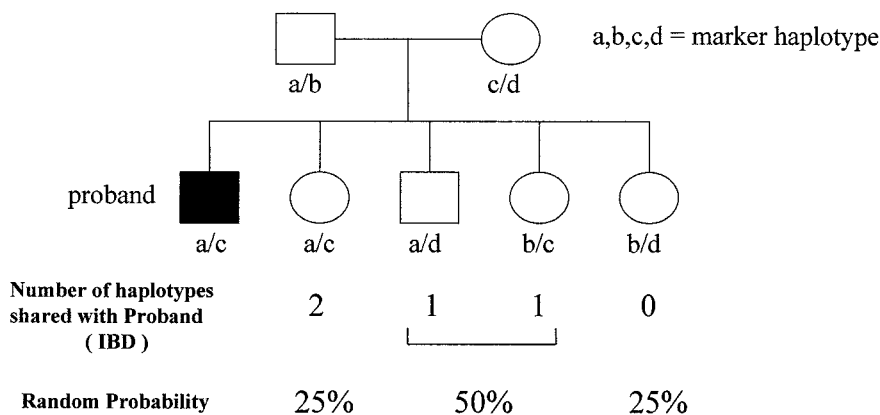


図2 identical by deseny (IBD) 解析法に基づいた罹患同胞対解析法の原理。罹患同胞間で共有するアレルの数は0,1もしくは2であり,その確率は各々 1/4, 1/2, 1/4 となる。つまり期待値は1となる。この帰無仮説に基づく期待値と罹患同胞間での観測値を検定することにより連鎖を検討することができる。罹患同胞間では疾患に連鎖したアレルを親から受け継ぎ共有していると考えられるので、観測値は期待値を超える。

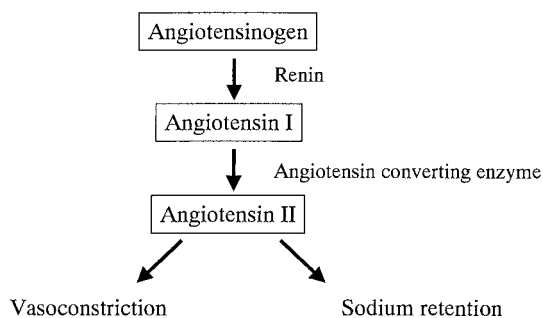


図3 レニン アンジオテンシン系

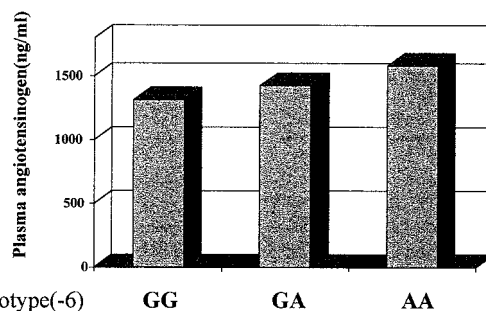


図4 アンジオテンシノーゲン遺伝子-6多型と血中アンジオテンシノーゲン

圧調節に重要な役割を果たすレニン アンジオテンシン系の唯一の基質であり,アンジオテンシンIIは強力な血管収縮作用, Na再吸収促進作用を有する(図3)。さらに,疾患と関連するアンジオテンシノーゲン遺伝子多型として,promoter領域の多型(-6A/G)を見出し,患者・対照関連試験において-6A多型と本態性高血圧症に強い関連を認めた。また,-6A多型に伴い血中アンジオテンシノーゲンが上昇することを見出し(図4),promoter多型にともなうアンジオテンシノーゲン遺伝子発現量の増加が疾患発症の一因となっている可能性が示唆された。ヒト肝細胞癌由来HepG2,ヒト胎児腎臓由来293 cell lineを用いたpromoter転写活性測定による検討において,-6A型が-6G型に比し高い転写活性を示し(図5),-6領域の多型がアンジオテンシノーゲン遺伝子発現に影響していることが確認された。

興味深いことにチンパンジーなどの霊長類,黒人,日本人,白人においてpromoter多型を検討した成績では,すべての人類以外の霊長類は-6A多型のみを有し,黒人,日本人,白人の順に-6A多型の頻度が減

少することが確認された。アフリカ起源の人類やその祖先は-6A多型をもち,塩分や水が不足する地域ではこの-6A多型が,アンジオテンシノーゲン遺伝子発現量の増加をきたし塩分や水の貯留する方向に有利に働いて入るものと推測された。一方,文明の進歩に伴う塩分摂取の増加に伴い,この遺伝子多型は淘汰され-6G多型が増えてきたものと推測される。

遺伝子の発現は転写調節因子により制御されているが,これまでの結果より-6領域を含むcore promoter領域に結合する転写因子が存在し,-6領域の多型によりその結合に変化がおこることが予想される。核抽出液をもちいたゲルシフトアッセイの結果,-6G型にのみ結合する転写因子が存在すること。その転写因子がアンジオテンシノーゲン遺伝子の発現に抑制的に機能していることをわれわれは明らかにしている。このcore promoter領域はGC-richな領域であるが,Sp1やAP2,GCFといった既知の転写因子は結合できないことを確認しており,このcore promoterに結合する抑制型転写因子の結合量がアンジオテンシノー

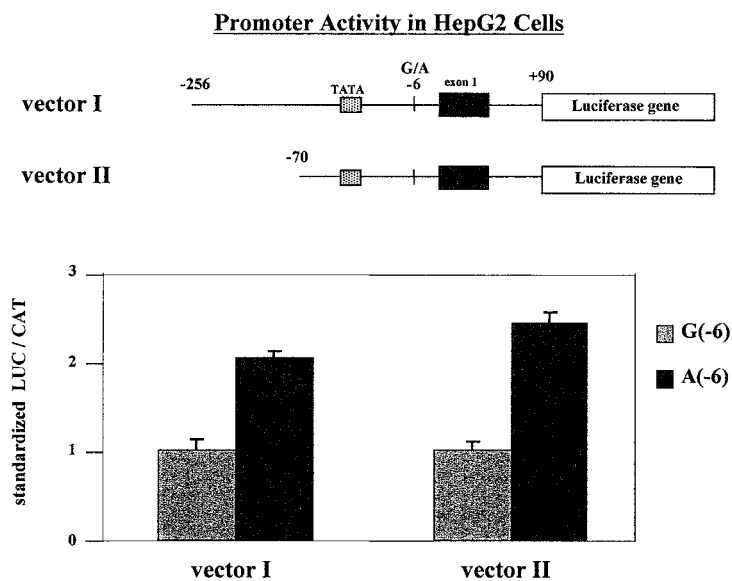


図5 アンジオテンシノーゲン遺伝子 -6 多型とプロモーター転写活性 .Luciferase 遺伝子の upstream にヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子のプロモーターを挿入し, -6 多型(A/G)とプロモーター転写活性を検討した. -6 A 型が -6 G 型と比し高い転写活性を示す.

ゲン遺伝子プロモーター領域の多型により変化し, アンジオテンシノーゲン遺伝子の発現に差が生じるものと推測された. 現在, この抑制型転写因子のクローニングに取り組んでいるが, この転写因子が明らかになることにより本態性高血圧症の分子生物学レベルでの発症機序がより明らかになるものと考えられる.

本研究はユタ大学ハワードヒューズ医学研究所 Jean Marc Lalouel 教授との共同研究によるものである.

文 献

1. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton

RP, Williams CS, Charru A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel J-M, Corvol P: Molecular basis of human hypertension: Role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71: 169-180.

2. Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, Cheng T, Ludwig EH, Sharma AM, Hata A, Jeunemaitre X, Lalouel J M: A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 1997; 99: 1786-1790.

(受付 : 1999 年 8 月 2 日)

(受理 : 1999 年 8 月 5 日)