The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【54】

氏　　名	Congrains Castillo Ada（コングレインズ カスティーヨ アダ）
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と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因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因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因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因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。機能の明らかになっていなかった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。