

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07792

研究課題名(和文) 超高齢者ゲノムコホートをを用いたフレイル関連遺伝子探索と遺伝子リスク評価法の確立

研究課題名(英文) Establishment of a method for searching for frailty-related genes and genetic risk assessment using a very old cohort

研究代表者

佐々木 貴史 (TAKASHI, SASAKI)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：70306843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではフレイル発症の分子メカニズムを明らかにするために、85-89歳の自立した超高齢者を対象とした川崎aging and wellbeingプロジェクト(KAWP)のベースライン調査参加者に対しフレイル分類を行い、1)フレイル関連遺伝子探索、2)フレイル関連因子探索、3)予後との相関解析を行った。その結果、1)GWASを用いたフレイル関連遺伝子探索では有意なシグナルを検出することはできなかったが、2)フレイルと関連する病歴及びバイオマーカーを同定し、3)85-89歳でのフレイル状態は、身体機能、認知機能を調整しても有意に死亡及び健康寿命に関連することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではフレイル関連遺伝子を同定することはできなかったが、フレイル状態はベースライン時点での関節性疾患、糖尿病、ガンの病歴と、利尿剤、遮断薬の投薬歴と血中Hb値と関連することから、これらの特定疾患への罹患がフレイル状態へのリスク因子であることを明らかにした。また、病歴・投薬歴は医療レセプト情報からも抽出可能であることから、医療レセプトを用いたフレイル危険群の抽出への可能性を示すことができた。また、フレイル状態自体が身体機能、認知機能と独立して死亡及び健康寿命に関連することから、フレイル状態自体への介入の有効性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we classified participants in the baseline survey of the Kawasaki aging and wellbeing project (KAWP), a group of independent very old people aged 85-89 years, according to the frailty criteria to understand the molecular mechanisms underlying the onset of frailty. We then analyzed for 1) frailty index associated gene using GWAS, 2) frailty index associated factors, and 3) correlation with outcomes including all-cause mortality and remaining days of healthspan in the 4.5-year follow-up survey of the KAWP. The results showed that 1) no significant signal could be detected frailty index associated genes by GWAS, 2) medical histories and biomarkers were identified as frailty index associated factors, and 3) frailty status at age 85-89 years was significantly correlated with all-cause mortality or remaining days of healthspan, even after adjusting for physical and cognitive functions.

研究分野：老年医学

キーワード：フレイル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急速な全世界的高齢化が進行しており、認知症やフレイルに代表される老年症候群への対応が必要になってきている。「フレイル」とは、老化に伴いさまざまな臓器・器官の予備能やストレスへの耐性が低下し高齢者が要介護、入院、死亡のリスクが高くなる「体全体が弱った状態」を指し、筋力低下などが起きる「身体的フレイル」、認知機能の低下やうつから起きる「精神・心理的フレイル」、独居や閉じこもりを背景にした「社会的フレイル」など複数の領域が含まれている。このフレイルの概念は老化に関わる幅広い領域で受け入れられており、その評価法として Fried らが提唱した体重減少、筋力低下、易疲労感、歩行速度の低下、身体活動の低下の5つの徴候を日本人に合わせて改定したJ-CHS基準と Rockwood らが提唱したフレイル指数 (Rockwood Frailty Index、RFI) がよく利用されている。申請者が所属する慶應義塾大学医学部百寿総合研究センターでは、百寿者 (100~104 歳)、超百寿者 (105~109 歳)、スーパーセンテナリアン (110 歳~) の3集団で 100~104 歳時点でのフレイル指数を比較した結果、スーパーセンテナリアン、超百寿者、百寿者の順番で低いことが明らかになった。これらの結果から百寿者、特にスーパーセンテナリアンはフレイルになるのが遅い「超健康集団」であり、また、フレイル発症には健康寿命に相当する年齢差があることが明らかになった。

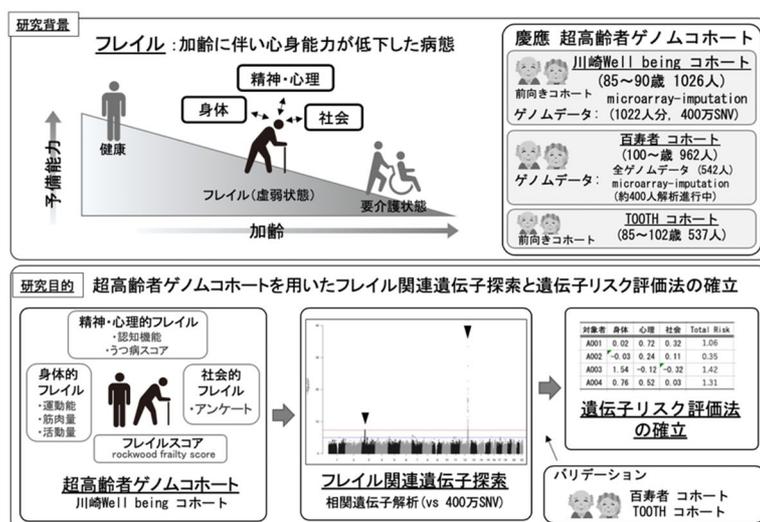
フレイルの個人間差は環境・遺伝のどちらに由来するか明確に解明されてはならず、また、フレイルが様々な領域の複合概念であることから、それぞれの領域により原因も異なると考えられる。そこで、フレイルの危険因子を同定し、その予防戦略を立てるためには、超高齢者縦断調査による老化形質(フェノタイプ)データとゲノム解読データを組み合わせたゲノム・疫学研究が効果的であると考えられる。

我々は超高齢者前向きコホート研究として Kawasaki aging and wellbeing project(KAWP)を立ち上げ調査継続中である。KAWP では、①身体機能・身体組成②認知機能③身体活動④社会的活動⑤聴力などの老化関連項目を中心とし、85~89 歳の超高齢者 1026 人のベースライン調査を終了し、継続調査を行う予定である。申請者らはこれまでにマイクロアレイ-imputation 解析を行い、総計 1016 人の 600 万 SNVs の遺伝型を決定している。

2. 研究の目的

要介護者数増加防止にはフレイル予防が重要であるが、フレイル発症機序や遺伝的要因などは

未だ不明である。そこで本研究では、フレイル発症メカニズム解明を目指しフレイル発症関連遺伝因子同定と、結果を臨床へ還元可能な評価値とするためにフレイル関連遺伝因子群情報を利用した遺伝的フレイルリスク評価系構築を目指す。



3. 研究の方法

1) ベースライン調査におけるフレイル指標の算出

KAWP で調査を行った 85～89 歳の要支援 1 以下の自立した超高齢者 1026 人のベースライン調査での疫学データを元に、改訂 J-CHS 基準によるフレイル指標と Rockwood らが提唱したフレイル指数 (Rockwood Frailty Index、RFI) の算出を行った。改訂 J-CHS 基準は、Sataka et al (2020) での定義に従い①体重減少②筋力低下③疲労感④歩行速度⑤身体活動の 5 項目を評価し、該当なしをロバスト、1～2 項目に該当をプレフレイル、3 項目以上に該当をフレイルとした。RFI は、KAWP で調査を行ったフレイルに関連する 38 項目のうち該当する項目数を算出し、該当比率を算出して計算を行った。

2) フレイル指標を用いた GWAS 解析

KAWP でベースライン調査を行った超高齢者 1026 人のうち、遺伝解析の同意が得られ identity by descent (IBD) $\text{pihat} \geq 0.125$ 以上の近親者を除いた 1016 人に対し、J-CHS 基準でのフレイルを case、プレフレイル + ロバストを control とした GWAS 解析と、RFI 値を使った quantitative GWAS を行った。性別と測定年齢を調整因子として投入した。

3) フレイル指標と相関因子解析

フレイルと相関する因子を同定するため、KAWP でベースライン調査を行った超高齢者 1026 人に対し、基本情報として性別、年齢、BMI、喫煙歴、アルブミン値、ヘモグロビン値、CRTNN 値の 7 項目と、20 項目の病歴 (糖尿病、循環器疾患、高血圧、関節性疾患など) 及び 15 項目の投薬歴 (高血圧薬、抗高血糖薬など) を抽出した。この 42 共変数が欠損なく揃っている 854 人に対し LASSO 回帰による変数選択後、RFI に対して一般化線形モデルによる重回帰解析を行い、相関因子の同定を行った。

4) フレイル指標と予後解析

ベースライン時のフレイル指標が予後と相関するか明らかにするために、総死亡及び健康寿命の同定を行った。総死亡と健康寿命は、電話による追跡調査結果に加え同意を得られた 1024 名は川崎市及び神奈川県から医療レセプト及び介護レセプト情報を利用して解析を行った。ベースラインでの改訂 J-CHS 基準フレイル指数により分類し、総死亡及び健康寿命の日数を用いて生存解析を行った。

4. 研究成果

1) ベースライン調査におけるフレイル指標の算出

KAWP でベースライン調査を行った超高齢者 1026 人に対し、改訂 J-CHS 基準によるフレイル指標と RFI の算出を行った (図 1)。その結果、改訂 J-CHS 基準では 15% がロバスト、61% がプレフレイル、24% がフレイルであった。また、RFI では、0.2 を最頻値とした分布であった。また、改訂 J-CHS 基準によるフレイル指標と RFI の相関を解析するために、改訂 J-CHS 基準での該当項目数別の RFI の分布を解析した (図 2)。その結果、改訂 J-CHS 基準での該当項目数が高いほど RFI も増加していたことから、この 2 つのフレイル指標は日本人 85-89 歳の超高齢者集団でも相関していることが明らかになった。

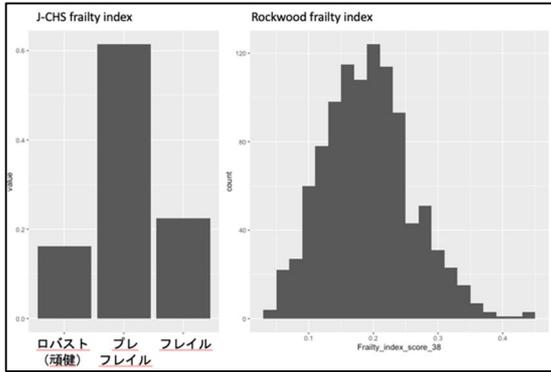


図1 KAWP ベースライン調査でのフレイル指数の分布 (左) 改訂 J-CHS (右) RFI

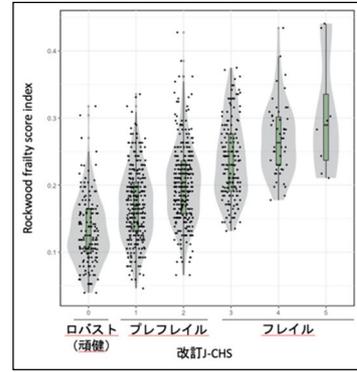


図2 KAWP ベースライン調査でのフレイル指数相関解析 (縦: 改訂 J-CHS,横 RFI)

2) フレイル指標を用いた GWAS 解析

KAWP でベースライン調査を行った超高齢者 1016 人の DNA マイクロアレイ-imputation データにより決定した 640 万 SNVs に対し、J-CHS 基準でのフレイルを用いた case-control GWAS 及び RFI 値を使った quantitative GWAS を行った結果、有意に相関する多形を同定することはできなかった。

3) フレイル指標と相関因子解析

KAWP ベースライン調査で 42 共変数が欠損なく揃っている 854 人に対し LASSO 回帰による変数選択を行った結果、6 基礎情報、11 病歴、10 投薬歴の合計 27 共変数が選択された。この 27

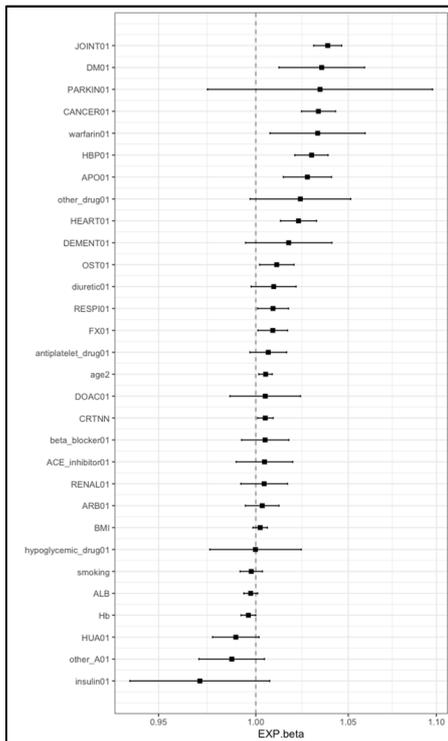
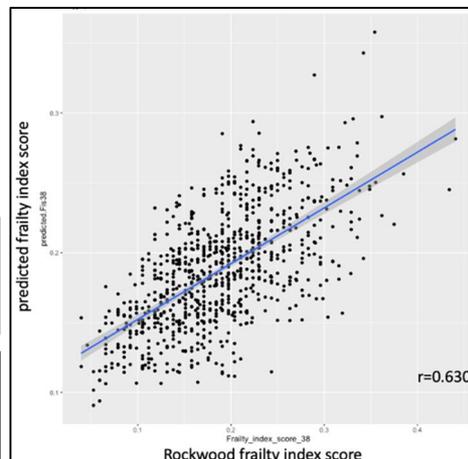


図3 27 共変数を用いた RFI の一般化線型解析

共変量に対し、RFI に対し一般化線型モデルを用いて多変量解析を行った。その結果、関節性疾患が最も強く相関し、続いて糖尿病歴、ガン既往歴、ワーファリン投薬歴、高血圧歴、脳卒中歴、循環器疾患歴、骨折歴、年齢、ヘモグロビン濃度が相関することが明らかになった(図3)。これらの結果から、さまざまな加齢性疾患歴が RFI に大きく寄与していることが予想された。そこで、predict 関数を用いて共変量から予測した predict RFI の算出を行った。その結果、相関係数 0.63 で RFI と相関することが明らかになった。これらのことから、RFI は基本情報・病歴・投薬歴からも予測する



ことが可能であることが示唆された(図4)。

図4 RFI と基本情報・病歴・投薬歴から予測した RFI との相関解析

4) フレイル指標と予後解析

ベースライン時のフレイル指標が予後と相関するか明らかにするために、総死亡及び健康寿命の同定を行った。総死亡及び健康寿命のデータは2022年9月時点での医療及び介護レセプト情報と電話追跡調査の結果を合わせて解析した結果、3.5年後までの総死亡99人(男性70人、女性29人)及び健康寿命終了193人(総死亡+要介護度2以上:男性109名、女性84名)までの日数を同定した。次に、男女別総死亡及び健康寿命終了をエンドポイントとした生存解析を Kaplan-Meier 法で行った結果、総死亡は性差に有意差が見られたが、健康寿命終了では性差に有意差が見られなかった(図5)。次に、ベースラインでの改訂 J-CHS 基準でのフレイル状態で分類後、男女別総死亡及び健康寿命終了をエンドポイントとした生存解析を Kaplan-Meier 法で行った。その結果、J-CHS 基準でのフレイル状態は死亡及び健康寿命終了までの日数に有意に相関していることが明らかになった(図6)。

以上の KAWP での解析結果から、要支援1以上の健康な超高齢者集団でも、ロバストな高齢者は2割以下であり、約6割がプレフレイル、約2割がフレイル状態であった。また、フレイル状態は関節疾患、循環器疾患、糖尿病などの病歴に相関し、総死亡だけでなく健康寿命の期間にも相関していることが明らかになった。

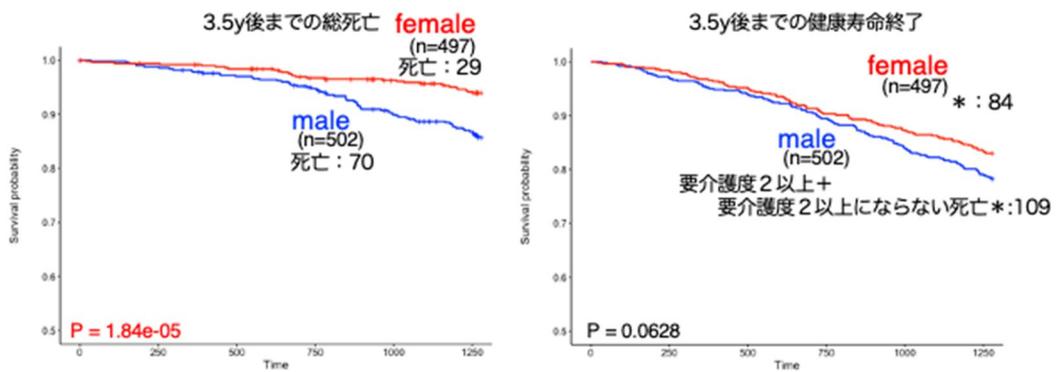


図5 ベースラインでの性別別 生存曲線

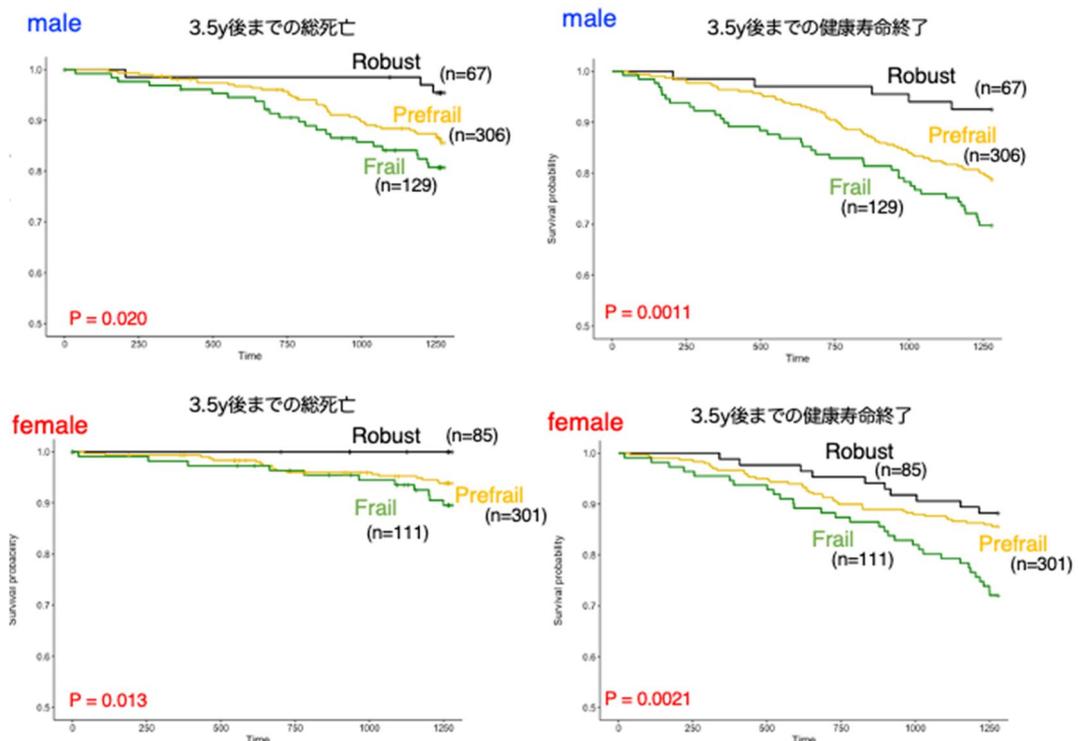


図6 ベースラインフレイル状態別 生存曲線

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 T Sasaki, Y Nishimoto, T Hirata, Y Abe, T Takebayashi, Y Arai	4. 巻 12
2. 論文標題 ALDH2 p.E504K Variation and Sex Are Major Factors Associated with Current and Quitting Alcohol Drinking in Japanese Oldest Old	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 799
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/genes12060799	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takashi Sasaki, Yukiko Abe, Michiyo Takayama, Tetsuo Adachi, Hideyuki Okano, Nobuyoshi Hirose, Yasumichi Arai
2. 発表標題 Association among extracellular superoxide dismutase genotype, plasma concentration, and comorbidity in the Very Old and Centenarians
3. 学会等名 ICC meeting 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木貴史
2. 発表標題 全ゲノムを用いた百寿者遺伝子解析
3. 学会等名 第43回日本臨床栄養学会総会、第42回日本臨床栄養協会総会、第19回大連合大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仙石 彩、原 梓、佐々木貴史、阿部由紀子、新井康通、漆原尚巳
2. 発表標題 川崎市在住高齢者を対象としたウェルビーイングコホートにおける使用薬剤数と医療・薬剤・介護費の関連についての検討：ベースライン調査
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐々木貴史、平田匠、阿部由紀子、高山美智代、新井康通
2. 発表標題 超高齢者・百寿者における血中高分子アディポネクチン濃度と生存時間解析
3. 学会等名 第64回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 フレイル推定装置、フレイル推定方法及びプログラム	発明者 新井康通、佐々木貴史、漆原尚巳、安藤崇之	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2022-111110	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	新井 康通 (ARAI YASUMICHI) (20255467)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師 (32612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------