

平成 22 年度研究報告書

研究代表者

島根難病研究所老年医学研究部門

所属 島根大学医学部病態病理学

氏名 並河 徹

1. 研究テーマ

健診受診者を対象とする生活習慣病危険因子の探索

2. 研究者氏名

益田順一¹、山口修平²、塩飽邦憲³、濱野強⁴

3. 研究概要

(目的)生活習慣病とくに脳血管障害、動脈硬化、インスリン抵抗性、肥満、慢性腎臓病、認知機能障害をターゲットに、遺伝的危険因子を含めた種々の危険因子解明と予知予防法開発を行う。

(方法)

脳ドック受診者、職場健診受診者、地域における健康調査参加者のうち、同意の得られた者について、健診データと血液、DNA サンプルを、連結可能匿名化の後、保存する。上記疾患と遺伝子多型、医学的パラメータ、ソーシャルキャピタル、生活習慣など多層にわたる因子との関連を横断研究、患者対照研究、前向き研究の手法で明らかにする。また、島根大学疾病予知予防研究拠点の行う住民健康調査のデータと合わせて、共同研究を行う。研究計画は島根大学医学部倫理委員会で承認を得ている。

(結果)

今年度は主として以下の 4 項目を実施した。

- 1) 疾病予知予防研究拠点による健康調査の一環として、隠岐の島町および邑南町にておよそ 1000 名の参加を得てベースライン調査を行った。その中で、頸動脈の intima-media thickness (IMT)、心理療法士による認知機能検査をはじめ、多くの特殊検査を実施した。
- 2) 脳ドック受診者のサンプルを用いて、認知機能に関与する遺伝子多型の解析を実施した。
- 3) 予知予防研究拠点 Cohre コホートを用いて酸化ストレスレベルに関与する遺伝子多型について解析を実施した。
- 4) 同コホートを用いて、社会的要因が高血圧に及ぼす影響について解析を行った。以下、詳細に述べる。

¹ 島根大学医学部臨床検査医学講座

² 島根大学医学部内科学講座内科学第三

³ 島根大学医学部環境保健医学講座環境予防医学

⁴ 島根大学プロジェクト研究推進機構

1) 難病研究所の協力の下、隠岐の島町と邑南町にてベースライン調査を行い、約 1000 名の参加を得た。通常の検査項目、問診に加えて、IMT 測定、認知機能検査、血液サンプルを用いた small-dense LDL, remnant cholesterol, homocysteine, insulin, high-sensitive CRP, HbA1c, 赤血球膜の脂肪酸組成、骨代謝マーカーなどの特殊な検査を実施した。また追跡調査では、ソーシャルキャピタルに関する問診、呼吸機能測定を行った。これによって、予知予防研究拠点 Cohre コホートは約 4000 名分の規模となった。また、健康調査の結果については、地域ごとに報告会を実施し、その還元に努めた。調査によって得られたデータは統合し、個人情報を外してセキュリティーの高い形のデータベースにまとめ、研究者の利用が容易になるよう配慮した。

2) 脳ドック受診者約 1000 名について認知機能テスト WCST, FAB, 岡部式による認知機能、記憶力等に関する半定量的評価を実施し、これに影響する遺伝子多型の検索を行った。機能的側面から特に前頭葉の機能に影響を与えると期待されるドーパミン神経系の機能に関連する遺伝子を選び、それらの遺伝子内において、遺伝子機能に何らかの機能的変化を来すことが知られている 8 つの遺伝子多型について、その遺伝子型を 1000 名の対象者において調べた(右表)。遺伝子型の分布に異常は認められず、信頼のおけるデータを得ることができた。現在、この遺伝子多型のデータを用いて、認知機能に対して影響があるかどうか、遺伝子多型相互や他の環境因子などとの間で相互作用はないか、などについて解析中である。

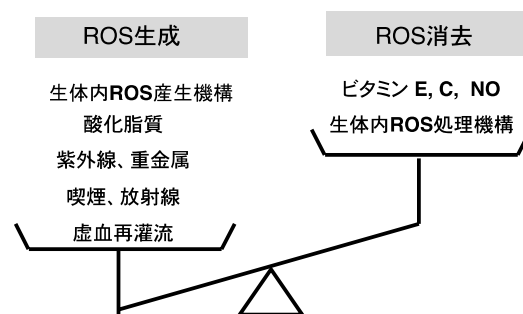
	正常 homo	hetero	多型 homo	Hardy-Weinberg expectations
COMT	478(49)	418(43)	80(8)	NS
DBH	685(70)	276(28)	15(2)	NS
BDNF	322(33)	474(49)	180(18)	NS
DRD2	870(89)	101(10)	5(1)	NS
DRD3	503(51)	407(42)	66(7)	NS
DRD4	351(36)	466(48)	159(16)	NS
DBH	685(70)	276(28)	15(2)	NS
SLC6A2	472(48)	302(31)	202(21)	

3) 酸化ストレス亢進とは、活性酸素種 (ROS) のようなラジカルの生成系と消去系のバランスが生成系の側に偏っている状態であり、がんや動脈硬化、腎疾患など多くの重篤な疾患の要因と考えられている(右図)

したがって、酸化ストレスのレベルに影響する遺伝子多型があれば、長期にわたって体内の酸化ストレスが高めに保たれることによって上記の

疾患にかかりやすくなる可能性が示唆される。そこで本研究では、酸化ストレスの生成に関与する遺伝子 *p22phox* や消去に関与する遺伝子である内皮型一酸化窒素合成酵素 (*eNOS*)、methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*)、paraoxonase 1 (*PON1*)、lipoprotein-associated phospholipase A2 (*Lp-PLA2*) の中に存在する遺伝子多型のうち、これらの酵素の機能に変化を起こすことが知られているもの 6 個について、酸化ストレスとの関連を検討した。予知予防研究拠点 Cohre コホート約 1100 名について、酸化ストレス

酸化ストレス
reactive oxygen speicies (ROS)の総量(全活性)



のマーカーとして尿中 isoprostane 濃度を測定し、このレベルに対して上記6つの遺伝子多型が影響するか否かを検討した。遺伝子型の頻度は右表のごとくなり、日本人でのこれまでのデータと大きな矛盾はなかった。

		K county	M county	p*
LpPLA2, G994T (rs16874954)	GG	467	253	0.6
	GT	185	119	
	TT	26	17	
	G	0.825	0.803	0.4
	T	0.175	0.197	
eNOS, T-786C (rs2070744)	TT	517	313	0.9
	CT	145	87	
	CC	11	4	
	T	0.876	0.882	0.9
	C	0.124	0.118	
MTHFR, C677T (rs1801133)	CC	184	112	0.7
	CT	345	221	
	TT	143	75	
	C	0.531	0.545	0.9
	T	0.469	0.455	
p22phox, C242T (rs4673)	CC	543	317	0.3
	CT	127	69	
	TT	6	0	
	C	0.897	0.911	0.6
	T	0.103	0.089	
PON1, Q192R (rs662)	RR	292	192	0.3
	QR	312	169	
	QQ	63	47	
	R	0.672	0.678	1.0
	Q	0.328	0.322	
PON1, T-107C (rs705379)	TT	212	130	0.8
	CT	318	183	
	CC	140	96	
	T	0.554	0.542	0.9
	C	0.446	0.458	

文献2より引用

遺伝子型の違いが尿中 isoprostane レベルに影響するかどうかを検討したところ、これらの6つの遺伝子多型の中に、それぞれ単独で isoprostane レベルに影響するものは見いだせなかった。

そこで、これらの遺伝子多型の組み合わせが影響を及ぼす可能性について、近年新たに開発された分析手法である GMDR 法を用いて検討した。

結果を下表に示す。2つの遺伝子多型 eNOS, MTHFR の組み合わせと、それに Lp-PLA2 の遺伝子多型を加えた組み合わせが統計学的に有意もしくは有意に近い効果を示すことが明らかとなった。

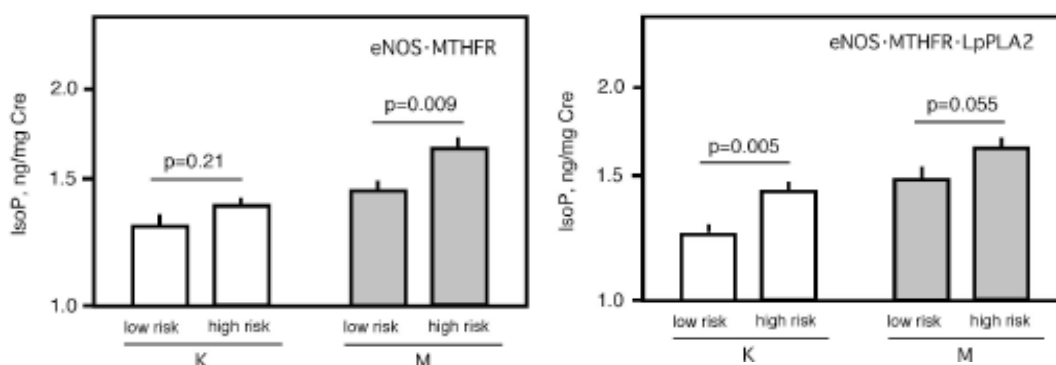
No. of SNPs combined	the best model	test accuracy	CVC	p
2	eNOS・MTHFR	0.548	8	0.033
3	LpPLA2・eNOS・MTHFR	0.538	8	0.076
4	LpPLA2・eNOS・MTHFR・PON1 Q192R	0.506	5	0.42
5	LpPLA2・eNOS・MTHFR・PON1 Q192R・PON1 T-107C	0.492	6	0.58
6	All	0.476	4	0.76

CVC: cross-validation consistency. P values were obtained through a permutation test (1000 times permutation).

文献2より引用

此の結果から、isoprostane レベルを上昇させる遺伝子型と下降させる遺伝子型の2つに分けてその効果をみたところ、下図にしめすように、いずれも上昇させる遺伝子型の組み

合わせを有する群で isoprostane レベルが有意に高いかもしくは高い傾向にあった。このことから、複数の遺伝子多型の組み合わせが酸化ストレスレベルに影響を与える可能性が示唆された。



文献2より引用

- 4) 遺伝要因や食事などの環境要因と並んで、対人関係、ストレスなどの社会的要因は生活習慣病発症に重要な役割を果たしていると考えられるが、これまでそれを実証する研究はほとんど無かった。われわれは、予知予防研究拠点 Cohre コホートのデータを用いて、ある地域を特徴づける社会的要因がその地域に住む個人の血圧に影響するか否かを検討した。アンケート調査で「人は周囲にいる他の人を利用している」という考えを持っている人の割合を地域ごとに算出し、その割合が高い地域と低い地域でそこに居住する個々人の血圧に差があるか否かについて、多変量解析の手法で検討したところ、このような考え方が優位な地域ほど血圧が高くなることが明らかとなった ($p < 0.02$)。これに対して、「近所の人は信用できるか否か」「近所の人は困っているとき助けになってくれるか否か」についての回答の比率は、血圧に優位な影響を及ぼさなかった。この結果は、ある地域における人間関係が個々人の血圧に影響を与える重要な要素である可能性を示唆している。(考察)

予知予防研究拠点を中心とした地域健康調査が進展するに従って、多くの情報を有するサンプルの収集が進み、生活習慣病の予知予防研究に有用な独自性のあるプラットフォームとなりつつある。特に、IMT や呼吸機能、認知機能検査など手間のかかる検査項目があること、ソーシャルキャピタル研究のための項目を含んでいることが有用性を高めている。また、これと連動して、脳ドック受診者のサンプルも継続して収集しており、5000 名近くの規模となっている。

これらのプラットフォームを利用した学術的成果も出始めている。遺伝子解析では認知機能、酸化ストレスに関連する遺伝子多型の解析を進めているところである。また、社会的要因としてのソーシャルキャピタル研究は国内で取り組んでいる施設は少なく、本研究がリードしている状況である。

高血圧や脳梗塞などは生活習慣病に分類されるが、その発症機序には複数の遺伝素因と環境因子が複雑にからみあっていると考えられる。実際の医療や予防の現場に役立つような成果を得るためには、良質な情報を持つさらに大規模なコホート集団を確立する必要があると考える。

(結語)

難病研究所の健診活動の中から、受診者の協力のもとに得られたサンプルを用いて生活習慣病の予知予防研究に有用な研究リソースを確立し、これを利用して興味深い学術的成果を挙げる事ができた。

4. 文献

- 1) Hamano T, Fujisawa Y, Yamasaki M, Ito K, Nabika T, Shiwaku K. Contributions of social context to blood pressure: findings from a multilevel analysis of social capital and systolic blood pressure. *Am J Hypertens* 2011;24:643-646.
- 2) Suyama Y, Matsuda C, Isomura M, Hamano T, Karino K, Yamasaki M, Yamaguchi S, Shiwaku K, Masuda J, Nabika T. Effects of six functional SNPs on the urinary 8-isoprostane level in a general Japanese population; Shimane COHRE Study. *Disease Markers* 2011;30:in press.