

機関番号：84305

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19590617

研究課題名（和文）地域を基礎とした糖尿病性腎症の分子予防医学的研究

研究課題名（英文）Community-based molecular preventive study on diabetic nephropathy

研究代表者 坂根 直樹 (SAKANE NAOKI)

独立行政法人国立病院機構（京都医療センター臨床研究センター）・

臨床研究企画運営部・研究室長（予防医学）

研究者番号：40335443

研究成果の概要（和文）：モデル地域における慢性腎臓病（CKD）の頻度は 26.9%で、日本人の平均 18.7%より高く、年齢・性・ACE 遺伝子多型と独立して、BMI が腎機能とを関連していた。糖尿病性腎症では超悪玉コレステロール（sdLDL）の増加がみられるが、 β 3-アドレナリン受容体などいくつかの多型が sdLDL 産生と関連していた。家族や地域を巻き込んだ減塩教育により、血圧と尿中微量アルブミンは有意に低下した。糖尿病性腎症の早期発見と予防が重要であることを示している。

研究成果の概要（英文）：The prevalence of chronic kidney disease (CKD) was 26.9% in the model community and higher than average (18.7%) for Japanese. The body mass index was associated with estimated GFR independent of age, gender, and ACE polymorphism. Several polymorphisms such as beta3-adrenoceptor were associated with the production of small dense LDL, which shows a high prevalence in diabetic nephropathy. A dietary salt reduction program using family and community support significantly decreased the blood pressure and urine albuminuria. These findings suggest that the early detection and prevention of diabetic nephropathy is important.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：糖尿病、分子疫学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：糖尿病、腎症、慢性腎臓病、遺伝子多型、介入

1. 研究開始当初の背景

わが国でも食生活やライフスタイルの近代化と高齢化に伴い、糖尿病をはじめとする生活習慣病が急増している。2002 年の糖尿病

実態調査によると、推定糖尿病患者数は 740 万名であり、5 年前の 1997 年の 690 名に比べ大幅に増加している。特に、ここ 5 年間の糖尿病にかかる医療費の伸び率はがんや心臓

病を超えて第1位である。その原因として、糖尿病による透析導入者数の増加があげられる。糖尿病性腎症のために透析導入を余儀なくされる患者数は年々増加しており、2002年には年間12,630名の糖尿病患者が透析療法を開始されている。同年の全透析導入患者32,637名の39.1%を糖尿病が占めるほどになった。糖尿病性腎症は慢性糸球体腎炎や嚢胞腎に比べ明らかに予後が不良である(5年生存率約50%)。また、糖尿病性腎症と腎硬化症はほぼ同等の生存率であるが、透析導入時の平均年齢が腎硬化症の71.6歳に対し、糖尿病性腎症は63.4歳と約8歳低く、糖尿病性腎症の予後は実質的に不良と考えられる。透析療法にかかる医療費は1人あたり年間500万円以上であり、市町村の財政を圧迫している。以上のことから、本邦において糖尿病性腎症に対する効果的な予防プログラムの開発が急務と考えられる。

2. 研究の目的

糖尿病や糖尿病性腎症の発症や進展には遺伝、食事及び炎症(酸化ストレスを含む)などが複雑に関与している。特に、糖尿病性腎症では体内で酸化されやすい、いわゆる超悪玉コレステロールであるsmall dense LDL(sdLDL)が増加していることが報告されている。そこで、糖尿病性腎症や慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease; CKD)に関連する遺伝と環境(生活習慣など)の相互作用について解析し、さらに地域を基盤とした糖尿病性腎症予防を目指した対策を確立することを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

1) モデル地域におけるCKDの割合と肥満、ACE遺伝子多型の関係

モデル地域は糖尿病により標準化死亡率(SMR)が高い地域とした。成人男女401名(平均年齢63歳±14歳、男性187名、女性214名)について、健康診断や医療機関の外来にて身体組成・血液検査・尿検査、生活習慣調査などのベースラインデータを収集した。その中で、血液・尿所見が不備な者を除いた394名を慢性腎臓病(CKD)の解析に用いた。口腔粘膜より検体を採取し、DNAを抽出した287名について、腎症との関連が報告されているアンジオテンシン変換酵素(ACE)の遺伝子多型(I/D)をfluorescent allele-specific DNA primer assay systemを用いて判定した。

2) エクオール産生がBMI、レプチン、高感度CRPに与える影響

本邦における多目的コホート研究から、食事から摂取される大豆イソフラボンが脳梗塞・心筋梗塞の発症および死亡リスクを低減させることが報告されている。しかしながら、

そのメカニズムについては不明な点が多かった。また、腸内細菌叢の違いによりダイゼインをエクオールに変換できる者(エクオール産生者)とできない者(非産生者)がおり、大豆イソフラボンの骨密度に対する効果が異なることも報告されている。そこで、今回我々はエクオール産生者のBMI、レプチン、高感度CRPに与える影響について検討した。対象は成人男女244名(平均年齢65歳、男性112名、女性132名)である。血中レプチン濃度、高感度CRPはEIA法で測定した。早朝空腹時尿でHPLC法を用いてゲニステイン、ダイゼイン、エクオール等を測定した。食生活についてはアンケート調査で摂取頻度を用いて調査した。

3) 糖尿病性腎症の発症や進展に関わる遺伝と環境因子の検討

対象は成人男女365名(平均年齢63±14歳;男性170名、女性195名)である。脂質改善薬服用している者は本研究から除外した。アディポネクチン濃度はELIAキットを用いて測定した。アディポネクチン遺伝子の多型(SNP-11377, SNP45, SNP164, SNP276)、時計遺伝子多型(3111T/C)はfluorescent allele-specific DNA primer assay systemで判定した。リポプリントシステムを用いてsdLDLとLDL-コレステロールの粒子サイズを測定した。

4) 家族や地域を巻き込んだ食事介入

モデル地域における糖尿病性腎症のスクリーニング調査で抽出された微量アルブミン尿を有する37名(平均年齢73±9歳;男性20名、女性16歳)を食事介入群と対照群の2群に分け、3か月間を追跡した。食事介入群では家族や地域を巻き込んだ減塩と減量を目指した食事介入を行った。

4. 研究成果

1) モデル地域におけるCKDの割合と肥満、ACE遺伝子多型の関係

モデル地域におけるCKDの割合は26.9%で、日本人の平均18.7%より高かった。ステージ別の分類ではStage 1(GFR>90) 9.1%, Stage 2(GFR: 60-89) 64.0%, Stage 3(GFR: 30-59) 26.1%, Stage 4(GFR: 15-29) 0.8%, Stage 5(GFR<15) 0.0%であった。ACEのII型130名、ID型111名、DD型46名で、Dアレルの頻度は0.35で、Hardy-Weinbergの法則に従っていた。3群間で、年齢、性、BMI、収縮期血圧、拡張期血圧、血糖、HbA1c、総コレステロール、HDL-コレステロール、血清クレアチニン値、尿中微量アルブミン等には有意差を認めなかった。重回帰分析では、年齢、性、血圧、ACEの遺伝子多型と独立して、BMIが推算GFR(eGFR)と有意に関連していた。地域におけるCKD対策として、血圧管理に加え減量対策も必

要であると考えられた。

2) エクオール産生が BMI、レプチン、高感度 CRP に与える影響

エクオール非産生者 (n=178) に比べ、産生者 (n=66) では、血中レプチン濃度が有意に低かった (4.8 ± 5.6 vs. 3.6 ± 3.1 ; $p=0.032$)。男性ではエクオール産生の有無は BMI に影響を与えなかったが、女性においてはエクオール非産生者 (n=102) に比べ、産生者 (n=30) では BMI が低い傾向がみられた (24.6 ± 3.1 vs. 23.4 ± 3.2 kg/m²; $p=0.069$)。女性において高感度 CRP はエクオール非産生者に比べ、産生者で有意に低かった (0.53 vs. 0.33 mg/dl; $p<0.001$)。大豆製品、肉類、野菜と果物類、間食、コーヒーやお茶の摂取頻度には両群で有意差はなかった。以上の成績は、エクオール産生がレプチンと高感度 CRP 低減作用を有していることを示唆している。今後のエクオールを用いた介入研究が必要と考えられた。

3) 糖尿病性腎症の発症や進展に関わる遺伝と環境因子の検討

アディポネクチン遺伝子の SNP45 の T/T キャリアは他のキャリアに比べ、アディポネクチン濃度が有意に低かった (7.6 ± 5.1 vs. 9.5 ± 6.8 μ g/ml)。SNP-11377 の G キャリアは CC キャリアに比べ、アディポネクチン濃度が有意に低かった (7.4 ± 4.8 vs. 9.4 ± 6.8 μ g/ml)。他の多型ではアディポネクチン濃度と関連は認められなかった。重回帰分析では、年齢、性、BMI、腹囲、インスリン抵抗性 (HOMA-IR)、レプチン、遺伝子多型、喫煙と独立して、アディポネクチン濃度が粒子サイズと関連していた。アディポネクチン濃度には遺伝子多型が一部関与しており、LDL-C の粒子サイズには喫煙などと独立して、アディポネクチン濃度が有意に関連していた。糖尿病性腎症低減のためには、アディポネクチンを上昇させる取り組みが必要になると考えられた。

一方、時計遺伝子の 3111C アレルの頻度は 0.14 で、3111C アレルを持つ者に比べ、持たない者は sdLDL が有意に多かった ($0.8 \pm 1.9\%$ vs. $1.7 \pm 3.4\%$; $p<0.05$)。重回帰分析でも、年齢・性別・BMI・運動習慣と独立して時計遺伝子多型 (3111 T/C) は sdLDL 分布と有意に関連していた。時計遺伝子多型が超悪玉コレステロールの増加と関連していることを示している。生活リズムに着目した介入研究が必要と考えられた。

4) 家族や地域を巻き込んだ食事介入

家族や地域を巻き込んだ食事介入研究では 97%が追跡可能であった。介入 3 カ月後、

対照群に比べ、介入群で収縮期血圧は有意に低下した。さらに、介入群では微量アルブミン尿が支援前に比べ、有意に改善した。家族や地域を巻き込んだ食事介入が血圧改善のみならず、微量アルブミン尿も改善させることが明らかとなった。これらの手法を広めることで、地域における糖尿病性腎症予防が期待できると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Fujiwara S, Kotani K, Brantley PJ, Tsuzaki K, Matsuoka Y, Domichi M, Sano Y, Kajii E, Sakane N, Dietary salt reduction in rural patients with albuminuria using family and community support: the Mima study, *Asia Pac Fam Med*, 査読有, 9 巻, 2010, 6
- ② Tsuzaki K, Kotani K, Sano Y, Fujiwara S, Takahashi K, Sakane N, The association of the Clock 3111 T/C SNP with lipids and lipoproteins including small dense low-density lipoprotein: results from the Mima study, *BMC Med Genet*, 査読有, 11 巻, 2010, 150
- ③ Tsuzaki K, Kotani K, Fujiwara S, Sakane N, Adiponectin and lipoprotein particle size, *Diabetes Care*, 2010, 査読有, 33 巻, 2010, e11
- ④ Fujiwara S, Kotani K, Sano Y, Matsuoka Y, Tsuzaki K, Domichi M, Kajii E, Sakane N, S447X polymorphism in the lipoprotein lipase gene and the adiponectin level in the general population: results from the Mima study, *J Atheroscler Thromb*, 査読有, 16 巻, 2009, 188-193
- ⑤ Kotani K, Tsuzaki K, Sano Y, Maekawa M, Fujiwara S, Hamada T, Sakane N, The relationship between usual coffee consumption and serum C-reactive protein level in a Japanese female population, *Clin Chem Lab Med*, 査読有, 46 巻, 2008, 1434-1437
- ⑥ Hamada T, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Domichi M, Tsuzaki K, Takahashi K, Sakane N, The UCP2-866 A/A genotype is associated with low density lipoprotein particle sizes in the general population., *Med Sci Monit*, 査読有, 14 巻, 2008, CR104-111
- ⑦ Hamada T, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Domichi M, Tsuzaki K, Sakane N, metabolism, 査読有, 57 巻, 410-415
- ⑧ Kotani K, Sakane N, Tsuzaki K, Matsuoka Y, Sano Y, Hamada T,

- Yamada K, Scand L Clin Lab Invest、
査読有、68 巻、2008、516-518
- ⑨ Sakane N, Fujiwara S, Sano Y, Domichi M, Tsuzaki K, Matsuoka Y, Hamada T, Saiga K, Kotani K、Oxidative stress, inflammation, and atherosclerotic changes in retinal arteries in the Japanese population: results from the Mima study、Endocr J、55 巻、査読有、2008、485-488
- ⑩ Hamada T, Kotani K, Tsuzaki K, Sano Y, Murata T, Tabata M, Sato S, Sakane N、Association of Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene with small dense low-density lipoprotein in the general population、Metabolism、査読有、56 巻、2007、1345-1349
- ⑪ Tsuzaki K, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Matsuoka Y, Domichi M, Hamada T, Shimatsu A, Sakane N、The Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene is associated with increased small dense low-density lipoprotein in a rural Japanese population: the Mima study、Metabolism、56 巻、2007、1689-1189

[学会発表] (計 7 件)

- ① 津崎こころ、佐野喜子、松岡幸代、小谷和彦、坂根直樹、アディポネクチン及びアディポネクチン遺伝子多型が HDL プロファイルに及ぼす影響: 徳島県美馬研究から、第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、岡山、2010 年 5 月 27 日-29 日
- ② 津崎こころ、小谷和彦、佐野喜子、松岡幸代、同道正行、兼田淳子、坂根直樹、HDL の質と生活習慣との関連性について 徳島県美馬研究から、第 31 回日本肥満学会、2010 年 10 月 1 日-2 日
- ③ Tsuzaki K, Kotani K, Fujiwara S, Sakane N、The effect of clock 3111 T/C SNP on lipid and lipoproteins including small dense low-density lipoprotein: the results from the Mima study、11th International Congress on Obesity、Stockholm (Sweden)、2010.7.11-15.
- ④ 津崎こころ、小谷和彦、佐野喜子、松岡幸代、同道正行、兼田淳子、石井麗子、藤原真治、坂根直樹、時計遺伝子多型と脂質プロファイルとの関連性 徳島県美馬研究から、第 30 回日本肥満学会、浜松、2009 年 10 月 19-20 日
- ⑤ 坂根直樹、小谷和彦、佐野喜子、松岡幸代、津崎こころ、エクオール産生が BMI、レプチン、高感度 CRP に与える影響 徳

島県美馬研究から、第 29 回日本肥満学会、大分、2008 年 10 月 17 日-18 日

- ⑥ 小谷和彦、津崎こころ、佐野喜子、松岡幸代、同道正行、兼田淳子、坂根直樹、第 29 回日本肥満学会、大分、2008 年 10 月 17 日-18 日
- ⑦ 藤原真治、坂根直樹、佐野喜子、小谷和彦、地域を基盤とした糖尿病による腎不全予防の取り組み MIMA Study、第 66 回日本公衆衛生学会総会、愛媛県松山市、2007 年 10 月 25 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂根 直樹 (SAKANE NAOKI)

独立行政法人国立病院機構 (京都医療センター臨床研究センター)・臨床研究企画運営部・研究室長 (予防医学)

研究者番号: 40335443

(2) 研究分担者

佐野 喜子 (SANO YOSHIKO)

独立行政法人国立病院機構 (京都医療センター臨床研究センター)・臨床研究企画運営部・研究員

研究者番号: 20399603

(3) 連携研究者

()

研究者番号: