

# Ca関連遺伝子多型と細胞内Ca動態および 経口Caの降圧効果との関連についての検討

慶應義塾大学医学部内科 猿 田 享 男

## 要 約

経口Ca摂取による血圧低下作用は個体差が大きく、必ずしも十分な評価を受けていない。近年、高血圧症の治療に対する個々の反応性の違いを遺伝的多様性（遺伝子多型）に求める研究が盛んに行われるようになってきた。しかしながら、高血圧の成因として最重要であるCa代謝関連遺伝子の検討はほとんど行われていない。本研究はCa関連候補遺伝子の遺伝子多型と細胞内Ca動態との関連について解析することを目的とする。

若年男性検診対象者350名から同意を得た上でDNAを抽出した。高血圧の遺伝歴の濃厚な高血圧群15名と高血圧の遺伝歴を有さない血圧低値群20名について、Epstein-Barrウイルスにより不死化リンパ芽球を作成し、細胞・遺伝子バンクを構築した。高血圧群は生体および細胞レベルでインスリン抵抗性を示した。さらに、一部の症例で細胞レベルでのインスリン抵抗性に加えて、細胞内カルシウム動態の異常が並存している可能性が示唆された。インスリン抵抗性関連遺伝子としてインスリン受容体遺伝子の*Nsi* I多型を検討し、正常血圧者においては、従来の報告とは異なり、*Nsi* Iの切断部位を持たないもので空腹時インスリン値が高値を示す、すなわち、インスリン抵抗性であるという結果を得た。今回、遺伝子解析研究に対する倫理規定が厳しくなったことにより、検体収集に多くの時間を費やしたため、細胞内Ca動態の測定に関しては十分な解析結果を提示することができなかった。今後も引き続き、解析対象を増やし、不死化リンパ芽球における細胞内Ca動態およびCa関連候補遺伝子との間で関連研究をする予定である。

【Key Word】 経口Ca摂取、遺伝子多型、Ca関連候補遺伝子、細胞内Ca動態、不死化リンパ芽球

## はじめに

経口Ca摂取による降圧効果は、一部の集団では明らかにされたものの、多くの精力的検討にもかかわらず、いまだ十分な評価を得ていない<sup>1) 2)</sup>。高血圧患者の経口Ca摂取による降圧効果には個体差が多く、その理由として高血圧患者の多様性が指摘されてきた。近年、高血圧患者の個体差は多様な多因子遺伝によると考えられている。しかしながら、高血圧の成因に関与するCa関連遺伝子はいまだ同定されていない<sup>3)</sup>。

本研究は、Ca関連候補遺伝子の遺伝子多型と細胞内Ca動態との関連について解析することを目的とする。さらに、遺伝子多型と細胞内Ca動態の異常が経口Ca摂取による降圧効果を予測することができるかを

解析するために適切な対象の抽出を試みた。また、遺伝性高血圧のCa代謝異常と並存することが知られており、動脈硬化を促進する上でも重要な因子となるインスリン抵抗性について、細胞レベルでのインスリン抵抗性を検討し、インスリン抵抗性関連遺伝子の遺伝子多型との関連を追究した。

## 研究の背景と目的

1997年の米国合同委員会の高血圧治療に関する第6次勧告案において、ようやくCa摂取の有用性が盛り込まれた<sup>4)</sup>。一方、1999年の世界保健機構・国際高血圧学会の高血圧治療のガイドラインでは、非薬物療法の項で、食塩制限や体重減少の必要性は力説されているにもかかわらず、Ca摂取の有用性には言及していない<sup>5)</sup>。このように、経口Ca摂取による降圧効果は、一部の集団では明らかにされたものの、必ずしも期待するような評価は定着していない。経口Ca摂取による降圧効果に対する認識の差の背景に、高血圧患者の経口Ca摂取による降圧効果には個体差が多く、その原因として高血圧患者の多様性があることが考えられる。

現在、汎用されている降圧薬の中で、日本人に対してCa拮抗薬が非常に優れた効果を示すことは市場統計調査からも裏付けられている。乳製品の積極的摂取による経口Caの摂取量の増加は、高血圧患者にとっては天然のCa拮抗薬を内服することにつながるとも考えられる。しかしながら、高血圧の成因に関与するCa関連遺伝子はいまだ同定されていない。このため、どのような高血圧患者にCa摂取の奨励が有効であり、別の患者にはあまり大きな効果が期待できないのか明らかにされておらず、却って経口Ca摂取に対する評価を損ねる危惧さえある。

そこで、本研究においては、まず、一定の大きく均質な集団に属する検診対象者から、年齢が若く、極端な血圧値を示す遺伝性高血圧者と遺伝性低血圧者を抽出し、細胞および遺伝子バンクの構築を行う。つぎに、ヒトの遺伝性高血圧症に合併する細胞内Ca動態の異常を不死化リンパ芽球において検討する。いくつかのCa関連候補遺伝子の遺伝子多型と細胞内Ca動態との関連について解析し、最終的には、遺伝子多型と細胞内Ca動態の異常から経口Ca摂取による降圧効果を予測することができるかを検討することを目的とする。

一方、多くの疫学的研究により、本態性高血圧症にインスリン抵抗性を背景とした高インスリン血症が合併しやすいことが報告されてきた。高血圧に合併するインスリン抵抗性の機序として次の3段階の関与が考えられる。第1に細胞レベル、第2に組織レベル、第3が個体レベルである。細胞レベルの関与とは、個々の細胞においてインスリンによる糖の取り込み能が低下していることを意味する。組織レベルにおいては、骨格筋や脂肪細胞における血流低下のため、組織全体としての糖の消費が障害される場合などが考えられる。個体レベルの関与として、交感神経活性やレニン-アンジオテンシン系の亢進がインスリン作用に拮抗することや、肥満がTNFを介してインスリンの作用不全を起こす、という機序が考えられる。従来、高血圧に合併するインスリン抵抗性は、組織レベルや個体レベルでの現象、あるいは、高血圧発症後の2次的結果とする仮説が提唱されており、一部証明されてきた。本研

究における細胞レベルでの遺伝的インスリン抵抗性の検証は、今までの定説を覆す価値ある証拠となり、今後の高血圧の原因究明に大きな一歩となろう。

また、細胞レベルでのインスリン抵抗性を検討する場合、これまでは生検した線維芽細胞、脂肪細胞、末梢血では単球が用いられてきた。脂肪細胞では標的組織の特性を検討できる利点を有するものの、細胞の安定性やサンプル量の制約から、実験結果の再現性に問題があることが指摘されてきた。不死化リンパ芽球における糖の取り込み能の測定はこのような欠点を補うと同時に、これを中間表現型とした関連解析に発展させることや細胞内Ca動態の解析など他の細胞機能を合わせて検討できる利点がある。

さらに、若年の遺伝性高血圧男性は後天的な要因の影響をできる限り排除した最適な対象集団と言える。複雑な多因子遺伝性疾患においては、遺伝的背景の差や環境要因の影響により、各遺伝子の効果が相乗的に増幅されたり、減弱・消失したりすることが知られており（エピスタシス）、遺伝的背景や臨床的特徴を考慮した解析は、今まで暗礁に乗り上げていた高血圧にかかわる代謝性遺伝要因の解明を加速度的に進展させる有力な方法を提供することとなるであろう。

## 調査・研究計画および方法

### ① 極端な血圧値を示す遺伝性高血圧者と遺伝性低血圧者の細胞および遺伝子Bankの構築

慶應大学の検診対象者の中から同意の得られた、高血圧の家族歴の濃厚な若年男性の集団から血圧値の高いものと、心血管疾患の家族歴を有さない血圧値の低いものをコントロールとして選択し、リンパ球をEpstein-Barr (EB) ウィルスにより不死化させる。すなわち、若年性高血圧患者を広くリクルートし、高血圧の遺伝歴の濃厚なものを選択し対象とする。正常血圧コントロールとして、血圧が低値で、高血圧および心血管疾患の遺伝歴のない者を選択する。これらからヘパリン採血を行い、リンパ球を分離後、EBウィルスを感染させ、不死化リンパ芽球を作成する。

### ② 細胞レベルでのインスリン抵抗性の検討

本態性高血圧症にインスリン抵抗性が合併することはFerranniniの報告以来、枚挙にいとまがない<sup>6)</sup>。高血圧の家族歴の濃厚な若年正常血圧者における検討で、インスリン抵抗性があることから、インスリン抵抗性に遺伝性があることが示唆されてきた<sup>7)</sup>。最近、若年者の双子のインスリン抵抗性を検討した成績から、インスリン抵抗性は遺伝することが明らかになり、遺伝率は、0.66と推定された<sup>8)</sup>。また、痩せ型の正常血圧者においてすら、Body mass index (BMI) が拡張期血圧を規定する要因となっていることが示され、極めて早期の段階で軽度の肥満がインスリン抵抗性と血圧上昇の双方に関与していることが指摘されている<sup>9)</sup>。

高血圧症に合併するインスリン抵抗性が遺伝性であるか否かを検証することを目的とする。具体的には、若年で高血圧の家族歴を有する高血圧群を対象に、若年で高血圧・心血管系合併症の家族歴を有さない低血圧群をコントロールとして選択し、採取した標本から、不死化Bリンパ芽球を用いて検

討する。不死化リンパ芽球における細胞レベルでの糖の取り込み能、および、インスリン受容体結合能に差があるかを検討することにより、高血圧症に合併するインスリン抵抗性は遺伝的であることを明らかとする。さらに、細胞レベルでのインスリン抵抗性を中間表現型、血圧値を最終表現型として、糖輸送担体、インスリン受容体などのインスリン抵抗性関連遺伝子について、新たな一塩基多型 (SNP) を見出し関連研究を行う。

### ③ インスリン抵抗性関連遺伝子の検討

インスリン抵抗性が本態性高血圧症に併存することの意義は、いくつかの機序に分けて考えるとわかりやすい<sup>10)</sup>。第1に、血管平滑筋にインスリンが作用すると、一酸化窒素の産生や細胞内Caの低下をきたし、本来血管平滑筋の弛緩が起こる。ところが、インスリン抵抗性があることにより、その弛緩作用が減弱し、血圧上昇に寄与するというもの。第2に、骨格筋や脂肪組織で、糖代謝に対する選択的インスリン抵抗性があり、それに対する代償性の高インスリン血症が、腎におけるNaの再吸収を促進したり、交感神経活性を亢進させたり、血管平滑筋のNa-H交換体活性を亢進させ、血管平滑筋の増殖を促進して、昇圧に寄与するというもの。第3に、インスリン抵抗性と高血圧を同時に起こす別の原因があるとするもの。これには、遺伝的な交感神経活性の亢進、骨格筋への血流低下、細胞における陽イオン輸送の異常、肥満などの関与が考えられる。特に、肥満に伴って脂肪組織から分泌されるレプチンやTumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) などのサイトカインの重要性が指摘されている。これらのシステムに関わる遺伝子をすべてインスリン抵抗性関連遺伝子として解析する必要がある。今回はその発端として、インスリン受容体遺伝子について、NsiI多型の関与を検討した。

### ④ 細胞内Ca動態の検討

従来、本態性高血圧症に合併する細胞内Ca動態の検討は主として血小板を用いて行われてきた<sup>11)</sup>。血小板における細胞内Caの変化は血小板凝集をもたらすことと、血管平滑筋における細胞内Caの変化が収縮・弛緩をもたらすことから、血管平滑筋に対する細胞モデルと想定して検討が行われてきた。しかしながら、血小板は血液から容易に採取できる反面、活性化を起こさない条件での分離が非常に難しく、細胞内Ca値の測定の再現性に難点があるのではないかと疑問が指摘されてきた<sup>12)</sup>。また、血小板は高血圧にさらされることでSheer Stressを受け、2次的に高血圧の状態では細胞内Ca値が増加する可能性があることが指摘されていた。

そこで、高血圧症に合併する細胞内Ca動態の異常は遺伝的であるかどうかを調査する上で、血小板の他に血圧値による2次的な影響を受けることのない細胞において検討する必要がある。私どもは、まず、リンパ球にEBウィルスを感染させて、不死化したBリンパ芽球を用いて、細胞内Ca動態の異常が高血圧患者のリンパ芽球に認められるかどうかを検討することを第1の目的とした。不死化リンパ芽球においては、刺激物質で刺激した状態での細胞内Ca動態を再現性よく検討することが可能となる<sup>13)</sup>。

蛍光色素Fura 2を用いて細胞内Caを基礎値、細胞外Ca非存在下での血小板活性化因子、Thapsigargin、および、イオノマイシンでの刺激時のピーク値、細胞外Ca存在下での血小板活性化因子での刺激時のピーク値について検討する。高血圧患者が正常血圧者に比していくつかの測定値にお

いて従来の報告から予測されるように高値となるかどうかを検討する。

## ⑤ Ca関連遺伝子の多型解析

不死化リンパ芽球における細胞内Ca値を中間表現型、血圧値を最終表現型として、高血圧の原因遺伝子の候補として考えられるCa関連遺伝子との間で関連解析を行う。

Ca関連遺伝子の日本人における多型のいくつかのものは、骨粗鬆症における研究ですでに明らかにされている多型を用いて検討する。また、高血圧に深く関与するCa関連遺伝子の多型は、DNAチップを用いてSingle Nucleotide Polymorphism (SNP) を新たに見出し検討する。高血圧者の中から不死化リンパ芽球の細胞内Ca値が高値を示す患者を選択し、例えばG蛋白質 $\beta$ 3サブユニット (G $\beta$ 3) の翻訳開始点から825番目の塩基がシトシンからチミジンに変異 (C825T) しているものが、高い頻度で検出されかどうかを関連解析において検討する<sup>14)</sup>。さらに細胞内Ca動態に異常を有する対象者において家系調査を行い、罹患家系における連鎖解析を行い、染色体上の責任座位を決定し、統合的な解析検討を行う。

## ⑥ 経口Ca摂取との関連の検討

Ca関連遺伝子の遺伝子型と細胞内Ca動態に関連が認められた高血圧者に食事調査を行い、乳製品の摂取を奨励する食事指導を行い、再度、食事調査を行い、Ca摂取量の変化と血圧値およびその他の動脈硬化にかかわる代謝性因子への影響を検討する。同定されたCa関連高血圧遺伝子の遺伝子型が経口Ca摂取による降圧効果を予測することに役立つことを確かめる。

# 結 果

## ① 極端な血圧値を示す遺伝性高血圧者と遺伝性低血圧者の細胞および遺伝子Bankの構築

遺伝子解析および細胞機能解析に関するインフォームド Consent が得られた350名の検診対象者から、家族歴を有する高血圧（または血圧正常高値）群から18名、高血圧および心血管疾患の家族歴が無く、血圧が110mmHg以下の正常低値群から25名を選択し、不死化リンパ芽球系を樹立した (Fig. 1)。それらの中で、高血圧群8名、および、血圧低値群7名について糖の取り込み能に対する細胞機能解析を終了した。高血圧群は、血圧低値群および母集団と比較してBody mass indexが有意に高く (Table 1)、また、空腹時血糖値、インスリン値および総コレステロール、中性脂肪、LDLコレステロールのすべてが有意に高値を示した (Table 2, 3)。従って、若年性遺伝性高血圧には、肥満を背景とした個体レベルのインスリン抵抗性が合併していることが明らかとなった。

## ② 細胞レベルでのインスリン抵抗性の検討

つぎに、高血圧群と血圧低値群の細胞機能を細胞増殖とインスリンによる糖の取り込み能によって検討した。まず、細胞増殖能は、通常の培養条件とLipopolysaccharideを投与し増殖刺激をした場合のそれぞれにおいて比較したが、高血圧群と血圧低値群の細胞増殖能に有意差を認めなかった (Fig. 2, 3)。つぎに、糖の取り込み能は、インスリンを負荷する前の段階ですでに高血圧群では低下しており、イ

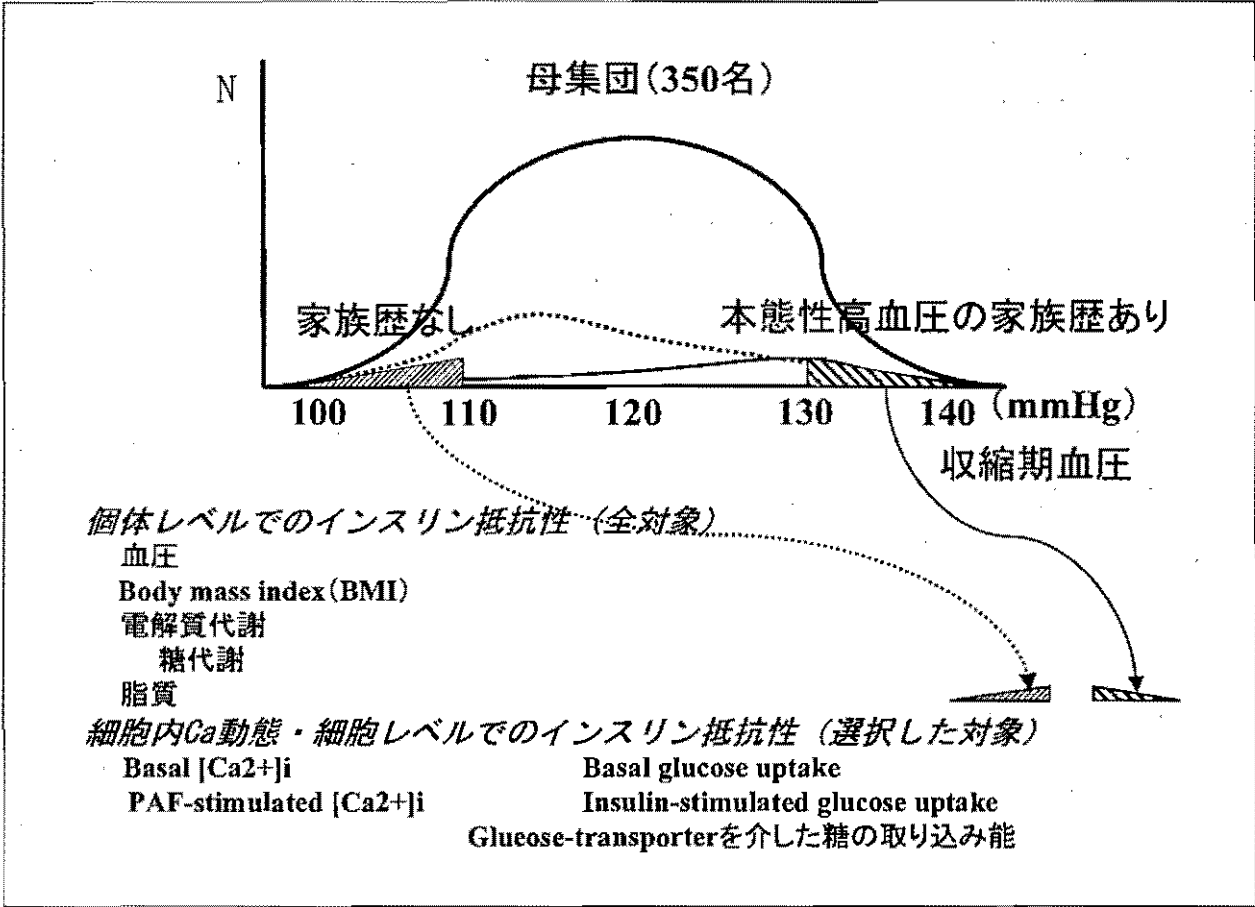


Fig 1

## 血圧高値群と血圧低値群の臨床データ

|                          | 母集団<br>N=237 | 血圧高値群<br>N=8 | 血圧低値群<br>N=7 | P       |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| 年齢                       | 23±2         | 23±1         | 24±2         | 0.28    |
| 収縮期血圧<br>(mmHg)          | 123±15       | 141±13       | 102±5        | <0.0001 |
| 拡張期血圧<br>(mmHg)          | 71±9         | 84±8         | 62±9         | <0.0001 |
| 脈拍(/min.)                | 76±14        | 85±7         | 72±13        | 0.0007  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 21.2±2.6     | 22.6±3.1     | 19.8±1.1     | 0.04    |

Mean±S.D.

BMI: Body Mass Index

Table 1

## 血圧高値群と血圧低値群の糖代謝

|                  | 母集団<br>N=237 | 血圧高値群<br>N=8 | 血圧低値群<br>N=7 | P    |
|------------------|--------------|--------------|--------------|------|
| 空腹時血糖<br>(mg/dl) | 84±7         | 90±10        | 82±8         | 0.14 |
| IRI (μ U/ml)     | 6.8±5.2      | 8.9±4.1      | 4.2±2.2      | 0.02 |
| HOMA-R<br>Index  | 1.4±1.1      | 2.1±1.2      | 0.9±0.5      | 0.03 |

Mean ± S.D.

IRI: Immunoreactive Insulin

HOMA: Homeostasis Model Assessment

Table 2

## 血圧高値群と血圧低値群の脂質

|                       | 母集団<br>N=237 | 血圧高値群<br>N=8 | 血圧低値群<br>N=7 | P      |
|-----------------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| 総コレステロール<br>(mg/dl)   | 175±32       | 199±25       | 158±15       | 0.0016 |
| 中性脂肪<br>(mg/dl)       | 81±56        | 104±63       | 68±24        | 0.16   |
| HDLコレステロール<br>(mg/dl) | 62±12        | 57±9         | 61±9         | 0.33   |
| LDLコレステロール<br>(mg/dl) | 98±28        | 123±21       | 84±13        | 0.001  |
| 遊離脂肪酸<br>(mEq/l)      | 0.43±0.20    | 0.44±0.16    | 0.44±0.23    | 0.99   |

Mean ± S.D.

Table 3

## リンパ芽球の増殖能(LPS刺激なし)

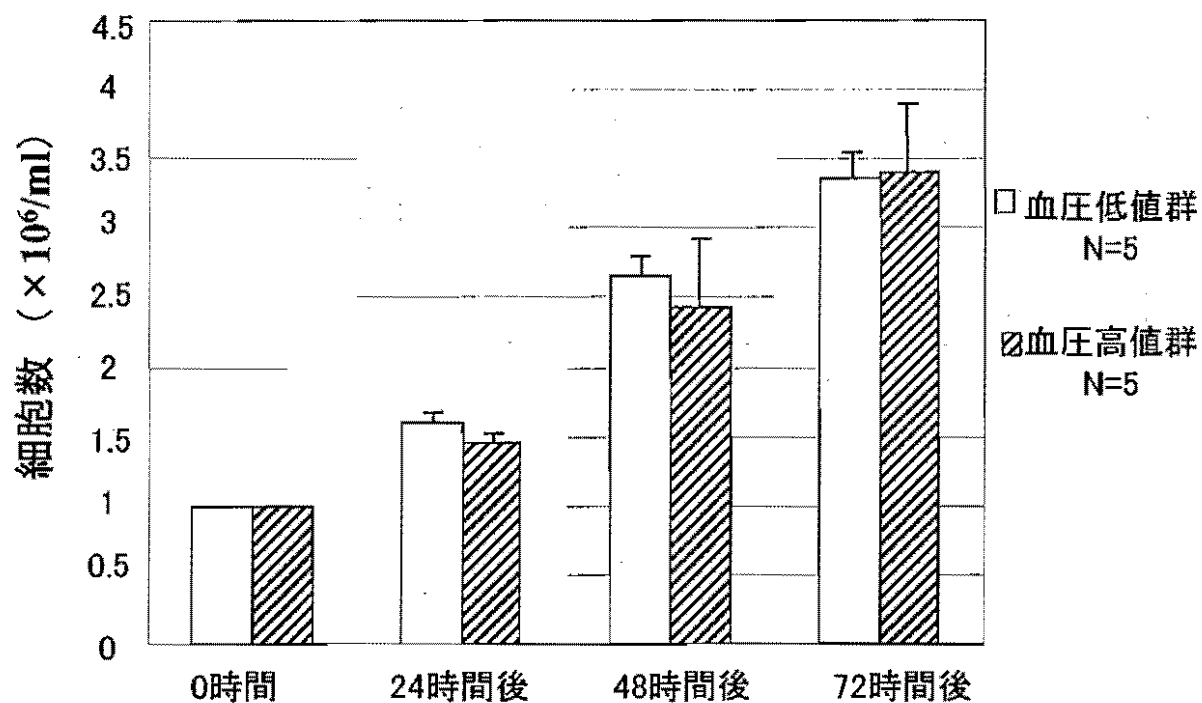


Fig 2

## リンパ芽球の増殖能 (LPS刺激あり)

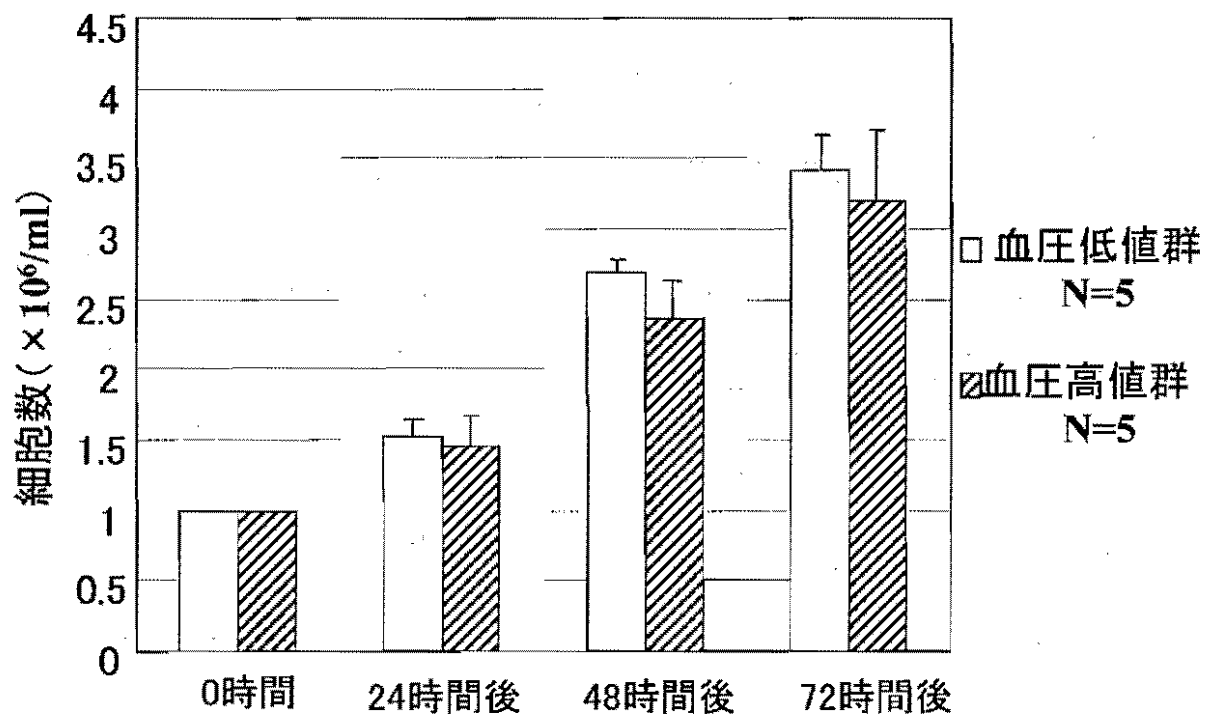


Fig 3



ンスリンを負荷すると、その差は顕著になった (Fig. 4)。さらに、Glucose Transporterの抑制物質であるCytochalacinによって糖の取り込み能が減少する分をSubtractすることにより、Glucose Transporterを介するInsulinによる糖の取り込み能を検討すると、やはり高血圧群で低下していることが判明した (Fig. 5)。従って、高血圧群の不死化リンパ芽球においては、細胞レベルでのインスリン抵抗性があることが示された。一方、インスリンを負荷する前の状態で糖の取り込み能が低下していることは、必ずしもインスリンを介さない細胞レベルでの糖代謝異常を合併していることも示唆された。このような細胞レベルでのインスリン抵抗性は、従来報告されてきた組織や個体レベルでのインスリン抵抗性を、際立たせる一因となっていることが示唆された。

### ③ インスリン抵抗性関連遺伝子の検討

遺伝子解析および細胞機能解析に関するインフォームドコンセントが得られた350名の検診対象者の母集団の中で、遺伝子解析の先行した178人による検討で、インスリン感受性指数 ( $\text{HOMA-R} = \text{Fasting IRI} \times \text{Fasting Glucose} / k$  ( $k$ は定数)) と、インスリン受容体遺伝子のNsi I。による制限酵素多型の間に関連が見られた。つまり、Nsi Iの切断部位を持たないもので空腹時インスリン値が高値を示すという結果を得た。

高血圧やインスリン抵抗性の候補遺伝子として解析されてきたアンジオテンシン変換酵素遺伝子の欠失変異、アンジオテンシノーゲン遺伝子のM235T多型、G-6A多型を正常母集団において開始し、従来の報告と遺伝子頻度の相違についての検討を開始した。

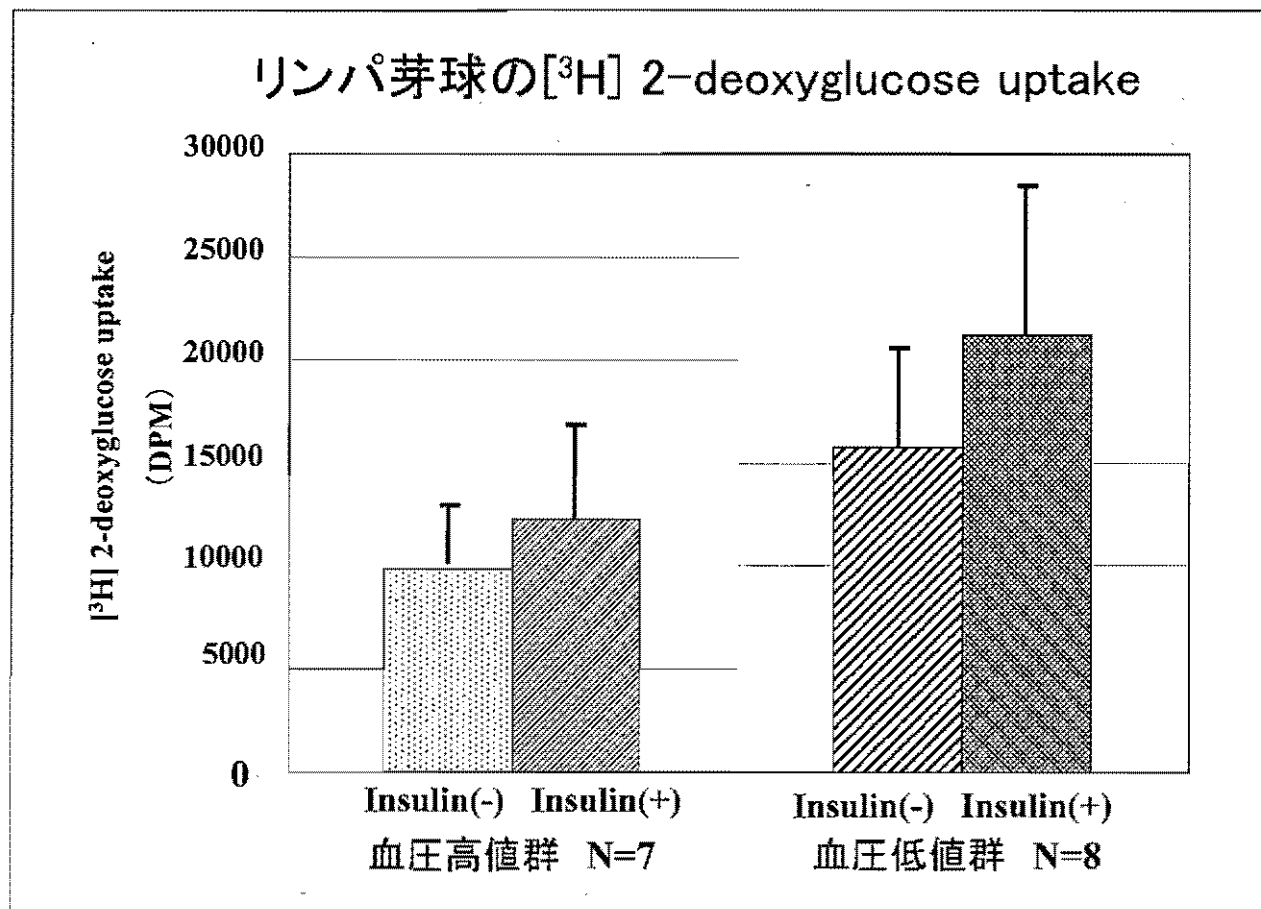


Fig 4

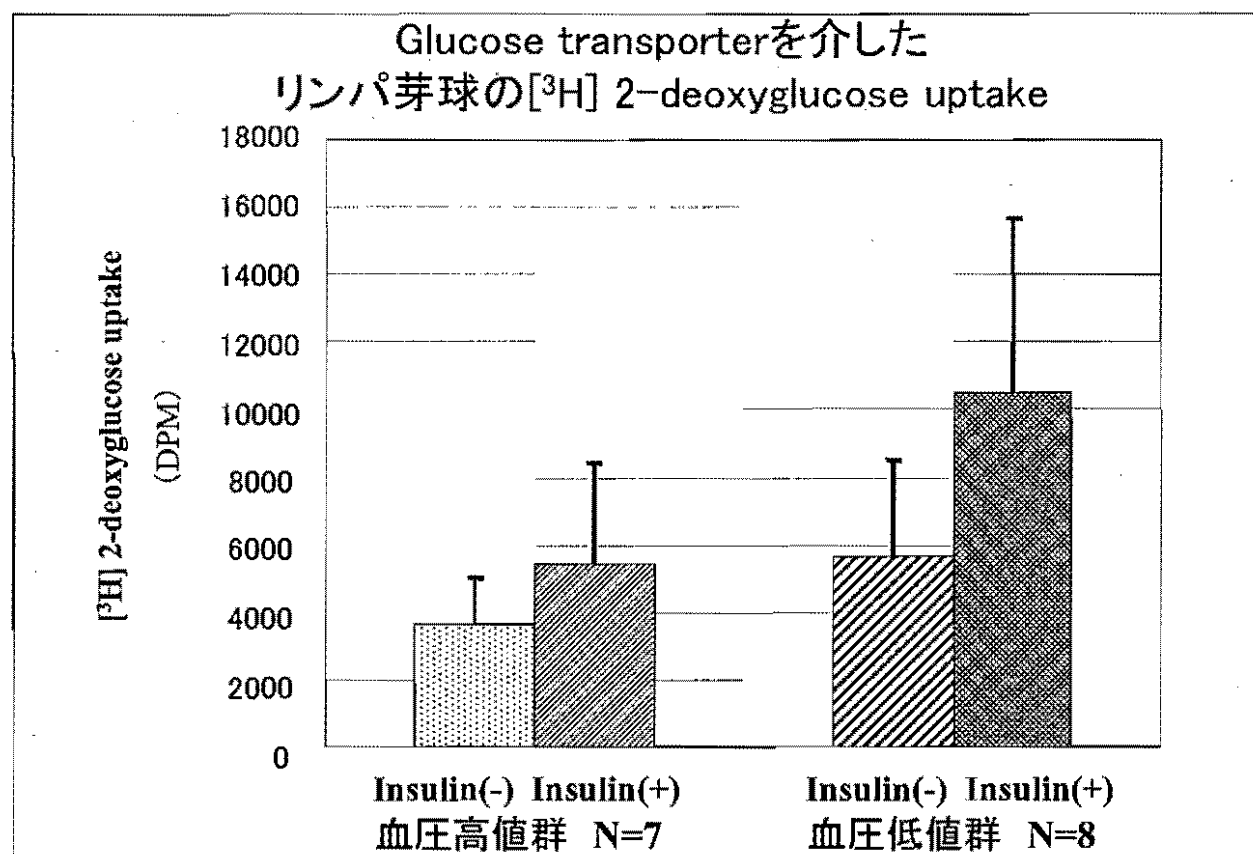


Fig 5

今回、Ca関連遺伝子の解析を目的に本申請書を提出したが、遺伝子解析に関する倫理規定が、研究半ばで改定され、インフォームドコンセントを得た試料を十分収集するために時間を費やし、誠に遺憾ながら、準備段階で研究期間の終了を迎えた。一部の症例で細胞レベルでのインスリン抵抗性に加えて、細胞内カルシウム動態の異常が並存している可能性が示唆された。今後、方法⑤⑥⑦の課題に取り組み、解析結果を順次報告する予定である。

## 考 察

遺伝子解析および細胞機能解析に関するインフォームドコンセントが得られた検診対象者のうち、家族歴を有する高血圧（または血圧正常高値）群から8名、高血圧および心血管疾患の家族歴が無く、血圧が110mmHg以下の正常低値群から7名を選択し、不死化リンパ芽球系を樹立した。高血圧群は、血圧低値群および母集団と比較してBody mass indexが有意に高く、また、空腹時血糖値、インスリン値および総コレステロール、中性脂肪、LDLコレステロールのすべてが有意に高値を示した。従って、若年性遺伝性高血圧には、肥満を背景とした個体レベルのインスリン抵抗性が合併していることが明らかとなった。

現在、解析対象を増やすと同時に、不死化リンパ芽球を用いて細胞レベルでのインスリンによる糖の取りこみ能および細胞内Ca値を測定中である。個体レベルでインスリン抵抗性を示す高血圧群の中

に、細胞レベルでのインスリン抵抗性を示すものがあることを示唆する結果を得ている。懸案の細胞内Ca値については今後の更なる検討が必要であるが、このような集団は、今後の遺伝性高血圧の代謝性因子に関するゲノム解析を進める上で最も有用なサンプルになることと考えられる。

インスリン抵抗性関連遺伝子の中で、今回、インスリン受容体遺伝子の多型解析を行った。高血圧とインスリン低受容体遺伝子のかかわりについて、1991年オーストラリアでYingらは、両親とも高血圧のイギリス系コーカサス人高血圧患者と家族歴の希薄な正常血圧対照者において、インスリン受容体遺伝子のイントロン9の挿入/欠失変異を*Bgl*Iで判別し、*Bgl*I多型が高血圧と関連すると報告した。その後、Yingらは、*Rsa*I多型との関連も報告した。エクソン8の*Nsi*I多型と高血圧との関連を示す報告もある<sup>15)</sup>。その後、日本人においては、マイクロサテライト多型と高血圧との関連が報告された<sup>16)</sup>。マイクロサテライト多型と高血圧との関連はオーストラリア人では否定的であった<sup>15)</sup>。一方、中国人においては、*Nsi*I多型と高血圧との関連が示唆された<sup>17)</sup>。われわれの若年正常血圧者の検討では、従来の報告とは逆に、*Nsi*Iの切断部位を持たないもので空腹時インスリン値が高値を示すという結果を得たので、解析数を増やして確認している。

## おわりに

Ca関連候補遺伝子の遺伝子多型と細胞内Ca動態との関連についての解析は、まだ始まったばかりである。今後この分野の研究は薬物の選択、新たなゲノム創薬、牛乳によるCa摂取の奨励などの対象の選択など様々な影響を与える可能性がある。現況においては経口Ca摂取による降圧効果は、一部の集団では明らかにされたものの、必ずしも十分な評価を得ていない。高血圧患者の経口Ca摂取による降圧効果には個体差が多く、その理由として高血圧患者の遺伝的多様性が指摘されてきた。私どもの今年度の研究は、サンプルの収集がようやく軌道に乗ったところであるが、カルシウム関連遺伝子の解析を通して経口Ca摂取の有用性を明確にすることが期待され、今後も鋭意解析を進める予定である。

## 参考文献

1. McCarron DA, Morris CD, Cole C. Dietary calcium in human hypertension. *Science* 217:267, 1982.
2. Hatton DC, McCarron DA. Dietary calcium and blood pressure in experimental models of hypertension. *Hypertension* 23:513, 1994.
3. Orlov SN et al. Genes of intracellular calcium metabolism and blood pressure control in primary hypertension. *Semin Nephrol* 15:569, 1995.
4. The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med* 157:2413, 1997.
5. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the

- Management of Hypertension. Guidelines Subcommittee. *J Hypertens* 17:151, 1999.
6. Ferrannini E et al.: Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med* 317:350, 1987.
  7. Ohno Y et al.: Impaired insulin sensitivity in young, lean normotensive offspring of essential hypertensives: possible role of disturbed calcium metabolism. *J Hypertens* 11:421, 1993.
  8. Narkiewicz K et al.: Genetic influences on insulinemia in normotensive twins. *Am J Hypertens* 10:467, 1997.
  9. Ohno Y et al.: Insulin sensitivity and calcium homeostasis in young, lean, normotensive male subjects. *Hypertens Res* 23:433, 2000.
  10. Ohno Y, Saruta T. Insulin resistance in essential hypertension. *Junkankika* 42:197, 1997.
  11. Erne P et al.: Correlation of platelet calcium with blood pressure. Effect of antihypertensive therapy. *N Engl J Med* 310:1084, 1984.
  12. Bukoski RD et al.: Intracellular  $Ca^{2+}$  and force generation determined in resistance arteries of normotensive and hypertensive rats. *J Hypertens* 12:15, 1994.
  13. Brzustowicz LM et al.: Linkage analysis using platelet-activating factor  $Ca^{2+}$  response in transformed lymphoblasts. *Hypertension* 29:158, 1997.
  14. Siffert W et al.: Association of a human G-protein  $\beta_3$  subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 18:45, 1998.
  15. Morris BJ. Insulin receptor gene in hypertension. *Clin Exp Hypertens* 19:551, 1997.
  16. Fujioka Y et al.: Insulin receptor gene polymorphism and hyperinsulinemia in hypertensive patients. *Hypertens Res* 18:215, 1995.
  17. Thomas GN et al.: An insulin receptor gene polymorphism is associated with diastolic blood pressure in Chinese subjects with components of the metabolic syndrome. *Am J Hypertens* 13:745, 2000.

経口Ca摂取による血圧低下作用は個体差が大きく、必ずしも十分な評価を受けていない。近年、高血圧症の治療に対する個々の反応性の違いを遺伝的多様性（遺伝子多型）に求める研究が盛んに行われるようになってきた。しかしながら、高血圧の成因として最重要であるCa代謝関連遺伝子の検討はほとんど行われていない。本研究はCa関連候補遺伝子の遺伝子多型と細胞内Ca動態との関連について解析することを目的とする。高血圧の遺伝歴の濃厚な若年正常血圧者と高血圧の遺伝歴を有さないコントロールにおいて、細胞内Ca動態の異常がインスリン抵抗性と密接な関連を保ちながら高血圧の発症に寄与していることを示した。さらに、これらの異常にはわずかな体重増加が寄与することが示唆された。

次に、若年男性検診対象者350名から同意を得た上でDNAを抽出した。高血圧の遺伝歴の濃厚な高血圧群15名と高血圧の遺伝歴を有さない血圧低値群20名について、Epstein-Barrウイルスにより不死化リンパ芽球を作成し、細胞・遺伝子バンクを構築した。高血圧群は生体および細胞レベルでインスリン抵抗性を示した。さらに、一部の症例で細胞レベルでのインスリン抵抗性に加えて、細胞内カルシウム動態の異常が並存している可能性が示唆された。インスリン抵抗性関連遺伝子としてインスリン受容体遺伝子のNsi I多型を検討し、正常血圧者においては、従来の報告とは異なり、Nsi Iの切断部位を持たないもので空腹時インスリン値が高値を示す、すなわち、インスリン抵抗性であるという結果を得た。今後、解析対象を高血圧群および血圧低値群に広げ、不死化リンパ芽球における細胞内Ca動態およびCa関連候補遺伝子との間で関連研究をする予定である。

【Key Word】 経口Ca摂取、遺伝子多型、Ca関連候補遺伝子、細胞内Ca動態、不死化リンパ芽球