京都大学	博士（医学）	氏　名	宇佐美　覚
論文題目	Association of CT dinucleotide repeat polymorphism in the 5’-flanking region of the guanylyl cyclase (GC)-A gene with essential hypertension in the Japanese. (A 型ナトリウム利尿ペプチド受容体(Guanylyl Cyclase-A)の 5’隣接領域に存在する CT・二塩基繰り返し遺伝子多型と本態性高血圧の関連−日本人における検討)		

（論文内容の要旨）

本態性高血圧症は心血管疾患の危険因子であり、生命予後との相関が疫学的に証明されている。その病因は未だ不明であるが、多様な循環調節因子が血圧調節に関与すると考えられている。心臓で産生・分泌される心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド(ANP および BNP)は、利尿・血管拡張作用に加え、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系や交感神経系に対する抑制作用を有し、循環調節における重要性が認められている。ANP と BNP の共通の受容体は膜型グアニル酸シクラーゼである Guanylyl Cyclase(GC)-A であり、その遺伝子を欠損したノックアウトマウスは、野生型と比べヘテロ接合体で約 15mmHg、ホモ接合体で約 30mmHg の血圧上昇を示すことから、GC-A の機能や発現量の差が血圧を規定する重要な要素である可能性が示唆される。そこで本研究では、ヒトにおける GC-A 遺伝子多型を検索し、本態性高血圧症発症との関連およびその分子機序として遺伝子転写活性への影響を検討した。

本態性高血圧患者 177 名と正常血圧患者 170 名の白血球より抽出した DNA より PCR direct sequence 法を用いて GC-A 遺伝子多型を検索し、5’転写調節領域にマイクロサテライト多型(CT 繰り返し多型、ATG より 293 塩基対 5’上流)と一塩基多型(A あるいは G、 ATG より 77 塩基対 5’上流)の 2 箇所の遺伝子多型を発見した。CT 繰り返し多型は繰り返しが 6, 9, 10, 11, 12 回の 5 種類あり、アリル頻度は全体では繰り返し回数 10 および 11 が最も高かったが、正常血圧と本態性高血圧の患者間の比較では、繰り返し回数 6 が高血圧患者において有意に高頻度に認められた(高血圧群 2.8%、正常血圧群 0.6%、p=0.037)。また、繰り返し回数 6 のアリルは一塩基多型の A 型アリル、その他の繰り返し回数のアリルは一塩基多型の G 型アリルと互いにリンクしていた。

次に、これら遺伝子多型が GC-A 遺伝子転写活性に及ぼす影響について検討する目的で、CT 繰り返し多型の繰り返し回数 6、および 10 のアリルを含むプロモーター領域をそれぞれルシフェラーゼ遺伝子上流に挿入し、培養ヒト大動脈平滑筋細胞にてその転写活性を検討した。その結果、繰り返し回数 6 のアリルを含むプロモーターの転写活性は 10 のアリルを含むものと比較し有意に低下していた(p=0.007)。さらに互いにリンクする CT 繰り返し多型と一塩基多型のうちどちらが転写活性の変化に寄与しているかを検討するため、両変異を人工的に入れ替えたもの、すなわち CT 繰り返し回数 6 で一塩基多型 G 型のもの、および CT 繰り返し回数 10 で一塩基多型 A 型のものを含むプロモーターをそれぞれ作製し、それらの転写活性を CT 繰り返し回数 6 で一塩基多型 A 型、CT 繰り返し回数 10 で一塩基多型 G 型のものと比較した。その結果、CT 繰り返し回数 6 で一塩基多型 A 型、CT 繰り返し回数 10 で一塩基多型 G 型のものとの間でのみ転写活性の有意な差が認められ、繰り返し多型と一塩基多型を含む領域がそれぞれ協調的に転写活性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

本研究により、GC-A の 5’転写調節領域に存在する遺伝子多型のうち CT 繰り返し多型繰り返し回数 6 かつ一塩基多型 A 型が本態性高血圧と連関していること、その機序にこれらアリルを含むプロモーター配列の転写活性能低下が関与する可能性が示唆された。本研究の成果は、本態性高血圧症の発症に関与する新たな遺伝子多型を明らかにすると同時に、同症の発症機序の解明にも寄与するものである。

（論文審査の結果の要旨）

本研究では、申請者は心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド(ANP, BNP)共通の受容体 Guanylyl cyclase-A (GC-A)のヒトに於ける遺伝子多型を検索し、本態性高血圧との関連およびその分子機序を解析した。

日本人本態性高血圧患者(n=170)と正常血圧者(n=177)のDNAよりGC-A遺伝子多型を検索し、5’隣接領域-293にCTマイクロサテライト多型((CT)n=6〜12)とexon 1の-77に一塩基多型(A/G)を発見した。-293(CT)6型頻度が高血圧群にて有意に高く(p=0.037)、また-293(CT)6型は-77A 型、その他の-293(CT)nは-77G型と強い連鎖不平衡を認めた。-293(CT)6型を含むGC-A遺伝子5’隣接領域(-1425〜-41)の転写活性をルシフェラーゼアッセイにて検討すると(CT)10型を含むものに比して約40%低下しており、また-293(CT)6型と-77A型を含む領域が協調的に転写活性低下に関与していることを見出した。以上より、GC-A遺伝子の-293(CT)6型かつ-77A型多型と日本人本態性高血圧との関連の可能性が示唆され、その機序として遺伝子転写活性能の低下が示唆された。

本研究は、本態性高血圧の発症に関与する新たな遺伝子多型を明らかにし、日本人における同症の発症機序の理解に寄与するものである。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成21年3月18日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降