

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月15日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21249044

研究課題名（和文） 地域住民コホートに基づく生活習慣要因と炎症・糖尿病に関する分子疫学研究

研究課題名（英文） Molecular epidemiological study on lifestyles, inflammation and diabetes mellitus in a population-based cohort

研究代表者

古野 純典（KONO SUMINORI）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：70128015

研究成果の概要（和文）：生活習慣病予防を目指したコホート研究（九州大学福岡コホート研究）の5年後2次調査を実施するとともに、基礎調査に基づく横断研究により高感度CRPおよびヘモグロビンA1c（HbA1c）に影響する生活習慣要因と遺伝要因を検討した。コホート研究の基礎調査には49～76歳の東区住民12,948名が参加し、12,628名からは遺伝子解析の同意を受けている。2010年2月～2012年3月の期間に12,694名に対して生活習慣要因および受療状況に関する郵送調査をおこなった。福岡市東区在住者に対しては採血検査への協力も依頼した。郵送調査と採血検査の協力者数はそれぞれ11,606名（91%）と10,427名（82%）であった。横断研究では次のような知見が得られた。血清CRP値の変動要因としては、男性では喫煙とBMIが、女性ではBMIが最も重要であった。野菜・果物の高摂取で特徴付けられる健康的食事パターンはCRP低値と関連していたが、その影響はきわめて小さかった。男性でのみコーヒー飲用がCRP低値と関連していた。飲酒は男女ともにHbA1c低値と関連していたが、コーヒー飲用との関連はみられなかった。血清ビリルビンはCRPおよびHbA1cと強い負の関連を示した。男女それぞれ1,500名を無作為に選定し、炎症との関連が予想される12の機能的遺伝子多型を解析した。CRPの2つの遺伝子多型（rs3091244およびrs1205）とAPOE遺伝子多型（E3>E4>E2）が血清CRP値と強く関連していた。

研究成果の概要（英文）：In the present research project, we carried out a 5-year follow-up survey in the Kyushu University Cohort Study, a prospective study on lifestyle-related diseases, and performed cross-sectional studies based on the baseline survey in relation to serum high-sensitivity CRP and glycosylated hemoglobin (HbA1c). The cohort consists of 12,948 residents aged 49-76 in the East Ward of Fukuoka City. Of them, 12,628 persons gave consent to genotyping analysis. A total of 12,694 subjects were invited to participate in the mail survey on lifestyle factors and morbidity. Residents who lived in the East Ward of Fukuoka City were also asked to donate venous blood for laboratory measurements. During the period from February 2010 to March 2012, 11,606 (91%) responded to the mail survey, and 10,427 (82%) participated in the blood sampling. Cross-sectional studies produced the following findings. Smoking and body mass index (BMI) were the most important determinants of serum CRP in men, and BMI was such a factor in women. A healthy dietary pattern characterized by high intakes of vegetables and fruits was associated with lower CRP levels, but the magnitude of the contribution was found to be very small. Coffee drinking was associated with lower CRP levels in men, but not in women. As regards HbA1c, alcohol use showed an inverse association in both men and women while there was no association with coffee use. Serum bilirubin was strongly, inversely associated with serum CRP and HbA1c each. Genotyping analysis was carried out in a random sample of 1,500 men and 1,500 women. We selected 12 genetic polymorphisms, which were considered to be potentially functional in relation to inflammation. Two polymorphisms in the CRP gene (rs3091244 および rs1205) and the APOE polymorphism (E3>E4>E2) were strongly associated with CRP levels.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	14,100,000	4,230,000	18,330,000
2010年度	18,200,000	5,460,000	23,660,000
2011年度	2,800,000	840,000	3,640,000
総計	35,100,000	10,530,000	45,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学、公衆衛生学・健康科学

キーワード：高感度 CRP、ヘモグロビン A1c、生活習慣要因、遺伝子多型、コホート研究

1. 研究開始当初の背景

(1) 炎症は動脈硬化、がん、2型糖尿病などの生活習慣病の発症にかかわる重要な病態である。炎症の持続・進展にはさまざまな因子が関与しているが、生活習慣要因の影響は十分には解明されていない。一方、肥満と運動不足は2型糖尿病の原因として確立しているが、その他の生活習慣要因については、我が国ではほとんど研究されていない。糖尿病は動脈硬化やがんの危険因子であるので、炎症の抑制要因を明らかにすることは、炎症関連の生活習慣病の予防に重要であると考えられる。酸化ストレスは炎症と密接に関連しており、抗酸化要因の解明も重要である。最近、ビリルビンの抗酸化作用による2型糖尿病の発症抑制作用が注目されている。

(2) 我々は九州大学21世紀COEプログラム「大規模コホートに基づく生活習慣病研究教育」において構築された生活習慣病予防を目指したコホート研究(九州大学福岡コホート研究)を進めている。このコホート研究では50~74歳の福岡市東区住民を対象として平成16年2月~19年8月に基礎調査をおこなった。合計12,948名の協力があり、遺伝子解析の同意は12,628名(97.5%)から受けている。コホート研究は追跡調査を重ねて発展させることが必要であるが、基礎調査に基づく横断研究も可能である。

2. 研究の目的

(1) 福岡市東区住民12,948名が参加した九州大学福岡コホート研究の5年後2次調査をおこない、研究基盤を充実させる。生活習慣と受療状況に関する調査に加え、血液生化学検査の縦断的データを整備する。

(2) コホート研究基礎調査の調査資料およびDNA試料を活用して、炎症・糖尿病と関連する生活習慣要因と遺伝的感受性要因を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) コホート研究の追跡調査
2010年2月~2012年3月の期間に生活習慣と受療状況に関する郵送調査をおこなった。自記式調査票はA4版11頁からなり、喫煙、飲酒、運動、食事については基礎調査と同じ内容にした。生化学検査は、血清高感度CRP、ヘモグロビンA1c(HbA1c)および血清ビリルビンの3項目とし、採血は福岡市東区医師会所属の28施設に委託した。2次調査実施方法の概要を図示する(図1)。

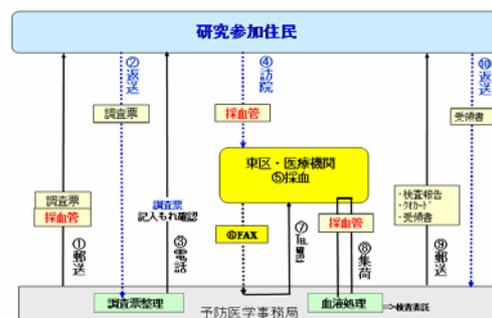


図1. 九州大学福岡コホート2次調査の概要

(2) 炎症・糖尿病に関する横断研究
①生活習慣要因と高感度CRPおよびHbA1cとの関連を多変量解析により検討した。抗酸化物質の主要摂取源であるコーヒー飲用との関連に注目した。統計解析ではCRPとHbA1cの対数変換値を用い、幾何平均値を示した。
②内因性抗酸化物質であるビリルビンと血清CRPおよびHbA1cとの関連を検討した。この場合も、統計解析にはCRPとHbA1cの対数変換値を用い、関連要因の統計学調整をおこなった。

(3) 遺伝子多型解析
冠動脈疾患、脳卒中などの有病者を除き、男性1,500名と女性1,500名を無作為に抽出した。関連文献を詳細に検討し、CRP、IL-6、抗酸化酵素およびアディポネクチン等の機

能的遺伝子多型 12 個を選択し、CRP および HbA1c との関連を検討した。

4. 研究成果

(1) コホート研究 2 次調査

死亡者と国外移住者を除き、合計で 12,694 名に郵送調査への協力を依頼した。福岡市東区在住者には採血管も同時に郵送した。郵送調査と採血検査の協力者はそれぞれ 11,606 名 (91%) と 10,427 名 (82%) であった。採血検査を受けた者のうち、2 名が生活習慣調査に応じなかった。

(2) 炎症・糖尿病に関する横断研究

①生活習慣要因と CRP : 心血管病有病者、CRP 10 mg/L 以上の者等を除き、男性 4,627 名と女性 6,375 名を対象とした (表 1)。喫煙、肥満、高血圧、2 型糖尿病および非 HDL コレステロール高値は CRP 高値と、健康的食事パターンは CRP 低値と、男女それぞれで独立して統計的に有意に関連していた。男性の現在飲酒者は CRP が低値であったが、量反応関係はみられなかった。身体活動については、男性で仕事の身体活動のみが統計的に有意に CRP 低値と関連していた。

男性では喫煙と BMI が最も重要な CRP 濃度の規定要因であり、CRP 変動のそれぞれ 31% と 26% を説明した。非 HDL コレステロール (非 HDL-C) の相対寄与度も比較的大きかった (約 13%)。非 HDL-C は総コレステロールから HDL コレステロールを減じたものである。コホート研究基礎調査での採血はほとんどが非空腹時採血であり、中性脂肪測定値を用いる LDL コレステロール計算値は使えなかった。

表 1. 血清 CRP 値に対する相対寄与度 (%)

要因	男性	女性
喫煙本数 ^{注1)}	31.4	1.2
飲酒量 ^{注2)}	0.4	0.1
BMI (kg/m ²)	25.8	57.5
仕事身体活動量	1.8	0.4
余暇身体活動量	0.6	0.3
健康的食事パターン	2.7	0.4
高血圧	2.5	2.7
糖尿病	1.1	2.0
非 HDL-C 高値	12.7	1.1
スタチン使用	0.1	0.4

注 1) 過去喫煙に対応する説明変数を含む。

注 2) 過去飲酒に対応する説明変数を含む。

女性でも喫煙は統計的に有意に CRP 高値と関連していたが、CRP 変動への寄与度は小さく、CRP 変動の約 60% が BMI により説明された。

近年、スタチンの抗炎症作用が注目されているので、説明変数に加えたが、明らかな関連はみられなかった。また、この研究集団においては、野菜・果物の高摂取で特徴付けられる健康的食事パターンが CRP 低値と関連することを以前に報告していたが、この影響はきわめて小さいことがわかった。喫煙と BMI は CRP に関する研究では常に考慮すべき重要な要因である。

②コーヒーと CRP : 抗酸化食品であるコーヒーの飲用が男性において CRP 低値と関連していた。女性では明らかな関連はみられなかった (図 1)。統計解析では喫煙、BMI などの交絡要因を調整した。緑茶との関連は男女いずれでもみられなかった。

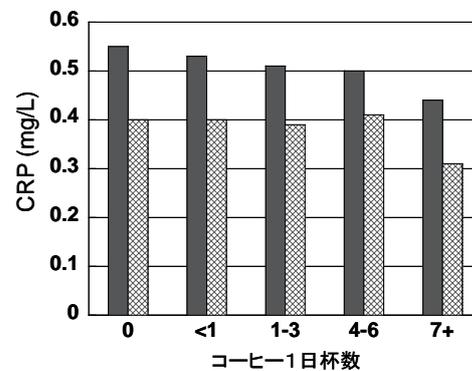


図 2. コーヒー飲用と CRP (黒塗りグラフは男性、網掛けグラフは女性)

③生活習慣要因と HbA1c : 飲酒は男女ともに HbA1c 低値と関連し、喫煙は男性でのみ HbA1c 高値と関連していた。喫煙との関連が女性でみられないのは喫煙者が少ないためと思われる。適度の飲酒が 2 型糖尿病に予防的であることを示す結果であった。コーヒー飲用が 2 型糖尿病に予防的であることが国内外の多くの疫学研究で報告されているが、本研究ではコーヒー飲用と HbA1c との明らかな関連はみられなかった。

④ビリルビンと CRP および HbA1c : 血清ビリルビンが高値の者では CRP (図 3) および HbA1c (図 4) がそれぞれ直線的に低値であり、ビリルビンの抗炎症作用、抗糖尿病作用が示された。ビリルビンと HbA1c との予防的関連は CRP 値を調整しても観察された。これらの解析では糖尿病薬剤治療中の者を除外していたが、糖尿病薬剤治療中と HbA1c ≥ 6.5% を糖尿病と定義してビリルビンとの関連を検討しても、強い予防的関連がみられた。

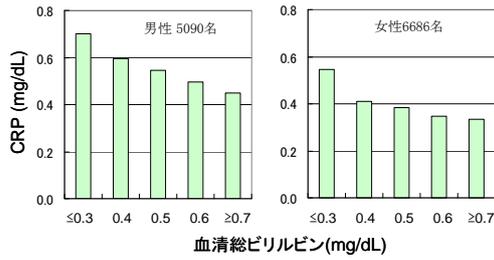


図3. 血清ビリルビンとCRP

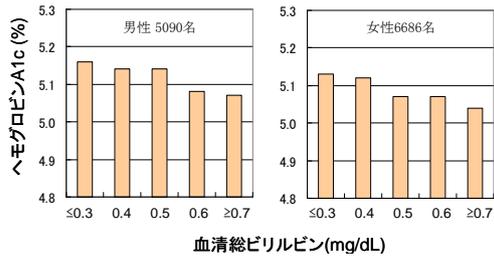


図4. 血清ビリルビンとHbA1c

表2. 解析遺伝子多型一覧

遺伝子	多型	dbSNP	MAF
IL-6	-634G>C	rs1800796	0.237
IL-1B	-31C>T	rs1143627	0.488 (C)
	-551T>C	rs16944	0.486 (T)
CRP	-286C>T>A	rs3091244	0.151 (A) 0.067 (T)
	1846G>A	rs1205	0.342
MnSOD	Ala16Val	rs4880	0.112
CAT	-262C>T	rs1001179	0.025
SelS	-105G>A	rs28665122	0.049
APOE	E3>E4>E2	rs429358 (E4) rs7412 (E2)	0.112 0.046
	ADPOQ	45T>G	rs2241766
	276G>T	rs1501299	0.270
	C>G	rs266729	0.252

MAF, minor allele frequency.

SelS, selenoprotein S.

(3) 遺伝子多型解析

解析した遺伝子多型を表2に示す。セレン蛋白S (SelS) 多型は、最近、炎症性疾患との関連が注目されている。性別、年齢、BMI および喫煙を調整して、各遺伝子多型とCRP およびHbA1c との関連を検討した。重要な環境要因の影響を除くことで遺伝要因の影響がより顕著になると考えられる。CRP 遺伝子の

2つの多型とAPOE 遺伝子多型がCRP 濃度と強い関連を示した(いずれも $P < 0.0001$)。従来から炎症性疾患との関連が注目されているIL-6 およびIL-1B の遺伝子多型との関連は見られなかった。他の遺伝子多型についてもCRP との関連はみられなかった。HbA1c についてはIL-6 遺伝子多型のみが弱い関連を示した($P=0.03$)。アディポネクチン遺伝子(ADPOQ) の3つの多型のいずれもHbA1c と関連していなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計19件)

- Hirata A, Ohnaka K, Morita M, Toyomura K, Kono S, Yamamoto K, Adachi M, Kawate H, Takayanagi R. Behavioral and clinical correlates of high-sensitivity C-reactive protein in Japanese men and women. Clin Chem Lab Med 2012 (in press).
- Pham NM, Wang Z, Morita M, Ohnaka K, Adachi M, Kawate H, Takayanagi R, Kono S. Combined effects of coffee consumption and serum gamma-glutamyltransferase on serum C-reactive protein in middle-aged and elderly Japanese men and women. Clin Chem Lab Med 2011; 49: 1661-1667.
- Maki T, Pham NM, Yoshida D, Yin G, Ohnaka K, Takayanagi R, Kono S. The relationship of coffee and green tea consumption with high-sensitivity C-reactive protein in Japanese men and women. Clin Chem Lab Med 2010; 48: 849-854.
- Maki T, Ikeda M, Morita M, Ohnaka K, Kawate H, Adachi M, Takayanagi R, Kono S. Relation of cigarette smoking, alcohol use, and coffee consumption to glycated hemoglobin in Japanese men and women. Diab Met Syndr Clin Res Rev 2010; 4: 69-73.
- Takayanagi R, Inoguchi T, Ohnaka K. Clinical and experimental evidence for oxidative stress as an exacerbating factor of diabetes mellitus. J Clin Biochem Nutr 2011; 48: 72-77.
- Ikeda M, Maki T, Yin G, Kawate H, Adachi M, Ohnaka K, Takayanagi R, Kono S. Relation of coffee consumption and serum liver enzymes in Japanese men and women with reference to effect

modification of alcohol use and body mass index. Scand J Clin Lab Invest 2010; 70: 171-179.

7. Ohnaka K, Kono S, Inoguchi T, Yin G, Morita M, Adachi M, Kawate H, Takayanagi R. Inverse associations of serum bilirubin with high sensitivity C-reactive protein, glycated hemoglobin, and prevalence of type 2 diabetes in middle-aged and elderly Japanese men and women. Diabetes Res Clin Pract 2010; 88: 103-110.
8. Ohnaka K, Yamamoto K, Nakamura K, Adachi M, Kawate H, Kono S, Takayanagi R. Association of single nucleotide polymorphisms in secreted frizzled-related protein 1 gene with bone mineral density in Japanese women. Geriatr Gerontol Int 2009; 9: 304-309.

[学会発表] (計7件)

1. Kono S. Recent progress of the cohort study in Japan. 2011年度韓国疫学会第2次学術大会, ソウル, 2011年12月8日.
2. 古野純典, 大中佳三, 高柳涼一. 九州大学福岡コホート研究の展望. 第21回日本疫学会学術総会, 札幌, 2011年1月21-22日.
3. Kono S. Coffee, glucose tolerance, and type 2 diabetes. 第19回国際栄養学会, バンコク, 2009年10月4-9日.

[その他]

九州大学予防医学分野ホームページ
<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/phealth/kono.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古野 純典 (KONO SUMINORI)
九州大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：70128015

(2) 研究分担者

高柳 涼一 (TAKAYANAGI RYOICHI)
九州大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：30154917

大中 佳三 (OHNAKA KEIZO)
九州大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：30325518

山本 健 (YAMAMOTO KEN)
九州大学・生体防御医学研究所・准教授
研究者番号：60274528

足立 雅広 (ADACHI MASAHIRO)
九州大学病院・助教
研究者番号：00419516

銀 光 (YIN GUANG)
九州大学・大学院医学研究院・研究員
研究者番号：90444786
(H21年度)