

令和元年6月24日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K01712

研究課題名(和文)喫煙による健康障害機序の解明 - 「老化・炎症」からの検討 -

研究課題名(英文)Molecular mechanism of smoking-related health damage

研究代表者

瀧原 圭子 (Takahara, Keiko)

大阪大学・キャンパスライフ健康支援センター・教授

研究者番号：70252640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：老化遺伝子であるKlothoに対する喫煙の影響についての検討を行い、喫煙による老化促進や健康障害の分子メカニズムを明らかにした。男性喫煙者では喫煙による炎症性ストレスに対して、代償的に抗炎症作用をもつa-KlothoやFGF21、IL-6が上昇しているが、女性喫煙者ではa-Klothoが非喫煙者より低値であることより、Klotho関連分子に対する喫煙の影響には性差があることを初めて明らかにした。さらに、生活習慣によるストレス、たとえば睡眠不足や精神的ストレスを自覚している場合にもa-Klothoが上昇することを初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喫煙をはじめとしたライフスタイルの変化が、老化・炎症という観点からメタボリックシンドローム発症リスク因子としてどのような意義をもつのかを科学的に明らかにすることにより、生活習慣病予防へとつながるライフスタイルの改善に向けた新たな予防法・生活指導法を確立することが可能となる。また、睡眠やストレスがいかにして生活習慣病発症に関わるのかについて、男女の違いを明らかにすることにより、男女別の予防法や生活指導法を確立することが可能となる。

研究成果の概要(英文)：Smoking is considered as an environmental aging accelerator. In the present study, we focused on the influence of smoking to the serum concentration of anti-aging protein a-klotho and the b-klotho-associated protein, fibroblast growth factor (FGF)-21. Serum levels of FGF-21, a-klotho, and inflammation-related cytokine IL-6 were significantly higher in smokers than in never-smokers in male subjects. However, in female subjects, a-klotho levels were slightly lower in smokers than in never-smokers. Klotho-related molecules showed a differential association and response to smoking between men and women.

We further focused on the serum levels of a-klotho as a possible objective biomarker of stress. Among male subjects, a-klotho was significantly elevated who had poor stress management and unsatisfactory sleep, suggesting that stress management influenced the serum levels of a-klotho.

研究分野：一般内科学、循環器内科学

キーワード：喫煙 生活習慣病 慢性炎症 老化 睡眠

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病のリスクファクターとして高血圧症、脂質異常症、糖尿病等が指摘されているが、癌を含む全死亡に占める死亡リスクとしては喫煙が一番高い。喫煙関連疾患による推計死者数は今後益々増加し、WHOによれば2020年度には800万人/年になると推計されている。筆者らは平成24-26年度科学研究費 基盤研究(C)において、喫煙の動脈硬化進展への関与について検討を行い、喫煙者は高感度CRPやIL-6が高く、過去喫煙者においてもこれらが高い傾向にあり、炎症が遷延している可能性を示唆した (*Circ J* **76**: 2884, 2012)。また、喫煙による健康障害の性差についても検討を加え、女性喫煙者では内臓脂肪面積が有意に大きくなっていることを初めて明らかにした (*Circ J* **78**: 1259, 2014)。

本研究では健康人のさまざまなライフスタイル(喫煙、睡眠、食習慣、ストレス等)に注目し、その中でも特に老化遺伝子である *Klotho* 遺伝子に対する喫煙の影響についての検討を行い、喫煙による老化の促進や健康障害の分子メカニズムを明らかにすることを試みた。*Klotho* ホモログである β -*Klotho* は、コレステロール・胆汁酸代謝を制御するといわれており、メタボリックシンドロームとの関連についても近年注目されている。*Klotho* と協同して代謝調節作用をもつ繊維芽細胞増殖因子(FGF) 19やFGF21、FGF23とメタボリックシンドロームリスク因子や喫煙をはじめとしたライフスタイルとの関連性、さらには慢性炎症や組織修復に関わる成長因子の動態を明らかにした報告はこれまでにない。

また、慢性腎臓病(CKD)が生活習慣病ときわめて深い関係を持つことが注目されているが、睡眠時間が蛋白尿と関係することを、筆者らは初めて明らかにした(*Am J of Kidney Dis* **59**:343, 2012)。睡眠時間の短縮は現代人にとり深刻な健康問題の一つであり、本研究において老化・炎症という観点から睡眠の関与についても検討を加えた。

2. 研究の目的

喫煙をはじめとしたライフスタイルの変化が、老化・炎症という観点からメタボリックシンドローム発症リスク因子としてどのような意義をもつのかを明らかにし、生活習慣病予防へとつながるライフスタイルの改善に向けた新たな予防法・生活指導法を確立することを目的とする。また、睡眠やストレスがいかにして生活習慣病発症に関わるのか、その影響に男女差はあるのか、その分子メカニズムを明らかにし、現代人の持つさまざまなストレスを科学的に解明することを目的とする。

3. 研究の方法

大阪大学キャンパスライフ健康支援センターでの過去8年間におよぶ職員定期健康診断データおよび問診表・生活習慣アンケートをもとに、それぞれの受検者の健診データの変遷につき解析を行った。また、同時に得られたさまざまなサイトカインや*Klotho* および*Klotho* ファミリー分子の血中レベルを喫煙者・非喫煙者で比較検討するとともに男女別に解析し、生活習慣、メタボリックシンドロームリスク因子との関係を明らかにした。

尚、本研究は前述の基盤研究により実施した臨床研究をさらに学際的・発展的に展開したものであり、すでに当センターおよび関連部局である医学研究科研究倫理委員会に審査を申請し、承認を得ている。定期健康診断の受付時に問診票の使用および余剰血液を用いたサイトカインの測定に関して文書にて説明を行い、同意が得られた参加者のみを対象とした。

4. 研究成果

まず最初に喫煙と老化の関係に注目し、老化遺伝子である *Klotho* に対する喫煙の影響について検討を行い、喫煙による老化の促進や健康障害の分子メカニズムを明らかにした。喫煙男性 40 名、非喫煙男性 40 名を対象とし、血中各種サイトカイン、 α -*Klotho*、FGF-19、FGF-21 を測定し比較検討した。喫煙者では非喫煙者と比較して、FGF-21、 α -*Klotho*、IL-6 が有意に高く、また FGF-21 はアディポネクチンと負の相関を示し、 α -*Klotho* は IL-6 と正の相関を示した。

喫煙者では FGF-21 が肝機能、コレステロール値と相関を認め、喫煙者の FGF-21 上昇は代謝異常促進を予見していると考えられた。また α -*Klotho* と IL-6 の相関関係は非喫煙者のみに認められ、IL-6 上昇に対応した α -*Klotho* の抗炎症作用は喫煙ストレスにより減弱化されている可能性が示唆された（図 1）。喫煙は FGF-21 やアディポネクチンを介して代謝性疾患のリスクになるとともに、IL-6 や α -*Klotho* を介して炎症の遷延化をきたし、老化・加齢性疾患のリスクとなることが明らかとなった。また EGFR、PLGF、FGF、VEGF、TGF α 等の growth factor は α -*Klotho* と負の相関を示した（図 2）。

かねてより喫煙による健康障害が女性で大きく、脳血管障害や虚血性心疾患に対する喫煙のリスクにおいて、男性に比較して女性で高いことが知られている。喫煙による健康障害における性差の基盤となる分子メカニズムの解明を目指し、喫煙による老化の促進や健康障害について男女での比較検討を行なった。喫煙女性 70 名、非喫煙女性 70 名を対象とし男性と同様に血中各種サイトカイン、 α -*Klotho*、FGF-19、FGF-21 を測定し、男性の結果と比較した。女性喫煙者では IL-6 と FGF-21 は有意に高値であったが、 α -*Klotho* の上昇は認めず、IL-6 との相関も認められなかった。つまり、男性で観察されるように喫煙による炎症性ストレスに対して、代償的に抗炎症作用をもつ α -*Klotho* が女性喫煙者では上昇していないことが明らかとなった。

Klotho 関連分子に対する喫煙の影響には性差があることを初めて明らかにした。

次に、*Klotho* 関連分子が喫煙だけでなくさまざまな生活習慣におけるストレスに対して、指標となる可能性について発展的に研究をすすめた。まず睡眠時間との関連につき検討を加えた。 α -*Klotho* 値を睡眠時間 4 時間以下、4-6 時間、6 時間以上で比較すると、4 時間以下の睡眠で α -*Klotho* が有意に高く、3 群間に有意差を認めた。また生活習慣の中で睡眠不足や精神的ストレスを自覚している場合にも男性では α -*Klotho* が上昇することが明らかとなった（図 3）。しかしながら、女性ではストレス強度と α -*Klotho* には相関関係は観察されなかった。喫煙と同様に、ストレスに対しても α -*Klotho* の反応性に性差があることが明らかとなった。また、40-60 歳代の男性においてストレス管理できていないと感じている場合、睡眠により休養がとれていないと感じている場合に α -*Klotho* が上昇すること、Kessler Screening Scale for Psychological Distress (K6) スコアと同じ傾向を示すことを初めて明らかにし、ストレスのバイオマーカーとして α -*Klotho* が有用である可能性を示唆した。

喫煙は女性において男性以上の健康障害をもたらす危険性が高い可能性がある。若い女性の喫煙者の増加は個人の喫煙年数が長期化することが考えられ、より健康障害が重篤となることも示唆される。これらの健康障害の多くは禁煙を行うことで改善することも明らかにされており、特に若年女性喫煙者の増加が社会的問題となっている現在、積極的に女性の喫煙についての注意喚起や禁煙推進プログラムを進めていくべきであると考えられる。

本研究成果は、生活習慣病予防へとつながるライフスタイル改善に向けての指導において、男女別に予防法・生活指導法を確立する必要性を初めて明確にし、男女それぞれにおける個別の禁煙指導法の重要性を示した。

図1 男性における血中 α -KlothoとIL-6の相関

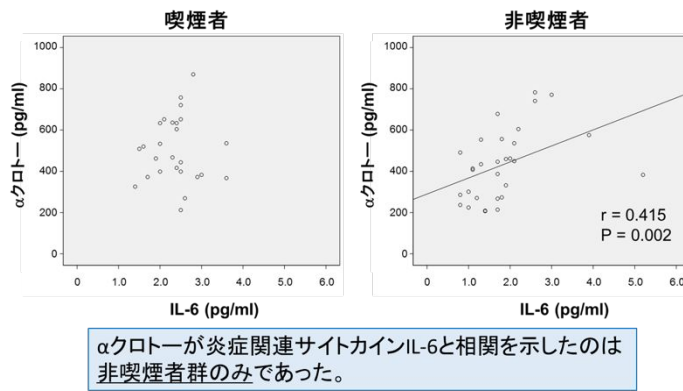


図2 喫煙による老化促進の分子メカニズム

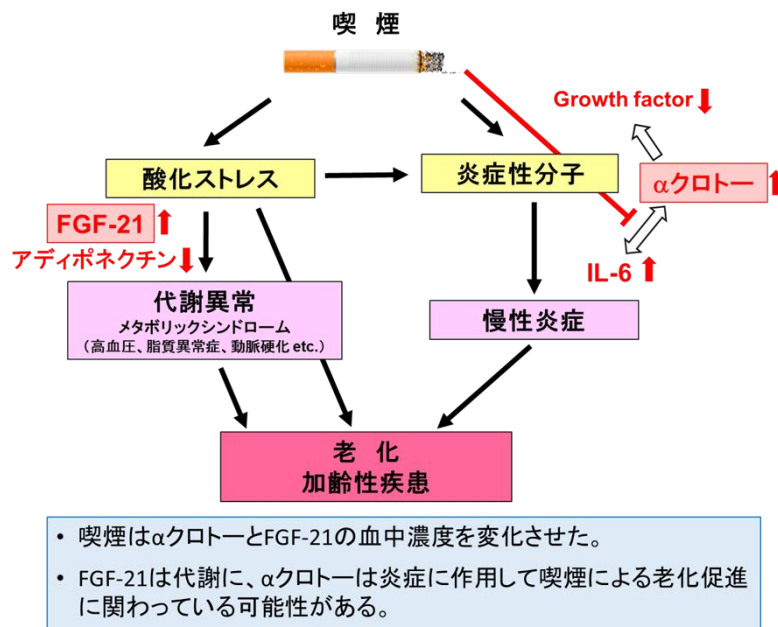
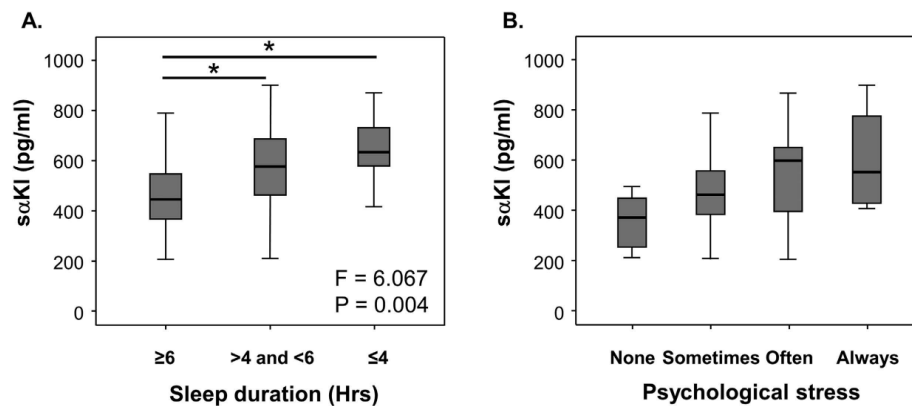


図3 睡眠時間とストレスの変化と α -Klotho



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計15件)

1) K. Nakanishi, M. Nishida, M. Taneike, R. Yamamoto, H. Adachi, T. Moriyama, K. Yamauchi-Takahara. An implication of alpha-Klotho as the predictive factor of stress: A cross-sectional study. *J Invest Med* 2019 (in press) 査読あり

2) K. Nakanishi, M. Nishida, R. Yamamoto, M. Koseki, T. Moriyama, K. Yamauchi-Takahara. An

- implication of Klotho-related molecules in different smoking-related health outcomes between men and women. *Clin Chim Acta* **476**:44-48, 2018. doi:10.1016/j.cca.2017.11.007. 査読あり
- 3) T. Fujii, T. Matsuyama, J. Takeuchi, M. Hara, T. Kitamura, K. Yamauchi-Takahara. Women among first authors in Japanese cardiovascular journal: An observational study. *Int Heart J* **59**:372-377, 2018. doi:10.1536/ihj.17-187. 査読あり
 - 4) 瀧原圭子 . 受動喫煙の危険性を識る. *Therapeutic Research* 39:839-840(2018) 査読なし
 - 5) 瀧原圭子 . 喫煙と老化 - そのメカニズムに迫る -. *Therapeutic Research* 38:835-836 (2017) 査読なし
 - 6) K. Nakanishi, M. Nishida, R. Yamamoto, M. Koseki, T. Moriyama, K. Yamauchi-Takahara. Association between N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adiponectin in healthy Japanese men. *Clin Chim Acta* **460**:138-141, 2016. doi:10.1016/j.cca.2016.06.029. 査読あり
 - 7) Yamauchi-Takahara K. Is it possible to predict the onset of "Heart Failure" in hypertrophic cardiomyopathy? *Circ J.* **80**:67-68, 2016. doi:10.1253/circj.CJ-15-1234. 査読あり
 - 8) 瀧原圭子 : 第 80 回日本循環器学会学術集会レポート 循環器疾患における性差医療 医学のあゆみ 257:1196-1198(2016) 査読なし
 - 9) 足立由美、水田一郎、(7)、守山敏樹、瀧原圭子 . 新入生健診におけるメンタルヘルスチェック尺度の年次比較 - 3 年間の性別、学部別分析 - *CAMPUS HEALTH* 53:149-154(2016) 査読あり
 - 10) 西田 誠、中西香織、瀧原圭子 . 喫煙と老化 . *循環器専門医* 24:295-299 (2016) 査読なし
 - 11) N. Kawada, K. Nakanishi, T. Ohama, M. Nishida, K. Yamauchi-Takahara, T. Moriyama. Gender differences in the relationship between blood pressure and body mass index during adolescence. *Obes Res Clin Pract* **9**:141-151, 2015. doi:10.1016/j.orcp.2014.07.001. 査読あり
 - 12) K. Nakanishi, M. Nishida, M. Harada, T. Ohama, N. Kawada, M. Murakami, T. Moriyama, K. Yamauchi-Takahara. Klotho-related molecules upregulated by smoking habit in apparently healthy men: A cross-sectional study. *Sci Rep* **5**:14230, 2015. doi:10.1038/srep14230. 査読あり
 - 13) 瀧原圭子 . 虚血性心疾患 : 性差医療の最前線. *日本臨床* 73:625-628: (2015) 査読なし
 - 14) 西田 誠、瀧原圭子 . 肥満と深部静脈血栓症 *循環器内科* 77: 530-535 (2015) 査読なし
 - 15) 足立由美、水田一郎、(6)、守山敏樹、瀧原圭子 . 新入生健診におけるメンタルヘルスチェック尺度の検討 - UPI、K6、レジリエンス尺度の比較 - *CAMPUS HEALTH* 52:149-154, 2015. 査読あり

〔学会発表〕(計 20 件)

- 1) M. Nishida, K. Nakanishi, T. Moriyama, K. Yamauchi-Takahara. Sex-differential association of Klotho-related molecules with smoking-related health risks. 第 83 回日本循環器学会学術集会 (2019 年 3 月、横浜)
- 2) K. Yamauchi-Takahara. Sex Differences of Klotho-related Molecules in Smoking-related Health Damage. 第82回日本循環器学会学術集会 シンポジウム (2018年 3 月、大阪)
- 3) K. Nakanishi, M. Nishida, K. Yamauchi-Takahara. Serum soluble a-klotho levels were elevated in male smokers but not in female smokers. 第 82 回日本循環器学会学術集会(2018 年 3 月、大阪)
- 4) 瀧原圭子 . 喫煙による健康障害における性差. 第50回日本動脈硬化学会学術集会 (2018年 7 月、大阪)
- 5) 鶴飼朱美、山本陵平、(8)、西田誠、瀧原圭子、守山敏樹 . 飲酒による高血圧発症リスクは性別と BMI により異なる . 第 56 回全国大学保健管理研究集会 (2018 年 10 月、東京)
- 6) Nishida M, Nakanishi K, Koseki M, Yamauchi-Takahara K. Association of cardiovascular risk factor sand life style with the changes of waist circumference -1-years follow up- 第 81 回日本循環器学会学術集会 (2017 年 3 月、金沢)
- 7) K. Nakanishi, M. Nishida, R. Yamamoto, M. Koseki, T. Moriyama, K. Yamauchi-Takahara. Sex Differences of Klotho-related Molecules in Smoking-related Health Damage. The 8th Congress of the International Society for Gender Medicine. (September 2017, Sendai)
- 8) 山本陵平、(10)、瀧原圭子、守山敏樹 . 医歯薬学部学生における麻疹、風疹、水痘、流行性耳下腺炎、B型肝炎ワクチンの有効性 . 第55回全国大学保健管理研究集会(2017年11月、沖縄)
- 9) 川村淳子、足立浩祥、(10)、瀧原圭子、工藤 喬、守山敏樹 . ストレスチェック開始後一年間の取り組みのまとめと現状報告 . 第55回全国大学保健管理研究集会 (2017年11月、沖縄)
- 10) M. Koseki, K. Yamauchi-Takahara, Y. Sakata. The molecular link between atherosclerosis and non-alcoholic steatohepatitis. 第 34 回国際心臓研究学会日本部会 (平成 29 年 12 月、大阪)
- 11) M. Nishida, K. Nakanishi, M. Koseki, K. Takihara. Smoking affects the associations of Klotho-related molecules, FGF- 21 and Klotho, with metabolic disorders and anti- inflammatory Network. 第80回日本循環器学会学術集会 (2016年3月、仙台)

- 12) Nakanishi K, Nishida M, Moriyama T, Yamauchi-Takahara K. Smoking upregulates the serum levels of Klotho-related molecules 米国胸部学会議 (ATS2016) (2016年5月、サンフランシスコ)
- 13) 石山奈緒美、梅野有希、(9)、西田 誠、守山敏樹、瀧原圭子 . 大学内全面禁煙に向けての取り組みと、その効果について . 第54回全国大学保健管理研究集会 (2016年10月、大阪)
- 14) 梅野有希、西田 誠、(6)、守山敏樹、瀧原圭子 . 10年間のBMI・腹囲増減に伴う健康障害と生活習慣の関連 . 第54回全国大学保健管理研究集会 (2016年10月、大阪)
- 15) 村井 教子、山本陵平、(11)、守山敏樹、瀧原圭子 . 夜間業務頻度と蛋白尿 第54回全国大学保健管理研究集会 (2016年10月、大阪)
- 16) Nakanishi K, Nishida M, Koseki M, Yamauchi-Takahara K. The association between N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adiponectin in healthy subjects. 第33回国際心臓研究学会日本部会 (平成 28 年 12 月、東京)
- 17) 中西香織、西田 誠、瀧原圭子 . 喫煙による老化促進におけるクロトー関連分子の関与について . 第 20 回日本適応医学会学術集会 (平成 28 年 12 月、東京)
- 18) 瀧原圭子 . 喫煙を科学する . 第 4 回禁煙治療研究会 (平成27年5月、京都)
- 19) 石山奈緒美、(10)、西田 誠、守山敏樹、瀧原圭子 . 大学内全面禁煙に向けての取り組みと、その効果について . 第 53 回全国大学保健管理研究集会 (平成 27 年 9 月、盛岡)
- 20) 山本陵平、守山敏樹、(5)、西田誠、水田一郎、工藤喬、瀧原圭子 . ジュース摂取量は蛋白尿の予測因子である . 第53回全国大学保健管理研究集会 (平成27年9月、盛岡)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。