



Kobe University Repository : Kernel

タイトル Title	日本人Small-for-gestational age児におけるレニン・アンジオテンシン系遺伝子多型の関与の検討(Association Between Renin - Angiotensin Systems Gene Polymorphisms and Small-for-Gestational Age in a Japanese Population)
著者 Author(s)	藤岡, 一路 / 森岡, 一朗 / 長坂, 美和子 / 香田, 翼 / 松尾, 希世美 / 横田, 知之 / 柴田, 暁男 / 山田, 秀人 / 飯島, 一誠
掲載誌・巻号・ページ Citation	日本未熟児新生児学会雑誌 = Journal of Japan Society for Premature and Newborn Medicine,26 (1) :153-159
刊行日 Issue date	2014-02
資源タイプ Resource Type	Journal Article / 学術雑誌論文
版区分 Resource Version	publisher
権利 Rights	
DOI	
URL	http://www.lib.kobe-u.ac.jp/handle_kernel/90002548

Create Date: 2017-12-18



日本人 Small-for-gestational age 児における レニン・アンジオテンシン系遺伝子多型の関与の検討

*1 神戸大学医学部附属病院 周産母子センター, *2 神戸大学大学院 医学研究科 内科系学講座 小児科学分野

藤岡一路*1*2・森岡一朗*1*2・長坂美和子*2・香田 翼*2・松尾希世美*2
横田知之*2・柴田暁男*2・山田秀人*1・飯島一誠*1*2

Key Words : allele, genotype, angiotensinogen polymorphism, small-for-gestational age, renin-angiotensin system

要 旨

背景:近年, small-for-gestational age (SGA) は成人期の冠動脈疾患発症リスクが高いことが明らかとなっている。レニン・アンジオテンシン系 (RAS) は体液量, 電解質代謝に重要な役割を果たしており, RAS 遺伝子多型と冠動脈疾患発症リスクとの関連が広く知られている。しかし, RAS 遺伝子多型の SGA への関与については明らかではない。

対象・方法:神戸大学医学部附属病院周産母子センターに入院した新生児のうち, 出生体重が在胎週数の平均の発育より-1.5 SDを下回った児92例をSGA群, 在胎週数通りの発育を遂げた児101例をAGA群とした。奇形症候群, 染色体異常は除外した。2群間において, RAS 遺伝子多型を周産期背景因子と共に比較検討した。

結果:2群間の周産期背景因子は, 帝王切開, 妊娠高血圧症候群の割合, 母体年齢がSGA群で有意に高かった。RAS 遺伝子多型のアリル頻度は, ACE rs4340 (I/D), AGT rs699 (C>T), AGTRI rs5186 (A>C) で2群間に有意差を認めなかった。遺伝子型頻度は, AGT rs699のTT型がSGA群で有意に多かった。多変量解析の結果, AGT rs699のTT型はSGAの有意な危険因子であった。

結論:AGT rs699のTT型はSGAの発症に関与している可能性がある。

緒 言

周産期管理の進歩にもかかわらず, わが国では低出生体重児出生数が増加している¹⁾。その原因として, 子宮内胎児発育不全 (intrauterine growth restriction: IUGR) と, その結果生じる small-for-gestational age (SGA) 児の増加が大きな問題となっている²⁾。また, SGA 児は appropriate-for-gestational age (AGA) 児と比較すると, 新生児死亡率/罹病率, 後障害発生率が高いのみならず, メタボリックシンドロームをはじ

めとする成人期生活習慣病²⁾³⁾や冠動脈疾患発症⁴⁾⁵⁾のリスクが高いことが明らかになってきた。この原因として, 胎生期の劣悪な子宮内環境に対して発達中の胎児臓器が適応し, その適応が epigenetic な機序を介して生涯にわたって刻み込まれるという「胎児プログラミング」仮説が提唱され, 広く認知されつつある⁶⁾。一方, 冠動脈疾患発症のリスク因子としてレニン・アンジオテンシン系 (RAS) 遺伝子多型の関連が広く知られており^{7)~9)}, また, 特定の RAS 遺伝子多型が SGA の発症に強く関与する妊娠高血圧症候群と関連するという報告がある¹⁰⁾¹¹⁾。

レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系は血圧, 体液量, 電解質代謝, 組織障害などに大きく関与

別刷請求先: 〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-2
神戸大学医学部附属病院周産母子センター
小児科 森岡一朗

することが知られており¹²⁾、前述したようにその機能的遺伝子多型と高血圧罹患、心血管合併症との関連に関しては、多くの報告からその全容が解明されつつある⁷⁾。中でも、アンジオテンシンI変換酵素(angiotensin I converting enzyme: ACE) 遺伝子のイントロン16に存在する287bpの挿入(insertion:I)・欠失(deletion:D)多型であるACE rs4340 (I/D)¹³⁾、アンジオテンシノーゲン(angiotensinogen: AGT) 遺伝子のエクソン2のM235T (Met → Thr) 多型であるAGT rs699 (C>T)¹⁴⁾、アンジオテンシンII 1型受容体(angiotensin II type I receptor: AGTR1) 遺伝子の3'非翻訳領域のA1166C多型であるAGTR1 rs5186 (A>C)¹⁵⁾に関しては、冠動脈疾患発症との関連が強く示唆されている。

しかしながら、現在までSGA児においてRAS遺伝子多型を解析し冠動脈疾患発症リスクを検討した報告はない。今回我々は、SGA児における成人期冠動脈疾患発症リスクの上昇は、胎児の環境応答に起因する「胎児プログラミング」のみならず、SGA発症と冠動脈疾患発症に共通して関与する遺伝的素因が存在するとの仮説を立て、SGA児において冠動脈疾患リスク多型として既知のRAS遺伝子多型の解析を行った。

本研究の目的は日本人のSGA児においてRAS遺伝子多型が関与しているかを明らかにし、またそれが冠動脈疾患発症リスク多型と一致するかを確認することである。

対象・方法

2002年から2011年までの期間に神戸大学医学部附属病院周産母子センターに入院した母親から出生した日本人の新生児で、保護者の書面による同意を得られた193例を対象とした。在胎週数の決定は母の最終月経より計算し、妊娠初期の胎児超音波所見を参考に修正した。正確な在胎週数の決定が困難な未受診妊婦よりの出生児、奇形症候群、染色体異常は除外した。本研究は当院倫理委員会の承認のもと行った。

出生体重が日本人における在胎週数の平均の発育¹⁶⁾より-1.5 SDを下回った児92例をSGA群、在胎週数通りの発育を遂げた児101例をAGA群とした。仁志田らの指摘に基づき、新生児期の異常発生リスクの高い児を抽出する目的で、SGAを出生体重-1.5 SD未満と定義した^{17) 18)}。出生体重、出生体重のSD値、在胎週数、アプガースコア1分値、5分値、性別、多胎、切

迫早産、前期破水(破水後24時間以上経過してからの児娩出)、妊娠高血圧症候群(母体の妊娠中の収縮期血圧>140mmHgまたは拡張期血圧>90mmHg)、母体年齢、経産歴、母体喫煙、不妊治療の有無の各周産期データについて診療録を用いて後方視的に収集した。2群間において、周産期背景因子とRAS遺伝子多型(アリルと遺伝子型)の頻度を比較検討した。

統計学的検討は、2群の連続変数の比較にはMann-Whitney U-testを、2群の名義変数の比較にはFisherの直接確率計算法を用いて行い、多変量解析はJMP 8.0.2 (SAS Institute Japan, Tokyo)を用いてロジスティック回帰分析にて施行した。p値<0.05を有意差ありとした。

RAS 遺伝子多型解析

冠動脈疾患関連多型として過去に報告のあるACE rs4340 (I/D)、AGT rs699 (C>T)、AGTR1 rs5186 (A>C)を解析対象とした^{13)~15)}。

対象児の臍帯、臍帯血、頬粘膜を採取し、DNeasy Tissue Kit (Qiagen) またはQIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)を用いて、添付文書に従ってDNA抽出を行い、Polymerase Chain Reaction (PCR)の試料とした。各多型の多型部位を含むDNA断片を、Gene Amp[®] PCR Reagent Kit (Takara Bio) またはHot Star Taq Plus Master Mix Kit (Qiagen)を用いて、添付文書に従ってPCR法により増幅した。プライマーは各々既報をもとに設計した^{19)~21)}。ACE rs4340 (I/D)に関しては、アガロースゲル電気泳動によりPCR産物の塩基長を確認し遺伝子多型を決定した。そのうち、ACE-DDと判定されたものについてはACE-IDのミスタイピングの可能性が指摘されているため²²⁾、insertion allele特異的プライマーを用いてPCRを行い増幅されないことを確認した。AGT rs699 (C>T)に関しては、ABI PRISM[®] 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)を用いた直接シーケンス法により、AGTR1 rs5186 (A>C)に関しては、DdeIを用いた制限酵素断片長多型(Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP)法と直接シーケンス法により遺伝子多型の決定を行った。

表1 SGA群とAGA群の周産期背景因子の比較

	SGA, n=92	AGA, n=101	p値
出生体重 (g)	1,174 (430 ~ 2,504)	1,670 (574 ~ 4,028)	< 0.01
在胎週数	32 (24 ~ 39)	31 (23 ~ 41)	0.87
アプガースコア 1分	8 (1 ~ 10)	8 (0 ~ 10)	0.51
アプガースコア 5分	9 (3 ~ 10)	9 (0 ~ 10)	0.31
性別 (男児) (%)	58/92 (63.0)	50/101 (49.5)	0.06
多胎 (%)	22/92 (23.9)	23/101 (22.8)	0.85
帝王切開 (%)	83/92 (90.2)	74/101 (73.3)	< 0.01
切迫早産 (%)	26/92 (28.3)	34/101 (33.7)	0.42
前期破水 (%)	11/92 (12.0)	22/101 (21.8)	0.07
妊娠高血圧症候群 (%)	28/92 (30.4)	3/101 (3.0)	< 0.01
母体年齢	34 (18 ~ 47)	32 (19 ~ 47)	< 0.01
初産	45/92 (48.9)	46/101 (45.5)	0.64
母体喫煙 (%)	11/90 (12.2)	15/98 (15.3)	0.54
不妊治療 (%)	23/91 (25.3)	21/101 (20.8)	0.46

表2 SGA群とAGA群のRAS遺伝子多型アリル頻度の比較

	アリル	SGA, n=184	AGA, n=202	p値
ACE rs4340 (I/D)	I	124 (67.4%)	134 (66.3%)	0.83
	D	60 (32.6%)	68 (33.7%)	
AGT rs699 (C>T)	C	149 (81.0%)	163 (80.7%)	0.94
	T	35 (19.0%)	39 (19.3%)	
AGTRI rs5186 (A>C)	A	169 (91.8%)	188 (93.1%)	0.65
	C	15 (8.2%)	14 (6.9%)	

結 果

解析対象となったDNAの由来は各々、臍帯163例、臍帯血1例、頬粘膜29例であった。周産期背景因子に関して、在胎週数、アプガースコア1分/5分、性別、多胎、切迫早産、前期破水、経産歴、母体喫煙、不妊治療に2群間で有意差を認めなかった。SGA群ではAGA群と比較して、出生体重が有意に低く、帝王切開、妊娠高血圧症候群の割合、母体年齢が有意に高かった(表1)。

RAS遺伝子アリル頻度の比較では、ACE rs4340 (I/D)のDアリル頻度 (SGA群: 32.6% vs. AGA群 33.7%, $p=0.83$), AGT rs699 (C>T)のTアリル頻度 (19.0% vs. 19.3%, $p=0.94$), AGTRI rs5186 (A>C)のCアリル頻度 (8.2% vs. 6.9%, $p=0.65$)に有意差を認めなかった(表2)。

次に、RAS遺伝子型頻度の比較では、AGT rs699 (C>T)のTT型がSGA群で有意に高かった (4.3% vs.

0%, $p=0.03$)。ACE rs4340 (I/D), AGTRI rs5186 (A>C)の遺伝子型頻度に2群間で有意差を認めなかった(表3)。

続いて、単変量解析で2群間に有意差を認めた周産期背景因子である出生体重、帝王切開、妊娠高血圧症候群、母体年齢に、AGT rs699のTT型を加えてロジスティック回帰分析を行ったところ、妊娠高血圧症候群 ($p<0.0001$), 出生体重 ($p<0.001$), 母体年齢 ($p<0.01$), AGT rs699のTT型 ($p<0.01$)がSGAの有意な危険因子であった(表4)。

多変量解析の結果、妊娠高血圧症候群がSGAの圧倒的に有意な危険因子であったため、妊娠高血圧症候群の母体から出生した児31例を除いたサブグループ(SGA群: 64例とAGA群: 98例)においてAGT rs699のTT型の遺伝子型頻度を比較検討した。結果、AGT rs699のTT型の遺伝子型頻度はSGA群で有意に高かった (SGA群: 3/64 [4.7%] vs. AGA群: 0/98 [0%], $p=0.03$)。

表3 SGA群とAGA群のRAS遺伝子型頻度の比較

	遺伝子型	SGA, n=92	AGA, n=101	p値
ACE rs4340 (I/D)	II	38 (41.3%)	41 (40.6%)	0.92
	ID	48 (52.2%)	52 (51.5%)	0.92
	DD	6 (6.5%)	8 (7.9%)	0.71
AGT rs699 (C>T)	CC	61 (66.3%)	62 (61.4%)	0.48
	CT	27 (29.3%)	39 (38.6%)	0.18
	TT	4 (4.3%)	0 (0%)	0.03
AGTRI rs5186 (A>C)	AA	79 (85.9%)	87 (86.1%)	0.96
	AC	11 (12.0%)	14 (13.9%)	0.69
	CC	2 (2.2%)	0 (%)	0.14

表4 SGAの危険因子に関する多変量解析

	Likelihood ratio	Chi-square	p値
妊娠高血圧症候群	16.5		<0.0001
出生体重	12.1		<0.001
母体年齢	7.2		<0.01
AGT rs699 TT	7.0		<0.01
帝王切開	0.28		0.59

考 察

IUGR および SGA と関連する遺伝子多型としては、先天性血栓形成素因、サイトカイン、生体内毒素代謝酵素、代謝・成長因子、内分泌ホルモンなどが報告されている²³⁾。日本人においては、*CYP17* 遺伝子多型²⁴⁾、*catechol-O-methyltransferase (COMT)* 遺伝子多型²⁵⁾などが胎児発育不全に関与するとの報告がある。以前の検討で、我々は血管内皮増殖因子遺伝子多型の一つである *VEGF-634C>G* (rs2010963) の CC 型が日本人において SGA 発症の危険因子であることを報告した²⁶⁾。

RAS 遺伝子多型と IUGR および SGA 発症の関連については、胎児の *ACE* rs4340 の DD 型が IUGR 発症の危険因子であるとの英国からの報告²⁷⁾、胎児・母体の *AGT* rs699 の CC 型が IUGR 発症の危険因子であるとの米国からの報告²⁸⁾、胎児の *ACE* rs4340 の ID 型が IUGR 発症に関与するとのトルコからの報告²⁹⁾がある。また、正期産児において *AGT* rs699 (C>T)、*ACE* rs4340 (I/D) の遺伝子多型と出生体重の関連を検討したドイツからの報告では、胎児の *ACE* rs4340 (I/D) は出生体重に影響を及ぼさなかったものの、*AGT* rs699 の CC 型保持は CT 型または TT 型保持と比較し

て有意に低出生体重であった (3,288g vs. 3,435g, $P < 0.05$)³⁰⁾。

我々の調べた限り、日本人で複数の RAS 遺伝子多型と SGA 発症の関連について検討した報告はない。Nakamura らは、母体・胎児の *ACE* rs4340 (I/D) 遺伝子多型と出生時体格・SGA 発症との関連について検討し、母体が *ACE* rs4340 DD または ID 型を有する場合、II 型を有する場合と比較して有意に SGA 発症率が高いことを示した³¹⁾。我々の結果は、児の *AGT* rs699 の TT 型が日本人における SGA 発症の独立した危険因子であった。本結果と米国からの報告²⁸⁾が一致しない原因として、*AGT* rs699 遺伝子多型が血漿アンジオテンシノーゲン濃度に及ぼす影響は白人とアジア人では異なっていることが示されており、人種差による影響が推察される³²⁾。児の *ACE* rs4340 (I/D) 遺伝子多型は SGA 発症には関与しなかったが、これは前述の Nakamura らの結果と一致していた³¹⁾。

AGT rs699 (C>T) 多型は、アンジオテンシノーゲン遺伝子の発現に重要なコプロモーター領域の多型と強く連鎖し、遺伝子発現との関連が示唆されており、また *AGT* rs699 の C アリル保持者は血中アンジオテンシノーゲン濃度が高いとの報告もある^{33) 34)}。さらに、日本人において *AGT* rs699 の C アリルが妊娠高

血圧症候群の発症に関与することが指摘されている¹⁰⁾。以上の結果からは、我々の検討で明らかになった AGT rs699 の TT 型保持と SGA 発症の関連は、アンジオテンシノーゲン濃度の上昇や妊娠高血圧症候群を介した胎児発育障害とは別の機序である可能性が推察された。

AGT rs699 (C>T) 多型と成人期冠動脈疾患発症との関連に関しては、日本人において AGT rs699 の CC 型が冠動脈疾患³⁵⁾ や本態性高血圧症³⁶⁾ の有意な危険因子であるとの報告がなされており、AGT rs699 の TT 型が成人期冠動脈疾患発症に関与するとの報告は認められなかった。以上から、本検討においては SGA 発症と冠動脈疾患発症に共通して関与する遺伝的素因を同定することはできなかった。

本検討の問題点としては、母体の遺伝子多型解析を行っていないことから、母体の遺伝的素因が IUGR/SGA 発症に与える影響を除外できていない。また、本検討において母体年齢が胎児発育に影響を及ぼす可能性もある。しかしながら、以前も指摘したように²⁶⁾、SGA リスクとなる遺伝子多型は母体と胎児でほとんど一致しないことや、本検討において児の AGT rs699 の TT 型は妊娠高血圧症候群を除いても SGA の危険因子であったことから、AGT rs699 の TT 型は母体と独立して SGA と関連していると推測する。一方、SGA 群全体に占める AGT rs699 の TT 型頻度は低頻度であるため、SGA 児の主要な原因ではないことが示唆され、以前我々が報告した VEGF-634C>G の CC 型との相互関連性の有無が今後の検討課題である²⁶⁾。

結 論

AGT rs699 の TT 型は日本人における SGA 発症に関与している可能性が示唆された。

なお、本論文の内容の一部は第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会 (2012 年、於：埼玉県)、Asian Society for Paediatric Research 2013 (Kuching, Sarawak, Malaysia) において発表した。本研究は、文部科学省「組織的な大学院教育改革推進プログラム」(藤岡一路)、文部科学省科学研究費補助金 若手研究 B (藤岡一路、森岡一朗)、森永奉仕会研究奨励金 (藤岡一路) の助成により行われた。

すべての著者に日本未熟児新生児学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) Gluckman PD, Seng CY, Fukuoka H, et al. Low birthweight and subsequent obesity in Japan. *Lancet* 2007 ; 369 : 1081-1082.
- 2) 加部一彦. 子宮内発育遅延児の新生児管理. *産科と婦人科* 2008 ; 75 : 996-999.
- 3) 佐川典正. 胎児発育異常と胎児プログラミング説. *産科と婦人科* 2008 ; 75 : 945-950.
- 4) Crispi F, Figueras F, Cruz-Lemini M, et al. Cardiovascular programming in children born small for gestational age and relationship with prenatal signs of severity. *Am J Obstet Gynecol* 2012 ; 207 : 121 e1-9.
- 5) Bjarnegård N, Morsing E, Cinthio M, et al. Cardiovascular function in adulthood following intrauterine growth restriction with abnormal fetal blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013 ; 41 : 177-184.
- 6) 佐川典正. SGA と代謝異常 1 胎児プログラミング仮説. 藤枝憲二, 板橋家頭夫編. SGA 性低身長症のマネジメント. メディカルレビュー社, 大阪, 2009 ; 93-100.
- 7) 勝谷友宏, 森下竜一. 高血圧性臓器障害と心血管合併症の関連遺伝子. *血圧* 2009 ; 16 : 679-684.
- 8) 小池城司. 心血管における RAS の臨床応用 冠動脈攣縮と RAS-RAS 遺伝子多型一. *Angiotensin Research* 2004 ; 1 : 144-149.
- 9) Freitas AI, Mendonça I, Brión M, et al. RAS gene polymorphisms, classical risk factors and the advent of coronary artery disease in the Portuguese population. *BMC Cardiovasc Disord* 2008 ; 8 : 15.
- 10) Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet* 1993 ; 4 : 59-61.
- 11) Kobashi G, Hata A, Shido K, et al. Association of a variant of the angiotensinogen gene with pure type of hypertension in pregnancy in the Japanese : implication of a racial difference and significance of an age factor. *Am J Med Genet* 1999 ; 86 : 232-236.
- 12) 此下忠志, 牧野耕和, 山田実夏他. レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系. *血圧* 2012 ; 19 : 880-883.
- 13) Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 706-711.
- 14) Katsuya T, Koike G, Yee TW, et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995 ; 345 : 1600-1603.
- 15) Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type I receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994 ; 344 : 910-913.
- 16) 小川雄之亮, 岩村透, 栗谷典量他. 日本人の在胎別出生時体格基準値. *日新生児会誌* 1998 ; 34 : 624-632.
- 17) 仁志田博, 坂上正道, 倉智敬一. 日本人の胎児発育曲線 (出生時体格基準曲線). *日新生児会誌* 1984 ; 20 : 90-97.

- 18) Nishida H, Sakamoto S, Sakanoue M. New fetal growth curves for Japanese. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1985 ; 319 : 62-67.
- 19) Russ AP, Maerz W, Ruzicka V, et al. Rapid detection of the hypertension-associated Met235->Thr allele of the human angiotensinogen gene. *Hum Mol Genet* 1993 ; 2 : 609-610.
- 20) Bukreeva L, Grigorov A, Kieseewetter H, et al. Association of angiotensin-converting enzyme intron 16 insertion/deletion polymorphism with history of foetal loss. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2009 ; 10 : 237-240.
- 21) Miller JA, Thai K, Scholey JW. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and the response to hyperglycemia in early type 1 diabetes. *Diabetes* 2000 ; 49 : 1585-1589.
- 22) Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl* 1993 ; 3 : 120-121.
- 23) Yamada H, Sata F, Saijo Y, et al. Genetic factors in fetal growth restriction and miscarriage. *Semin Thromb Hemost* 2005 ; 31 : 334-345.
- 24) Yamada H, Sata F, Kato EH, et al. A polymorphism in the CYP17 gene and intrauterine fetal growth restriction. *Mol Hum Reprod* 2004 ; 10 : 49-53.
- 25) Sata F, Yamada H, Suzuki K, et al. Functional maternal catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenet Genomics* 2006 ; 16 : 775-781.
- 26) 藤岡一路, 森岡一朗, 長坂美和子他. 日本人 small-for-gestational age 児における血管内皮増殖因子遺伝子多型の関与の検討. *日未熟児新生児会誌* 2013 ; 25 : 231-236.
- 27) Uma R, Forsyth JS, Struthers AD, et al. Polymorphisms of the angiotensin converting enzyme gene in relation to intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010 ; 89 : 1197-1201.
- 28) Zhang XQ, Varner M, Dizon-Townson D, et al. A molecular variant of angiotensinogen is associated with idiopathic intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol* 2003 ; 101 : 237-242.
- 29) Akisu M, Balim Z, Cetin H, et al. The role of angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein-E gene polymorphisms on lipid compositions in newborn infants with intrauterine growth restriction. *Early Hum Dev* 2004 ; 78 : 95-103.
- 30) Schlemm L, Haumann HM, Ziegner M, et al. New evidence for the fetal insulin hypothesis : fetal angiotensinogen M235T polymorphism is associated with birth weight and elevated fetal total glycosylated hemoglobin at birth. *J Hypertens* 2010 ; 28 : 732-739.
- 31) Nakamura E, Okamoto T, Nagaya K, et al. Maternal deletion allele of Angiotensin-converting enzyme gene is associated with fetal growth restriction. *Pediatr Dev Pathol* 2012 ; 15 : 114-117.
- 32) Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease : a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 ; 23 : 1269-1275.
- 33) Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, et al. Molecular basis of human hypertension : role of angiotensinogen. *Cell* 1992 ; 71 : 169-180.
- 34) 安東克之, 藤田敏郎. RAS の病態生理 食塩感受性とレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系. *医のあゆみ* 2009 ; 228 : 417-420.
- 35) Cong ND, Hamaguchi K, Saikawa T, et al. A polymorphism of angiotensinogen gene codon 174 and coronary artery disease in Japanese subjects. *Am J Med Sci* 1998 ; 316 : 339-344.
- 36) Hata A, Namikawa C, Sasaki M, et al. Angiotensinogen as a risk factor for essential hypertension in Japan. *J Clin Invest* 1994 ; 93 : 1285-1287.

Association Between Renin-Angiotensin Systems Gene Polymorphisms and Small-for-Gestational Age
in a Japanese Population

*¹ Center for Perinatal Care, Kobe University Hospital

*² Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine

Kazumichi FUJIOKA *¹*², Ichiro MORIOKA *¹*², Miwako NAGASAKA *²

Tsubasa KODA *², Kiyomi MATSUO *², Tomoyuki YOKOTA *²

Akio SHIBATA *², Hideto YAMADA *¹, Kazumoto IJIMA *¹*²

Background : Small-for-gestational age (SGA) is a primary cause of perinatal morbidity and mortality, and increases the risk of adult onset cardiovascular disease. The renin-angiotensin system (RAS) plays a major role in maintaining vascular tone, optimal salt and water homeostasis in humans, and its genetic polymorphisms are well-established risk factors for cardiovascular disease in adult populations. Therefore, genetic polymorphisms in the *RAS* genes may contribute to the development of SGA.

Objective : To correlate *RAS* genetic polymorphisms with the risk of SGA.

Methods : Ninety-two newborns with SGA ($\leq -1.5SD$) and 101 newborns with appropriate-for-gestational age (AGA), who were admitted to Kobe University Hospital, were included. Newborns with congenital or chromosomal anomalies were excluded. *ACE* rs4340 (I/D), *AGT* rs699 (C>T), *AGTRI* rs5186 (A>C) were determined by restriction fragment length polymorphism or direct DNA sequencing. Allele and genotype frequencies in newborns with SGA were compared with those in newborns with AGA.

Results : There was no significant difference in the allele frequencies for *ACE* rs4340, *AGT* rs699, *AGTRI* rs5186 between SGA and AGA. Genotype frequencies of TT in *AGT* rs699 in newborns with SGA was significantly higher than those in newborns with AGA (SGA : 4.3% vs. AGA : 0%, $p=0.03$). Multivariate logistic regression showed that the TT genotype in *AGT* rs699 was an independent risk factor of SGA.

Conclusion : Carriers of the *AGT* rs699 TT genotype are at risk for developing SGA.