

## 9850 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

助成研究者：加藤 規弘 (帝京大学 医学部 内科)  
 共同研究者：並河 徹 (鳥根医科大学 臨床検査医学)  
 杉山 卓郎 (朝日生命 成人病研究所)  
 奈良 安雄 (東亜大学大学院 総合学術研究科)  
 家森 幸男 (京都大学大学院 人間・環境学研究所)

高血圧の発症には、地域・人種に特有な環境と遺伝要因、およびその相互作用が重要で、この昇圧機序の一つとして“食塩感受性”が注目されてきた。その人種的特異性に焦点を絞り成因への関与を調べるのが本研究のテーマである。複数の人種において相互比較を行うためには先ず均一なプロトコルに従って食塩負荷試験を実施し、大規模なデータベースを構築する必要がある。その際、食塩感受性の程度をいかに評価するか、どのような生理的メカニズム(あるいは候補遺伝子)に注目して遺伝学的研究をすすめていくか、などが重要な問題となる。

そこで我々は、①食塩負荷前後に血圧とともに昇圧系・降圧系ホルモンの動態を追跡し、食塩感受性の病態をより直接的に反映する可能性のある指標を検索した。②健常者集団における主要な循環系ホルモンの血中濃度の分布を調べ、大規模試験の測定項目としてそれぞれ有用かどうかを検討した。また③候補遺伝子の一つ、心房性利尿ペプチド(HANP)の遺伝子多型のスクリーニングを行った。

結果として、①急速に生理食塩水2リッターを点滴負荷した際、被検者7名のうちの2名が明らかな血圧の上昇を示し、食塩感受性と考えられた。それぞれ昇圧系・降圧系ホルモンに関して特徴的な変動パターンを示し、血圧以外の血行動態のモニターが“intermediate phenotype”として有用である可能性が示唆された。②水電解質出納に関与する主要な生理的メカニズムとしてR-A系の3因子-renin、angiotensin II、aldosterone-に注目し、健常者集団における各々の血中濃度の分布、相関係数等を調べた。さらに既報のR-A系の遺伝子多型との関連を検討したが、いずれとも有意な結果は認められなかった。③HANP遺伝子座において3368-bpをスクリーニングし合計5つの多型を見つけたが、HANPの血中濃度あるいは高血圧の有無とも有意な関連を示さなかった。

血圧値がいわゆる複合形質(complex phenotype)であり高血圧の発症に恐らく複数の病態生理学的機序が関係していると推定されている。その候補として食塩感受性の研究の意義は大きい。我々は特に人種間比較のアプローチにより遺伝的基盤の解明を目指しており、研究の成果として、将来的に降圧療法を選択する際にどの患者に減塩が有効かをスクリーニングすることが可能になると期待する。



## 9 8 5 0 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

助成研究者：加藤 規弘 (帝京大学 医学部 内科)  
 共同研究者：並河 徹 (鳥根医科大学 臨床検査医学)  
 杉山 卓郎 (朝日生命 成人病研究所)  
 奈良 安雄 (東亜大学大学院 総合学術研究科)  
 家森 幸男 (京都大学大学院 人間・環境学研究科)

## ①研究目的

食塩摂取と血圧値との相関に関してはこれまで様々な報告がなされ、生化学的あるいは生理学的研究の進歩に伴い、いわゆる「食塩感受性」と呼ばれる概念が徐々に明らかにされてきた。すなわちある一部のヒトでは食塩負荷や減塩に対して過敏に血圧値が増減し、同時にいくつかの臨床的特徴—例えば前腕血管抵抗性の上昇、静脈系伸展性の減少、血清レニン活性の低下などが共通に認められる。これらは動物モデルであるDahl食塩感受性高血圧ラットでも同様に観察される性質であり、従って何らかの遺伝的異常が根底に存在している可能性が示唆されている。また近年、近交系高血圧ラットにおいてはいくつかの昇圧遺伝子座が見つけられ<sup>1,2)</sup>、遺伝子そのものの同定に向けて現在コンジェニック系統の開発が進行中である。特にDahlラットで示唆される昇圧遺伝子のあるものは、恐らく食塩感受性を介して高血圧を生じているであろうと推定される。ヒト本態性高血圧に関しても病因遺伝子解明に向けての研究が盛んに進められており、それらのあるものはやはり食塩感受性の血圧上昇に寄与している可能性が高い。本研究はこのようなヒト食塩感受性の遺伝的基盤の解明を目的としており、それにより将来的に高血圧の降圧治療を選択する際、どの患者に減塩が有効かをスクリーニングすることが可能になると期待する。

食塩感受性の定義・測定手法は報告によりややばらつきがあり未だ確定していないようであるが<sup>3)</sup>、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、高血圧群で各々27%、50%という報告がある<sup>4,5)</sup>。このように人種差が成因的にも少なからず関与すると推測されるため、異なる人種において並行して研究をすすめ、結果を相互に比較することが、遺伝的基盤の解明に役立つと思われる。その準備としていくつかのアプローチを行ったので本稿で報告する。

## ②研究方法

従来、いずれの食塩感受性の評価方法も食塩負荷と利尿剤による尿中へのナトリウム排泄促進を相前後して行い、血圧値の変動を診断の手がかりとしてきたが、遺伝的に傷害されているメカニズムを知るためには、より直接的な血行動態指標を探す必要がある。そこ

で我々は急速に大量の生理食塩水を点滴負荷する方法<sup>9)</sup>を用いて、その検査過程における血圧値の変動および負荷前後での昇圧・降圧系ホルモンの血中濃度の推移などを調べ、いわゆる“中間的形質(intermediate phenotype)”として有用な指標は何かを検討した〔研究2.1〕。また注目した循環系ホルモンのいくつかについては一般人（大半は血圧正常者）での分布を調べ、各々を規定する遺伝子座の多型がその安静時血中濃度に影響するかどうかを検討した〔研究2.2〕。さらにヒトでの分子遺伝学的研究やマウスでの発生工学的研究によって食塩感受性（高血圧）の候補遺伝子と考えられているもののうち、ヒト心房性利尿ペプチド(HANP)の遺伝子多型を詳細に検討した。〔研究2.3〕

### 2.1 急速静注法による血行動態の変化

健常男性7人（年齢は26～35歳）に対し、朝9時から生理食塩水2リッターを2時間かけて点滴静注し、その翌日（検査2日目）に利尿剤としてフロセミド80mg（Lasix 40mgを朝8時と夕4時の2回）を内服投与した。点滴中および終了4時間後まで経時的に血圧を測定し、さらに検査3日目（利尿剤投与の翌日）朝8時まで追跡した。また食塩負荷の前後と3日目朝8時の合計3回採血し、血清電解質、renin、aldosterone、catecholamine 3分画、HANP、adrenomedullinなどを測定した。

### 2.2 降圧剤非投与者における循環系ホルモンの血中濃度の分布と遺伝子多型との関連

レニン-アンジオテンシン系(R-A系)の各因子の血中濃度とそれを規定する遺伝子座の多型との関連がこれまでに数々報告されてきた。この点を日本人で調べるのと、主要な循環系ホルモンの血中濃度の分布を知る目的で、降圧剤を投与されていない健常者102名（年齢39.1±11.6、男19：女83）から安静空腹時に採血を行った。測定した検査項目はplasma renin activity (PRA)、aldosterone、angiotensin II、HANPである。血液中のリンパ球からDNAを抽出しangiotensin converting enzyme (ACE)のI/D多型、angiotensinogen (AGT)のM235T、angiotensin II type-1 receptor (AT<sub>1</sub>R)のA1166C、aldosterone synthase (CYP11B2)のC-344Tの4つの遺伝子多型を既報のごとく遺伝型決定した<sup>6-9)</sup>。

### 2.3 HANP遺伝子座の遺伝学的検討

HANPは生体の水電解質出納において重要な役割を果たし、R-A系や交感神経系などを抑制する作用を持つことより、降圧系ホルモンの一つと位置付けられている。またpro-ANPのノックアウト・マウスではHANPの産生低下が特に食塩感受性高血圧を引き起こすことも知られている<sup>10)</sup>。従って、食塩感受性の有望な候補遺伝子と考えられるため、我々は同遺伝子座の多型をスクリーニングし、血中HANP濃度および高血圧の有無との関連があるかどうかをassociation studyの手法にて検討した。HANPのゲノム3368-bpを直接シーケン

スし、見つかった多型間の連鎖不平衡のパターンを決定した。その結果に基づいて3つのHANP多型を選出し、前述の健常者102名において血中濃度との関連を、さらに別のcase-control集団（高血圧255名：正常血圧225名）で高血圧との関連を調べた。統計学的解析にはANOVAと $\chi^2$ 検定を用いた。

### ③研究結果

#### 3.1 急速静注法での血行動態の推移

被検者7人に生理食塩水点滴、その後利尿剤投与した際の血圧および心拍数の推移をFig.1に示す。点滴前に3回、血圧を座位で測定し後2回の平均をpre-loadingの血圧値とした。また点滴終了直後、5分後、10分後の3回の平均をpost-loadingの血圧値とした。さらに検査3日目の朝に、血圧を座位で2回測定しその平均を利尿剤投与後（after diuretics）の血圧値とした。血圧は全て同一の熟練した内科医により測定された。従来post-loadingの値とafter diureticsの値との差が+10mmHg以上の場合に、食塩感受性（salt sensitive）者と定義されることが多く<sup>3)</sup>、この基準によれば本研究の〔被検者4と5〕が食塩感受性と考えられる。〔被検者4〕は点滴開始30分後より血圧上昇を認め、同時に心拍数の増加も顕著であった。一方、〔被検者5〕は明らかな心拍数の増加を示さず、点滴開始90分後に血圧上昇が顕著となった。注目すべきは〔被検者6〕で、終了時まで有意な血圧の変化を示さなかったものの、4時間後に測定した収縮期血圧は検査前より18mmHg上昇するとともに、頭重感を訴えていた。他の4人の被検者に関しては利尿剤投与前後での血圧差が+10mmHgの基準に満たなかっただけでなく、むしろ点滴中に（検査前よりも）血圧が一時的に下降した。

検査中に測定した循環系ホルモンなどの変化をFig.2に示す。生理食塩水2リッター（食塩18g相当）の急速な負荷に対して、非感受性者はPRAとaldosteroneが低下しHANPが軽度上昇を示す程度に過ぎなかった。それに対し、食塩感受性の〔被検者4〕では昇圧系として交感神経系のnoradrenalineとdopamineの上昇、降圧系としてHANPの軽度の上昇とadrenomedullinの著名な上昇を認めた。さらに〔被検者4〕では食塩負荷後のaldosteroneの抑制が他の被検者よりも弱く、利尿剤投与後のR-A系の活性化が乏しいことと併せて興味深い。一方〔被検者5〕では交感神経系の活性化は明らかでなく、HANPの上昇が特に目立った。

#### 3.2 R-A系の主要因子に関する予備的な遺伝学的検討

我々が人種的特異性を調べるために現在収集している検査集団（「今後の課題」の項参照）は原則として降圧剤を内服していない比較的若年の人々であるため（すなわち正常血圧であることが多い）、そのような集団における循環系ホルモンの安静時血中濃度の分布を知ることが、(1)どれが候補形質として有用であるか、(2)遺伝型分類による比較を行う際

に十分な統計学的検出力を得るためにはどれくらいのサンプル数が必要か、などを大まかに推定するのに役立つ。本研究では特にR-A系の3つの因子とHANPの血中濃度を102名の健常者において測定した。またR-A系の4つの遺伝子座の多型（ACEのI/D多型、AGTのM235T、AT<sub>1</sub>RのA1166C、CYP11B2のC-344T）がそれぞれの遺伝子産物の安静時血中濃度と関連し、さらに高血圧の有無とも関連する可能性が以前に報告されているため、我々の検査集団でも血中濃度と関連する傾向が認められるかどうかを予備的に検討した。但し、血液処理の関係上、ACEとangiotensinogenの血中濃度は残念ながら測定できなかった。結果をまとめてFig.3に示す。R-A系の3つの因子は密接に関連しており、特にPRAとangiotensin IIの相関係数は0.805と高かった。102名という比較的少人数の検査集団であるため確たる結論を導けないが、いずれの多型とも血中濃度との有意な関連を認めなかった。（最近白人において報告された、CYP11B2の-344T対立遺伝子とaldosterone濃度との間のassociationの傾向<sup>12)</sup>は少なくとも本検査集団では追試できなかった。）

### 3.3 HANP遺伝子座の多型検索

HANP遺伝子座に関してはこれまでにいくつかの多型が個々に報告されてきたが、組織的にHANPのゲノム領域をスクリーニングし、多型間の連鎖不平衡のパターンを調べた研究はこれまでにない。通常、注目する遺伝子座の病因的意義を調べるためには、先ず機能的意義を有する（可能性のある）遺伝子多型を見つける必要がある、その上で病態への関与を検索することとなる。今回、我々は新たな多型2つ（c-664GとG191A）を含む計5つのHANP遺伝子座の多型を同定した。これらはさらに連鎖不平衡のパターンにより3群に分類され、上述した2つとT1766Cの3つの多型を用いてassociation studyを行った。血中HANP濃度、高血圧の有無ともに有意なassociationを認めなかった。しかし、いずれの多型とも日本人では対立遺伝子頻度が比較的低く（<10%）、統計学的検出力は不十分であった（Tables 1、2）。

#### ④考察

本稿では現在我々が進めている人種の特異性に注目した食塩感受性の遺伝学的研究の一部、予備的研究の結果を報告した。これまで食塩感受性の研究上の障害となってきたのはその評価基準が今一つ不明瞭である点で、恐らく血圧値以外にも血行動態の指標を経時的にモニターすることで病態に関するより多くの生理的情報が得られるはずである。今回わずか7例の観察ではあるが、2人の食塩感受性被検者はそれぞれ昇圧系、降圧系ともに特徴的な変動を示した。いずれが一次的に（すなわち遺伝的に）傷害されている機構かは不明であるものの、複合形質として食塩感受性を捉えていく重要な手がかりとなろう。

安静時でなく食塩負荷をすることによって初めて、傷害されたメカニズムが顕在化するとも考えられるが、多数のサンプルを対象に多くの血行動態のパラメーターを追跡すると

なると、検査費用と効率の問題を考へて、一回当たりの測定項目数を最小限に抑えねばならない。その選択のために安静時血中濃度の分布を知ることは有用である。例えば、R-A系のPRAとangiotensin IIはほぼ同等の検出力を持つようであるが（血中濃度の標準化した分散がほぼ同じなので）、前者の方がより普及しており検査費用も安いためスクリーニング段階では好都合かも知れない。いずれにせよ限られた項目数でさまざまな血行動態を全てカバーすることは不可能であり、将来的に追加項目を調べる必要に備えて、血清を分離保存の方が安全であろう。

果たしてどのような遺伝子座の変異が食塩感受性の遺伝的素因となっているか不明な状況では、既知の候補遺伝子の関与を先ず優先的に検討する必要がある。高血圧、糖尿病の遺伝学的研究を通してこれまで多くの研究者が指摘してきたように、機能的意義（functional significance）の定まらない多型を無作為に解析することは偽陽性の結果を招き易いので注意が必要である。R-A系の諸因子以外にも降圧系ホルモンであるANPやadrenomedullinなどが有望な候補遺伝子と考えられ、本稿では特にANPに関しての検索結果を示した。また、高血圧ラットにおいて食塩感受性（高血圧）遺伝子の同定がなされれば、ヒトの相当する遺伝子も候補遺伝子のリストに加えることができるであろう。

日本人を含む多くの人種において高血圧患者に食塩感受性の頻度が高い点、黒人は比較的少量の食塩を負荷するだけで非常に顕著な高血圧を生じる点など、「本態性」高血圧の原因として“食塩感受性”の遺伝的素因が関与することを示唆する証拠は多い。一般的に、食生活の欧米化（あるいは都市化）につれて人々は過度の塩分やカロリーを摂取するようになり、結果として高血圧の頻度も増える一方で、その病像は様々に修飾されると考えられる。純粋に遺伝的素因を探究する意味では、そのような食習慣の変化にできるだけ曝されていない民族・人種を対象にする方が検出効率が高いと推定される。また特定の遺伝的素因の関与する割合にも恐らく人種差があると考えられるため、一つの人種において遺伝的影響が比較的小さく見逃されてしまう場合も、同時に別の人種を調べることにより検出できる可能性がある。これらの点で我々の人種間比較が有望なアプローチであると期待される。

#### ⑤今後の課題

食塩感受性は人種差、遺伝・環境因子（気候、食生活など）の差のみならず、用いる評価方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のプロトコー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ろう。多数の被験者を扱う場合、本稿で触れた急速静注法よりは緩徐に食塩負荷と経口利尿剤投与を行う方法が適している。我々は国際的疫学研究の一環として日本人、アフリカ原住の黒人およびブラジルのスペイン系白人の3つの集団で大規模な（各人種とも200~300人の非血縁者の収集を目標とする）食塩感受性のスタディを計画し、

すでに一部の地域で取りかかっている。血圧値も含めて信頼度の高い臨床情報を入手できるかどうか、そして十分な数の被検者を各人種ごとに収集できるかどうか、など研究遂行上の問題点も少なくない。質量ともに充実したデータベースの確立が当面の課題である。

#### ⑥文献

1. 加藤規弘、家森幸男. 高血圧ラットにおける原因遺伝子のマッピング. 医学のあゆみ. 1998 ; 185巻9号 : 535-539.
2. N Kato, G Hyne, M-T Bihoreau, D Gauguier, GM Lathrop, JP Rapp. Complete genome searches for quantitative trait loci controlling blood pressure and related traits in four segregating populations derived from Dahl hypertensive rats. *Mamm Genome*. 1999; 10: 259-265.
3. JM Sullivan. Salt sensitivity: definition, conception, methodology, and long-term issues. *Hypertension*. 1991; 17[suppl I]: 61-68.
4. FC Luft, JZ Miller, MH Weinberger, JC Christian, F Skrabal. Genetic influences on the response to dietary salt reduction, acute salt loading, or salt depletion in humans. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1988; 12[suppl 3]: S49-S55.
5. MH Weinberger. Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension*. 1996; 27: 481-490.
6. T Sugiyama, H Morita, N Kato, H Kurihara, Y Yamori, Y Yazaki. Lack of Sex-specific Effects on the Association between Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism and Hypertension in Japanese. *Hypertens Res*. 1999; 22: 55-59.
7. N Kato, T Sugiyama, H Morita, H Kurihara, Y Yamori, Y Yazaki. Angiotensinogen gene and essential hypertension in Japanese: extensive association study and meta-analysis on 6 reported studies. *J Hypertens*. 1999; 17: 757-763.
8. S Schmidt, J Beige, M Walla-Friedel, MC Michel, AM Sharma, E Ritz. A polymorphism in the gene for the angiotensin II type1 receptor is not associated with hypertension. *J Hypertens*. 1997; 15: 1385-1388.
9. E Davies, CD Holloway MC Ingram, GC Inglis, EC Friel, C Morrison, NH Anderson, R Fraser, JMC Connel. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2. *Hypertension*. 1999; 33: 703-707.
10. SW John, JH Krege, PM Oliver, JR Hagaman, JB Hodgins, SC Pang, TG Flynn, O Smithies. Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension. *Science*. 1995; 267: 679-681.



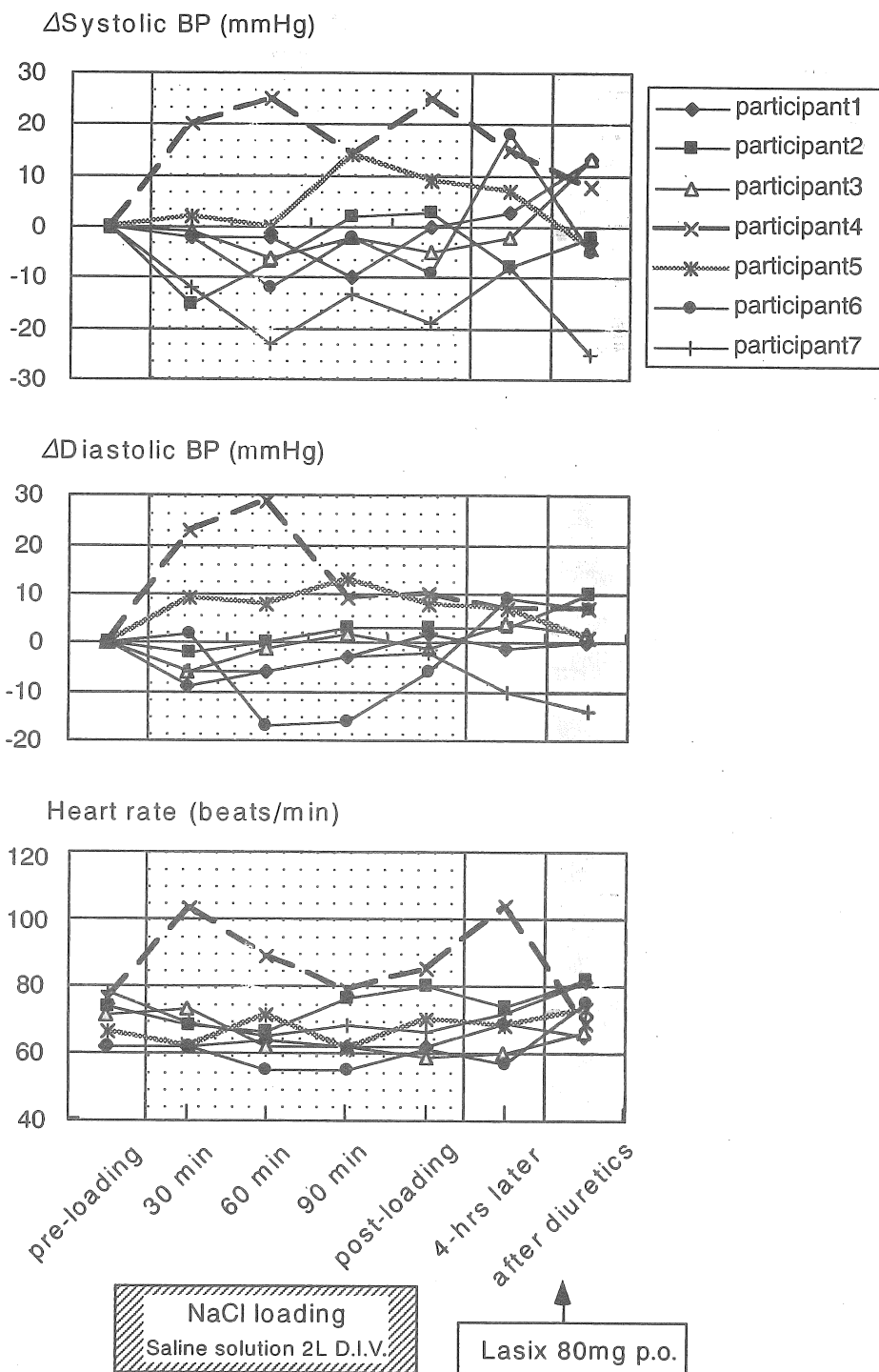


Figure 1. The time course of blood pressure and heart rate during the acute salt loading experiment

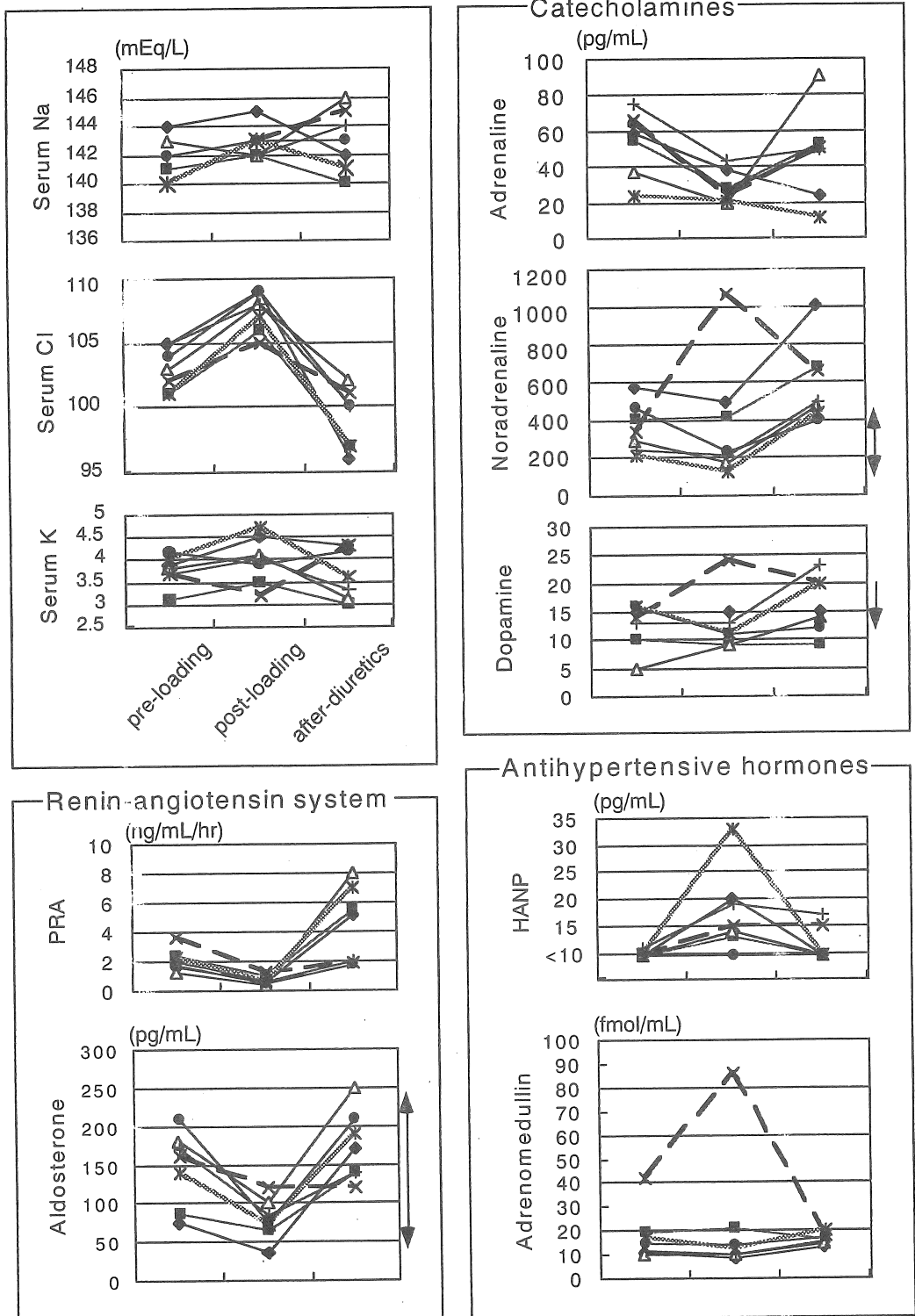
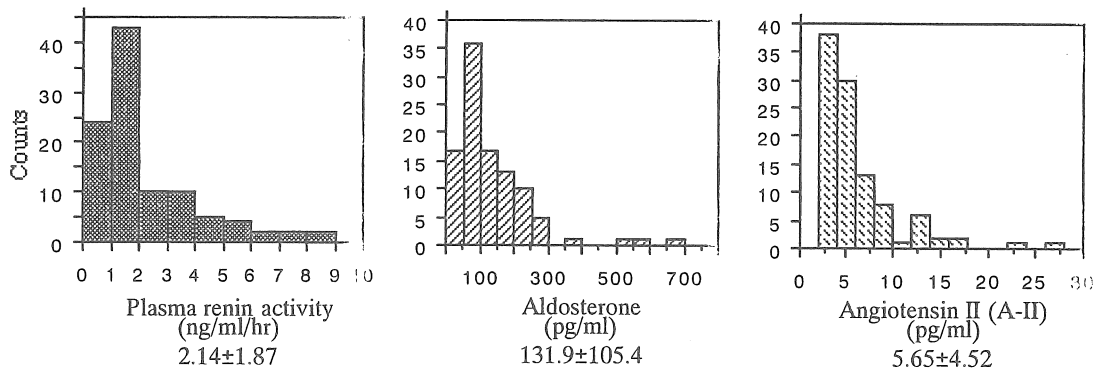


Figure 2. The time course of measured variables during the study

(a) Histograms of enzyme concentrations (or activities) in the normotensive population



(b) Correlation coefficients (95% CI) between variables

|      | A-II                | Aldosterone         |
|------|---------------------|---------------------|
| PRA  | 0.805 (0.724–0.864) | 0.696 (0.580–0.784) |
| A-II | —                   | 0.514 (0.355–0.644) |

P-values were statistically significant (<0.0001) in any pairwise comparison.

(c) Results for association analysis of 4 candidate polymorphisms with investigated variables

| (i) ACE, D/I | DD                | DI                 | II                 | P-value |
|--------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------|
| PRA          | 2.62 ± 2.46 (13)  | 1.97 ± 1.61 (40)   | 2.16 ± 1.90 (49)   | 0.55    |
| Aldosterone  | 127.5 ± 82.1 (13) | 136.4 ± 109.1 (40) | 129.4 ± 109.6 (49) | 0.94    |
| A-II         | 7.09 ± 4.27 (13)  | 4.90 ± 4.52 (40)   | 5.88 ± 4.57 (49)   | 0.28    |

| (ii) AGT, M235T | MM               | MT                 | TT                | P-value |
|-----------------|------------------|--------------------|-------------------|---------|
| PRA             | 2.77 ± 2.20 (6)  | 2.77 ± 2.63 (23)   | 1.90 ± 1.49 (73)  | 0.1     |
| Aldosterone     | 135.3 ± 94.3 (6) | 164.7 ± 183.0 (23) | 121.3 ± 65.5 (73) | 0.23    |
| A-II            | 6.45 ± 3.83 (6)  | 6.69 ± 5.98 (23)   | 5.26 ± 4.02 (73)  | 0.38    |

| (iii) AT <sub>1</sub> R, A1166C | AA                 | AC                | CC       | P-value |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|---------|
| PRA                             | 2.19 ± 1.86 (82)   | 2.01 ± 2.02 (17)  | 0.20 (1) | 0.55    |
| Aldosterone                     | 137.2 ± 113.8 (82) | 113.3 ± 59.1 (17) | 49.0 (1) | 0.52    |
| A-II                            | 5.95 ± 4.73 (82)   | 4.27 ± 3.47 (17)  | 2.00 (1) | 0.28    |

| (iv) CYP11B2, C-344T | CC                 | CT                 | TT               | P-value |
|----------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------|
| PRA                  | 2.15 ± 1.95 (44)   | 2.09 ± 1.88 (50)   | 2.44 ± 1.43 (8)  | 0.89    |
| Aldosterone          | 135.3 ± 106.5 (44) | 131.3 ± 111.6 (50) | 116.6 ± 55.8 (8) | 0.9     |
| A-II                 | 5.35 ± 3.68 (44)   | 6.13 ± 5.34 (50)   | 4.31 ± 2.87 (8)  | 0.48    |

Figure 3. Evaluation of the renin-angiotensin system in normotensive subjects

**TABLE 1. Clinical Characteristics of Subjects in the Studied Panel and Correlation Coefficients between Variables and Plasma HANP levels**

| Variable                | Mean±SD<br>(except for subject no.) | Correlation          |              |         |
|-------------------------|-------------------------------------|----------------------|--------------|---------|
|                         |                                     | Coefficient (95% CI) |              | P-value |
| n (male/female)         | 102 (19/83)                         | ...                  | ...          | ...     |
| Age, years              | 39.1 ± 11.6                         | .06                  | (-.14 — .25) | .55     |
| BMI, kg/m <sup>2</sup>  | 20.7 ± 2.6                          | -.09                 | (-.31 — .14) | .43     |
| Systolic BP, mm Hg      | 113.6 ± 13.1                        | .02                  | (-.20 — .23) | .88     |
| Diastolic BP, mm Hg     | 70.3 ± 10.7                         | -.08                 | (-.29 — .14) | .49     |
| Serum creatinine, mg/dL | .73 ± .15                           | -.05                 | (-.24 — .15) | .63     |
| PAC, pg/mL              | 131.9 ± 105.4                       | -.18                 | (-.36 — .02) | .07     |
| PRA, ng/mL/hr           | 2.14 ± 1.87                         | -.08                 | (-.27 — .11) | .40     |
| Plasma ANP, pmol/L      | 2.28 ± 1.77                         | ...                  | ...          | ...     |

BMI=body mass index; PAC=plasma aldosterone concentration; PRA=plasma renin activity.  
Significant correlations are also observed between PAC and PRA (coefficient .69, P<.0001).

**TABLE 2. Results for Association Study of HANP Polymorphisms with Plasma HANP levels (n=102) and Hypertension Status (n=480)**

| Panel                    | Polymorphism |           | C-664G    |           |     | G191A     |           | T1766C |  |
|--------------------------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----|-----------|-----------|--------|--|
|                          | C/C          | C/G       | G/G       | G/A       | A/A | T/T       | T/C       |        |  |
| 1st panel (n=102)        | 99           | 3         | 80        | 21        | 1   | 97        | 5         |        |  |
| Plasma ANP (pmol/L)*     | 2.3 ± 1.8    | 1.0 ± 0.4 | 2.1 ± 1.8 | 2.8 ± 1.6 | 1.2 | 2.3 ± 1.8 | 1.6 ± 1.2 |        |  |
| ANOVA P-value            | .21          |           | .30       |           |     | .43       |           |        |  |
| 2nd panel                |              |           |           |           |     |           |           |        |  |
| Hypertensive (n=255)     | 252          | 3         | 212       | 39        | 4   | 251       | 4         |        |  |
| Normotensive (n=225)     | 214          | 11        | 187       | 36        | 2   | 215       | 10        |        |  |
| χ <sup>2</sup> statistic | 5.8          |           | .48       |           |     | 3.5       |           |        |  |
| P-value†                 | .026         |           | .79       |           |     | .10       |           |        |  |

\*Values are mean±SD.

†P-values for C-664G and T1766C genotypes are calculated with Fisher's exact test.

## Study of molecular genetics of salt sensitivity with reference to ethnic diversity

Norihiro Kato<sup>1</sup>, Toru Nabika<sup>2</sup>, Takao Sugiyama<sup>3</sup>, Yasuo Nara<sup>4</sup>, Yukio Yamori<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Teikyo University School of Medicine, <sup>2</sup>Shimane Medical University, <sup>3</sup>The Institute for Adult Diseases Asahi Life Foundation, <sup>4</sup>University of East Asia, <sup>5</sup>Kyoto University

“Salt sensitivity” could constitute candidate biological mechanisms underlying susceptibility for essential hypertension. In general, salt-sensitive people tend to develop hypertension more often than salt-resistant people; however, the incidence appears varied among different ethnic groups. We take notice of such ethnic diversity to unravel genetic aspects of salt-sensitivity. Although a large-scale database has to be constructed prior to comparing different ethnic groups, several points need to be considered; for example, how can the degree of salt-sensitivity be appropriately evaluated apart from blood pressure, and what kind of physiological components can be tested as potential genetic susceptibility.

In order to address these issues, we conducted preliminary investigations regarding salt sensitivity. First, several circulatory hormones were monitored in 7 healthy volunteers during the acute salt loading experiment, where 2-liter of saline solution was infused over 2-hour periods. Second, the distribution of principal circulatory hormones, such as the renin-angiotensin system, was examined in 102 healthy (normotensive) subjects to see whether they can be used as parameters reflecting salt sensitivity. Third, an extensive search for gene polymorphisms was carried out in the atrial natriuretic peptide locus (*ANP*), one of candidate genes for salt sensitivity.

Our results demonstrate that both hypertensive and normotensive hormones substantially changed during the acute salt loading. This observation should be taken into account when dissecting a complex genetic basis of salt sensitivity. Also a detailed exploration of individual hormone profile in the general population appears to be useful for the selection of phenotypic variables in a large-scale genetic analysis. (Study panels with 200-300 individuals are currently being or will be collected in Africans, Japanese, and Brazilians, respectively.) Five polymorphisms were detected in the *ANP* locus, and categorized into three classes based on the pattern of linkage disequilibrium. Association analyses were further performed between three selected *ANP* polymorphisms and plasma ANP levels or hypertension status, resulting in the lack of association.

It remains unknown whether or not genetic determinants of salt sensitivity actually contribute to the development of “essential” hypertension. However, it is very likely that findings on molecular genetics of salt sensitivity enable us to screen patients who will have the most benefit from salt reduction.