

Title	Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B
Author(s)	Congrains, Castillo Ada
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59014
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	Congrains <small>コングレイズ</small> Castillo <small>カスティージョ</small> Ada <small>アダ</small>
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25100 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B (染色体 9p21 領域の遺伝子多型は ANRIL や CDKN2A/2B 遺伝子を介して動脈硬化形成に関与する)
論文審査委員	(主査) 教授 楽木 宏実 (副査) 教授 小室 一成 教授 森下 竜一

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

欧米、日本のゲノム網羅的関連解析によって染色体9p21領域のnon-coding RNA (ANRIL) 遺伝子の一塩基多型 (SNP) が冠動脈疾患と強く関連することが報告されている。本9p21領域はこのような動脈硬化性疾患のみならず、糖尿病や癌、アルツハイマー病や老人の虚弱なども関連性が指摘されているため、本領域に存在する遺伝子の働きと疾患との関連性を明らかにすることは非常に重要と考えられる。本研究では動脈硬化形成機序におけるANRIL遺伝子の働きを明らかにすることを目的に研究を行った。ANRIL遺伝子には近傍に細胞増殖を調節する遺伝子Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2Aならびに2B (*CDKN2A/2B*) が存在し、ANRIL遺伝子SNPと動脈硬化性心血管疾患の関連性の機序にCDKN2A/2B 遺伝子が関与している可能性があるため本研究ではこれらの関連性に注目し検討している。

〔 方法ならびに成績 〕

最初にこれまで欧米等の複数の研究で冠動脈疾患との関連性が示唆されているANRIL遺伝子のrs1333049、rs564398、rs2811712が冠動脈造影で狭窄が確認された日本人冠動脈疾患患者(231名)でも関連性があるかを確かめるためにこれらのSNPの遺伝子型を決定し、冠動脈疾患のないコントロール群(447名)とアレル頻度につき比較検討を行った。その結果、欧米で最も強く冠動脈疾患と関連するとされるrs1333049において有意にリスクアレルの頻度が日本人冠動脈疾患で高率であった ($p < 0.01$)。次に57名の70歳前後一般住民の末梢血から抽出したRNAにおいて遺伝子が関与している可能性があるため本研究ではこれらの関連性に注目し検討している。ANRIL遺伝子RNAの発現は、遺伝子型を決定した18tag SNPのうちの多くで冠動脈疾患を含む多くの疾患のリスクアレルと考えられた遺伝子型でANRIL遺伝子の発現が低下していた。また頸動脈エコーが行われた56名の対象者において総頸動脈に動脈硬化性プラークを有する人では有意にANRIL遺伝子の発現が低下していたことからANRILが動脈硬化に保護的な働きをしている可能性が示された。次に

ヒト培養血管平滑筋細胞 (VSMC) を用いて siRNA 法により ANRIL 遺伝子を knockdown すると CDKN2A 遺伝子の発現が低下し、CDKN2B 遺伝子の発現は上昇した。さらに ANRIL 遺伝子を knockdown した際に VSMC の増殖は有意に低下したことから ANRIL 遺伝子が CDKN2A/2B 遺伝子の調節を介して血管細胞の増殖に関与していることが明らかとなった。ApoE-knockout マウスの動脈硬化巣において CDKN2A/2B の蛋白発現を認めることから、生体で ANRIL に調節を受けた CDKN2A/2B が動脈硬化形成に関与していることを示した。

〔 総 括 〕

本研究では血管平滑筋細胞の ANRIL 遺伝子を siRNA を用いて knockdown することで *CDKN2A* は発現抑制、*CDKN2B* は発現亢進を示すことを見出し、マウス動脈硬化モデルの動脈硬化巣に *CDKN2A/2B* が存在していることを免疫組織染色で確認したことから、ANRIL 遺伝子がこれらを調節し動脈硬化の進展を制御していることを証明した。さらに動脈硬化を有するヒトでは末梢血中の ANRIL 遺伝子の発現が低下しており、ANRIL 遺伝子はヒト動脈硬化形成に保護的に働き、ANRIL 遺伝子 SNP は、心血管疾患リスクアレルを保有するヒトで遺伝子発現が低下していることから、ANRIL 遺伝子発現が低下しやすい多型を保有するヒトは動脈硬化性心血管疾患に罹患しやすい可能性が高いことを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

ヒトのゲノム網羅的解析において動脈硬化性心血管疾患と遺伝素因の強い関連性が染色体の 9p21 領域 ANRIL 遺伝子で認められている。本研究では血管平滑筋細胞の ANRIL 遺伝子の働きを siRNA 法にて抑えることで、細胞周期関連遺伝子である *CDKN2A* は発現抑制、*CDKN2B* は発現亢進を示すことを見出し、マウス動脈硬化モデルの動脈硬化巣に *CDKN2A/2B* が存在していることを免疫組織染色で確認したことから、ANRIL 遺伝子がこれらを調節し動脈硬化の進展を制御していることを証明した。さらに動脈硬化を有するヒトでは末梢血中の ANRIL 遺伝子の発現が低下しており、ANRIL 遺伝子はヒト動脈硬化形成に保護的に働き、ANRIL 遺伝子遺伝子多型は、心血管疾患リスクアレルを保有するヒトで遺伝子発現が低下していることから、ANRIL 遺伝子発現が低下しやすい多型を保有するヒトは動脈硬化性心血管疾患に罹患しやすい可能性が高いことを明らかにした。機能の明らかにならなかった ANRIL 遺伝子とヒト動脈硬化の関連を明確に示したことで本研究は学位に値するものと認める。