

## 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 4 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590980

研究課題名（和文） 酸化ストレス関連遺伝子多型の集積が糖尿病大血管症の発症・進展に及ぼす影響の検討

研究課題名（英文） Evaluation of the effects of the accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress on diabetic macroangiopathy

研究代表者

片上 直人 (KATAKAMI NAOTO)

大阪大学 医学（系）研究科 助教

研究者番号：10403049

研究成果の概要（和文）：糖尿病等で惹起される酸化ストレスは、糖尿病大血管症の発症に重要な役割を担う。われわれは、3819 人の日本人 2 型糖尿病患者を対象に、酸化ストレスに関連する 5 つの機能的な遺伝子多型と心筋梗塞との関連を評価した。各多型は単独では心筋梗塞と有意な関連はなかったが、酸化ストレスを促進させるアレルを多く有する患者ほど心筋梗塞の有病率が高く、酸化ストレス促進アレル保有数は心筋梗塞の独立した説明因子であった。心筋梗塞のリスク評価において、酸化ストレス関連遺伝子多型の集積効果を評価することの有用性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is likely associated with the prevalence of myocardial infarction in type 2 diabetic patients, suggesting that the combined information about these variants is useful to assess the risk of myocardial infarction.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：①糖尿病、②糖尿病大血管症、③酸化ストレス、④遺伝子診断

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病はインスリンの絶対的あるいは相対的不足による慢性の高血糖を主徴とする

疾患であるが、その患者数は近年日本において急増しており(糖尿病患者数約 800 万人、糖尿病予備軍約 1600 万人)、今や国民病と考えられている。そして糖尿病大血管症は、糖尿病患者における主たる死亡原因であると同時に QOL を損なう原因としても重要である。一方、糖尿病は冠動脈疾患や脳梗塞の発症を 2~3 倍高くする危険因子である。このため、糖尿病の診療においては、糖尿病大血管症ハイリスク群をより早期に同定し、必要な予防措置を講ずることが望まれる。

ところで、動脈硬化性疾患の発症・進展には様々な環境因子と遺伝因子が関与しており、そのハイリスク群を早期に同定するには遺伝素因の解明が不可欠である。このため、従来は候補遺伝子関連解析による、最近ではゲノムワイド関連解析による動脈硬化性疾患関連遺伝子(多型)の探索が精力的に行われてきた。その結果、多種多様な遺伝子(多型)が動脈硬化性疾患に関連することが明らかにされているが、動脈硬化性疾患などのcommon diseasesに関しては、個々の遺伝子多型の疾患発症に及ぼす影響は限定的(odds ratio 1.1~1.5程度)で、各多型を個別に診断するだけでは発症を予測することは困難であることも明らかになってきた。そこで、近年、common diseasesに関しては、複数の遺伝子多型の集積が疾患発症に及ぼす影響を検討しようという取り組みがなされているが、動脈硬化性疾患に関しては、糖尿病患者における動脈硬化の進展に特定の2つの多型の重複が強く関連することを申請者らが世界に先駆けて報告した(Yamasaki Y, Katakami N, et al. *Diabetes Care* 2006)。

一方、酸化ストレスの亢進は、糖尿病大血管症の発症・進展に重要な役割を担うことはよく知られている。我々も、糖尿病や高血糖状態で惹起される酸化ストレスが、血管内皮機能障害や血管平滑筋細胞の増殖を介して動脈硬化の発症・進展を促進することを報告してきた(Katakami N, et al. *J Biol Chem*, 2004)。

そこで、申請者らは、酸化ストレス関連遺伝子多型の集積が2型糖尿病患者における動脈硬化に及ぼす影響を検討するために、酸化ストレスに関連するとされる4つの機能的な遺伝子多型(*NAD(P)H oxidase p22phox C242T*, *myeloperoxidase G-463A*, *Glutamate-cysteine ligase modifier subunit C-588T*, *human paraoxonase 1 Gln192Arg*)と心血管イベントの確立された代替指標である頸動脈内膜中膜複合体肥厚度(IMT)との関連を検討した。その結果、pro-oxidant allele (酸化ストレスを促進させる方向に作用するアレ

ル)を多く持つ患者ほど血中酸化ストレスマーカー濃度が高値を示し、IMTの進展度が大きいことが明らかになり、酸化ストレス関連遺伝子多型の集積が動脈硬化を進展させることが示唆された(Katakami N, et al, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009)(Katakami N, et al, *Atherosclerosis*, 2009)。

このように、申請者らは既に、代替指標を用いた縦断試験を通じて、酸化ストレスに関連する遺伝子多型の集積が糖尿病患者でみられる動脈硬化性疾患の発症・進展に関連することを示唆する成績を得ている。

## 2. 研究の目的

本研究では、酸化ストレス関連遺伝子多型の集積と糖尿病大血管症(虚血性心疾患・虚血性脳血管疾患・末梢血管障害)との関連をより直接的かつ詳細に検討するとともに、糖尿病大血管症のリスク評価においては複数の酸化ストレス関連遺伝子多型の集積効果を考慮することが重要であることを前向き試験を通じて検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 酸化ストレス関連遺伝子多型の集積と糖尿病大血管症の関連の検討

公的なデータベースを用いて、酸化ストレスに関連するとされる機能的な遺伝子多型5つ(*glutamate-cysteine ligase modifier subunit (GCLM) C-588T*, *manganese superoxide dismutase (SOD2) Val16Ala*, *endothelial nitric oxide synthase (NOS3) G894T*, *NAD(P)H oxidase p22phox (CYBA) C242T*, *myeloperoxidase (MPO) G-463A*)を無作為に選択し、3819人の日本人2型糖尿病患者(男性60.8%、平均年齢60.6歳)を対象に、これらの遺伝子多型をジェノタイプングした。心筋梗塞の診断は、病歴、心電図所見、画像所見等に基づいて行った。まず、各多型と心筋梗塞との関連を、3つのモデル(major allele's dominant model, major allele's recessive model, major allele's additive model)により個別に評価した。また、これら5多型に注目すると、各患者が保有する酸化ストレス促進方向に作用するアレル(pro-oxidant allele)は、理論的には総計0~10(=各多型につき0~2アレル×5多型)個のいずれかになる。そこで、各患者が保有するpro-oxidant alleleの総数と心筋梗塞との関連を評価した。

(2) 酸化ストレス関連遺伝子多型の集積が心血管イベント発症に及ぼす影響の検討 (前向き観察研究)

40~79歳の日本人2型糖尿病患者3000例を対象とし、5年間にわたって、酸化ストレスに関連する5つの機能的な遺伝子多型 (*glutamate-cysteine ligase modifier subunit (GCLM) C-588T*, *manganese superoxide dismutase (SOD2) Val16Ala*, *endothelial nitric oxide synthase (NOS3) G894T*, *NAD(P)H oxidase p22phox (CYBA) C242T*, *myeloperoxidase (MPO) G-463A*)と冠動脈イベント(心血管死、非致死的心筋梗塞、冠血行再建術)の新規発症との関連を縦断的に評価する。上記心筋梗塞の発症と観察する。なお、観察期間中は、糖尿病、高血圧、脂質異常症、脳卒中、動脈硬化等のガイドライン等に従って、Best Possibleな治療を行う。

#### 4. 研究成果

(1) 酸化ストレス関連遺伝子多型の集積と糖尿病大血管症の関連の検討

5つの多型はいずれも単独では心筋梗塞と有意な関連はなかった。一方、pro-oxidant alleleを多く有する患者ほど心筋梗塞の有病率が高く、両者の間には統計学的に有意な関連が認められた(p for trend = 0.018)。さらに、多重ロジスティック回帰分析の結果、古典的な危険因子を調整しても、保有するpro-oxidant alleleの総数が心筋梗塞の独立した説明因子であることが確認された(オッズ比=1.16, 95%CI 1.01-1.34, p=0.034)。また、8個以上のpro-oxidant alleleを有する患者では、4個以下のpro-oxidant alleleを有する患者に比較して2.43倍(95%CI 1.10-5.37, p=0.029)心筋梗塞のリスクが高いことが明らかになった。

(2) 酸化ストレス関連遺伝子多型の集積が心血管イベント発症に及ぼす影響の検討 (前向き観察研究)

以下に中間解析結果を示す。508人の日本人2型糖尿病患者(男性68.5%、平均年齢61.4歳)を対象に、酸化ストレスに関連する5つの機能的な遺伝子多型と冠動脈イベント(心血管死、非致死的心筋梗塞、冠血行再建術)の新規発症との関連を縦断的に評価した。

観察期間(平均6.0年)中に24件の冠動脈イベントが発生した。各多型は、単独では冠動脈イベント発症と有意な関連はなかった。一方、酸化ストレスを促進させるアレル(pro-oxidant allele)を多く有する患者ほど冠動脈イベントの発症リスクが高かった(p for trend = 0.032)。Cox比例ハザードモデルを

用いた解析の結果、性別、年齢、高血圧の有無、脂質異常症の有無、喫煙等の古典的危険因子を調整後のpro-oxidant allele 1個当たりのハザード比は1.54 (95%CI: 1.01-2.35, p=0.047)であった。

以上のような結果から、2型糖尿病患者において、酸化ストレスに関連する5つの遺伝子多型の集積は、心筋梗塞と関連すること、心筋梗塞のリスク評価にはこれらの遺伝子多型の集積効果を評価すべきことの有用性が示唆される。今後は、全登録症例のデータを収集し、より多数例を対象とした解析を行うことによって、仮説の検証に努めたい。

#### 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1件)

Katakami N, Kaneto H, Matsuoka TA, et al. Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is associated with myocardial infarction in Japanese type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis* 査読あり Vol. 212 (2010) 534-538

[学会発表] (計2件)

- ① 片上直人、遺伝因子とオーダーメイド医療の可能性、第27回日本糖尿病合併症学会年次学術集会、2012.11.2、福岡
- ② 片上直人 ほか、酸化ストレスに関連する遺伝子多型の集積は心筋梗塞に関連する、第54回日本糖尿病学会年次学術集会、2011.5.20、札幌

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

片上 直人 (KATAKAMI NAOTO)  
大阪大学 医学(系) 研究科 助教  
研究者番号: 10403049

##### (2) 研究分担者

松岡 孝昭 (MATSUOKA TAKAAKI)  
大阪大学 医学(系) 研究科 助教  
研究者番号: 10379258

安田 哲行 (YASUDA TETSUYUKI)  
大阪大学 医学(系) 研究科 助教  
研究者番号: 30448055

金藤 秀明 (KANETO HIDEAKI)  
大阪大学 医学 (系) 研究科 准教授  
研究者番号 : 80448034

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号 :