

# 深江 貴芸 論文内容の要旨

## 主 論 文

The evidence of polymorphisms of the liver X receptor gene as a DNA-based biomarker for susceptibility to coronary artery disease in a Japanese population (日本人における冠動脈疾患感受性遺伝子 liver X receptor はバイオマーカーとして遺伝子診断に応用できる)

Atsuki Fukae, Satoshi Ikeda, Mariko Inoue, Toshiko Tachibana, Tatsuo Inamine, Shinji Kondo, Yoshiyuki Miyahara, Koji Maemura, Shigeru Kohno, Kazuhiro Tsukamoto.

*Acta Medica Nagasakiensia, in press*

長崎大学大学院医学研究科新興感染症制御学系専攻 (指導教授: 河野 茂)

### 【緒 言】

冠動脈疾患は、冠動脈の動脈硬化病変による狭窄や攣縮によって心筋への血流が不十分となり、虚血が引き起こされる疾患群の総称である。また、冠動脈疾患もその原因である動脈硬化も、遺伝因子と環境因子が相互に関与する多因子性疾患である。環境因子として、高齢、肥満、喫煙、高血圧、高脂血症、糖尿病などが挙げられる。そして、患者間でも発症や進展に個人差を認めることから遺伝因子も強く関連している。この遺伝因子を明らかにするために、一塩基多型(single nucleotide polymorphisms: SNPs)を用いて、候補遺伝子あるいはゲノムワイドによる相関解析研究が盛んに行われ、多数の冠動脈疾患感受性遺伝子が同定されている。

体内総コレステロールは、その代謝と運搬を介して高度に制御されて一定に維持されている(恒常性の維持)。これらの代謝や運搬に関連する遺伝子は動脈硬化のみならず冠動脈疾患の発症に寄与している。その一つに liver X receptor: LXR (LXR $\alpha$ と LXR $\beta$ )がある。LXRはオキシステロールを内因性アゴニストとする核内レセプターで、retinoid X receptor: RXRと核内でヘテロダイマーを形成し、コレステロールのホメオスタシスを維持する標的遺伝子の発現を誘導する。

本研究では、LXR $\alpha$  (*NR1H3*)と LXR $\beta$  (*NR1H2*)を候補遺伝子とし、疾患群と対照群間で多型の出現頻度を有意差検定することで、冠動脈疾患感受性遺伝子の同定を試みた。

### 【対象と方法】

長崎大学病院循環器内科およびその関連病院において冠動脈造影検査を施行した被験者を対象とした。75%以上の器質的狭窄を有する143名の冠動脈疾患群(CAD群)、異常を認めなかった健常者164名を対照群(Control群)とした。両群間で冠動脈疾患の臨床的危険因子(環境因子)の合併の有無も調べた。

本研究に同意された被験者から採血した末梢静脈血より DNA を抽出した。Haploview を用いて、International HapMap database より *NR1H3* から 3 つ、*NR1H2* から 5 つの tag SNPs を抽出し、PCR-制限酵素断片長多型法あるいは直接 DNA 塩基配列決定法で多型を検出した。さらに、*NR1H2* では有意差のあった 2 つの SNPs を組み合わせて haplotypes を構築した。そして、両群間で多型の出現頻度を有意差検定 (カイ 2 乗法とロジスティック回帰分析) した。

## 【結 果】

疾患群と対照群間で臨床的危険因子を比較した結果、高脂血症と糖尿病の合併率に有意差を認めた(それぞれ  $P = 0.040$  と  $P = 0.005$ )。

*NR1H3* の rs2279238 において、multiplicative model と recessive model で有意差を認めた(それぞれ  $P = 0.039$  と  $P = 0.016$ )。つまり、rs2279238 の C/C 遺伝子型を持つヒトは約 2.2 倍冠動脈疾患に罹患しやすかった。

*NR1H2* の rs1405655 において、multiplicative model と dominant model で有意差を認めた(それぞれ  $P = 0.007$  と  $P = 0.007$ )。これは、rs1405655 の T アレルを持つヒトは約 1.9 倍冠動脈疾患に罹患しにくかった。逆に、rs2303044 では、multiplicative model と dominant model で有意差を認め(それぞれ  $P = 0.020$  と  $P = 0.006$ )、rs2303044 の C アレルを持つヒトは約 1.9 倍冠動脈疾患に罹患しやすかった。

さらに、*NR1H2* で有意差を認めた 2 つの SNPs (rs1405655 と rs2303044) を組み合わせて haplotypes/diplotypes を構築し、有意差検定を行った結果、Hap 4 を持つヒトは約 17 倍冠動脈疾患に罹患しやすかった ( $P < 0.0001$ )。

最後に、単変量解析で有意差を認めた 2 つの臨床的危険因子 (高脂血症と糖尿病) と 2 つの遺伝因子 (*NR1H3* の rs2279238 の C/C 遺伝子型と *NR1H2* の Hap 4 haplotype) がお互いに独立して冠動脈疾患の発症に寄与しているかを多変量解析 (多項ロジスティック回帰分析) を用いて検証した結果、4 つの因子はすべて独立して発症に寄与していた。

## 【考 察】

*NR1H3* の rs2279238 の C/C 遺伝子型のヒトや *NR1H2* の Hap 4 haplotype を持つヒトでは、LXR $\alpha$  と LXR $\beta$  の機能が低下するために、ABCG5 や ABCG8 を介した腸管でのコレステロールの吸収と胆管腔へのコレステロールの排泄が減少し、同時に肝細胞内で胆汁酸合成の律速酵素である cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase の機能も低下してコレステロールが蓄積されるために、体内総コレステロールが増加する病態に陥り、冠動脈疾患が発症しやすくなると推察される。

また、冠動脈においても LXR $\alpha$  と LXR $\beta$  の機能が低下するために、NF- $\kappa$ B を介した泡沫細胞からの reactive oxygen species (ROS) や炎症性サイトカインの放出の抑制が减弱し、冠動脈壁の炎症が持続する。同時に、泡沫細胞のアポトーシスも減少するためにプラークが肥厚し、冠動脈疾患が発症しやすくなると思われる。

以上より、本研究は、LXR $\alpha$  と LXR $\beta$  の両遺伝子が日本人の冠動脈疾患の疾患感受性遺伝子である可能性を示唆した最初の報告である。両遺伝子はお互いに独立して発症に寄与していたことから、今後両遺伝子の機能解析は冠動脈疾患の病態解明に繋がるだけでなく、それらの多型は発症しやすいヒトを予測できる遺伝子診断のバイオマーカーとして応用される可能性が示唆された。