

高血圧研究における遺伝子解析の現状と展望

Current status and perspective of genetic analysis in hypertension research

加藤規弘

Key words : 遺伝子解析, ゲノム, SNP, ファーマコゲノミクス, ゲノムスキャン

はじめに

20世紀の医学研究において、分子生物学と遺伝学とが融合し開花した結果、数多くの単一遺伝子疾患の原因遺伝子が解明された。またヒトゲノムプロジェクトにより、ヒトゲノム上の遺伝子の数(およそ2-2.5万個と推定)と、今まで知られていなかった遺伝子の一部の機能が推測できるようになった。しかし、依然として人類に大きく立ちはだかる‘挑戦’が、高血圧などの多因子疾患の成因・病態解明とそれに基づいた有効な治療法・予防法の開発である。

1. 高血圧の遺伝子解析の意義

高血圧および関連する疾患の遺伝子解析の意義は、大まかに以下の3つである。

a. 治療抵抗性高血圧の診断・治療

正確な頻度は不明であるものの、治療抵抗性高血圧(3剤以上併用しても十分な降圧がみられないもの)は決してまれでない。一般に、臨床試験の参加者の20-30%が治療抵抗性であるとされる。その主たる要因は、高齢と肥満であるが、2次性高血圧をはじめとする、潜在的な遺伝的障害の関与も少なくない。原発性アルドステロン症以外にも、何らかの遺伝的障害をベースとした治療抵抗性高血圧は比較的多く存在する可能性がある。

b. 至適薬剤の選択

新規クラスの降圧剤が上市され、高血圧患者全体において、降圧目標は達成されやすくなってきたが、依然として多剤併用を要する患者は多く、その場合の‘組み合わせ’の仕方はおおむね診察する医師の試行錯誤に委ねられている。重篤な副作用の回避も含めて、個々の患者に、最も効率的かつ効果的な処方を行うための拠り所として、遺伝子多型情報を活用しようとするファーマコゲノミクス(薬理ゲノム学)が注目を集めている。

c. 予防医療の推進

減塩、体重減少などの一般療法の推進が、薬物治療の需要を低くすることは明らかである。しかし、個々人レベルで‘生活習慣の修正’を遵守してもらうことは決して容易でない。その動機づけを高めるための一手法として‘体質情報の活用’が期待される。

2. 高血圧遺伝子の探索

数々の疫学的研究結果に基づいて、血圧値分散の30-40%が遺伝要因によって規定されると推測されてきた。特に、ある隔離された集団を対象として行われた疫学調査では、血圧の主働遺伝子(gene with large effects)ともいべきものが8-16個存在し、そのほかに300以上の弱小遺伝子が存在するのではないかというモデ

Norihiro Kato: Department of Gene Diagnostics and Therapeutics, Research Institute, International Medical Center of Japan 国立国際医療センター研究所 遺伝子診断治療開発研究部

ルが提唱された¹⁾。これらの疾患感受性遺伝子(以下、本稿では責任遺伝子と記載)は、たとえ同一家系内の高血圧患者どうしても同じ組み合わせをもっているとは限らず、国あるいは人種単位でみた場合、個々人の違いは更に大きくなると考えられる。

単一遺伝子疾患におけるポジショナルクローニングの手法はそのままの形で多因子疾患に適用できないため、罹患同胞対解析法[家系解析の一手法であり、ともに病気に罹った兄弟姉妹を解析単位として用いるもの]をはじめとする様々な研究アプローチが工夫され実践されてきた。被験者の遺伝情報を大規模かつ効率的に抽出するためのハードウェア、解析アルゴリズム、そして公共データベースが、近年、目覚ましく進歩したにもかかわらず、高血圧における責任遺伝子探索は必ずしも十分な成功を収めていない。ここでの重要なポイントは、従来の疫学研究から示唆されてきた、多因子疾患の‘遺伝性の強さ’はやや過大評価気味であったことである¹⁾。

3. ヒト高血圧における遺伝子解析の成果

生理的機序からみて有望な遺伝子が、疾病の成因に関与しているか否かを検討する候補遺伝子アプローチが、従来、ヒト高血圧に関する遺伝子解析の主要な研究手法として行われてきた。この候補遺伝子アプローチに対峙する手法が、ゲノムスキャン(逆行遺伝学的アプローチ)である。前者は特定の遺伝子座と疾患形質との成因的関連を‘検証’しようとするのに対し、後者はすべての遺伝子の中から無作為に‘探索’しようとするものであり、そのために相当数の遺伝子型決定(genotyping)を必要とする。このゲノムスキャンを通じて、既知の生理的機序に属さない、あるいはまだ注目されていない遺伝子を同定することが可能となる。

a. 候補遺伝子アプローチ

高血圧という病態を考えた場合、様々な血圧制御機構が想定されるだけでなく、関与する臓器も多岐にわたる。詳細は別紙²⁾に譲るとして、代表的な高血圧の候補遺伝子2つに関して若干

の説明を加える。

1) アンジオテンシノーゲン(AGT)

1992年 Jeunemaitre らはレニン・アンジオテンシン系の主要因子であるAGTについて候補遺伝子解析を行い、その遺伝子多型が高血圧発症の素因であろうと報告した³⁾。AGTがレニンの基質であるという生理的重要性に加えて、その遺伝子多型—M235T—が血中濃度と有意に関連し、かつ高血圧発症のリスクを高めるというデータは大変魅力的であり、研究者の注目を集めるのに十分であった。しかしその後数多くの追試がなされ⁴⁾、支持するものと支持しないものが混在して大きな混乱を招いた。現時点では、①高血圧発症のリスクと遺伝子産物の血中濃度とを規定するAGT遺伝子多型は少なくとも一部分異なるものではないかという点⁵⁾、そして②AGT遺伝子座の病因的効果はそれほど強くないために交絡要因の影響を受けやすいのではないかという点⁶⁾、が議論されている。

2) アンジオテンシン変換酵素(ACE)

ACE遺伝子座の挿入/欠失(I/D)多型は血中ACE濃度と強く相関することが知られており⁶⁾、心血管系疾患、とりわけ本態性高血圧との関連は繰り返し調べられてきた。しかし有意な関連があるという報告は少ないため、ACE遺伝子座の(高血圧に対する)病因的関与は乏しいであろうと推定されている⁷⁾。

b. ゲノムスキャン

1) 高血圧のゲノムスキャン：連鎖解析

1990年代の終わり頃よりヒト高血圧のゲノムスキャンが実施されるようになり、現在までに25を超す論文報告がなされている。その大部分は、血縁者を対象とした連鎖解析によるものであるが、大家系(18–400家系超)ないし同胞対(69–2,000同胞対超)を用いたもの、随時血圧値ないし高血圧の有無(診断)を用いたものまで研究デザインは様々である。また人種という観点からみても、対象は白人、黒人、アジア系人種と多様である(表1)。

初期の頃には、血圧制御にかかわる限られた数の‘主要な’責任遺伝子が存在して、それらが

表 1 これまでに報告されたヒト高血圧(ないし血圧値)

study	acronym	published journal(year)	phenotype trait
Krushkal, et al	GENOA	Circulation(1999)	SBP
Xu, et al	—	Am J Hum Genet(1999)	SBP & DBP
Sharma, et al	—	Hypertension(2000)	hypertension
Hsueh, et al	Quebec family study	Circulation(2000)	SBP & DBP
Pankow, et al	HyperGEN	Hypertension(2000)	postural change in SBP & DBP
Levy, et al	Framingham Heart Study	Hypertension(2000)	longitudinal SBP & DBP
Perola, et al	Finnish Twin Cohort Study	J Hypertens(2000)	hypertension
Zhu, et al	—	J Hypertens(2001)	hypertension
Atwood, et al	San Antonio Family Heart Study	Genet Epidemiol(2001)	SBP & DBP
Allayee, et al	—	Hypertension(2001)	SBP & DBP
Harrap, et al	Victorian Family Heart Study	Physiol Genomics(2002)	SBP & DBP
Rice, et al	HERITAGE	Hypertension(2002)	SBP & DBP
Kristjansson, et al	deCODE	Hypertension(2002)	hypertension
Hunt, et al	NHLBI Family Heart Study	Hypertension(2002)	hypertension, SBP & DBP
Angius, et al	—	Am J Hum Genet(2002)	hypertension
Thiel, et al	GenNet	Am J Hypertens(2003)	SBP & DBP
Rao, et al	HyperGEN	Am J Hypertens(2003)	hypertension
Kardia, et al	GENOA	Am J Hypertens(2003)	hypertension
Ranade, et al	SAPPHIRE	Am J Hypertens(2003)	hypertension, SBP & DBP
Caulfield, et al	BRIGHT Study	Lancet(2003)	—
von Wöern, et al	—	Hum Mol Genet(2003)	hypertension
Gong, et al	—	Hum Mol Genet(2003)	hypertension
Benjafield, et al	GENIHUSS Study	Am J Hypertens(2005)	hypertension
Trust Case Control Consortium	WTCCC study	Nature(2007)	hypertension
Kato, et al	JSNP scan	Hum Mol Genet(2008)	hypertension
Org, et al	KORA & HYPEST Study	Hum Mol Genet(2009)	hypertension, SBP & DBP
Sabatti, et al	NFBC1966 cohort	Nature Genet(2009)	SBP & DBP
Cho, et al	KARE project	Nature Genet(2009)	SBP & DBP

SPs: sib-pairs, ASPs: affected sib-pairs.

連鎖の認められた領域(results)はごく大まかな記述であり、異なる報告間での異同を示すものではない。例えば染

ゲノムスキャンによって同定できるのではと期待された。しかし、再現性および有意性の高い高血圧の責任遺伝子座は見いだされておらず、幾つかの染色体領域で連鎖の‘シグナル’が1回以上重複して(別々のスタディで)報告されるにすぎなかった。これは、高血圧が成因的に相当多様な疾病であることと、恐らく個々の責任遺伝子の遺伝的効果は、従来から想定されていた以上にマイルドであることを裏づけている。また、マイクロサテライトという多型マーカーが用いられており、その数も300-400程度と比較的少なかった。

2) ゲノムワイド関連研究(genome-wide association study: GWAS)

過去数年の間に、遺伝子解析技術は目覚ましく進歩し、遺伝子多型(特にSNP)情報も急速に増加した。2007年以後、高血圧に関するGWASが行われて、幾つか有意な関連のシグナルが認められた。研究デザインとしては、高血圧群と血圧正常群とを比較するcase-control studyのみならず、血圧値を連続変数として扱うGWASも行われている。しかし現在までのところ、スタディ間で重複した遺伝子座は報告されておらず、やはり強い遺伝的効果をもつ高血圧遺伝子

に対するゲノムスキャン(抜粋)

ethnicity	participants	results
white Americans	69 discordant SPs	2p; 5q; 6q; 15q
Chinese	207 discordant SPs, 258 high concordant SPs, 99 low concordant SPs	3p; 11q; 16q; 17p; 15q
white	169 ASPs with early onset(<50y)	11q
Old Order Amish	206 nuclear families	1p; 2p; 5p; 7q; 19p
Afro-American & white	498 ASPs	18q; 6p
white	332 families	17q; 18p
white(Finn)	47 ASPs with early onset(<50y) at least one sib	1q; 2q; 3q; 22q; Xp
Han Chinese	1,273 ASPs(diagnosed before 60y)	2q
Mexican American	10 large unselected pedigrees	18q; 21q; 2p; 8q
Dutch	18 extended families	4p; 19p; 6q; 8p
white	274 SPs	1p; 4q; 16p; X
Afro-Americans & white	114 Afro-American families & 99 white American families	2p; 3p; 3q; 11q; 19p; 12q
Icelandic	120 families with 490 hypertensives	18q
white	401 families(2,959 individuals)	1q; 6q; 7p; 7q; 12q; 15q
white(Sardinia)	A large extended pedigree with 35 hypertensives	2p
Afro-American & white	211 Afro-American families & 160 white American families	1q; 11q; 3q
Afro-American & white	599 Afro-American families & 489 white American families	2p
Afro-American & white	229 Afro-American families & 251 white American families	none
Asian	1,123 Chinese and 302 Japanese SPs	9q; 10p; 14q
white(Scandinavian)	91 families	2q; 14q
Chinese	1 large kindred and 32 nuclear families	12p
white	200 families(296 ASPs)	1p; 4q
white/GWAS	2,000 case vs 3,000 controls	no significant signals
Japanese/GWAS	1,559 case vs 2,910controls	ADD2, KIAA0789, M6PR
European/GWAS	5,297 subjects in total	CDH13
white(Finn)/GWAS	4,500 subjects	no significant signals
Asian(Korean)/GWAS	7,861 subjects	ATP2B1

色体2番短腕(2p)という記述であっても連鎖のピーク位置が大幅に異なることもある。

の存在は否定的である(表1)。

また注目する遺伝子の病因的意義を評価する際、単に断片的な調査結果(臨床情報および疫学情報)を用いるだけでは不十分であることが次第に明らかとなってきた。遺伝子の効果は前向きかつ長期的に検討される必要があり、'ゲノム疫学'という研究アプローチの重要性が認識されるようになってきた。欧米では、多くの家系を10年から20年単位で追跡し、生活習慣や血圧、臨床検査データなどについて広範に情報を収集して、それらと個々の遺伝子(疾患としては必ずしも高血圧に限定しない)との相互

作用を系統的に調べようという、スケールの大きな研究計画が遂行されつつある⁷⁾。

4. ファーマコゲノミクス

高血圧患者に薬物治療を選択する際、年齢、合併症、腎・肝機能データ、同時服用中の薬剤など、様々な要因を考慮する必要がある。近年、多くの大規模臨床試験が実施され、その結果に基づく治療指針(ガイドライン)が作成されたことにより、薬物治療の'標準化'が積極的に推進されることとなった。しかし、こうした指針に従って注意深く降圧薬が選択されたとしても、

表 2 降圧薬に対する反応性に影響する薬剤標的遺伝子(文献⁹⁾より引用)

薬 物	有効性や副作用との関連 の示唆された遺伝子	遺伝子多型との関連を認 めた臨床的效果
I. 薬物動態学的メカニズム		
warfarin	CYP2C9	
digoxin	MDR1(P-glycoprotein をコードする遺伝子)	
metoprolol, propafenone	CYP2D6	
procainamide, hydralazine	N-acetyltransferase 2(NAT2)	
II. 薬動力学的メカニズム		
β 遮断薬	β 1 交感神経受容体(ADRB1)	血圧の下降度
β 遮断薬	G タンパク α 刺激活性サブユニット(GNAS)	血圧の下降度
食塩負荷(感受性の評価)	アンジオテンシノーゲン(AGT)	血圧の変動
アンジオテンシン変換酵素阻害薬	アンジオテンシン変換酵素(ACE)	血圧の下降度/臓器合併症のリスク
アンジオテンシン II 1 型受容体遮断薬/アンジオテンシン II	アンジオテンシン II 1 型受容体(AGTR1)	血圧の下降度/糸球体濾過率の変化
アンジオテンシン II 1 型受容体遮断薬/食塩負荷	アルドステロン合成酵素(CYP11B2)	血圧の下降度
食塩負荷(感受性の評価)	11 β ヒドロキシラーゼ脱水素酵素 2 型(HSD11B2)	血圧の変動
アンジオテンシン変換酵素阻害薬	ブラジキニン B2 受容体(BDKRB2)	ACE 阻害薬による空咳
III. 利尿薬		
ヒドロクロチアジド	α アデュシン(ADD1)	血圧の下降度/心血管系イベントの発症リスク
ヒドロクロチアジド	G タンパク β 3 サブユニット(GNB3)	血圧の下降度
ヒドロクロチアジド	内皮型一酸化窒素合成酵素(NOS3)	血圧の下降度

ある薬物が特定の患者に有効である(あるいは副作用を生じない)という保証はない。'標準化'された臨床的判断に基づく薬物治療の有効性が、個々人レベルでは今なお'ばらつき'を生ずる原因の一つとして遺伝要因の関与が想定され、薬物反応性に影響する遺伝情報(遺伝子多型)を探索する薬理ゲノム学(ファーマコゲノミクス)研究が注目されている。降圧薬に関連した研究成果の一部をカテゴリー別に紹介する(表 2)(詳細は別紙を参照⁹⁾。

a. 薬物代謝に関係したもの

薬物代謝第 I 相反応の中心である CYP450 には多くの分子種が存在するが、その中の CYP2 ファミリーに遺伝子多型が多い。propranolol など幾つかの β 遮断薬の反応を媒介する代謝酵素が CYP2D6 であり、その 'poor metabolizer(薬物代謝が遅く血中半減期が長い)' と分類される人々には、少量の投与で十分な効果の得られる

ことが知られている。またアセチル基、メチル基などを薬物に抱合させる薬物代謝第 II 相反応においても、代謝活性の個人差が知られている。例えばヒドララジンの N-アセチル化を触媒する NAT2(N-acetyltransferase 2) に関して 'slow acetylator' と分類される人々が存在し、薬物排泄速度が遅いためループス紅斑などの副作用が出やすいと考えられている⁹⁾。したがって、これらの薬物を投与する前に、遺伝子情報を活用することによって、個々人の薬物代謝系に合わせて投与量を加減したり、同じ薬効をもつが副作用の少ないものを選択したりすることが可能になると期待されている。

b. 薬物動態に関係したもの

治療有効性の 'ばらつき' に影響する遺伝要因は、上述した薬物代謝とともに、薬物動態にかかわる多数の遺伝子の多型に由来するものと考えられる。これまで降圧薬に対する薬物標的因

子(受容体やそれ以後のシグナル伝達系など)として頻繁に調べられてきたのは、レニン・アンジオテンシン系や交感神経系の主要因子の遺伝子多型である。なかでもACE阻害薬とACE遺伝子のI/D多型との関係は繰り返し検討されてきたものの、必ずしも一致した結果は認められていない。Iアレルをホモ型でもつ(IIタイプ)場合に降圧効果および臓器保護効果が強いという報告がある一方、逆にDアレルをホモ型でもつ(DDタイプ)場合に最大の薬物効果が認められるという報告も少なくない。スウェーデンで行われたSILVHIA研究[左室重量に対するアンジオテンシンII受容体拮抗薬ロサルタン(対照は β 遮断薬アテノロール)での治療効果を検討した二重盲検前向き追跡研究]では、ロサルタン治療群において、ACE遺伝子がII型の場合にDD型より平均12mmHgも顕著な降圧効果を認めたと報告された¹⁰⁾。更にアンジオテンシノーゲン(T174→M)とアンジオテンシンII type 1受容体(A1166→C)の遺伝子多型は降圧効果にこそ影響しなかったものの、左室肥大の退縮効果と有意な相関を示していた¹¹⁾。

c. 高血圧の成因に関係したもの

本態性高血圧の成因にかかわる確定的な遺伝子はまだほとんど見つかっていないが、メンデル型高血圧性疾患やモデル動物(高血圧ラット)での責任遺伝子なども幾つか同定されてきており、それらを候補とした降圧薬の薬理ゲノム学研究も進められている。

5. 高血圧の代用ないし中間形質

既に述べたとおり、ACEの血中濃度に遺伝性があり、その相当な部分がACE遺伝子座のI/D多型によって制御されていることが古くから知られていた。同様に、レニン・アンジオテンシン系の主要因子であるAGT、レニン活性などにも少なからず遺伝性があることが知られている¹²⁾。ほかには、原発性アルドステロン症の診断の指標として使われるアルドステロン：レニン比¹³⁾、ナトリウム利尿ペプチド(ANPとBNP)¹⁴⁾、大動脈硬化(aortic stiffness)¹⁵⁾などにも遺伝性があり、その制御遺伝子座が探索されている。

おわりに

ヒトゲノムプロジェクトの成果として、塩基配列は解読されたものの、そこに含まれる遺伝子の注釈づけ(アノテーション)と機能解析は、これから力を注がれるべき研究テーマである。本稿で述べたごとく、高血圧の責任遺伝子は複数あり、かつ環境要因との複合的な作用ネットワークを形成しているため、現代のゲノム科学を駆使しても、その成因・病態の解明にはまだ至っていない。しかし、これまでの研究から得られた‘ヒント’として、血管硬化性などの代用形質を用いて、高血圧というヘテロな病態を、もう少し均質なサブグループに分類することが可能であり、遺伝子解析にも有用ではないかと考えられている。こうした研究の成果が、医療の個別化とともに新規の血圧調節機序の発見・検証につながることを期待される。

文献

- 1) Rudan I, et al: Inbreeding and the genetic complexity of human hypertension. *Genetics* 163: 1011-1021, 2003.
- 2) 加藤規弘: 本態性高血圧の成因・病態生理—原因候補遺伝子. 臨床高血圧(矢崎義雄, 島田和幸編), p50-54, 朝倉書店, 2002.
- 3) Jeunemaitre X, et al: Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 71: 169-180, 1992.
- 4) Sethi AA, et al: Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 1269-1275, 2003.
- 5) Brand E, et al: Detection of putative functional angiotensinogen (AGT) gene variants controlling plasma AGT levels by combined segregation-linkage analysis. *Eur J Hum Genet* 10: 715-723,

2002.

- 6) 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: 1343-1346, 1990.
- 7) Wellcome Trust Case Control Consortium: Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 447: 661-678, 2007.
- 8) 加藤規弘: 遺伝子情報より至適降圧薬を選択できるか? *治療学* 38: 7-11, 2004.
- 9) Hofstra AH: Metabolism of hydralazine: relevance to drug-induced lupus. *Drug Metab Rev* 26: 485-505, 1994.
- 10) Kurland L, et al: Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type 1 antagonist treatment in hypertensive patients. *J Hypertens* 19: 1783-1787, 2001.
- 11) Kurland L, et al: Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol(SILVHIA) trial. *J Hypertens* 20: 657-663, 2002.
- 12) Vinck WJ, et al: Heritability of plasma renin activity and plasma concentration of angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme. *J Hum Hypertens* 16: 417-422, 2002.
- 13) Newton-Cheh C, et al: Clinical and genetic correlates of aldosterone-to-renin ratio and relations to blood pressure in a community sample. *Hypertension* 49: 846-856, 2007.
- 14) Wang TJ, et al: Heritability and genetic linkage of plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 108: 13-16, 2003.
- 15) Yasmin, O'Shaughnessy KM: Genetics of arterial structure and function: towards new biomarkers for aortic stiffness? *Clin Sci(Lond)* 114: 661-677, 2008.