

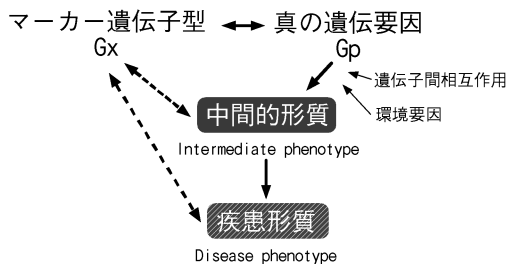
食塩感受性の人種的特異性及び遺伝的素因に関する研究

●加藤 規弘 ◆柳内 和幸

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

〈研究の目的と進め方〉

近年、ライフスタイルの欧米化とともに生活習慣病、なかでも高血圧、糖尿病などの動脈硬化性疾患の罹患率が著しく上昇している。高血圧は我が国の医療費全体の約3分の1を占め、その罹患者数は3500万人にもものぼる。不摂生な食習慣、運動不足とそれに伴う肥満等が主な原因として知られており、さらにこれら外的（環境）要因と対をなす内的（遺伝）要因の重要性が唱えられている。一般に、塩分摂取が体内のホルモン動態、腎臓での水電解質出納の変動を介して、最終的に血圧上昇をもたらす事象を食塩感受性と呼ぶ。これは、高血圧の大半を占める本態性高血圧に関して、その成因・病態の解明に向けた有力な「中間形質（intermediate phenotype：様々な生理的経路の障害の組み合わせからなる多因子疾患において、個々の障害された、より直接的な疾病関連形質のこと）」になり得ると考えられてきた。また食塩感受性は、血圧制御とは一部独立した機序で様々な心血管系疾患（心肥大、脳卒中、腎機能障害など）のリスクを高める可能性も報告されている。



本研究は、complex diseaseである高血圧ならびに関連する心血管系疾患の遺伝素因解明へのアプローチとして特に食塩感受性に着目した。従来より、食塩感受性の頻度に少なからず人種差が存在すると推定されてきたが、その定義や測定方法が報告間で必ずしも一致しないために評価が困難であった。そこで我々は先ずパイロット・スタディを行い、その結果に基づいて食塩感受性の簡便かつ実用的なプロトコルを作成した。本研究プロトコルでは、入院下で検査を行うという制約はなく、血圧値とともに血中ホルモンの動態をモニターする。こうして①複数の人種にまたがる貴重なデータベースを作成し、②調べたphenotypeや血圧と候補遺伝子座の一塩基多型

(single nucleotide polymorphism: SNP) との関連を解析すること、さらに③日本人がcomplex diseaseの遺伝学的な研究対象として有利かどうかをpopulation geneticsの見地から検討すること、等を主な研究目的とした。

〈研究開始時の研究計画〉

本研究開始時の計画は大きく3つの部分よりなる。一つめは、食塩感受性の評価を複数の人種で行いそのデータベースを構築することであり、二つめは食塩感受性の候補遺伝子座（水電解質平衡に関与する既知の生理的経路の因子や遺伝的高血圧ラットで示唆された候補遺伝子など）のSNPを組織的に検索することである。三つめは遺伝子解析で、実際にそれらのSNPを用いたassociation studyを行うことと、population genetics的手法により特定の染色体領域における連鎖不平衡のレベルを人種間比較することである。

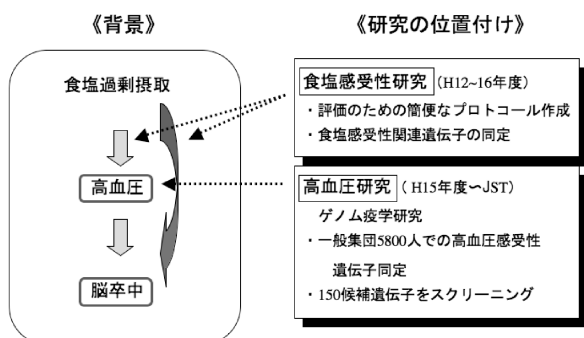
(1) 食塩感受性の評価法確立とデータベース作成

食塩感受性の定義・測定方法は報告ごとに、ややばらつきがあり、未だ確定していないようであるが、白人および日本人ではおよそ血圧正常者の15～26%、高血圧（あるいは境界型高血圧）患者の30～50%が食塩感受性であるとされている。黒人ではその頻度が若干高い傾向があり、正常血圧、高血圧患者で各々27%、50%という報告がある。人種差、遺伝・環境因子（気候、食生活など）の差のみならず、用いる検査手法によってもその頻度は大きく影響を受けると考えられるので、人種特異的な遺伝的背景を検討していくためには先ず一律なプロトコルに従って異なる人口集団間の比較を行うことが必要である。そこで本研究では簡便なプロトコルの作成を進め、日本人を含む複数の人種で各々100人程度の被験者を対象として食塩感受性の評価を行う。この際、食塩負荷に伴いモニターする各種の血中指標、生理学的検査データを、遺伝子型データとともに整理し、データベース化していく。

(2) 候補遺伝子座のSNP探索とモデル動物における素因遺伝子の探索

血圧制御において食塩の関与する主要臓器は、塩分（およびナトリウム）と水分の恒常性維持を担う腎臓である。この際、食塩摂取量の増加に対して既知の多くの生理的経路が反応する。大まかには、レニン-アンジオテンシン系をはじめとする食塩「貯留」ホルモンの活性低下と、心房性利尿ペプチドをはじめとする食塩「排泄」ホルモンの分泌増加の二つが軸となる。これらのホルモン変動はさらに、カリクレイン-キニン系やプロスタグランジン系のような腎臓内の内分泌システムと相互作用し、腎交感神経活性の低下にもつながる。これら神経液性因子の「総和」としての効果と、それが作用する腎臓での塩分・水分排泄能力〔Guytonの提唱した腎ナトリウム排泄機能曲線〕とが複合された結果、個々人の食塩感受性は決定されることとなる。

このように多段階的かつ多様な因子が関わるため、



食塩感受性は、本来、「有るか無いか」という二極分類でなく、その程度を量的に評価し、そのうえで病態（高血圧や血管合併症のリスクなど）との関連性を考慮して閾値を設定すべきものである。

血漿レニン活性や心房性利尿ペプチド濃度の一部は遺伝的に制御される可能性が報告されてきたものの、食塩感受性評価時に収集した一連の生理的指標のみでは、個々人の食塩感受性の程度を遺伝要因も含めて十分に予測することは容易でない。しかしながら、“大枠”としての主要な予測因子を同定するために、我々は水電解質出納において重要な役割を果たすことが既に知られている33の候補遺伝子（別紙の表1）を選出し、各々、次項で説明するassociation studyに用いるべきSNPを探索する。

こうした既知の候補遺伝子探索と合わせて、新規の食塩感受性遺伝子を同定するために、モデル動物（ラット）における分子遺伝学的アプローチを行う。

(3)連鎖不平衡（linkage disequilibrium: LD）情報を考慮したassociation study

概念的にみると、SNPは、ゲノムのさまざまな部位に数珠繋ぎのように並んでいるが、その近縁関係は「島状構造」、つまりある‘まとまり’を持ちつつ構成されている。このまとまりのうえに、数多くのSNPが載っているものの、それらSNPを代表する情報は、さほど多くないと考えられている。つまり、このまとまり（ないしブロック）内では、どのSNPを取り出してもある程度類似した多型情報しかもたず、必ずしも全てのSNPを調べなくても、一部をタイピングするだけで、そのまとまりの代表的な多型情報を入手できる。それは、いわば「荷札」のようなものであることから、タグSNPと呼ばれる。このタグSNPをいかに効率的に（できるだけ少数であり、情報としては網羅的に）選出するか、その手法は確立されていない。詳細は別紙17）に譲るが、我々はSNPの成り立ちを歴史的見地からみて「系統樹」の形に整理し、そのなかでの位置づけ（クラスター）を選出の基盤として、アルゴリズム作成を独自に行う。

数あるSNPのなかで、どれが‘機能的’であるか、そして優先的に調べるべきかを事前に決定することはできない。従って、特定の候補遺伝子の成形的関わりを探索するためには、該当する遺伝子座の多型情報を取りこぼすことなく、タグSNPを選出することが解析の前提として肝要である。

前項で探索した、主要な33候補遺伝子の多型情報から、タグSNPを中心としてできるだけ網羅的に抽出して、まずは食塩感受性の指標である、（食塩負荷試験を実施したグループにおける） Δ mean blood pressure等との関連を調べる。さらに注目する候補遺伝子多型が、高血圧の発症（ないし血圧調節）そのものにも関わっているか否かを検討するために、一般集団中での血圧値とSNPとのassociation studyも実施する。

＜研究期間の成果＞

(1) 食塩感受性の評価法確立とデータベース作成

【成果リスト7】

過去30年近く研究されてきたにも関わらず、食塩感受性の画一的な定義は未だなされておらず、その基となる評価法も定まっていない。主な理由は、食事という生存に不可欠で個々人の好みに大きく左右される行動に関連して、それに含まれる食塩を過剰（および過

小）に摂取するというプロトコルを一律に設定することが相当困難なためである。これまでに用いられてきた評価法は大きく2種類に分類される。一つは入院観察下で急速に生理食塩水（0.9%の食塩含有）2リッターを点滴投与し、その後引き続き利尿剤（furosemideないしmefruside）を経口投与して塩分の体外排泄を促す方法[急速静注法]である。もう一つは、高塩分食と減塩食とを一定期間（7～14日）ずつ交互に続ける方法である。いずれの評価法も塩分負荷後と塩分排泄後に各々血圧を測定し、両者の平均血圧値の変動（ Δ mean blood pressure）が一定水準を上回る場合（10%ないし10mmHg以上の減少）、便宜的に「食塩感受性有り」と定義していることが多い。また平均血圧値の変動を連続変数として扱っている報告もある。上述した2種類の手法が果たして同一の生理的反応を評価しているのか（急性の血管内への容量負荷と慢性の体液貯留の異同）、両者間の再現性は十分か、などの議論が出ている。しかし何よりも、被験者への侵襲の大きさとプロトコル遵守の難しさのために、大規模な集団を対象とし得る標準的な食塩感受性の評価法が確立されていない点に留意する必要がある。

そこで先ず我々は、入院下で実施する必要はなく、また食事内容の大幅な変更も必要としない、簡便な食塩感受性の評価法を開発してきた。その概略を次ページ図1に示す。第1週（塩分負荷期）は通常の食事に加えて140mEq（約8.2g）/日の食塩をコンソメスープおよび徐放剤として摂取する。そして第2週（塩分排泄期）は同じく通常の食事を継続しながら利尿剤（hydrochlorothiazide）を内服するという計2週間のプロトコルであり、急速静注法との間では良好な再現性（ $r=0.69$ ）を認めている。現在、同方法を用いて日本人、アフリカ黒人での食塩感受性評価を実施している（図2）。図2において、平均血圧（mean blood pressure: MBP）の3回目の測定値と2回目の測定値の差〔MBP3-2〕、すなわち食塩排泄期の血圧変動が、従来、食塩感受性を反映する指標とされてきており、これは食塩負荷期の血圧変動〔MBP2-1〕とよく相関することが分かった。さらに、一部の被験者は食塩負荷時にはむしろ血圧が低下し、食塩排泄時に血圧が上昇する傾向を示し、いわゆる「counter-regulation」が強く作動するものと考えられた。

次項でも触れるが、本研究では、食塩感受性評価に際して血圧値以外に血中ホルモン等の生理・生化学的指標をデータ収集している。測定時点間での差などを含めて、被験者ごとに合計56の形質を収集し、候補として調べる遺伝子座ごとに図3のごとく整理・データベース化を行った。

(2) 候補遺伝子座のSNP探索とモデル動物における素因遺伝子の探索

【成果リスト8～10およびデータベース公開】

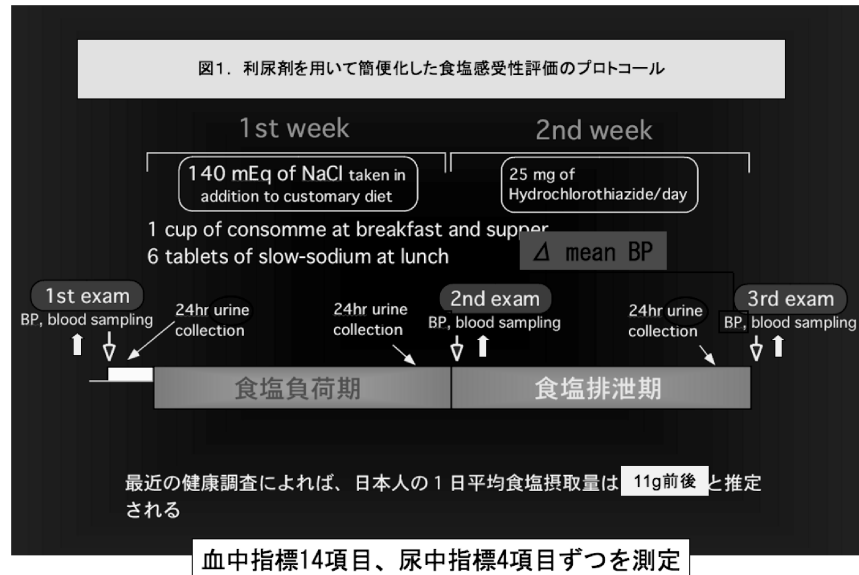
●候補遺伝子座のSNP探索

complex diseaseの候補遺伝子解析を戦略的に進めるためには、数多くの候補遺伝子の、網羅的な多型情報を整理する必要がある。高血圧に留まらず、動脈硬化という視点からより広義に代謝性疾患に関連する候補遺伝子群について、我々は、Exon、Exon-Intron境界領域、プロモーター領域の全てをカバーする約5,000断片（平均700 bp長、合計3.5 Mb）をSNP探索の対象とした、JMDBase（Japan Metabolic Disease Database）を構築し公開した。本データベースの多型情報は、日本人48

人のゲノムDNAについて両鎖のDirect Sequencing (DSEQ)を行い、配列を比較してSNPを同定するとともに、別途、日本人65人、黒人100人、白人100人のゲノムDNAについて、TaqMan法やMassARRAY法などでgenotypingし対立遺伝子頻度を求めたものである。こうして同定されたSNPはNCBIのヒトゲノムbuild35 Ver1を用いて染色体上へ不整合なくマッピングされた。2005年3月22日に一般公開したJMDBase version 1.0 (<http://www.jmdbase.jp>)では、先ず318遺伝子(4393 SNPs)の情報を提供している(図4)。

食塩感受性の候補遺伝子として選出した33遺伝子座に関して、SNP探索後にgenotypingに用いた多型は308個であり、うち244個を今回、関連解析の対象とした(Table 1)。

図 1



Kato et al. *Hypertens Res.* 2002

図 2

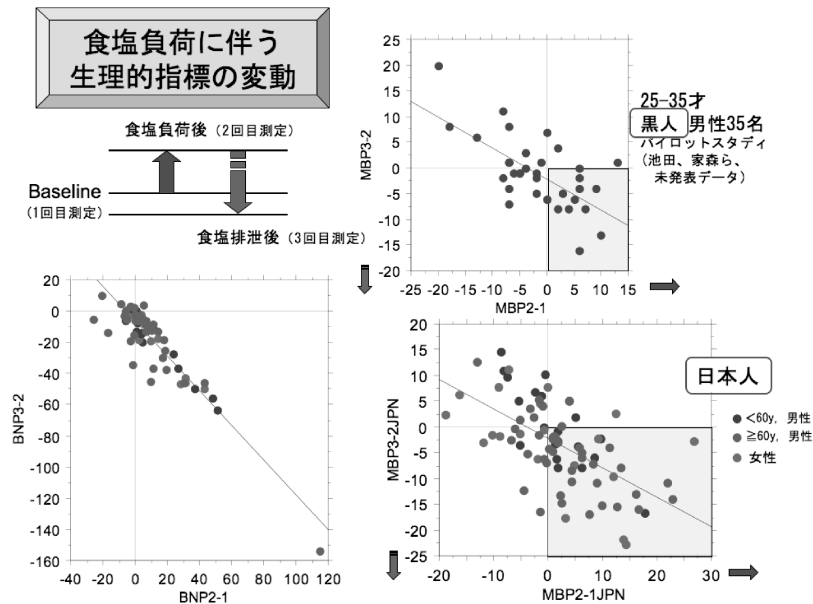


図 3

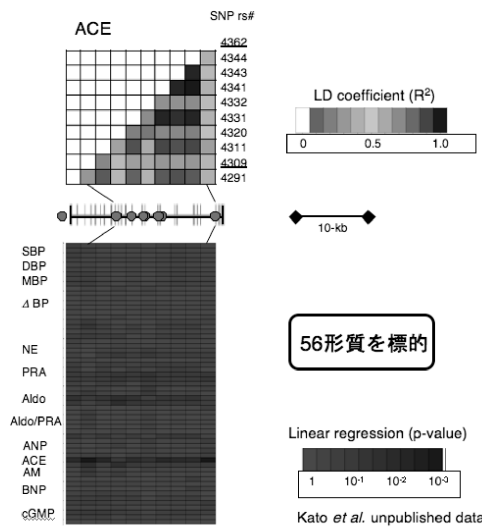
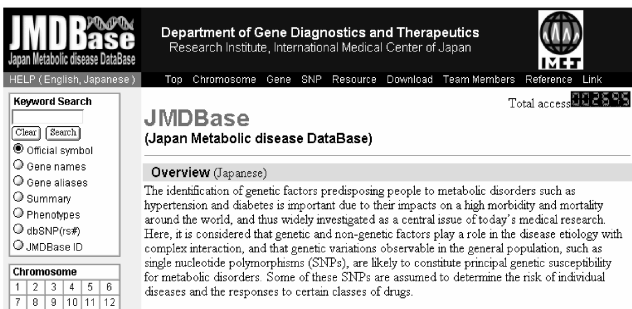


図3. 食塩感受性関連の56標的形質と候補遺伝子多型との間のassociation解析

2週間の評価プロトコール(本文参照)において収集した生理的、生化学的指標を'標的'とした系統的なassociation解析の一例(ACE遺伝子座)を示す。ACE遺伝子座において調べた比較的高頻度のSNP10個と56の標的形質(一部は測定ポイント間の差分Δ)との間の関連の強さを、linear regression解析でのp値として示す。同遺伝子座のSNPは血圧変化(Δ BP)等、食塩感受性の直接的な指標とは有意な関連を示さなかったが、既報のごとく、血中ACE濃度との強い関連を再現できた。上段はSNPどうしの連鎖不平衡の強さを示すLD plot。

図4.代謝性疾患データベース：JMDBase



● モデル動物における素因遺伝子の探索

ヒトにおいて、食塩摂取量が増えるに従い、高血圧等の心血管系疾患のリスクが相対的に上昇することは数多くの疫学研究により示されてきた。食事に関して一律に介入することは現実的に難しく、また疾病発症をアウトカムとした場合、リスクを高めるような介入研究は倫理的になかなか実施できず、そうなると観察研究にならざるを得ない。従って食塩感受性の成因子・病態を詳しく調べるためには、食塩負荷実験などが可能なモデル動物での介入研究が必要となる。

食塩感受性を示すモデル動物として循環器病研究領域で汎用されているのは、遺伝的高血圧ラットのいくつかの系統である。Dahl食塩感受性ラットのように、食塩負荷をすることで始めて顕著な血圧上昇を示すものと、高血圧自然発症ラット (SHR) や Sabra 高血圧ラットのように、通常食餌下でも一定の高血圧を生ずるが、食塩負荷でさらに顕著な血圧上昇を示すものがある。また SHR の垂系である脳卒中易発症 SHR (SHRSP: stroke-prone SHR) は、1%食塩水で飼育することにより高率に脳卒中を発症するユニークなモデル動物である。ヒトの病態への還元という視点で、食塩感受性と高血圧との成因子・病態的関わり、さらに合併する心血管系疾患への進展機序を調べるために我々は SHR およびその垂系である SHRSP を用いた分子遺伝学的アプローチを進めてきた。

我々が繰り返し実施したゲノムスキャンの結果、ラット染色体1番上に、SHRSPの最も主要な血圧の量的形質遺伝子座 (quantitative trait locus: QTL) を同定し、同染色体領域のpositional cloningを行った。注目するQTLは単に血圧を制御するのみならず、食塩負荷時の脳卒中の易発症性と、耐糖能異常をも制御していることが、組み換え近交系であるコンジェニックラットの作成により明らかとなった。現在、責任遺伝子座の解明に向けて、多角的な研究アプローチを進めている。

(3)連鎖不平衡 (linkage disequilibrium: LD) 情報を考慮したassociation study

【成果リスト1~6】

主要な33候補遺伝子の多型情報を、連鎖不平衡を活用して選出したタグSNPを中心としてできる限り網羅的に抽出し、食塩感受性の指標である Δ mean blood pressure との関連を調べたが、単独で極めて強い有意性を示すような主働遺伝子 (major gene) は同定できなかった。これは Δ mean blood pressure が一峰性分布を示すこととも合致した結果と考えられる。そこで次に、比較的大きな効果を持つであろうSNPおよび生理的指標の‘セット’を選出して食塩感受性の予測アルゴリズムを作成すべく多変量解析を行った。未発表データのため詳細は省くが、 Δ mean blood pressure に関

しては、3つのSNPと塩分負荷後の血漿レニン活性および年齢を組み合わせることによって分散 (R^2) の50%以上を説明することが可能であった (図5)。

Table 1. 食塩感受性に関して検討対象とした既知の33候補遺伝子リスト

カテゴリ名	略号	遺伝子名	解析したSNP数
R-A-A, カリクレイン-キニン系 (11)	AGT	angiotensinogen	10
	AGTR1	angiotensin receptor 1	8
	AGTR2	angiotensin receptor 2	6
	CMA1	chymase 1	4
	ACE	ACE	10
	NR3C2 (MLR)	mineralocorticoid receptor	14
	PRCP	angiotensinase C	7
	REN	renin	11
	BDKRB2	bradykinin receptor B2	6
	KLK1	kallikrein 1	7
	SERPINA4	protease inhibitor 4 (kallistatin)	6
イオンチャネル (14)	ADD1	alpha adducin	2
	ADD2	beta adducin	8
	ADD3	Adducin-3, gamma	3
	CLCNKB	chloride channel Kb	10
	GNB3	G protein, beta polypeptide 3*	9
	HSD11B1	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1	4
	HSD11B2*	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 2	(1)
	SAH	SA homologue	9
	SCNN1A	sodium channel, nonvoltage-gated 1, alpha	14
	SCNN1B	sodium channel, nonvoltage-gated 1, beta	8
	SCNN1D	Sodium channel, voltage-gated, type 1, delta polypeptide	11
	SCNN1G	sodium channel, nonvoltage-gated 1, gamma	11
	SLC8A1	sodium-calcium exchanger*	7
	SLC12A3	sodium/chloride transporters	22
神経・液性因子 (9)	ADM	adrenomedullin	2
	AVP	arginine vasopressin	3
	AVPR2	arginine vasopressin receptor 2	3
	CRN	Corin (pro-ANP-converting enzyme)	10
	GPRK2L	G protein-dependent receptor kinase-4	9
	NPPA	atrial natriuretic peptide	2
	NPPB	natriuretic peptide precursor B	2
	NPPC	natriuretic peptide precursor C	5
	NPR1	natriuretic peptide receptor A	1
小計			244

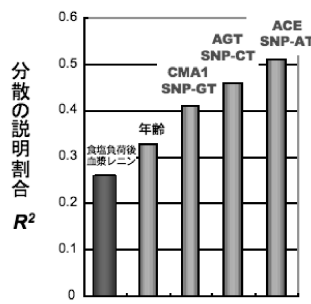
全ての遺伝子座に関して、日本人48人をre-sequencingしてSNPを同定後、5%以上の比較的高頻度のSNPをgenotypingに用いた。SNPの詳細に関しては、JMDBase (<http://www.jmdbase.jp>)を参照。
*HSD11B2に関しては、1つのSNPをgenotypingしたものの、極めて低頻度のため解析から除外。

(R^2) の50%以上を説明することが可能であった (図5)。

図5. 食塩感受性予測の試み

33候補遺伝子、56標的形質を独立変数として多変量解析を行ったところ、3つのSNPs等を組み合わせることで、集団中の分散の50%以上が説明可能であった。

平均血圧 [食塩負荷後 - 食塩排泄後]
 Δ mean blood pressure



マーカーとしての有用性

- 3つのSNPと
- 食塩負荷後の血漿レニン活性
- 被験者年齢にて分散の50%以上を説明可能

Kato et al. unpublished data

さらに検討対象とした候補遺伝子多型と、一般集団での血圧値、ないしは脳梗塞発症の有無などの関連解析を行ったところ、いくつかのSNPsと疾病とが有意に関連する傾向を示した。なかでも2つの遺伝子多型—AGTR2-ATとAGT-CT—に関しては、食塩感受性形質と重複して、血圧値とも関連する傾向が見られた。

〈国内外での成果の位置づけ〉

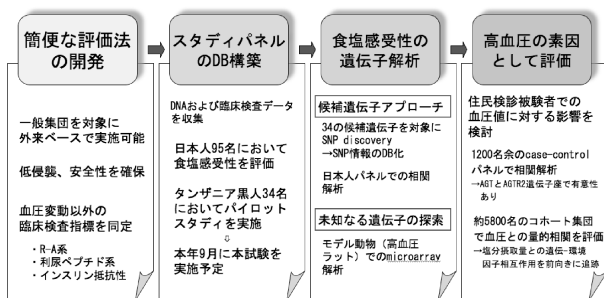
これまでに二次性高血圧の原因として同定された遺伝子が、いずれも腎臓での水電解質輸送に関与するもので

あり、特にナトリウムイオン（あるいは食塩）の体内動態と血圧上昇との関連を究明することが高血圧遺伝子の研究の鍵を握る。また、単に血圧値の高低だけでなく、個々の障害された血圧調節機序をある程度反映するとされる“intermediate phenotype”の重要性が近年、認識されるようになってきた。食塩感受性はそのような候補の一つとしてこれまでも注目されてきたが、測定手法の煩雑さ（および報告間での不一致）のためにその評価は必ずしも容易でなかった。本研究では、①簡便なプロトコルを用いているために比較的大規模な被験者を収集できる点、②血圧値以外の指標も併用することで、より明確な食塩感受性の検出基準の設定を試みている点、また③「日本人は“単一民族なので遺伝学的研究に有利であろう」という通説が本当に正しいかどうかを、他人種と比較することで、検証しようとして試みている点、において独創的かつ有意義と考える。このような背景において、本研究における簡便な臨床的評価法の開発とSNP解析を含めた包括的なアプローチは重要なテーマと位置付けられる。

近年、技術革新の目覚ましい進展とともに、遺伝子型決定（genotyping）のコストが大幅に低下し、さらにHapMap projectによってヒトゲノムの多型情報が効率的に抽出できるようになってきた。intermediate phenotypeを探究し、遺伝一環境要因相互作用という視点から、本態性高血圧をはじめとするcomplex diseaseの遺伝子解析を推進しようという試みは、特にモデル動物では主流となりつつあるものの、ヒトでは未だ一般的とはなっていない。臨床的にみて、“高血圧症”というアウトカムとintermediate phenotypeとの関わりも検討されるべき重要な命題である。これらの点でも本研究の成果のインパクトは大きい。

達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

本研究における研究戦略の概要は以下の模式図にまとめられる。



●食塩感受性の人種間比較

従来より「人種差」の存在が推定される食塩感受性形質に関して、日本人での検討とともに、アフリカ黒人でのパイロットスタディを実施することはできた。しかし両人種間での比較検討をするだけの規模（本スタディ）にまでは至らなかった。

これは食事介入スタディを行う際の安全性に関する基礎データ収集に大きく時間を割かねばならなかったのと、他人種、特に開発途上国で同様なスタディを展開するための倫理的配慮（倫理審査委員会への申請ならびに承認手続き）に多くの時間・労力を費やす必要があったためである。

当初計画では、さらにオーストラリア原住民であるアボリジニないし白人集団等でも食塩感受性評価、そして遺伝子解析のための被験者からの試料収集を実施

する予定であった。しかし参加者を大規模に募るための共同研究者との細部打ち合せ、特に倫理的配慮に関する手続きの進捗遅延のために、特定領域研究の期間内で（平成16年度末まで）の実現が間に合わなかった。

●候補遺伝子アプローチ

今回は、食塩感受性の生理的機序のなかでも特にレニン-アンジオテンシン系、カリクレイン-キニン系とイオン・チャンネル、心房性利尿ペプチドを中心とした神経液性因子に焦点を当てて、33の代表的な遺伝子に関して候補遺伝子アプローチを実施した。しかしながら、相互に影響を及ぼし合う生理的経路はこれらだけで十分に網羅されているわけではない。そして個々の遺伝子座においてタンパクコード領域、および発現調節領域などの「機能的」と考えられる部分のSNPを重点的に探索しLD情報を活用したが、大きなイントロンを含む遺伝子座などでは多型情報の取りこぼしが存在する可能性は必ずしも否定できない。

加えて、標的とした食塩感受性“関連”形質については、主にコスト面の制約から検査項目が限られてしまい、既知の主要な血中ホルモン濃度や生理的検査データが中心であって、必ずしも網羅的といえない状況であった。

●未知なる遺伝子の探索

食塩感受性は、恐らく、複雑なネットワークとして制御されている生体の恒常性維持システムである。いくつかの重要なkey componentに関して、発生工学的アプローチなどにより、病態生理的機序の解明が進められているものの、全貌は未だ明らかとはなっていない。既知の遺伝子以外に、未知の遺伝子（key component）が潜んでいる可能性も否定できない。

本研究では、こうした未知の遺伝子を探索するためにモデル動物（遺伝的高血圧ラットの一種SHRSP）を用いた分子遺伝学的アプローチを行ってきたが、遺伝子、そしてその意義を確定させるまでに至らなかった。QTL解析からpositional cloningに進む過程で、領域の狭小化のためのsubcongenic系統の作成が予想外に時間と労力を要するものであったこと、さらにマイクロアレイを用いた大規模な遺伝子発現解析も、アレイの技術的網羅性が必ずしも完全でなかったこと、などがその理由として挙げられる。

SHRSPは、特に雄において1%食塩水での飼育時に脳卒中を発症し、また心肥大や腎機能障害をきたすことが知られている。ヒトにおいても長期の食塩過剰摂取時には、一部分、血圧とは独立した形で、脳、心、腎などの標的臓器障害をきたし易くなる。従って、食塩感受性の病態関連遺伝子としては、これら臓器障害“促進”遺伝子をも視野に入れて探索を進める必要があるが、本研究期間内には達成することができなかった。

この臓器特異性、ならびに病態特異性という視点からの解析は今後の検討すべきテーマである。

●Population genetics的考察

候補として注目した個々の遺伝子に関しては、日本人48人でのdirect sequencingによりSNPを同定した後、比較的高頻度（MAF >5%）でかつ、タグSNPと考えられるものを中心に、白人、黒人集団でのアレル頻度ならびに連鎖不平衡情報を検討した。断片的には、人種間での特異性が少なくない点が検証できたものの、組織的に調べるためには、相当なサイズのゲノム断片を

各々の人種でdirect sequencingし、網羅的にSNP探索を行う必要がある。この点には、費用面、時間面から十分な労力を割くことができなかった。

〈今後の課題〉

高血圧および関連する心血管系疾患の予防、特に一次予防を考えた場合、減塩に対する個別の療養指導は不可欠である。いわば食塩感受性の鏡像的イメージである、この減塩効果には、まさに遺伝-環境相互作用の果たす役割が大きい。我々は本態性高血圧のintermediate phenotypeという視点から食塩感受性の成因・病態の解明に取り組んでいるが、多因子性形質としての複雑さは多かれ少なかれ回避できないものと考え。しかしながら、アルゴリズムの完成度向上と別集団（人種）での追試・検証を行うこと、およびモデル動物を活用して病態生理学的メカニズムの「ネットワーク」としての理解を推進することで、食塩感受性を起点とした高血圧に対する個別化医療の突破口が開けるものと期待する。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 論文/プロシーディング (査読付きのものに限る)
1. 0304301420
Kato, N., Morita, H., Sugiyama, T., Kurihara, H., Tsubaki, S., Nabika, T., Kitamura, K., Yamori, Y., and Yazaki, Y.: Evaluation of the poly(ADP-ribose) polymerase gene in human stroke, *Atherosclerosis*, 148, 345-352 (2000).
2. 0304301434
Kato, N., Sugiyama, T., Morita, H., Nabika, T., Kurihara, H., Yamori, Y., and Yazaki, Y.: Genetic analysis of the atrial natriuretic peptide gene in essential hypertension, *Clin Sci*, 98, 251-258 (2000).
3. 0304301444
Kato, N., Sugiyama, T., Morita, H., Kurihara, H., Sato, T., Yamori, Y., and Yazaki, Y.: Association analysis of beta-2 adrenergic receptor polymorphisms with hypertension in Japanese, *Hypertension*, 37, 286-92 (2001).
4. 0304301457
Sugiyama, T., Kato, N., Ishinaga, Y., Yamori, Y., and Yazaki, Y.: Evaluation of selected polymorphisms of the Mendelian hypertensive disease genes in the Japanese population, *Hypertens Res*, 24, 515-21 (2001).
5. 0304301524
Kato, N., Ikeda, K., Nabika, T., Morita, H., Sugiyama, T., Gotoda, T., Kurihara, H., Kobayashi, S., Yazaki, Y., and Yamori, Y.: Evaluation of the atrial natriuretic peptide gene in stroke, *Atherosclerosis*, 163, 279-86 (2002).
6. 0304301541
Kato, N.: Genetic analysis in human hypertension, *Hypertens Res*, 25: 319-27 (2002).
7. 0304301556
Kato, N., Kanda, T., Sagara, M., Bos, A., Moriguchi, E.H., Moriguchi, Y., and Yamori, Y.: Proposition of a feasible protocol to evaluate salt sensitivity in a population-based setting, *Hypertens Res*, 25: 801-9 (2002).
8. 0304301614
Kato, N., Mashimo, T., Nabika, T., Cui, Z.H., Ikeda, K., and Yamori, Y.: Genome-wide searches for blood

pressure QTLs in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat of a Japanese colony, *J Hypertens*, 21, 295-304 (2003).

9. 601261645
Kato, N., Nabika, T., Liang, Y-Q., Mashimo, T., Inomata, H., Watanabe, T., Yanai, K., Yamori, Y., Yazaki, Y., and Sasazuki, T.: Isolation of a chromosome 1 region affecting blood pressure and vascular disease traits in the stroke-prone rat model. *Hypertension*, 42, 1191-1197 (2003)
10. 601252009
Takeuchi, F., Yanai, K., Morii, T., Ishinaga, Y., Taniguchi-Yanai, K., Nagano, S., and Kato N.: Linkage disequilibrium grouping of SNPs reflecting haplotype phylogeny for efficient selection of tag SNPs. *Genetics*, 170, 291-304 (2005).

2) データベース/ソフトウェア
JMDBase (Japan Metabolic Disease Database)
<http://www.jmdbase.jp>

- 3) 特許など：特になし