

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25年 5月13日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500657

研究課題名（和文） 遺伝子多型の生活習慣病罹患リスクと予防への応用に関する14年間の大規模追跡調査

研究課題名（英文） Large-scale longitudinal cohort study for the evaluation of genetic polymorphisms on the risk of lifestyle related diseases and applied prevention.

研究代表者

渡邊 美幸 (WATANABE MIYUKI)

千葉大学・大学院医学研究院・技術職員

研究者番号：70571355

研究成果の概要（和文）：本研究では、日本の一般人の大規模コホートを用いて、生活習慣関連疾患関連の遺伝子多型として注目されているエストロゲン受容体について、メタボリック症候群、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症等の発症のリスクと、予防への応用について検討することを目的とした。結果として、エストロゲン受容体遺伝子(XbaI: rs9340799、PvuII: rs2234693)は、縦断調査において、高血圧、低 HDL 血症、高 γ -GTP 血症について関与することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to evaluate the risk for lifestyle related diseases and applied prevention based on genetic polymorphism in a large-scale longitudinal cohort study. This study suggested that the genetic polymorphisms for estrogen receptor(XbaI: rs9340799、PvuII: rs2234693) are associated with the risk for the hypertension, low serum HDL level and high serum γ -GTP level.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：生活習慣病、遺伝子多型、高血圧、高脂血症、糖尿病、大規模縦断追跡研究

1. 研究開始当初の背景

分子生物学の医学への応用が急速に進歩し、近年は後天性の慢性疾患でも関連遺伝子が報告されている。高血圧症、肥満、心疾患

等の慢性疾患の遺伝は多因子遺伝と考えられており、複数の遺伝子が相互作用しつつ、あるいは環境因子や宿主側の要因(生活習慣等)から影響を受けつつその相互作用によって発症すると考えられる。したがって大規模

な一般人の集団に対しこれらの遺伝子の影響とその組み合わせによる効果の検討、および遺伝子と宿主側の要因(生活習慣等)との組み合わせによる効果の検討を行う必要があるとの考えに至った。

同時に、長期にわたる縦断研究においては、飲酒や喫煙などの生活習慣の経時的な変動が、調査結果にバイアスをかけることが懸念されるため、適切な統計学的手法を導入することも重要である。そして、現在までに、われわれの研究グループは、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン変換酵素、アドレナリンβ 3 受容体、G 蛋白β 3 サブユニット、LDL 受容体関連蛋白5、セロトニン受容体の遺伝多型を分析し、高血圧、肥満、糖尿病、高脂血症等の疾患との関連性についての横断的調査研究、さらに生活習慣等の変動も考慮した **pooled logistic regression analysis** による縦断的調査研究を継続している。現在のところ、この **pooled logistic regression analysis** を適応して、遺伝子多型の健康影響を調査した報告は、国内、国外でも我々のほかにはない、独自のものである。結果として、それぞれの遺伝子がどのようにこれらの疾患に関連しているか、また各遺伝子の相互作用についても明らかとなり、多数の論文において報告を続けてきたが、前述のとおり、多因子遺伝の疾患の本態を明らかにするためには、より多くの遺伝子を測定し、さらにすでに測定した遺伝子多型との健康影響の比較や、組み合わせによる相互作用の検討が重要であり、新しい遺伝子多型の測定が必須であるとの考えにいたった。

2. 研究の目的

エストロゲン受容体(XbaI、PvuII)は、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症に関連する遺伝子として欧米で注目されているが、日本人での大規模な研究は行われていない。そこで、本研究では、日本の一般人でこれらの遺伝子が、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症といった生活習慣関連疾患の発症に影響を与えているのか、そしてその影響が、生活習慣や、すでに測定した遺伝子多型と比較して、どの程度であるか明らかにし、また遺伝子同士の組み合わせによる相互作用を予防医学的に評価することを目的とした。

3. 研究の方法

対象者は、男性 1458 人、女性 1192 人で各

対象者にはコード番号を付し、個人情報保護されている。対象者に関し健康診断時の年齢、既往歴、家族歴、生活習慣、身体計測値、血圧測定値、および尿、血液の測定結果を結合した。

また、エストロゲン受容体(XbaI: rs9340799、PvuII: rs2234693)について、プライマー、アンブダイレクトバッファー (Ampdirect® Plus/NovaTaq Hot Start DNA Polymerase) による直接 PCR 法を行い、制限酵素を使用して、RFLP 法にて遺伝子多型を検索した。制限酵素については、rs2234693 については、過去の報告に基づき、PvuII を用いた。rs9340799 については、過去の報告では XbaI が用いられていたが、制限酵素の認識配列 5'...TCTAGA...3' (中央の A/G が多型) のもっとも 5' 側の T に T/C の多型 (rs11155816) が存在することが判明し、この T を含まない、BfaI を用いることとした。電気泳動においては、MultiNA を利用した。

分析した遺伝子多型と収集しえた 6 年間分の健康診断データを集積し、高血圧 (140/90mmHg 以上)、肥満 (BMI 30kg/m² 以上)、過体重 (Body Mass Index 25kg/m² 以上)、糖尿病 (HbA_{1c} 6% 超)、高脂血症 (総コレステロール値 240mg/dl 以上)、低 HDL 血症 (HDL 40mg/dl 未満)、高尿酸血症 (7mg/dl 超)、高γ-GTP 血症 (男 60IU/l 以上、女 30IU/l 以上)、メタボリック症候群 (血圧 130/85 以上、BMI 25kg/m² 以上、HbA_{1c} 5.4% 以上、中性脂肪 150mg/dl 以上、男性で HDL 40 未満、女性で HDL 50 未満について、3 項目以上該当) との関連について、logistic regression による横断調査並びに、pooled logistic regression analysis を行い、生活習慣等の他の要因と、その変動を考慮した多変量解析による追跡調査を行った。

4. 研究成果

エストロゲン受容体遺伝子の XbaI: rs9340799 については、男性では、AA 型 869 人 (59.8%)、AG 型 532 人 (36.6%)、GG 型 53 人 (3.6%)、女性では、GG 型 39 人 (3.3%)、AA 型 645 人 (54.2%)、AG 型 507 人 (42.6%)、合計では、AA 型 1514 人 (57.2%)、AG 型 1039 人 (39.3%)、GG 型 92 人 (3.5%) であった。

エストロゲン受容体遺伝子の PvuII: rs2234693 については、男性では、TT 型 505 人 (34.6%)、CT 型 713 人 (48.9%)、CC 型 241 人 (16.5%)、女性では、TT 型 415 人 (34.8%)、

CT 型 573 人(48.1%)、CC 型 204 人(17.1%)、合計では、TT 型 920 人(34.7%)、CT 型 1286 人(48.5%)、CC 型 445 人(16.8%)であった。

生活習慣との交互作用を含めて、メタボリック症候群および関連する高血圧などについて横断的に関連性を検討したところ、エストロゲン受容体遺伝子の XbaI: rs9340799 に関するオッズ比と 95%信頼区間については、高血圧 (140/90mmHg 以上) については、男性の GG 型では、1.94 (0.99 - 3.79)、AG 型では、1.02 (0.76 - 1.38)、女性の GG 型では、0.31 (0.04 - 2.40)、AG 型では、0.80 (0.48 - 1.34) であった。

肥満 (BMI 30kg/m² 以上) については、男性の GG 型では、1.47 (0.18 - 11.78)、AG 型では、1.08 (0.46 - 2.54)、女性の GG 型では、1.64 (0.20 - 13.23)、AG 型では、1.18 (0.49 - 2.83) であった。

過体重 (BMI 25kg/m² 以上) については、男性の GG 型では、0.52 (0.23 - 1.18)、AG 型では、0.96 (0.73 - 1.25)、女性の GG 型では、1.96 (0.88 - 4.36)、AG 型では、0.94 (0.67 - 1.32) であった。

糖尿病 (HbA1c6% 超) については、男性の GG 型では、3.81 (0.99 - 14.70)、AG 型では、1.15 (0.52 - 2.56)、女性の GG 型では、3.83 (0.41 - 35.73)、AG 型では、0.42 (0.09 - 2.09) であった。

高脂血症 (総コレステロール値 240mg/dl 以上) については、男性の GG 型では、1.76 (0.75 - 4.14)、AG 型では、1.07 (0.73 - 1.58)、女性の GG 型では、1.81 (0.64 - 5.09)、AG 型では、1.04 (0.69 - 1.58) であった。

低 HDL 血症 (HDL40mg/dl 未満) については、男性の GG 型では、0.29 (0.04 - 2.32)、AG 型では、0.72 (0.41 - 1.26)、女性の AG 型では、1.36 (0.44 - 4.18) であった。

高尿酸血症 (7mg/dl 超) については、男性の GG 型では、1.00 (0.41 - 2.44)、AG 型では、0.70 (0.48 - 1.02)、女性の AG 型では、3.04 (0.25 - 36.17) であった。

高 γ -GTP 血症 (男 60IU/l 以上、女 30IU/l 以上) については、男性の GG 型では、0.72 (0.21 - 2.47)、AG 型では、0.87 (0.56 - 1.35)、女性の GG 型では、2.71 (0.32 - 23.27)、AG 型では、3.09 (1.30 - 7.37) であった。

メタボリック症候群 (血圧 130/85 以上、BMI25kg/m² 以上、HbA1c5.4% 以上、中性脂肪 150mg/dl 以上、男性で HDL40 未満、女性で HDL50 未満について、3 項目以上該当) については、男性の GG 型では、0.22 (0.03 - 1.77)、AG 型では、0.98 (0.62 - 1.54)、女性の AG 型では、0.68 (0.34 - 1.36) であった。

エストロゲン受容体遺伝子の PvuII: rs2234693 については、高血圧については、

男性の CT 型では、0.73 (0.53 - 0.99)、CC 型では、1.12 (0.75 - 1.67)、女性の CT 型では、1.36 (0.76 - 2.41)、CC 型では、1.41 (0.67 - 2.95) であった。

肥満については、男性の CT 型では、1.19 (0.49 - 2.92)、CC 型では、0.83 (0.22 - 3.18)、女性の CT 型では、1.76 (0.61 - 5.03)、CC 型では、2.04 (0.58 - 7.19) であった。

過体重については、男性の CT 型では、1.21 (0.91 - 1.61)、CC 型では、1.01 (0.69 - 1.49)、女性の CT 型では、1.17 (0.81 - 1.70)、CC 型では、1.69 (1.06 - 2.69) であった。

糖尿病については、男性の CT 型では、0.61 (0.26 - 1.40)、CC 型では、1.40 (0.53 - 3.68)、女性の CT 型では、0.73 (0.15 - 3.47)、CC 型では、1.75 (0.33 - 9.19) であった。

高脂血症については、男性の CT 型では、1.25 (0.83 - 1.87)、CC 型では、1.00 (0.56 - 1.78)、女性の CT 型では、0.92 (0.59 - 1.46)、CC 型では、1.59 (0.91 - 2.79) であった。

低 HDL 血症については、男性の CT 型では、0.92 (0.53 - 1.58)、CC 型では、0.59 (0.26 - 1.34)、女性の CT 型では、0.61 (0.19 - 1.97) であった。

高尿酸血症については、男性の CT 型では、0.85 (0.58 - 1.24)、CC 型では、1.21 (0.75 - 1.97)、女性の CT 型では、0.14 (0.01 - 2.85) であった。

高 γ -GTP 血症については、男性の CT 型では、0.53 (0.34 - 0.83)、CC 型では、0.93 (0.52 - 1.66)、女性の CT 型では、2.29 (0.80 - 6.55)、CC 型では、2.47 (0.71 - 8.57) であった。

メタボリック症候群については、男性の CT 型では、0.99 (0.62 - 1.56)、CC 型では、0.64 (0.32 - 1.27)、女性の CT 型では、0.95 (0.46 - 1.98)、CC 型では、1.25 (0.50 - 3.10) であった。

一方、縦断的な評価の結果として、エストロゲン受容体遺伝子の XbaI: rs9340799 に関するオッズ比と 95%信頼区間は、高血圧については、男性の GG 型では、2.48 (1.18 - 5.21)、AG 型では、1.23 (0.87 - 1.75)、女性の GG 型では、0.30 (0.04 - 2.24)、AG 型では、0.80 (0.47 - 1.38) であった。

肥満については、男性の AG 型では、0.47 (0.13 - 1.72)、女性の GG 型では、1.46 (0.18 - 11.75)、AG 型では、0.48 (0.15 - 1.55) であった。

過体重については、男性の GG 型では、0.59 (0.18 - 1.93)、AG 型では、0.83 (0.54 - 1.26)、女性の GG 型では、0.99 (0.13 - 7.71)、AG 型では、1.75 (0.90 - 3.42) であった。

糖尿病については、男性の GG 型では、0.89 (0.12 - 6.83)、AG 型では、1.19 (0.60 - 2.36)、女性の AG 型では、1.31 (0.30 - 5.67) であった。

高脂血症については、男性の GG 型では、1.31 (0.55 - 3.11)、AG 型では、1.14 (0.79 - 1.64)、女性の GG 型では、0.56 (0.13 - 2.35)、AG 型では、1.19 (0.78 - 1.80)であった。

低 HDL 血症については、男性の GG 型では、0.49 (0.11 - 2.09)、AG 型では、1.22 (0.74 - 2.01)、女性の GG 型では、0.96 (0.12 - 7.75)、AG 型では、1.38 (0.64 - 3.01)であった。

高尿酸血症については、男性の GG 型では、1.17 (0.49 - 2.76)、AG 型では、0.99 (0.69 - 1.43)、女性の AG 型では、0.70 (0.11 - 4.50)であった。

高 γ -GTP 血症については、男性の GG 型では、1.18 (0.58 - 2.41)、AG 型では、1.16 (0.85 - 1.58)、女性の GG 型では、0.77 (0.23 - 2.61)、AG 型では、1.34 (0.88 - 2.03)であった。

メタボリック症候群については、男性の GG 型では、2.38 (0.98 - 5.76)、AG 型では、1.10 (0.69 - 1.75)、女性の GG 型では、0.89 (0.18 - 4.25)、AG 型では、0.77 (0.34 - 1.74)であった。

エストロゲン受容体遺伝子の PvuII: rs2234693 に関するオッズ比と 95%信頼区間は、高血圧については、男性の CT 型では、0.93 (0.64 - 1.36)、CC 型では、1.66 (1.03 - 2.69)、女性の CT 型では、1.28 (0.71 - 2.30)、CC 型では、1.29 (0.60 - 2.75)であった。

肥満については、男性の CT 型では、1.37 (0.44 - 4.27)、CC 型では、0.54 (0.06 - 4.70)、女性の CT 型では、0.96 (0.25 - 3.66)、CC 型では、3.29 (0.90 - 12.00)であった。

過体重については、男性の CT 型では、0.80 (0.52 - 1.24)、CC 型では、1.14 (0.65 - 1.99)、女性の CT 型では、1.10 (0.52 - 2.32)、CC 型では、1.49 (0.60 - 3.74)であった。

糖尿病については、男性の CT 型では、0.66 (0.31 - 1.39)、CC 型では、1.67 (0.71 - 3.93)、女性の CT 型では、1.22 (0.22 - 6.73)、CC 型では、1.14 (0.10 - 13.28)であった。

高脂血症については、男性の CT 型では、1.11 (0.76 - 1.62)、CC 型では、1.12 (0.66 - 1.88)、女性の CT 型では、1.16 (0.74 - 1.84)、CC 型では、1.16 (0.62 - 2.16)であった。

低 HDL 血症については、男性の CT 型では、0.59 (0.34 - 1.00)、CC 型では、0.53 (0.26 - 1.10)、女性の CT 型では、8.56 (1.95 - 37.68)、CC 型では、5.42 (1.02 - 28.89)であった。

高尿酸血症については、男性の CT 型では、1.01 (0.68 - 1.52)、CC 型では、1.56 (0.94 - 2.59)、女性の CT 型では、0.74 (0.10 - 5.34)、CC 型では、0.66 (0.05 - 8.01)であった。

高 γ -GTP 血症については、男性の CT 型では、1.47 (1.03 - 2.09)、CC 型では、1.72 (1.09 - 2.73)、女性の CT 型では、1.25 (0.79 - 1.99)、CC 型では、1.13 (0.61 - 2.10)であった。

メタボリック症候群については、男性の CT 型では、0.75 (0.46 - 1.22)、CC 型では、1.40 (0.78 - 2.49)、女性の CT 型では、2.52 (0.96 - 6.60)、CC 型では、1.17 (0.32 - 4.28)であった。

有意であった結果としては、エストロゲン受容体遺伝子の XbaI: rs9340799 に関しては横断調査で、高 γ -GTP 血症について、女性の AG 型で、オッズ比 3.09 (1.30 - 7.37)と上昇、縦断調査では、高血圧については、男性の GG 型で、オッズ比 2.48 (1.18 - 5.21)であった。

エストロゲン受容体遺伝子の PvuII: rs2234693 に関する横断調査では、過体重について、女性の CC 型では、1.69 (1.06 - 2.69)と上昇がみられた。縦断調査では、高血圧については、男性の CC 型では、1.66 (1.03 - 2.69)と上昇しており、低 HDL 血症については、女性の CT 型では、8.56 (1.95 - 37.68)、CC 型では、5.42 (1.02 - 28.89)であった。また、高 γ -GTP 血症については、男性の CT 型では、1.47 (1.03 - 2.09)、CC 型では、1.72 (1.09 - 2.73)と上昇がみられた。

以上のように、特に縦断調査で、高血圧、低 HDL 血症、高 γ -GTP 血症についてエストロゲン受容体遺伝子多型の関与が明らかとなったと考える。今回、当初予定していたセロトニン 5-HT₂ 受容体の測定までは終了できなかった。また、健康診断情報についても 6 年分までにとどまってしまったが、今後も測定とデータ収集を継続し、また、これまで測定した遺伝子多型の情報と結合し、遺伝子の組合せなどについてさらに検討を加える予定である。

これまで、生活習慣病に関して、遺伝子多型を予防医学的に十分な科学的根拠の元に応用、活用するには至っていないと考えられる。その一因として、単一遺伝子による疾患とは異なり、大規模集団を用い、生活習慣等の他の要因を考慮した追跡研究により、そのリスクを明確にし、有用性を評価することが必須であるにもかかわらず、良好な対象集団の確保が非常に困難なことがある。

本調査では約 2,600 人の労働者を対象とした追跡調査を行った。また、pooled logistic regression analysis を用いることで、追跡期間中にも変化する生活習慣について補正を考慮した上で、遺伝子多型のリスクを明確にし、健康診断等の予防衛生活動に活用しうるか検証しうるという点に特色と意義があると考えられる。さらに複数の遺伝子多型を組み合わせて検討する際、その変異型の組み合わせ

わせを同時に持つ対象者の人数がある程度確保されていることが必須であり、集団の対象数が多いことも重要である。この点もこの調査研究の特徴である。

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)

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 美幸 (WATANABE MIYUKI)
千葉大学・大学院医学研究院・技術職員
研究者番号：70571355

(2) 研究分担者

諏訪園 靖 (SUWAZONO YASUSHI)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：90302546

上谷 実礼 (UETANI MIREI)
千葉大学・大学院・医学研究院・講師
研究者番号：30376371

能川 和浩 (NOGAWA KAZUHIRO)
千葉大学・大学院・医学研究院・助教
研究者番号：00612194