

|             |                                                                                                                                                                                           |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | 宮 本 恵 宏                                                                                                                                                                                   |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                 |
| 学 位 記 番 号   | 医 博 第 2066 号                                                                                                                                                                              |
| 学位授与の日付     | 平 成 11 年 1 月 25 日                                                                                                                                                                         |
| 学位授与の要件     | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                                                   |
| 研 究 科 ・ 専 攻 | 医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻                                                                                                                                                                       |
| 学 位 論 文 題 目 | Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Is Positively Associated With Essential Hypertension<br>(内皮型一酸化窒素合成酵素遺伝子と本態性高血圧症との関連研究)<br>(主査)<br>論 文 調 査 委 員 教 授 篠 山 重 威 教 授 中 西 重 忠 教 授 中 尾 一 和 |

### 論 文 内 容 の 要 旨

【背景】血管内皮から分泌される一酸化窒素 (NO) は血管拡張作用を有し、血圧のコントロールに重要な役割を果たしている。内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) 遺伝子の欠損マウスでは明らかな血圧の上昇が報告されている。また、ヒトの本態性高血圧症の患者においてもNOの産生量が低下していること、両親が高血圧症である正常血圧の子供においてもNOの反応性の低下があることが報告され、ヒトの本態性高血圧症の病態にもNOが関与していることが示唆されている。しかし、これまでNO合成酵素であるeNOS遺伝子と高血圧症との関連は、eNOS遺伝子のイントロン18及び23の遺伝子多型を用いて検討されたが、有意な関連は示さなかった。最近我々は、eNOS遺伝子の第7エクソンの298番目のグルタミン酸 (Glu) からアスパラギン酸 (Asp) への変異が冠動脈狭窄性狭心症及び心筋梗塞症と関連していることを発見した。また、イントロン4の多型が喫煙歴のある心筋梗塞症と関連があることも最近報告されている。これらの事実から、本態性高血圧症とeNOS遺伝子との関係を明らかにする為に、本態性高血圧症とeNOS遺伝子のGlu298Asp変異との関連を検討した。

【方法】関連研究では用いる母集団により、結果の異なることがよく観察される為、京都と熊本との2地域においてそれぞれ本態性高血圧症例、正常血圧群を集めて検討した。京都では本態性高血圧症例218名 (男性112名、女性106名：平均年齢56.3±11.6歳)、正常血圧者240名 (男性135名、女性105名：平均年齢54.2±13.2歳) を対象とした。熊本では本態性高血圧症例187名 (男性122名、女性65名：平均年齢64.9±9.4歳)、正常血圧者223名 (男性133名、女性90名：平均年齢63.7±4.4歳) を対象とした。患者末梢血より抽出したDNAを鋳型にして、eNOS遺伝子のエクソン7のGlu298Asp変異の部位をPCRにより増幅し制限酵素Ban II (野生型アリルを切断) 及びMbo I (変異型アリルを切断) の切断部位の有無により、eNOS遺伝子の遺伝子型を決定した。遺伝子不均衡の検定はフィッシャーの直接法にて行った。京都の症例については、イントロン4、18及び23の多型についても検討した。

【成績】eNOS遺伝子の遺伝子型は、京都の群で、正常血圧者群ではGlu/Glu型217名 (90.4%)、Glu/Asp+Asp/Asp型23名 (9.6%) であるのに対し、本態性高血圧症群ではGlu/Glu型175名 (80.3%)、Glu/Asp+Asp/Asp型43名 (19.7%) と有意にAsp型を持つ割合が高値であった ( $p=0.0015$ )。熊本の群でも、同様に本態性高血圧症群で正常血圧者群に比べ有意にAsp型を有する割合が高かった ( $p=0.0007$ )。Glu298Asp変異を有する者が本態性高血圧症であるオッズ比 (Glu/Asp+Asp/Asp v. s. Glu/Glu) は京都の群で2.3倍 (95%信頼区間1.4~3.9)、熊本の群で2.4倍 (95%信頼区間1.4~4.0) であった。また、京都の群を男性と女性で別々に検討したが、いずれにおいても、有意に本態性高血圧症群で正常血圧者群に比べてGlu/Asp+Asp/Asp型の頻度が高く、オッズ比にも差は見られなかった。イントロン4、18及び23の多型について京都の群を用いて検討したが、本態性高血圧症群と正常血圧者群で有意な差はなかった。また、4つの多型間での連鎖関係を検討したが、Glu298Asp多型は他の3つの多型と連鎖していなかった。このために、Glu298Asp変異のみが本態性高血圧症と関連し、他の多型は関連を示さなかったと考えられる。また、イントロン4と23の多型は連鎖不均衡関係にあったが、

それはeNOS遺伝子の進化的変化を考える上で興味深いと思われた。

【結論】日本の異なる二つの地域の症例を用いて、eNOS遺伝子のGlu298Asp変異が本態性高血圧症と関連していることを初めて明らかにした。

#### 論文審査の結果の要旨

一酸化窒素(NO)は血圧の調節に重要な役割を果たしている。申請者は、本態性高血圧症と内皮型NO合成酵素(eNOS)遺伝子との関係を明らかにする目的で、申請者らが新たに発見したeNOS遺伝子のエクソン7に存在する298番目アミノ酸のGluからAspへの変異(Glu298Asp変異)と本態性高血圧との関連を検討した。母集団の客観性を高める為、京都と熊本での2つの独立した母集団において、各々218例、187例の本態性高血圧症例と、240名、223名の正常者を対象に関連研究を行った。Glu298Asp変異を有する割合は、京都、熊本の母集団で正常者ではそれぞれ9.6%、11.7%であるのに対し、本態性高血圧症例ではそれぞれ19.7%、24.1%と有意に高く、両母集団で同様にGlu298Asp変異は本態性高血圧症と関連していた。また、これまで既に本態性高血圧症とは関連しないことが報告されているeNOS遺伝子に存在するイントロン4、18及び23の多型についても検討したが、これら3つの多型は本研究の集団でも本態性高血圧症と関連していなかった。以上、eNOS遺伝子と本態性高血圧症との関連を初めて証明した。

以上の研究は本態性高血圧症の遺伝的発症機序の解明に貢献し、本態性高血圧症の予防及び治療の発展に寄与するところが多い。

したがって本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成10年12月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格したものである。