3. アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型と脳血管障害

前田 喜一 菊尾 七臣 池田 宇一 島田 和幸

自治医科大学循環器内科

要旨：【背景】アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子の欠失 (D) / 挿入 (I) 多型と脳血管障害との関連は現在のところ明らかではない。

【結果】脳梗塞を有する高血圧患者の対立遺伝子 D を持つ頻度 (0.47) は、脳梗塞を持たない高血圧症患者群 (0.31) や正常血圧群 (0.34) よりも有意に多かった。脳血管障害の家族歴で ACE 遺伝子型を検討すると、対立遺伝子 D の頻度は家族歴 (+) 群で家族歴 (-) 群に比し有意に高値を示した (0.72 vs. 0.52)。ACE 遺伝子型別の随時血圧、24 時間血圧、血中 Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) 濃度は、いずれも有意な関連を認めなかった。

【結語】ACE 遺伝子型は血圧値、PAI-1 とは関連せず、発症機序は明確でないが、脳血管障害の genetic risk factor の一つとして、ACE 遺伝子多型が示唆される。

Key words: アンジオテンシン変換酵素, 遺伝子多型, 高血圧, 危険因子
(脳卒中 21:383—386, 1999)

はじめに

脳血管障害の危険因子として、高血圧、加齢、喫煙などが知られているが、遺伝的背景はあまり知られていない。脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (SHR-SP) を用いた検討では、血圧値に依存しない脳卒中原因遺伝子と思われる領域の存在が想定されている。一方、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) は血圧の調節機構のみならず心肥大や腎障害などの臓器障害に重要な役割を持っていると考えられており、ACE 阻害剤の投与で、これらの臓器障害の発症を抑制することが確認されている。動物実験では血圧を低下させない低容量の ACE 阻害剤投与で脳血管障害の発症を抑制できるとの報告もある。ヒトにおいては脳血管障害と ACE との関連は、現在のところ明らかではないが、脳血管障害の遺伝的背景を検討する際、レニン-アンジオテンシン系について考慮することは重要であると考えられる。

ACE 遺伝子はヒトの 17 番染色体短腕に存在し、その 16 番目のイントロンに約 300 bp の Alu 配列の挿入、欠失多型が存在することが報告されている¹⁾。ACE 遺伝子型 DD は、高血圧や高脂血症などの既存のリスクファクターとは独立した虚血性心疾患の危険因子として最近注目されている²⁾。虚血性心疾患と脳血

管障害は、その病因の共通点が多いにも関わらず、ACE 遺伝子多型と脳血管障害との関連は現在のところ明らかではない。そこで今回我々は、ACE 遺伝子多型と脳血管障害との関連性を検討するとともに、その家族性についても検討してみた。

方 法

末梢血白血球より QIAgen blood kit を用い、genomic DNA を抽出し、ACE 遺伝子の PCR 解析を行った。センスプライマーは 5' CTGGAGACCACTCCC-ATCCTTTCT 3' アンチセンスプライマーは 5' GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT 3' とした。1 µg genomic DNA を検体とし、100 pmol のプライマー、3.0 mM MgCl₂、50 mM KCl、10 mM Tris-HCl、pH 8.4 0.5 unit の Taq polymerase (Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT) にて総量 100 µl でサーマルサイクラーで 45 サイクル反応を行った。denaturation を 94℃ 1 分、annealing を 58℃ 分、extension を 72℃ 1 分で行った。PCR 産物は 2% アガロースゲルにて電気泳動し、190bp のバンドを deletion (D)、490bp のバンドを insertion (I) として、ACE 遺伝子型 (II, ID, DD) を判別した。

Table 1 脳血管障害と ACE 遺伝子多型

A. 兵庫地区

	Normotensive Control Group (n = 104)	Hypertensive Patients	
		Nonstroke Group (n = 90)	Stroke Group (n = 138)
ACE genotype (%)			
II	39	47	30
ID	53	45	45
DD	8	8	25
ACE D allele	0.34	0.31	0.47

(Kario et al. Circulation 1630—3. 1996)

B. 福島地区

	Nonstroke Group (n = 28)	Stroke Group (n = 26)
ACE genotype (%)		
II	35.7	19.2
ID	50	34.6
DD	14.3	46.2
ACE D allele	0.39	0.63

(Seino et al. J. Thrombosis and Thrombolysis 263—7. 1998)

兵庫地区(A), 福島地区(B)ともに脳血管障害患者において, ACE 遺伝子型 DD の頻度が高い。

成 績

1. 脳血管障害と ACE 遺伝子多型

有症候及び無症候性脳梗塞を有する高血圧症患者 138 例の対立遺伝子 D を持つ頻度 (0.47) は, 脳梗塞を持たない 90 例の高血圧症患者群 (0.31) や 104 例の正常血圧群 (0.34) よりも有意に多かった。多変量解析では, 高血圧症患者の脳梗塞の独立した危険因子は年齢と ACE 遺伝子型のみであった³⁾。また, 別の地方で行った同様の同様の研究でも, 対立遺伝子 D の頻度は非脳梗塞群 (0.39) に比し脳梗塞群 (0.63) と有意に脳梗塞症例で高頻度であった (Table 1)⁴⁾。

2. 脳血管障害の家族歴と ACE 遺伝子多型

高血圧症患者において脳血管障害の家族歴を有するものは遺伝的に脳血管障害を発症する危険性が高い集団と考えられる。次に, この集団における ACE 遺伝子多型について検討した。外来時血圧, 24 時間血圧の平均値は, 家族歴 (+) 群と家族歴 (-) 群の間に有意差を認めなかった。一方, ACE 遺伝子多型は, 脳血管障害の家族歴 (+) 群で家族歴 (-) 群に比べて有意

Table 2 脳血管障害の家族歴と ACE 遺伝子多型

ACE	PHS + (n = 27)	PHS - (n = 43)
Genotype		
II	5 (18.5%)	12 (27.9%)
ID	5 (18.5%)	17 (39.5%)
DD	17 (63.0%)	14 (32.6%)
Allele		
D	0.72	0.52
I	0.28	0.48

(Maeda et al. J. Stroke 1521—3. 1996)

脳血管障害の家族歴を持つ高血圧症患者においても ACE 遺伝子型 DD の頻度が有意に高かった。PHS: 脳血管障害の家族歴

Table 3 ACE 遺伝子多型と血圧値

	II	ID	DD
Casual BP (mmHg)			
Systolic	177.2 ± 16.1	176.8 ± 20.4	182.7 ± 17.1
Diastolic	100.7 ± 11.0	98.2 ± 12.8	99.3 ± 12.8
ABP (mmHg)			
Systolic	155.8 ± 8.5	151.9 ± 10.5	153.6 ± 10.7
Diastolic	89.7 ± 9.8	89.1 ± 10.1	86.2 ± 10.4

外来血圧 (CBP), 24 時間血圧 (ABP) ともに ACE 遺伝子型間には差を認めなかった。

に DD の頻度が高く (DD: 63.0%, ID: 18.5%, II: 18.5% vs. DD: 32.6%, ID: 39.5%, II: 27.9%, $p < 0.05$), 対立遺伝子 D の頻度も家族歴 (+) 群で家族歴 (-) 群に比し有意に高値を示した (0.72 vs. 0.52, $\chi^2 = 7.89$, $p < 0.05$) (Table 2)。中でも両親ともに 60 歳以下で脳血管障害を発症した 5 例のうち 3 例 (60%) が ACE 遺伝子型 DD, 残りの 2 例は ID であり, 家族歴が濃厚であるほど対立遺伝子 D の頻度が高くなる (0.80) 傾向がみられた⁵⁾。

3. ACE 遺伝子多型と血圧値

ACE 遺伝子多型 (II, ID, DD) 間には, 外来血圧, 24 時間血圧の平均値に差はみられなかった (Table 3)。

4. ACE 遺伝子多型と血中 PAI-1 濃度

血中 PAI-1 濃度の増加が, 脳血管障害をはじめとする動脈硬化性疾患の発症に関与することが報告されており, また, レニンアンジオテンシン系が PAI-1 の発現調節をすることが言われている⁶⁾ので, ACE 遺伝子多型と血中 PAI-1 濃度との関連について検討してみ

Fig. ACE 遺伝子多型と Plasminogen activator inhibitor 1 の関係
ACE 遺伝子型間には差を認めなかった。

た。しかし、ACE 遺伝子型と血中 PAI-1 濃度の間には有意な関連は認められなかった (Fig.)。

考 察

高血圧は脳血管障害の危険因子の一つとして考えられており、降圧療法により脳血管障害の発症が減少することが示されている。脳卒中の予防効果は、降圧自体が大きく関与すると考えられているが、一方、SHR-SP を用いた実験では降圧をきたさない量の ACE 阻害薬を長期間投与しても脳卒中の発症を防止、あるいは死亡率を軽減できるとの報告⁷⁾があり、脳血管障害の発症、進展に血圧値の変化を直接介さない局所レニン-アンジオテンシン系の関与も推測されている。

近年、ACE 遺伝子欠失 (D) /挿入 (I) 多型が虚血性心疾患、心肥大との関連で注目されている。Cambien ら²⁾は ACE 遺伝子型 DD が心筋梗塞の危険因子であることを初めて報告し、また本邦においても Zhao ら、Nakai らの報告により、ACE 遺伝子型 DD が高血圧、高コレステロール血症、肥満、糖尿病、喫煙などの従来の冠危険因子とは独立した genetic な危険因子であることが明らかになっている。また、最近、虚血性心疾患の祖父母をもつ小児において、ACE 遺伝子型 DD の頻度が有意に高値であるという報告もされている。

今回、我々は患者の血漿 ACE 活性を測定していないが、高血圧症患者において脳血管障害の家族歴の有無で血圧値には差はなく、ACE 遺伝子多型にのみ差を

認めた。ACE 遺伝子多型と脳血管障害との関連を検討した報告は我々の検索した範囲では Sharma らの 1 件のみであった⁹⁾。彼らの報告では頭部 CT 検査により診断された脳梗塞患者 100 例と正常血圧対照群とで比較したときに、ACE 遺伝子多型と脳梗塞との間に有意な関連は認められなかった。しかし、彼らの検討した対象は心疾患の既往があるものが約 40% 含まれており、脳梗塞の発症の原因として、心原性の脳塞栓症を完全に否定しきれない。また、脳血管障害の危険因子として高血圧自体の影響は大きいと考えられ、正常血圧者と ACE 遺伝子多型を比較しても、ACE 遺伝子多型と脳梗塞との間に有意な差は検出できなかった可能性がある。一方、我々の検討した対象は全例に明らかな高血圧を有し、しかも、家族歴の有無で血圧値には差を認めていないので高血圧自体の影響は考慮しなくてもよいと思われる。しかし、我々の研究は、家族歴聴取による脳血管障害の家族歴であるので、脳血管障害の診断の正確性や、脳梗塞と脳出血の区別がつかないなどの問題点がある。

ACE 遺伝子多型と血圧自体との関連については、当初、ACE 遺伝子多型と高血圧症との関連を示す報告もあったが、この点についてむしろ最近では否定的な報告が多い⁹⁾¹⁰⁾。しかし、随時血圧により診断される症例の約 20~30% はいわゆる白衣高血圧症であるともいわれており、正確な血圧値の評価がされていない可能性があるため、24 時間血圧値の測定も行ってみた。我々の検討でも、ACE 遺伝子多型 (II, ID, DD) と外来血圧、24 時間血圧の平均値に関連はみられなかった。このことは、高血圧症患者において、ACE 遺伝子多型が血圧値の変化をきたさずに血管障害を引き起こす機序については未だ充分解明されていない。ACE 遺伝子多型が血中¹¹⁾および T cell 中の ACE 活性と相關することが報告されており、ACE 遺伝子型 DD では、心臓や血管壁における組織 ACE 活性が高いことが予想される。従って、組織 ACE 活性の亢進が血管壁アンジオテンシン II の生成を介して血管平滑筋の増殖や収縮、細胞外マトリックスの増加を引き起こし、動脈硬化性病変の形成、さらには脳梗塞の発症に関与していることが推測される。

ま と め

脳血管障害の家族歴を有する高血圧症患者は、家族歴のない高血圧症患者に比し、ACE 遺伝子型 DD の頻度が有意に高値であった。高血圧症患者の脳血管障害

の発症には、他の危険因子とは独立して ACE 遺伝子多型が関与している可能性が推測される。

文 献

- 1) Rigat B, et al: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 86: 1343—6, 1990
- 2) Cambien F, et al: Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 359: 641—4, 1992
- 3) Kario K, et al: Ischemic stroke and the gene for angiotensin-converting enzyme in Japanese Hypertensives. *Circulation* 93: 1630—3, 1996
- 4) Seino Y, et al: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and plasminogen activator inhibitor 1 levels in subjects with cerebral infarction. *J Thrombosis and Thrombolysis* 5: 263—7, 1998
- 5) Maeda Y, et al: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hypertensive individuals with parental history of stroke. *Stroke* 27: 1521—3, 1996
- 6) Pfeffer MA, et al: Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 327: 669—77, 1992
- 7) Stier CT Jr, et al: Enalapril prevents stroke and kidney dysfunction in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 13: 115—121, 1989
- 8) Sharma P, et al: Molecular approach to assessing the genetic risk of cerebral infarction: deletion polymorphism in the gene encoding angiotensin I-converting enzyme. *J Hum Hypertens* 8: 645—8, 1994
- 9) Higashimori K, et al: Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun* 191: 399—404, 1993
- 10) Schmidt S, et al: Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure: Dutch Hypertension and Offspring Study. *J Hypertens* 11: 345—8, 1993

Abstract

Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and cerebrovascular disease

Yoshikazu Maeda, M.D., Kazuomi Kario, M.D., Uichi Ikeda, M.D. and Kazuyuki Shimada, M.D.
Department of Cardiology, Jichi Medical School

The association between angiotensin-converting enzyme (ACE) gene insertion (I) /deletion (D) polymorphism and cerebrovascular disease (CVD) is controversial. The aim of our study is to elucidate this association. ACE genotype was analyzed using PCR. The frequencies of DD genotype and D allele were significantly higher in hypertensives with CVD than those without CVD and normotensives. The frequencies of DD genotype and D allele were also higher in hypertensives with parental history of stroke (PHS) compared with those without PHS. However, casual and ambulatory blood pressure levels and plasma levels of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) were not different in ACE genotype. These findings suggest the ACE genotype is one of the risk factors of CVD independent of blood pressure levels and PAI-1 levels.

(*Jpn J Stroke* 21: 383—386, 1999)

Key words: angiotensin-converting enzyme, polymorphism, hypertension, risk factor