アンジオテンシノーゲン遺伝子多型と高血圧の関連についての検討

片岡 哲・橋本 尚士・柿原 敏夫・田中 篤
川崎 琢也・菊池 透・高橋 秀雄・内山 聖

要 旨

アンジオテンシノーゲン遺伝子の第2エクソンのアミノ酸(235番)がメチオニンからスレオニンに置換した型をもつ者が、白人や日本人の成人の高血圧患者に多いことが報告されている。今回、日本人小児131名についてアンジオテンシノーゲン遺伝子多型をPCR法によって調べた。235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した型をもつalleleの頻度は0.76、またそのホモ接合型の頻度は58.8%であった。このホモ接合型を持つ小児と他の遺伝子型を持つ小児の間では、男女比、年齢、身長、体重、body mass index、上腕周囲長、拡張期血圧および本態性高血圧の家族歴に、明らかな差を認めなかった。しかし、収縮期血圧については、統計学的に有意差はなかったものの、ホモ接合型を持つ小児が他の遺伝子型を持つ小児より高い傾向にあった($p=0.069$)。

序 言

本態性高血圧症は、遺伝的に決定された体質に高食塩食やストレスなどの環境因子が負荷されて発症する多因子疾患である。ヒトの高血圧の関連遺伝子は現在のところ

数十個と報告されており、これまでに数多くの候補遺伝子が検討されたが、中でも強力な昇圧系であるレニン-アンジオテンシン系に属する遺伝子の研究が精力的に行われてきた。

ヒトアンジオテンシノーゲンは分子量60,000程度のレニン基質であり、アンジオテンシノーゲン遺伝子(AGT)は第1染色体長腕上(1q4)に存在し、全長は約12kbで5つのエクソンからなっている。フランスのJeunemaitreらは、ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子の第2エクソンに存在する704番目の核酸がチミンからシトシンに置換することによって、235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した型(M235T)をもつ者が高血圧患者に多いことを初めて明らかにした¹⁾。その後、日本人の成人においても、このM235Tが本態性高血圧と関連していると報告された²⁾。しかし、小児において、この遺伝子多型と高血圧の関連についての報告はいまだなされていない。

今回、我々は日本人小児において、AGT遺伝子多型と高血圧の関連について検討した。

対象・方法

対象は、新潟県のある地域において検診を行った、小学5年、中学1～3年生の健康小児で、男児80名、女児51名の計131名である(年齢:10～15歳、平均:13.0±1.9歳)。毎年、脂質、肝機能および末梢血検査を行っており、今回は地域の教育委員会の指導の元に両親の許可を得て、AGT遺伝子多型の分析を行った。

血圧は、Dinamap model 8104を用い、座位にて右上腕(13cmカフ)を3回計測し、3回目を各個人の血圧と

Key Words : アンジオテンシノーゲン遺伝子
高血圧
日本人小児

新潟大学医学部 小児科

(〒951 新潟市旭町通1-757)

A study of the angiotensinogen gene in relation to essential hypertension

Satoshi Kataoka, Naoshi Hashimoto, Toshio Kakihara, Atsushi Tanaka, Takuya Kawasaki, Toru Kikuchi, Hideo Takahashi, Makoto Uchiyama

Department of Pediatrics, Niigata University School of Medicine

図1 AGT 遺伝子の M235T 多型

表2 AGT 遺伝子多型の遺伝子型と allele の頻度

遺伝子型		
AA	9	(6.9%)
Aa	45	(34.3%)
aa	77	(58.8%)
Alleles		
A	0.24	
a	0.76	

235番目のアミノ酸がメチオニンとなる allele を A、スレオニンとなる allele を a とする

した。また、同時に身長、体重、上腕周囲長を測定した。body mass index (BMI) は、体重 (kg)/身長 (m)²にて計算した。本態性高血圧の家族歴を、問診において、父または母が高血圧 (収縮期血圧150mmHg 以上または拡張期血圧90 mmHg 以上) の場合を3点、祖父母の1人が高血圧の場合を1点として合計点数として評価した³⁾。

末梢白血球より DNA を抽出し、AGT 遺伝子の235番目のアミノ酸の変異を、Russ らの PCR 法により観察した⁴⁾。PCR 産物を制限酵素 Tth111I で消化後、8%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、紫外線下で観察した。PCR 産物は165bp となり、235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した型をもつ allele の PCR 産物は、チミンがシトシンに変わることによって制限酵素 Tth111I の認識部位を持つようになり、

表1 対象のプロフィール

人数	131
男児	80
女児	51
年齢 (才)	13.0±1.9
身長 (cm)	154.8±12.3
体重 (kg)	46.0±11.3
BMI (kg/m ²)	18.9±2.6
上腕周囲長 (cm)	22.8±2.9
収縮期血圧 (mmHg)	117.4±9.6
拡張期血圧 (mmHg)	59.2±8.9
高血圧の家族歴	2.18±1.36

数値は 平均±標準偏差

BMI: body mass index

高血圧の家族歴のスコアは本文で定義

表3 M235T 型のホモ接合型とその他の遺伝子型を持つ小児における性別、年齢、身体サイズ、血圧、および高血圧の家族歴の比較

	AA+Aa	aa	p
人数	54	77	
男児	35	45	0.47
女児	19	32	
年齢 (才)	13.1±1.9	13.0±1.8	0.74
身長 (cm)	154.7±12.8	154.8±12.1	0.96
体重 (kg)	45.4±11.3	46.5±11.3	0.58
BMI (kg/m ²)	18.7±2.6	19.1±2.6	0.32
上腕周囲長 (cm)	22.7±2.7	22.8±3.1	0.86
収縮期血圧 (mmHg)	115.6±9.2	118.7±9.7	0.069
拡張期血圧 (mmHg)	59.0±9.1	59.3±8.8	0.83
高血圧の家族歴	2.20±1.28	2.16±1.42	0.84

BMI: body mass index

高血圧の家族歴は本文で定義

141bp と24bp に消化される。以下、235番目のアミノ酸がメチオニンとなる allele を A、スレオニンとなる allele を a とする。PCR で検索した AGT 遺伝子型は、165bp のホモ (AA 型)、165bp と141bp のヘテロ (Aa 型)、141bp のホモ (aa 型) の3パターンとなった (図1)。

統計処理は、3 遺伝子型間で小児の血圧および高血圧の家族歴を分析するために One-way ANOVA を用いた。M235T 型のホモ接合型を持つ小児とその他の遺伝

子型をもつ小児との間の変数の分析には、対応のない t 検定および χ^2 検定を用いた。

成 績

131人のプロフィールは表1のとおりである。

表2はAGT遺伝子多型の遺伝子型と各alleleの頻度についての結果である。AA型6.9%, Aa型34.3%, aa型58.8%であり、各alleleの頻度はAが0.24, aが0.76であった。3遺伝子型(AA型, Aa型, aa型)と、収縮期血圧、拡張期血圧および高血圧の家族歴との間には明らかな関連は見られなかった。

M235T型のホモ接合型であるaa型を持つ小児と、他の遺伝子型(AA型+Aa型)を持つ小児の2群に分けて検討した(表3)。2群間で、男女比、年齢、身長、体重、BMI、上腕周囲長、および拡張期血圧に明らかな差を認めなかった。しかし、収縮期血圧については、統計学的に有意差はなかったものの、ホモ接合型を持つ小児が他の遺伝子型を持つ小児より高い傾向にあった($p=0.069$)。本態性高血圧の家族歴に関して、2群間に明らかな差を認めなかった($p=0.84$)。

考察および結論

本態性高血圧症は、環境因子と遺伝的な要因にて発症する多因子疾患である。遺伝的感受性が本態性高血圧発症に重要な役割を果たし、家族内、双子間の研究により本態性高血圧症の20~40%が遺伝素因であると報告されている⁵⁾。レニン-アンジオテンシン系は、血圧や体液量の調節に重要な役割を果たしている。このレニン-アンジオテンシン系に属する遺伝子が高血圧と関連すると報告されている¹⁾⁶⁾⁷⁾。

Jeunemaitreらは、AGT遺伝子の15カ所の置換部位のなかで、2カ所の部位が高血圧と有意に関連すると報告した¹⁾。その1つが、第2エクソンに存在する704番目の核酸がチミンからシトシンに置換することによって、235番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに置換した型(M235T)である。その後、日本人の成人においても、このM235Tが本態性高血圧と関連していると報告され、高血圧群と正常群の間において、このM235T型のホモ接合型の頻度に有意な差が認められた²⁾⁸⁾。また別の報告でも、妊娠中毒症に伴う高血圧の妊婦が、正常の血圧の妊婦よりM235Tの頻度が高いと報告された⁹⁾。

今回、アンジオテンシノーゲン濃度は測定していないが、アンジオテンシノーゲン濃度が遺伝子型と有意に関係し、aa型の値がAA型の値より20%高いと報告され

ている¹⁾。血漿アンジオテンシノーゲン濃度の基準が高いことによってレニン-アンジオテンシン系の感受性が亢進し、個人の血圧の設定を上昇させるのかもしれない。

M235Tをもつalleleの頻度は、白人の成人の正常血圧群が0.35~0.4¹⁾であり、日本人成人の報告は0.68~0.77²⁾であった。M235Tの出現頻度に明らかな民族差が認められ、この遺伝子頻度の差異はどのような病態生理事論的な意味を持つのか不明である。しかし、このことは日本に高血圧の頻度が多いことと関係しているかもしれない。

小児において、この遺伝子多型と高血圧の関連についての報告はいまだなされていない。今回、我々は日本人小児において、AGT遺伝子多型と高血圧の関連について検討した。今回の結果では、M235Tをもつalleleの頻度は0.76であった。この頻度は、他の日本人成人の報告と同様の結果であった。

M235T型のホモ接合型を持つ小児の収縮期血圧は、他の遺伝子型を持つ小児のそれより高い傾向にあったが、統計学的に有意差はなかった。今回の検討では、日本人小児においてAGT遺伝子多型と高血圧の明らかな関連は見られなかった。この理由として、今回の対象人数が少なかったことや、小児ではM235Tによる血圧上昇機転が未熟である可能性などが考えられる。

本態性高血圧症の家族歴に関して、AGT遺伝子多型の間に明らかな差は認められなかった。各遺伝子型の高血圧の家族歴を比較するのに点数化で検討をしたが、単純な点数化が適切でなかったかもしれない。また、今回検討した小児の両親が比較的若く、この両親の年齢層に本態性高血圧群が少ないためかもしれない。

成人の報告でAGT遺伝子が高血圧に関与するとの報告がなされているが、我々の検討では、日本人小児においてAGT遺伝子多型と高血圧の明らかな関連は見られなかった。今後はさらに小児の対象を増やして研究し、長期にわたる血圧の追跡が必要と思われる。

なお、本研究の一部は、第22回三越医学研究助成によるものである。

文 献

- 1) Jeunemaitre, X., Soubrier F., Kotelevtsev Y. V., Lifton R. P., Williams C. S., Charru A., Hunt S. C., Hopkins P. N., Williams R. R., Lalouel J.-M. and Corvol P.: Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 71: 169-180, 1992.
- 2) Hata, A., Namikawa C., Sasaki M., Sato K., Nakamura T., Tamura K. and Lalouel J.-M.: Angiotensinogen as a risk

- factor for essential hypertension in Japan. *J. Clin. Invest.* 93 : 1285-1287, 1994.
- 3) Uchiyama, M. : Maximum binding of ouabain to erythrocytes in relation to a family history of essential hypertension, sodium balance and body weight in normotensive children. *Jpn. J. Nephrol.* 34 : 1025-1029, 1992.
 - 4) Russ, A. P., Maerz W., Ruzicka V., Stein U. and Gross W. : Rapid detection of the hypertension-associated Met²³⁵→Thr allele of the human angiotensinogen gene. *Hum. Mol. Genet.* 2 : 609-610, 1993.
 - 5) Ward, R. : Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. In Laragh J. H. & Brenner B. M. (eds). *Hypertension : Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. New York, Raven Press pp. 81-100, 1990.
 - 6) Barley, J., Carter N. D., Cruickshank J. K., Jeffery S., Smith A., Charlett A. and Webb D. J. : Renin and atrial natriuretic peptide restriction fragment length polymorphisms : association with ethnicity and blood pressure. *J. Hypertens.* 9 : 993-996, 1991.
 - 7) Zee, R. Y. L., Lou Y.-K., Griffiths L. R. and Morris B. J. : Association of a polymorphism of the angiotensin, I-converting enzyme gene with essential hypertension. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184 : 9-15, 1992.
 - 8) Kamitani, A., Rakugi H., Higaki J., Yi Z., Mikami H., Miki T. and Ogiwara T. : Association analysis of a polymorphism of the angiotensinogen gene with essential hypertension in Japanese. *J. Hum. Hypertens.* 8 : 521-524, 1994.
 - 9) Ward, K., Hata A., Jeunemaitre X., Helin C., Nelson L., Namikawa C., Farrington P. F., Ogasawara M., Suzumori K., Tomoda S., Berrebi S., Sasaki M., Corvol P., Lifton R. P. and Lalouel J.-M. : A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nature Genet.* 4 : 59-61, 1993.