
食塩感受性高血圧におけるナトリウム代謝
関連遺伝子多型の病態的意義

(課題番号 15590477)

平成15年度～平成18年度科学研究費補助金
(基盤研究(C))研究成果報告書

平成19年3月

研究代表者 保嶋 実
弘前大学医学部教授

目 次

はしがき	p 1
研究組織	p 1
交付決定額	p 1
研究発表	
(1) 学会誌等	p 2
(2) 口頭発表	p 6
(3) 出版物	p 11
研究成果による工業所有権の出願・取得状況	p 11
研究成果	
はじめに	p 12
対象と方法	p 12
結 果	p 13
考 察	p 14
結 語	p 15
謝 辞	p 15
論文別刷添付一覧	p 16
論文別刷	p 17-

〈はしがき〉

ナトリウム代謝に関連する腎曲尿細管サイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(TSC)の機能異常は、高レニン血症を呈する Gitelman 症候群として知られており食塩感受性高血圧の鏡像と考えられている。食塩感受性高血圧の遺伝的背景の解明のため Gitelman 症候群 36 例について TSC 遺伝子解析を行った。その結果、24 例に 19 変異が検出され、その中で R261C、N406H、A523T、M672I、R1009Q、N1014K、エクソン 9 の 1 塩基欠失(3C/2C)、エクソン 16 の 1 塩基欠失(5C/4C)の 8 変異はこれまで報告されていない新規の変異であった。36 例中、ホモ型+コンパウンドヘテロ型が 1 例、ホモ型が 8 例、コンパウンドヘテロ型が 13 例、ヘテロ型が 2 例であった。エクソン 16 の 1 塩基欠失(5C/4C)を認めた 5 例は、いずれも北東北地域で検出されており、地域により特定の変異が集積している可能性が示唆された。連関研究では、若年高血圧 32 例と高齢で正常血圧を示す 20 例で、検出された TSC 変異と 2711G/A (R904Q) 多型について PCR-RFLP 法で解析を行った。両群で上記変異は認められず、また 2711G/A 多型についても遺伝子型の頻度に差を認めなかった。さらに、低 K 血症における TSC 遺伝子の変異検出頻度を明らかにするため、地域住民 1,407 例のうち血清 K 値が 3.5mmol/l 未満の 26 例について同様に TSC 遺伝子解析を行った。その結果、T180K、L849H、R919C の 3 変異が検出され、うちコンパウンドヘテロ型が 1 例、ヘテロ型が 5 例であり、変異検出頻度は 23 %で、変異型アレルの検出頻度は 13.5 %であった。今後、さらに TSC 以外の NaCl 再吸収機能を介して血圧調節に関与する共輸送体・チャネル遺伝子多型の食塩感受性高血圧における病態的意義について検討する必要があると示唆された。

研究組織

研究代表者:保嶋 実(弘前大学医学部教授)
研究分担者:庄司 優(弘前大学医学部助教授)
(研究協力者:蔦谷 昭司、對馬 絵理子、工藤 良子)

交付決定額(配分額)

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
平成15年度	1,100,000	0	1,100,000
平成16年度	800,000	0	800,000
平成17年度	800,000	0	800,000
平成18年度	700,000	0	700,000
総計	3,400,000	0	3,400,000

研究発表

(1) 学会誌等(発表者名、テーマ名、学会誌名、巻号、年月日)

2003年

Sugimoto K, Baba M, Suda T, Yasujima M, Yagihashi S : Peripheral neuropathy and microangiopathy in rats with insulinoma: association with chronic hyperinsulinemia . Diabetes Metab Res Rev 19(5): 392-400 , 2003 .

Yamato K, Tamasawa N, Murakami H, Guan JZ, Tanabe J, Matsui J, Suda T, Yasujima M : Quantitative analysis of apolipoprotein E secretion by human monocyte-derived macrophages in culture . Tohoku J Exp Med. 201(1): 47-54 , 2003 .

庄司 優, 保嶋 実: 高血圧とテーラーメイド医療 遺伝子多型による治療法の選択. 血圧 10(1): 25-28 , 2003 .

保嶋 実, 庄司 優: 高血圧における遺伝子マーカー. 臨床化学 32(1): 46-48 , 2003 .

保嶋 実: 主要疾患における診断・治療のためのガイドライン及び検査値 我が国における高血圧診療のガイドライン. 臨床病理 51(6): 581-585 , 2003 .

中岡理恵, 中野京子, 野坂大喜, 佐藤 征, 佐藤達資, 神谷菜々子, 保嶋 実: 銀染色法による尿蛋白分画 健常人尿蛋白分画の把握. 医学検査 52(7): 939-943 , 2003 .

保嶋 実: 包括医療と臨床検査 疾患の診断治療のために最小限必要な検査 高血圧症. 検査と技術 31(10): 1096-1102 , 2003 .

中岡理恵, 中野京子, 野坂大喜, 佐藤 征, 佐藤達資, 吉田和香子, 和田朋也, 保嶋 実: 運動負荷が尿蛋白分画に及ぼす影響. 医学検査 52(9): 1151-1156 , 2003 .

小野有希, 庄司 優, 工藤良子, 斉藤順子, 保嶋 実: レーザー散乱光を用いた粒子計測法によるADP濃度依存的血小板凝集動態の測定. 医学検査 52(9): 1166-1170 , 2003 .

2004年

Kotani N, Kudo R, Sakurai Y, Sawamura D, Sessler DI, Okada H, Nakayama H, Yamagata T, Yasujima M, Matsuki A : Cerebrospinal fluid interleukin 8 concentrations and the subsequent development of postherpetic neuralgia . Am J Med 116(5): 318-24 , 2004 .

Ogihara T, Katsuya T, Ishikawa K, Matsuo A, Rakugi H, Shoji M, Yasujima M : Hypertension in a patient with Gitelman's syndrome . J Hum Hypertens 18(9): 677-679 , 2004 .

Enya M, Kanoh Y, Mune T, Ishizawa M, Sarui H, Yamamoto M, Takeda N, Yasuda K, Yasujima M, Tsutaya S, Takeda J : Depressive state and paresthesia dramatically improved by intravenous MgSO₄ in Gitelman's syndrome . Intern Med 43(5): 410-414 , 2004 .

Kanazawa M, Kohzuki M, Kurosawa H, Minami N, Ito O, Saito T, Yasujima M, Abe K : Renoprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor combined with alpha1-adrenergic antagonist in spontaneously hypertensive rats with renal ablation . *Hypertens Res* 27(7): 509-515 , 2004 .

Sugimoto K, Shoji M, Yasujima M, Suda T, Yagihashi S : Peripheral nerve endoneurial microangiopathy and necrosis in rats with insulinoma . *Acta Neuropathol (Berl)* 108(6): 503-514 , 2004 .

庄司 優, 保嶋 実:【高血圧と高血圧性臓器障害 臓器障害の予防と管理】 高血圧性臓器障害の検査とその意義 心機能検査 ナトリウム利尿ホルモン. *日本臨床* 62(3): 311-314 , 2004 .

庄司 優, 工藤良子, 蔦谷昭司, 保嶋 実:検査法の開発と病態解明のアプローチ フローサイトメトリーによるアンチセンスオリゴヌクレオチド取り込みの検出 血小板における基礎的検討と血小板減少症での有用性. *臨床病理* 52(2): 172-175 , 2004 .

庄司 優, 須田俊宏, 保嶋 実:【臨床分子内分泌学 心血管内分泌代謝系】 ウロテンシン 薬理作用と生理作用 血小板作用. *日本臨床* 62(9): 715-718 , 2004 .

塩谷真由美, 加納克徳, 宗友 厚, 石澤正剛, 山本真由美, 猿井 宏, 武田則之, 安田圭吾, 蔦谷昭司, 保嶋 実, 武田 純: Mg 製剤により精神症状が劇的に改善した Gitelman 症候群の 1 例. *岐阜県内科医会雑誌* 18(1): 33-38 , 2004 .

庄司 優, 保嶋 実:【血栓症検査ガイドブック】 検査項目 血小板検査 血小板第 4 因子(PF4), β -トロンボグロブリン. *血栓と循環* 12(4): 336-338 , 2004 .

2005 年

Tomita H, Osanai T, Toki T, Sasaki S, Maeda N, Murakami R, Magota K, Yasujima M, Okumura K : Troglitazone and 15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J2 inhibit shear-induced coupling factor 6 release in endothelial cells . *Cardiovasc Res* 67(1): 134-141 , 2005 .

Yamato K, Tamasawa N, Murakami H, Matsui J, Tanabe J, Suda T, Yasujima M : Evaluation of apolipoprotein E secretion by macrophages in type 2 diabetic patients: role of HDL and apolipoprotein A-I . *Diabetes Res Clin Pract* 69(2): 124-128 , 2005 .

Tomita H, Osanai T, Toki T, Maeda N, Murakami R, Chen Z, Yamabe H, Osawa H, Yasujima M, Okumura K : Roxithromycin is an inhibitor of human coronary artery smooth muscle cells proliferation: a potential ability to prevent coronary heart disease . *Atherosclerosis* 182(1): 87-95 , 2005 .

Kageyama K, Terui K, Shoji M, Tsutaya S, Matsuda E, Sakihara S, Nigawara T, Moriyama T, Yasujima M, Suda T : Diagnosis of a case of Gitelman's syndrome based on renal clearance studies and gene analysis of a novel mutation of the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter . *J Endocrinol Invest* 28(9): 822-826 , 2005 .

庄司 優, 木村時久, 保嶋 実:【臨床分子内分泌学 心血管内分泌代謝系(下)】 バソプレシン 基礎研究の進展 バソプレシン遺伝子発現調節と分泌調節. 日本臨床 63(3): 460-465, 2005.

庄司 優, 蔦谷昭司, 松田絵理子, 保嶋 実: Gitelman 症候群におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体遺伝子変異解析. 日本臨床検査自動化学会会誌 30(2): 99-104, 2005.

森山貴子, 蔭山和則, 照井 健, 二川原健, 崎原 哲, 庄司 優, 蔦谷昭司, 保嶋 実, 須田俊宏: サイアザイド負荷試験と遺伝子解析による Gitelman 症候群の診断. 日本内分泌学会雑誌 81: 30-32, 2005.

庄司 優, 保嶋 実:【遺伝子診療学 遺伝子診断の進歩と遺伝子治療の展望】 遺伝子診断(genetic diagnosis)(遺伝学的検査 genetic testing, 遺伝子検査 gene-based testing, 核酸検査 nucleic acid-based testing) 疾患群の遺伝学的検査(genetic testing)と遺伝子検査(gene-based testing) 腎・血管疾患. 日本臨床 63(12): 223-227, 2005.

小野有希, 後藤麻希, 杉本一博, 木村正彦, 秋元広之, 高坂公博, 葛西 猛, 保嶋 実: 糖尿病患者における尿中 acanthocyte の出現率. 日本臨床化学会東北支部会誌 14: 5-10, 2005

松田絵理子, 蔦谷昭司, 庄司 優, 保嶋 実: Gitelman 症候群 19 症例における遺伝子解析. 日本臨床化学会東北支部会誌 14: 21-26, 2005

小野有希, 杉本一博, 後藤麻希, 木村正彦, 葛西猛, 庄司優, 保嶋実: 糖尿病患者における血尿と尿中 acanthocyte. 臨床病理, 53(11): 993-998, 2005.

2006 年

Terui K, Shoji M, Yamashiki J, Hirai Y, Ishiguro A, Tsutaya S, Kageyama K, Yasujima M, Suda T: A novel mutation of the thiazide-sensitive sodium chloride cotransporter gene in a Japanese family with Gitelman syndrome. Clin Nephrol 65(1): 57-60, 2006.

Hasan KN, Shoji M, Tsutaya S, Kudo R, Matsuda E, Saito J, Kimura T, Yasujima M: Study of V1a vasopressin receptor gene single nucleotide polymorphisms in platelet vasopressin responsiveness. J Clin Lab Anal 20(3): 87-92, 2006.

Tomita H, Sasaki S, Osanai T, Nakano T, Higuma T, Yokoyama J, Hanada H, Yasujima M, Okumura K: Mutational analysis of Kir6.1 in Japanese patients with coronary spastic angina. Int J Mol Med 18(4): 589-591, 2006.

Futagami M, Sakamoto T, Sakamoto A, Shigetou T, Taniguchi R, Sato S, Tutaya S, Kojima K, Yasujima M, Mizunuma H: A pregnant woman with genetic variants of butyrylcholinesterase and inflammatory bowel disease. J Obstet Gynaecol 26(6): 562-563, 2006.

Eto K, Onaka U, Tsuchihashi T, Hirano T, Nakayama M, Masutani K, Hirakata H, Urata H, Yasujima M: A case of Gitelman's syndrome with decreased angiotensin II-forming activity. Hypertens Res 29(7): 545-549, 2006.

Kageyama K, Terui K, Tsutaya S, Matsuda E, Shoji M, Sakihara S, Nigawara T, Takayasu S, Moriyama T, Yasujima M, Suda T : Gene analysis of the calcium channel 1 subunit and clinical studies for two patients with hypokalemic periodic paralysis . J Endocrinol Invest 29(10): 928-933 , 2006 .

保嶋 実:【高血圧 最新の診療】 高血圧患者の危険因子評価とリスクの層別化. 診断と治療 94(3): 377-383 , 2006 .

庄司 優, 保嶋 実:【高血圧 最新の研究動向】 基礎編 遺伝子研究 原因候補遺伝子 血管内皮型 NO 合成酵素遺伝子. 日本臨床 64(5): 411-415 , 2006 .

庄司 優, 保嶋 実:【高血圧 最新の研究動向】 臨床編 臓器障害の進展予測検査 BNP . 日本臨床 64(6): 133-136 , 2006 .

橋本 浩, 櫛方哲也, 北山眞任, 石原弘規, 廣田和美, 坂井哲博, 二神真行, 保嶋 実, 蔦谷昭司:術前に遺伝性低コリンエステラーゼ血症を認知できずに全身麻酔導入時スキサメニウムを使用した1症例. 麻酔 55(8): 1014-1017 , 2006 .

高島千秋, 庄司 優, 菅原修二, 村野俊夫, 保嶋 実:血漿 FDP 測定試薬エルピア FDP-P2 の基礎的検討. 日本臨床検査自動化学会会誌 31(3): 317-320 , 2006 .

保嶋 実:【高血圧の臨床検査】 高血圧の診断・治療に必要な臨床検査 血液検査. Medical Technology 34(9): 938-942 , 2006 .

保嶋 実:腎機能検査 ペントシジンを中心に. Medical Technology 34(10): 1010-1012 , 2006 .

保嶋 実, 庄司優:臨床検査医学の進歩 臨床検査における遺伝子解析の意義. Laboratory and Clinical Practice 24(2): 88-91 , 2006 .

2007年

Hasan KN, Shoji M, Sugimoto K, Tsutaya S, Yasujima M : Role of vasopressin V1a receptor in hypertension, diabetes mellitus and platelet function: genetic polymorphism study . Hirosaki Medical Journal 58 : 35-52 , 2007 .

(2) 口頭発表(発表者名、テーマ名、学会等名、年月日)

2003 年

村上 宏, 玉沢直樹, 大和一美, 松井 淳, 須田俊宏, 保嶋 実: 糖尿病患者のヒト単球/マクロファージのアポリポ蛋白 E 分泌能の検討. 第 100 回日本内科学会講演会(福岡市) 2003.4.1

塩谷真由美, 加納克徳, 石澤正剛, 猿井宏, 山本眞由美, 宗友厚, 武田則之, 安田圭吾, 葛谷昭司, 保嶋 実: 精神症状を伴い Mg 製剤が著効した Gitelman 症候群の 1 例. 第 76 回日本内分泌学会学術総会(横浜市)2003.5.10

庄司 優, 太田耕造, 木村時久, 須田俊宏, 保嶋実: Stresscopin のヒト血小板に対する作用の検討. 第 76 回日本内分泌学会学術総会(横浜市)2003.5.10

小島佳也, 齊藤慶子, 中田伸一, 杉本一博, 保嶋 実: 心血管疾患を有さない 2 型糖尿病患者における心拍数及びその変動ー脂質代謝異常とインスリン抵抗性との関連ー. 第 52 回日本医学検査学会(大宮市) 2003.5.16

勝谷友宏, 葛谷昭司, 庄司 優, 松尾安希子, 石川一彦, 高木崇, 楽木宏実, 保嶋 実, 荻原俊男: ギテルマン症候群におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(TSC)遺伝子変異の検討. 第 46 回日本腎臓学会学術総会(東京都)2003.5.22

庄司 優, 葛谷昭司, 保嶋 実: 糖尿病性腎症の遺伝子マーカーとしてのアルデヒド脱水素酵素 2(ALDH-2)遺伝子多型. 第 46 回日本腎臓学会学術総会(東京都)2003.5.23

庄司 優, 葛谷昭司, 保嶋 実: 維持血液透析下における HCV 易感染性とアルデヒド脱水素酵素遺伝子多型. 第 46 回日本腎臓学会学術総会(東京都)2003.5.23

鈴木 宏, 工藤良子, 齊藤順子, 庄司 優, 保嶋 実: 有核赤血球出現による白血球数算定障害. 第 4 回日本検査血液学会学術集会(京都市) 2003.7.5

大和一美, 村上 宏, 葛西伸彦, 松井 淳, 玉沢直樹, 須田俊宏, 保嶋 実: 高脂血症を有する糖尿病患者における単球/マクロファージのアポ蛋白 E 分泌能の検討. 第 46 回日本糖尿病学会年次学術集会(富山市) 2003.5.23

松井 淳, 小川吉司, 玉沢直樹, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実: 糖尿病性腎症におけるアンギオテンシン II type1 受容体遺伝子多型及び ACE 阻害剤と ARB の併用効果. 第 46 回日本糖尿病学会年次学術集会(富山市) 2003.5.23

杉本一博, 大和一美, 松井 淳, 丹藤雄介, 小川吉司, 玉沢直樹, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実: 心血管疾患を有さない 2 型糖尿病患者における心拍数及びその変動 脂質代謝とインスリン抵抗性との相関. 第 46 回日本糖尿病学会年次学術集会(富山市) 2003.5.23

木村正彦, 小島佳也, 中田伸一, 杉本一博, 保嶋 実: FEIA 法における血漿 BNP 測定法の基礎的検討および BNP の安定性について. 第 35 回日本臨床検査自動化学会(横浜市) 2003.9.19

竹内和久, 谷山佳弘, 阿部高明, 大沢 弘, 保嶋 実, 伊藤貞嘉: バーター症候群類似異常として報告し後に Na-Cl トランスポーター(NCCT)遺伝子(L623P)異常が判明した一例. 第 32 回日本腎臓学会東部学術大会(旭川市) 2003.9.26

庄司 優, 保嶋 実, 蔦谷昭司, 工藤良子, 松田絵理子, 杉本一博: 血小板の活性化とレニン・アンジオテンシン系遺伝子多型. 第 50 回日本臨床検査医学会総会(広島市)2003.10.29

小島佳也, 秋元広之, 中田伸一, 庄司 優, 保嶋 実: ヒト recombinant TSH レセプターを用いた TRAb 測定キットの基礎的検討. 第 50 回日本臨床検査医学会(広島市) 2003.10.29

庄司 優, 工藤良子, 蔦谷昭司, 保嶋 実: フローサイトメトリーによるアンチセンス取り込みの検出—血小板での基礎的検討と血小板減少症への応用. 第 50 回日本臨床検査医学会総会(広島市)2003.10.30

富田泰史, 長内智宏, 奥村謙, 保嶋 実: 新規の昇圧物質である Coupling factor 6 の臨床的意義. 第 50 回日本臨床検査医学会総会(広島市)2003.10.30

工藤良子, 庄司 優, 保嶋 実: DNA マイクロアレイを用いた末梢血遺伝子発現プロファイリングの白血病における基礎的検討. 第 50 回日本臨床検査医学会総会(広島市) 2003.10.30

三上少子, 成田優子, 齋藤慶子, 杉本一博, 庄司 優, 保嶋 実, 須田俊宏: 2 型糖尿病患者における心自律神経機能と脂質代謝異常との関係 冠動脈疾患合併の有無における差異. 第 50 回日本臨床検査医学会総会(広島市) 2003.10.30

杉本一博, 齋藤慶子, 成田優子, 三上少子, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実: 糖尿病性神経障害の簡易診断基準におけるアキレス腱反射と下肢振動覚検査の有用性 2 型糖尿病患者での検討. 第 50 回日本臨床検査医学会総会(広島市) 2003.10.31

2004 年

大和一美, 田辺寿太郎, 村上 宏, 松井 淳, 玉澤直樹, 柳町 幸, 丹藤雄介, 小川吉司, 保嶋 実, 須田俊宏: 2 型糖尿病患者における単球/マクロファージの apoE 分泌能の検討. 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会(東京都) 2004.5.14

杉本一博, 庄司 優, 大和一美, 柳町 幸, 松井 淳, 丹藤雄介, 小川吉司, 玉澤直樹, 須田俊宏, 保嶋 実: 2 型糖尿病患者における心拍変動と血清コレステロール値との相関 冠動脈疾患合併の有無による差異. 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会(東京都) 2004.5.14

庄司 優, 保嶋 実: インスリン非依存型糖尿病(NIDDM)における血小板機能の検討. 第 47 回日本腎臓学会学術総会(宇都宮市) 2004.5.27

竹内和久, 谷山佳弘, 保嶋実, 伊藤貞嘉: NCCT 遺伝子 L623P 変異を有する Gitelman 症候群患者の地域分布及び臨床所見のまとめ. 第 47 回日本腎臓学会学術総会(宇都宮市) 2004.5.28

井上文緒, 舛甚 満, 葛西 猛, 庄司 優, 保嶋 実: 当院における呼吸器感染症からの分離菌の動向と薬剤感受性について. 第 52 回日本化学療法学会総会(宜野湾市)2004.6.3

庄司 優, 太田耕造, 木村時久, 須田俊宏, 保嶋 実:インスリン非依存型糖尿病(NIDDM)における血小板の Vasopressin(AVP)反応性. 第 77 回日本内分泌学会学術総会(京都市) 2004.6.25

富田泰史, 長内智宏, 奥村 謙, 保嶋 実:ヒト冠血管平滑筋細胞の増殖に及ぼす roxithromycin の影響. 第 51 回日本臨床検査医学会(東京都) 2004.9.3

大和一美, 玉澤直樹, 村上 宏, 松井 淳, 田辺壽太郎, 須田俊宏, 保嶋 実: 2 型糖尿病患者における単球/マクロファージの ApoE 分泌能の脂質,糖代謝における検討. 第 51 回日本臨床検査医学会(東京都) 2004.9.3

松田絵理子, 蔦谷昭司, 庄司 優, 保嶋 実: Gitelman 症候群における遺伝子解析について. 第 51 回日本臨床検査医学会(東京都) 2004.9.3

蔦谷昭司, 松田絵理子, 庄司 優, 保嶋 実:高血圧とアルギニン・バズプレシン受容体遺伝子多型との連関について. 第 51 回日本臨床検査医学会(東京都) 2004.9.3

蔦谷昭司, 松田絵理子, 庄司 優, 保嶋 実: X 連鎖性遺伝性水頭症に認められた L1CAM 遺伝子変異. 第 51 回日本臨床検査医学会(東京都) 2004.9.3

工藤良子, 庄司 優, Hassan Kadi Nadim , 保嶋 実:新たなオリゴヌクレオチドアレイと cDNA マイクロアレイとの比較検討. 第 51 回日本臨床検査医学会(東京都) 2004.9.3

ハサン・ナディム・カジ, 庄司 優, 工藤良子, 蔦谷昭司, 松田絵理子, 保嶋 実: Vasopressin V1a 受容体遺伝子多型と血小板反応性. 第 51 回日本臨床検査医学会総会(東京都) 2004.9.4

庄司 優, 杉本一博, 工藤良子, KaziHasan N, 蔦谷昭司, 松田絵理子, 中田伸一, 保嶋 実:インスリン非依存型糖尿病における血小板活性化能の検討. 第 51 回日本臨床検査医学会総会(東京都)2004.9.5

木村正彦, 小島佳也, 杉本一博, 庄司 優, 保嶋 実, 小川吉司, 須田俊宏:糖尿病における血清シスタチン C を用いた腎機能評価に関する検討. 第 36 回日本臨床検査自動化学会(横浜市) 2004.9.30

庄司 優, 保嶋 実:バズプレシン V1a 受容体遺伝子多型と高血圧との連関研究. 第 27 回日本高血圧学会総会(宇都宮市) 2004.10.8

2005 年

森山貴子, 蔭山和則, 照井 健, 二川原健, 崎原 哲, 庄司 優, 蔦谷昭司, 保嶋 実, 須田俊宏: サイアザイド負荷試験と遺伝子解析による Gitelman 症候群の診断. 第 15 回臨床内分泌代謝 Update(札幌市)2005.3.12

大和一美, 玉澤直樹, 田辺壽太郎, 柳町 幸, 村上 宏, 丹藤雄介, 杉本一博, 松井 淳, 小川吉司, 保嶋 実, 須田俊宏: 2 型糖尿病患者の治療前後の単球/マクロファージのアポ E 分泌能について. 第 48 回日本糖尿病学会年次学術総会(神戸市) 2005.5.13

杉本一博, 小野有希, 庄司 優, 須田俊宏, 保嶋 実:糖尿病患者における血尿と尿中 acanthocyte . 第 48 回日本糖尿病学会年次学術総会(神戸市) 2005.5.13

小川吉司, 松井 淳, 丹藤雄介, 杉本一博, 玉澤直樹, 後藤 尚, 保嶋 実, 須田俊宏: 糖尿病性腎症患者における血中シスタチン C 測定の意義. 第 48 回日本糖尿病学会年次学術総会(神戸市) 2005.5.13

庄司 優, 保嶋 実: バゾプレシン V1a 受容体遺伝子多型と遺伝子発現および終末期腎不全との関連研究. 第 48 回日本腎臓学会学術総会(横浜市) 2005.6.23

庄司 優, 保嶋 実: サイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体(TSC)遺伝子第 16 エクソン 5C/4C ナンセンス変異の北東北における集積. 第 48 回日本腎臓学会学術総会(横浜市) 2005.6.24

庄司 優, 太田耕造, 木村時久, 保嶋 実: Vasopressin V1a 受容体遺伝子多型と遺伝子発現および血小板活性化作用. 第 78 回日本内分泌学会学術総会(東京都) 2005.7.1

高島千秋, 庄司 優, 保嶋 実: 血漿 FDP 測定試薬エルピア FDP-P2 の基礎的検討. 第 37 回日本臨床検査自動化学会(横浜市) 2005.9.30

内田 亮, 小島佳也, 中田伸一, 庄司 優, 保嶋 実: リコンビナント GH 標準品の有用性 - FEIA 法と IRMA 法の比較から -. 第 37 回日本臨床検査自動化学会(横浜市) 2005.9.30

蔦谷昭司, 松田絵理子, 工藤良子, 庄司 優, 保嶋 実: 高血圧とサイアザイド感受性 NaCl 共輸送体遺伝子変異との関連について. 第 52 回日本臨床検査医学会総会(福岡市) 2005.11.17

庄司 優, 蔦谷昭司, HasanKazi N, 杉本一博, 工藤良子, 松田絵理子, 保嶋 実: 日本人男性における Y 染色体 Alu 反復多型とミトコンドリア DNA 多型の相互関係の解析. 第 52 回日本臨床検査医学会総会(福岡市) 2005.11.17

小島佳也, 斎藤 篤, 境 紀子, 松岡 稔, 矢沢正隆, 伊藤耐子, 木村清隆, 榎 尚男: 東北臨床衛生検査技師会基準値共有化検討委員会活動報告 1 - 基準値の設定 -. 第 52 回日本臨床検査医学会総会(福岡市) 2005.11.18

工藤良子, Hassan Kadi Nadim, 庄司 優, 保嶋 実: バゾプレシンの血小板反応性における遺伝子発現プロファイリングの検討. 第 52 回日本臨床検査医学会総会(福岡市) 2005.11.19

杉本一博, RashidIrena, 小島佳也, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実: 1 型糖尿病ラットモデルにおける痛覚異常と末梢神経内インスリン受容体発現の解析. 第 52 回日本臨床検査医学会総会(福岡市) 2005.11.19

庄司 優, 保嶋 実: 香港人と日本人における内皮型一酸化窒素合成酵素遺伝子 4b/a 多型の分布差と Y 染色体 Alu 反復多型. 第 28 回日本高血圧学会総会(旭川市) 2005.9.15

2006 年

杉本一博, 佐藤めぐみ, 柳町 幸, 村上 宏, 丹藤雄介, 松井 淳, 小川吉司, 玉澤直樹, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実: 2 型糖尿病患者における心自律神経機能と脈波伝播速度との関連性. 第 49 回日本糖尿病学会年次学術集会(東京都) 49 巻 Suppl.1 PageS104(2006.04)

庄司 優, 保嶋 実:糖代謝における Vasopressin(AVP)V1a 受容体の重要性. 第 49 回日本腎臓学会学術総会(東京都) 2006.6.16

照井 健, 蔭山和則, 高安 忍, 二川原健, 崎原 哲, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実, 蔦谷昭司:低カリウム血性周期性四肢麻痺の 2 症例における誘発試験と Voltage-gated Ca²⁺ channel α 1-subunit 遺伝子解析. 第 79 回日本内分泌学会学術総会(神戸市) 2006.5.20

庄司 優, 太田耕造, 木村時久, 須田俊宏, 保嶋 実: Vasopressin V1a 受容体遺伝子多型と 2 型糖尿病との連関. 第 79 回日本内分泌学会学術総会(神戸市) 2006.5.20

對馬知香, 小島佳也, 中田伸一, 庄司 優, 保嶋 実: AIA-21 による抗甲状腺ペルオキシダーゼ抗体および抗サイログロブリン抗体測定の基礎的検討. 第 38 回日本臨床検査自動化学会(神戸市) 2006.10.13

保嶋 実:サイアザイド感受性 NaCl 共輸送体遺伝子解析の臨床的意義. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

杉本一博, 齋藤慶子, 小島佳也, 須田俊宏, 庄司 優, 保嶋 実: 2 型糖尿病の心血管危険因子と神経障害. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

佐藤裕久, 工藤真理子, 中村敏彦, 貝森光大, 真里谷靖, 保嶋実, 藤田清貴, 櫻林郁之介: M 蛋白の型別が治療過程で変化した 1 例. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

中田郁美, 小島佳也, 中田伸一, 庄司 優, 保嶋 実:直接法 HDL-C 及び LDL-C 測定における非特異反応マーカーとしての総ビリルビンの有用性について. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

小野有希, 杉本一博, 木村正彦, 葛西 猛, 庄司 優, 保嶋 実:糖尿病患者における血尿と細小血管障害の関連性. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

蔦谷昭司, 工藤良子, 庄司 優, 保嶋 実, 中路重之, 高見秀樹:高血圧と血液凝固関連諸因子の遺伝子多型との連関について. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

Hasan KN, Shoji M, Sugimoto K, Tsutaya S, Yasujima M : Role of vasopressin V1a receptor in hypertension, diabetes mellitus and platelet function . 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

富田泰史, 目時典文, 齋藤元太, 芦立俊宗, 越前 崇, 加藤千里, 福田道隆, 長内智宏, 奥村 謙, 保嶋 実:急性期脳血管障害における脳性ナトリウム利尿ペプチド測定の臨床的意義 心疾患を除外して. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.9

庄司 優, 保嶋 実:内分泌疾患の検査診断法の進歩 バゾプレシンをめぐるトピックス. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.10

工藤良子, HassanKadi Nadim, 庄司 優, 保嶋 実: CD34 陽性末梢血液幹細胞におけるマイクロ RNA の発現解析. 第 53 回日本臨床検査医学会総会(弘前市) 2006.11.11

(3) 出版物(著者名、書名、出版社名、年月日)
なし

研究成果による工業所有権の出願・取得状況
なし

研究成果

はじめに

高血圧は心血管疾患の重要な危険因子である。ヒト高血圧の大部分を占める本態性高血圧の発症には食塩 (NaCl) の過剰摂取が一部関与していることが明らかにされており、その機序として腎での tubuloglomerular feedback (TGF) 異常に基づく Na 代謝異常が考えられている (阿部ら, 1998)。また、本態性高血圧患者において NaCl 負荷により昇圧し、NaCl 制限により降圧する食塩感受性高血圧群と食塩摂取の変化により血圧変動のみられない食塩非感受性高血圧群に大別され、食塩感受性高血圧群では血漿レニン活性が相対的に低値であることが明らかにされている (日和田ら, 1998)。

腎糸球体で濾過された食塩 (NaCl) は、各尿細管分画で特異的機構により再吸収される。遠位曲尿細管 (DCT) では、糸球体で濾過された NaCl の約 10 % が再吸収され、その作用の中心がサイアザイド感受性 NaCl 共輸送体 (Thiazide-sensitive NaCl cotransporter ; TSC または SOLUTE CARRIER FAMILY 12、MEMBER 3 ; SLC12A3) である。サイアザイド利尿薬の標的分子であり、遺伝子変異に基づく機能異常が先天性脱水疾患である Gitelman 症候群の本態であることが明らかにされた (Simon DB, et al, 1996; Mastroianni N, et al, 1996; Chang H, et al, 1996)。家族性遺伝性疾患はこの約 10 年間で連鎖解析やポジショナルクローニング等により続々と責任遺伝子が明らかにされ、数多くの変異が報告されてきた。特異的に発現する構成因子、情報伝達蛋白、チャネル輸送体、機能調節因子等の遺伝子異常が遺伝性腎疾患の発症機構に大きく関与している (庄司ら, 2002)。ナトリウム代謝に関連する腎曲尿細管 TSC の機能異常は、高レニン血症を呈する Gitelman 症候群として知られており食塩感受性高血圧の鏡像と考えられている。そこで本研究は、食塩感受性高血圧の遺伝的背景の解明のため、Gitelman 症候群の臨床症例、若年高血圧者および低カリウム血症における TSC 遺伝子解析を行い、本遺伝子多型の食塩感受性高血圧における病態的意義について明らかにすることを目的としたものである。

対象と方法

ギテルマン症候群の臨床症例として、青森県から鹿児島県まで全国 13 施設においてギテルマン症候群と臨床的に診断された 36 症例およびその家族 10 例を対象とした。さらに、高血圧との連関研究では、若年高血圧者 32 例 (男性 16 例、女性 16 例) で、高齢で正常血圧を示す 20 例 (男性 8 例、女性 12 例) を対照とした。若年高血圧は、30 歳以上 60 歳未満で、降圧薬を服用中であるか、血圧が収縮期 160mmHg 以上、拡張期 95mmHg 以上のいずれかあるいは両方を満たす者で、BMI が 25 未満を基準とした。高齢の正常血圧は、60 歳以上で、降圧薬の服用が無く、血圧が収縮期 120mmHg 以下かつ拡張期 80mmHg 以下であり、BMI が 25 未満を基準とした。低 K 血症として地域住民 1,407 例のうち、血清 K 値が 3.5mmol/L 未満 (2.7 ~ 3.4mmol/L) の 26 例を対象とした。高血圧は、治療歴および健診時の血圧 (収縮期 140mmHg 以上、拡張期 90mmHg 以上のいずれかあるいは両方を満たす者) から判定した。

ギテルマン症候群 36 症例およびその家族 10 例と低 K 血症 26 例の TSC 遺伝子解析は、既報 (Simon DB, et al, 1996; Mastroianni N, et al, 1996) に準じ以下の方法により行った。各対象者の EDTA 加血液から抽出した DNA を試料とし、TSC 翻訳領域であるエクソン 1 からエクソン 26 までの各エクソンとその近傍を特異的プライマーを用いた PCR 法にて増幅した。塩基配列の決定はダイレクトシーケンス法にて行った。また、それぞれ検出された変異に対応する制限酵素を用いて PCR-RFLP 法により塩基配列の確認を行った。高血圧との連関解析は、ギテルマン症候群 36 症例で検出した変異部位について同様に PCR-RFLP 法にて行った。得られたデータの統計学的処理は χ^2 検定および Fisher 検定を適宜用い、5 % 未満の危険率を有意とした。

結 果

Gitelman 症候群 36 例中 24 例に遺伝子変異が認められた。変異が検出された 24 例中、ホモ型+コンパウンドヘテロ型は 1 例、ホモ型が 8 例、コンパウンドヘテロ型が 13 例、ヘテロ型が 2 例であった。変異は、L849H およびエクソン 16 の 1 塩基欠失 (5C/4C) が各 5 例、T180K および R955Q が各 4 例、エクソン 6 の 18 塩基挿入 (ins6AA) が 3 例、L623P、R655C および N1014K が各 2 例、R261C、R399C、N406H、G439S、A523T、A588V、R642C、M672I、S967F、R1009Q およびエクソン 9 の 1 塩基欠失 (3C/2C) が各 1 例であった(表 1.)。検出された 19 変異のうち、これまで報告のなかった新規の変異は、R261C、N406H、A523T、M672I、R1009Q、N1014K、エクソン 9 の 1 塩基欠失 (3C/2C) およびエクソン 16 の 1 塩基欠失 (5C/4C) の 8 変異であった。これらの変異について、PCR-RFLP 法によりダイレクトシーケンス解析と一致した結果を得た。24 例から検出、同定された遺伝子変異はそれぞれ部位が異なっており、TSC 遺伝子変異のホットスポットとなり得る部位は認められなかった。しかし、エクソン 16 の 1 塩基欠失 (5C/4C) を認めた 5 例は、青森県で 4 例、岩手県で 1 例であり、いずれも北東北地域でのみ変異が検出された。また、TSC 遺伝子変異を有する 6 家系の解析結果とギテルマン症候群との病態は一致していた。初診時の血清 K 値と変異検出頻度を比較すると、22 例中血清 K 値が 3.0mmol/l 以上は 5 例で、うち変異が検出されたのは 2 例 40%、血清 K 値 2.5mmol/l 以上から 3.0mmol/l 未満は 9 例で、うち変異検出は 6 例 67%、血清 K 値 2.5mmol/l 未満は 8 例で、うち変異検出は 7 例 88%と血清 K 値が低値になるほど変異検出頻度が高くなる傾向が認められた。

表 1. ギテルマン症候群 36 症例における TSC 遺伝子変異解析結果

国内・国外での報告	変異部位
新規の変異	R261C(1), N406H(1), A523T(1), M672I(1), R1009Q(1), N1014K(2), 1098 del C (FS367)(1), 1926 del C (FS642)(5)
国内で最初に報告されている変異	T180K(4), L623P(3), R642C(1), L849H(5), S967F(1), 785 ins 18 (262 ins 6AA)(3)
国外で最初に報告されている変異	R399C(1), G439S(1), A588V(1), R655C(2), R955Q(4)

()内は症例数

表 2. 高血圧と TSC 遺伝子多型 2711G/A (R904Q) との連関解析結果

	正常血圧群(n=20)	高血圧群(n=32)
遺伝子型		
RR, n(%)	16(80.0)	26(81.2)
RQ, n(%)	3(15.0)	6(18.8)
QQ, n(%)	1(5.0)	0(0.0)
p値	0.4269	
対立遺伝子		
R, n(%)	35(87.5)	58(90.6)
Q, n(%)	5(12.5)	6(9.4)
p値	0.6142	

連関研究では、若年高血圧 32 例と高齢で正常血圧を示す 20 例で、検出された TSC 変異と 2711G/A (R904Q) 多型について解析を行った。両群で上記変異は認められず、また 2711G/A 多型についても遺伝子型および対立遺伝子の頻度に差を認めなかった(表 2.)。

低 K 血症 26 例中 6 例に遺伝子変異が認められた。変異が検出された 6 例中、コンパウンドヘテロ型が 1 例、ヘテロ型が 5 例であり、変異検出頻度は 23 %で、変異型アリの検出頻度は 13.5 %であった。変異は、T180K が 2 例、L849H が 3 例、R919C が 2 例で 3 変異が検出された。

考 察

食塩感受性高血圧の遺伝的背景の解明のためギテルマン症候群 36 例について TSC 遺伝子解析を行った。その結果、36 例中 24 例に変異が認められた。変異が検出された 24 例中、ホモ型+コンパウンドヘテロ型は 1 例、ホモ型が 8 例、コンパウンドヘテロ型が 13 例、ヘテロ型が 2 例であり、ギテルマン症候群の遺伝形式が常染色体劣性遺伝であることから、22 例、61%において遺伝子レベルでの確認が可能であると考えられた。検出された 19 変異のうち、R261C、N406H、A523T、M672I、R1009Q、N1014K、エクソン 9 の 1 塩基欠失 (3C/2C) およびエクソン 16 の 1 塩基欠失 (5C/4C) の 8 変異はこれまで報告されていない新規の変異であった。新規の変異については今後 TSC 機能解析を行い、ギテルマン症候群の病態との関連性について検討する必要があると考える。遺伝子変異を有する 6 家系の調査を行い、解析結果とギテルマン症候群との病態は一致していた。このことから検出した変異が本症候群特有の変異であることを裏付ける結果となった。エクソン 16 の 1 塩基欠失(5C/4C)を認めた 5 例は、いずれも北東北地域で検出されており、地域により特定の変異が集積している可能性が示唆された。それぞれ血縁関係については不明であるが、今後家系調査を行う必要があると考えられる。症例のうち、ヘテロ型が検出された 2 例と、変異の認められなかった 12 例については、TSC 遺伝子のプロモーター領域およびイントロン領域の検索や、さらには他の責任遺伝子の存在を検討していく必要がある。症例における初診時の血清 K 値がより低値であると変異検出頻度が高くなる傾向がみられ、血清 K 値 2.5mmol/l 未満の 8 例中、変異が検出されたのは 7 例、88 %であった。変異がホモ型またはコンパウンドヘテロ型の症例では、初診時の血清 K 値がより低値であることを示していることが考えられた。

連関研究では、若年高血圧 32 例と高齢で正常血圧を示す 20 例で、検出された TSC 変異と 2711G/A (R904Q) 多型について行った。両群で上記変異は認められず、また 2711G/A (R904Q) 多型についても遺伝子型の頻度に差を認めなかった。2711G/A (R904Q) 多型と本態性高血圧や若年女性における高血圧との有意な連関が示されており、904Q が高血圧において頻度が高かったことから、この多型が高血圧発症のリスクファクターになり得る可能性が報告されている^{15),16)}。しかし、本研究結果では 2711G/A (R904Q) 多型と高血圧には連関が認められなかったことから、この多型が高血圧発症のリスクファクターではない可能性が示唆された。

低 K 血症における TSC 遺伝子の変異検出頻度を明らかにするため、地域住民 1,407 例のうち血清 K 値が 3.5mmol/l 未満の 26 例について TSC 遺伝子解析を行った。その結果、T180K、L849H、R919C の 3 変異が検出され、うちコンパウンドヘテロ型が 1 例、ヘテロ型が 5 例であり、変異検出頻度は 23 %で、変異型アリの検出頻度は 13.5 %であった。Tago ら、Naraba らは、吹田市一般住民 3,500 人を対象に TSC 遺伝子変異の検出を行い、変異アリ出現頻度が 1.86 %であったと報告している (Tago N, et al, 2004; Naraba H, et al, 2005)。さらに、ヘテロ変異保有者は 30 人に 1 人、Gitelman 症候群患者は 10 万人に 34.5 人と推計している。本研究結果から、全受診者 1,407 例での変異アリ出現頻度は少なくとも 0.25 %以上となり、ギテルマン症候群はそれほどまれな病態ではなく、従来考えられていた以上に本邦に多い疾患である可能性が否定できない。

結 語

食塩感受性高血圧の遺伝的背景の解明のためギテルマン症候群 36 例について TSC 遺伝子解析を行い、24 例に変異が認められた。検出された変異は 19 種類で、うち 8 変異はこれまで報告されていない新規の変異であった。また、それらの変異および 2711G/A (R904Q) 多型と高血圧との連関を行ったが、変異はギテルマン症候群特有であり、この多型が高血圧発症のリスクファクターではない可能性が示唆された。さらに低 K 血症における TSC 遺伝子の変異検出頻度は 26 例中 5 例、23 % で、変異型アリルの検出頻度は 13.5 % であった。今後、さらに TSC 以外の NaCl 再吸収機能を介して血圧調節に関与する共輸送体・チャネル遺伝子多型の食塩感受性高血圧における病態的意義について検討する必要があると示唆された。

謝 辞

本研究に貴重な御助言御援助高配を頂きました弘前大学医学部中路重之教授に深謝いたします。また、弘前大学医学部附属病院検査部のスタッフの方々に御理解御協力をいただいたことに感謝いたします。

論文別刷添付一覧

1. 保嶋 実, 庄司 優: 高血圧における遺伝子マーカー. 臨床化学 32(1): 46-48, 2003.
2. 保嶋 実: 主要疾患における診断・治療のためのガイドライン及び検査値 我が国における高血圧診療のガイドライン. 臨床病理 51(6): 581-585, 2003.
3. Ogihara T, Katsuya T, Ishikawa K, Matsuo A, Rakugi H, Shoji M, Yasujima M: Hypertension in a patient with Gitelman's syndrome. J Hum Hypertens 18(9): 677-679, 2004.
4. Enya M, Kanoh Y, Mune T, Ishizawa M, Sarui H, Yamamoto M, Takeda N, Yasuda K, Yasujima M, Tsutaya S, Takeda J: Depressive state and paresthesia dramatically improved by intravenous MgSO₄ in Gitelman's syndrome. Intern Med 43(5): 410-414, 2004.
5. Kageyama K, Terui K, Shoji M, Tsutaya S, Matsuda E, Sakihara S, Nigawara T, Moriyama T, Yasujima M, Suda T: Diagnosis of a case of Gitelman's syndrome based on renal clearance studies and gene analysis of a novel mutation of the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. J Endocrinol Invest 28(9): 822-826, 2005.
6. 庄司 優, 蔦谷昭司, 松田絵理子, 保嶋 実: Gitelman 症候群におけるサイアザイド感受性 Na-Cl 共輸送体遺伝子変異解析. 日本臨床検査自動化学会会誌 30(2): 99-104, 2005.
7. 森山貴子, 蔭山和則, 照井 健, 二川原健, 崎原 哲, 庄司 優, 蔦谷昭司, 保嶋 実, 須田俊宏: サイアザイド負荷試験と遺伝子解析による Gitelman 症候群の診断. 日本内分泌学会雑誌 81: 30-32, 2005.
8. Terui K, Shoji M, Yamashiki J, Hirai Y, Ishiguro A, Tsutaya S, Kageyama K, Yasujima M, Suda T: A novel mutation of the thiazide-sensitive sodium chloride cotransporter gene in a Japanese family with Gitelman syndrome. Clin Nephrol 65(1): 57-60, 2006.
9. Eto K, Onaka U, Tsuchihashi T, Hirano T, Nakayama M, Masutani K, Hirakata H, Urata H, Yasujima M: A case of Gitelman's syndrome with decreased angiotensin II-forming activity. Hypertens Res 29(7): 545-549, 2006.
10. Kageyama K, Terui K, Tsutaya S, Matsuda E, Shoji M, Sakihara S, Nigawara T, Takayasu S, Moriyama T, Yasujima M, Suda T: Gene analysis of the calcium channel 1 subunit and clinical studies for two patients with hypokalemic periodic paralysis. J Endocrinol Invest 29(10): 928-933, 2006.