

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 13 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590820

研究課題名(和文)慢性腎臓病と酸化ストレス及びアディポカイン分泌異常に関する疫学研究

研究課題名(英文)Epidemiological study on the association of chronic kidney disease with oxidative stress and abnormal secretion of adipokines

研究代表者

鈴木 康司 (Koji, Suzuki)

藤田保健衛生大学・医療科学部・准教授

研究者番号：60288470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：検診受診者を対象として、腎機能とカロテノイド、アディポカイン及びmiRNAの血清レベルとの関連について検討した。女性では血清プロビタミンA、特にβ-カロテンの上昇がアルブミン尿のリスク低下と関連し、男女ともに血清レジスチン値は腎機能指標である血清シスタチンC値と正相関した。また縦断調査により、肥満や血清レジスチン上昇は、糸球体濾過量減少との関与が示唆された。さらに血清miR-21、miR-122値がアルブミン尿群で高く、血清miR-126値はeGFR低下群で低かった。腎機能低下は、酸化ストレスやアディポカイン分泌異常の関与が示唆され、血管内皮機能に關与するmiRNA値の変動を認めた。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the associations of kidney function with serum levels of carotenoids, adipokines, and miRNAs which are involved in vascular endothelial function, among Japanese adults who attended a health examination. Increased levels of serum provitamin A, especially serum beta-carotene, were independently associated with lower risk of albuminuria among women. Serum resistin levels were positively associated with serum cystatin C levels in both sexes. Longitudinal study showed that increases in body mass and serum resistin levels were associated with decrease in estimated glomerular filtration rate (eGFR). Moreover serum miR-21 and 122 were increased in albuminuria group compared with normal group, and serum miR-126 levels were independently and positively associated with eGFR. Kidney function decline was implicated with oxidative stress, abnormal resistin secretion, and changes in serum miRNAs which affect vascular endothelial dysfunction.

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：慢性腎臓病 酸化ストレス アディポカイン miRNA カロテノイド 疫学研究

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (CKD) は、腎障害所見 (検尿異常、血液異常、画像異常など) を認めるまたは/かつ糸球体濾過量が $60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 未満である状態と定義されている。CKD は腎不全への進行リスクだけでなく、米国やわが国 (久山研究) の疫学調査において CKD が心血管疾患 (CVD) の危険因子であることが報告される等、心血管イベントのリスク因子でもあることが明らかになっている。日本の CKD の有病率は日本腎臓学会の調査によると、約 1330 万人であり、今後も増加することが危惧されている。さらに人工透析患者は毎年約 1 万人の割合で増加しており、2009 年末には 29 万人を超えた。このような背景から CKD が重要視され、その対策が大きな課題であると考えられている。

これまでの研究より、CKD の発症・進展に関与する危険因子としては、加齢、CKD の家族歴、高血圧、耐糖能異常、肥満などがある。高血圧、耐糖能異常、肥満は、メタボリックシンドロームの構成要素であるが、最近の疫学研究でメタボリックシンドロームが CKD の危険因子であることが示されている。高血圧、耐糖能異常、肥満は、それぞれ単独で生体内の酸化ストレスを増大させる要因であり、メタボリックシンドロームも酸化ストレスが亢進している状態である。申請者はこれまでに肥満者や高血糖者の血清中の抗酸化物質であるカロテノイド値が有意に低く、酸化ストレスが亢進している状態であることを報告しており、さらにメタボリックシンドロームでも血清カロテノイドが低い状態であることを見出ししている。また脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンは、抗動脈硬化作用や抗糖尿病作用を有する善玉アディポカインであるが、血清 β -カロテン値と正相関することを報告し、酸化ストレスとアディポネクチン分泌は密接に関連していることが示唆された。動物実験等でもアディポネクチン欠損マウスで糸球体障害が発症すること、酸化ストレスが糸球体障害に関与することが報告されていることからメタボリックシンドロームと CKD の関連については、こうした酸化ストレスやアディポカインの分泌異常が機序に関わっていると考えられる。

2. 研究の目的

CKD 対策は重要な課題であるが、日本における CKD 予防対策の基礎となる疫学調査データは未だ少ない。そこで、検診受診者を対象として、CKD と酸化ストレス・アディポカイン分泌異常の関連について、主にバイオマーカーを用いて疫学的手法により検討することを目的とした。

3. 研究の方法

北海道 Y 町の住民 (40 歳以上) を対象とした検診の受診者のうち、研究について同意が得られた者を対象として検討を行った。腎機

能の指標として、推算糸球体濾過量 (eGFR)、尿中アルブミン量、血清シスタチン値を用いた。eGFR は性別に年齢と血清クレアチニン値を用いて $e\text{GFR}(\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2)=194 \times \text{Cr}^{-1.094} \times \text{年齢}^{-0.287}$ ($\times 0.739$: 女性の場合) の推算式より算出し、eGFR が $60\text{ml}/\text{分}/1.73\text{m}^2$ 未満を CKD と定義した。尿中アルブミンは検診時に採取した随時尿をサンプルとして免疫比濁法により、また尿中クレアチニン値は酵素法により、それぞれ測定し、アルブミン/クレアチニン比 (ACR) を算出した。微量アルブミン尿の定義は ACR が $30 \sim 299\text{mg}/\text{gCr}$ とした。血清シスタチン C 値はラテックス凝集比濁法により測定を行った。

(1) メタボリックシンドロームと CKD との関連

メタボリックシンドロームの診断基準は、ウエスト周囲径が男性 85cm、女性 90cm 以上で、血圧高値、高血糖、脂質異常の 3 項目のうち 2 つ以上有する者とした (日本内科学会等による診断基準)。ウエスト周囲径は立位軽呼吸時における臍高位を計測した。血圧高値の定義は SBP130mmHg 以上 または/かつ DBP85mmHg 以上および降圧剤服用者とした。高血糖の定義は血糖 $110\text{mg}/\text{dl}$ 以上および糖尿病服薬治療者とした。脂質異常の定義は中性脂肪 $150\text{mg}/\text{dl}$ 以上または/かつ HDL-C $40\text{mg}/\text{dl}$ 未満および高脂血症服薬治療者とした。喫煙・飲酒習慣、投薬治療の有無などの情報は、質問票を用いて調査を行った。CKD のオッズ比および 95% 信頼区間 (95%CI) はロジスティック回帰分析により算出した。

(2) 血清レジスチン、高分子量アディポネクチンおよびカロテノイド値とアルブミン尿及び血清シスタチン値との関連

血清レジスチンおよび高分子量アディポネクチン値は、ELISA キットを用いて測定を行った。血清カロテノイド値は、高速液体クロマトグラフィーにより、ゼアキサントニン/ルテイン、カンタキサントニン、 β -クリプトキサントニン、リコペン、 α -カロテンおよび β -カロテンを分画測定した。総カロテンは α -カロテン、 β -カロテン、リコペンを足したものの、総キサントフィルは β -クリプトキサントニン、ゼアキサントニン/ルテイン、カンタキサントニンを足したものの、プロビタミン A は α -カロテン、 β -カロテン、 β -クリプトキサントニンを足したものの、総カロテノイドは総カロテンと総キサントフィルを足したものとして、それぞれ算出した。統計解析は性別に行い、重回帰分析では年齢、BMI、収縮期血圧、血糖、LDL-コレステロール、喫煙習慣および飲酒習慣を加えた。

(3) 血清 microRNA と腎機能の関連

血清 miRNA (miR-21、34a、122、126、221、222) の定量は、健診時の採血により得た血清を用いて total RNA を抽出後、real-time qPCR 法により測定した。ACR が $30\text{mg}/\text{gCr}$ 未

満を正常群、30mg/gCr 以上をアルブミン尿群として血清 miRNA 値を比較した。また eGFR が 60ml/分/1.73m² 未満を CKD 群、60ml/分/1.73m² 以上を正常群として血清 miRNA を比較した。

(4)住民健診受診者における肥満指標および血清レジスチン、高分子量アディポネクチン値の変化量と eGFR 変化量との関連

2011 年の住民健診受診者のうち、2012 年も受診した 291 名(男性 125 名、女性 166 名)を解析対象者とした。身長、体重、ウエストおよびヒップ周囲径は健診時に計測した。1 年間の eGFR 変化量と肥満指標および血清レジスチン値の変化量との関連について、重回帰分析により性、ベースライン時の年齢、収縮期血圧、喫煙習慣、飲酒習慣および eGFR を調整し解析を行った。

(5)動脈硬化指標 Stiffness Parameter と eGFR との関連

頸動脈超音波検査には ALOKA 社製 ProSound 7 の超音波診断装置を用いた。本装置の eTRACKING 機能を用いて、内外頸動脈分岐部より 1~2cm 中枢側の総頸動脈で測定した。IMT も本装置に搭載されている IMT 自動計測機能を用い、を測定した部位とほぼ同じ部位にて計測し mean IMT を算出した。重回帰分析は性別に、年齢、BMI、ヘモグロビン A1c、LDL-コレステロール、SBP、降圧剤服用の有無を調整項目として加えた。

4. 研究成果

(1)メタボリックシンドロームと CKD との関連

メタボリックシンドロームと CKD との関連を調査した結果、男性ではメタボリックシンドロームおよびその構成要素の集積数は、CKD と関連することが示唆された。(表 1、2) 女性ではメタボリックシンドローム及びその構成要素の集積数は、eGFR と明らかな関連を認めなかった。

表1 メタボリックシンドローム及びその構成要素のCKDのオッズ比と95%信頼区間

	男性	女性
内臓脂肪蓄積	1.93(1.12-3.35)	0.89(0.49-1.54)
血圧高値	1.55(0.74-3.59)	1.07(0.59-2.02)
高血糖	1.69(0.90-3.06)	1.59(0.87-2.82)
脂質異常	1.30(0.74-2.40)	1.39(0.83-2.29)
メタボリックシンドローム	1.92(1.07-3.39)	1.21(0.55-2.46)

性、年齢、喫煙習慣、飲酒習慣を調整

表2 メタボリックシンドローム構成要素数別CKDのオッズ比と95%信頼区間

メタボリックシンドローム構成要素数*	男性	女性
0	1.00	1.00
1	1.85(0.56-8.39)	0.67(0.30-1.55)
2	2.18(0.68-9.74)	0.95(0.43-2.21)
3	2.77(0.84-12.58)	1.31(0.52-3.36)
4	7.40(1.92-37.02)	0.92(0.12-4.46)

a : ①内臓脂肪蓄積(ウエスト周囲径が男性85cm以上、女性90cm以上)、②血圧高値(SBP130mmHg以上 and/or DBP95mmHg以上または降圧剤服用者)、③高血糖(血糖110mg/dl以上または糖尿病薬治療者)、④脂質異常(中性脂肪150mg/dl以上 and/or HDL-C 40mg/dl未満または高脂血症薬治療者)の該当数
b : 性、年齢、喫煙習慣、飲酒習慣を調整

(2) 血清カロテノイド値とアルブミン尿との関連

女性では、アルブミン尿群は、正常群と比べ、血清カンタキサンチン、リコペン、 β -カロテン、総カロテンおよびプロビタミン A 値が有意に低い結果を得た。女性のアルブミン尿のオッズ比は、血清 β -カロテン高値群(オッズ比:0.45、95%信頼区間:0.20-0.98)とプロビタミン A 高値群(オッズ比:0.45、95%信頼区間:0.20-0.97)で有意に低かった(表 3)。男性では血清カロテノイド値とアルブミン尿は有意な関連を認めなかった。女性では血清プロビタミン A、特に β -カロテン値の上昇がアルブミン尿のリスク低下と関連することが示唆された。(J Epidemiol. 2013; 23(6): 451-6.)

表3 血清カロテノイド値別アルブミン尿のオッズ比と95%信頼区間

血清カロテノイド	男性		女性	
	低	高	低	高
ゼアキサンチン/ルテイン	1.00	0.78 (0.26-2.13)	1.00	0.97 (0.46-2.05)
カンタキサンチン	1.00	0.52 (0.10-1.01)	1.00	0.57 (0.24-1.12)
β -クリプトキサンチン	1.00	1.77 (0.61-5.30)	1.00	0.64 (0.33-1.47)
リコペン	1.00	0.59 (0.20-1.64)	1.00	0.72 (0.34-1.50)
α -カロテン	1.00	0.72 (0.24-2.08)	1.00	0.82 (0.39-1.72)
β -カロテン	1.00	1.46 (0.50-4.41)	1.00	0.58 (0.26-1.18)
総カロテン	1.00	0.97 (0.34-2.75)	1.00	0.63 (0.30-1.32)
総キサントフィル	1.00	0.91 (0.34-2.44)	1.00	0.66 (0.30-1.44)
プロビタミンA	1.00	1.74 (0.61-5.25)	1.00	0.49 (0.23-1.04)
総カロテノイド	1.00	1.09 (0.37-3.24)	1.00	0.57 (0.26-1.19)

性、年齢、BMI、喫煙習慣、飲酒習慣、高血圧、高血糖、高脂血症を調整

(3)血清シスタチン C 値と血清レジスチン、高分子量アディポネクチンおよびカロテノイド値との関連

血清シスタチン C 値は、男女ともに血清レジスチン値と有意な正相関を認めた(男性: $r=0.318$, $p<0.001$, 女性: $r=0.273$, $p<0.001$)。また女性では血清シスタチン C 値は、血清 β -カロテン、 β -カロテン、 β -クリプトキサンチン値と有意な負相関を得た。さらに女性では重回帰分析により、血清シスタチン値は血清レジスチン値($r=0.263$, $p<0.001$)、血清ゼアキサンチン/ルテイン値($r=-0.151$, $p=0.031$)、 β -クリプトキサンチン値($r=-0.142$, $p=0.038$)、 β -カロテン値($r=-0.136$, $p=0.040$)と有意な関連を認めた。血清シスタチン C 値と血清カロテノイドおよびレジスチン値との関連を調査した結果、女性では血清レジスチン、 β -クリプトキサンチンおよび β -カロテン値は腎機能と関与することが示唆された。血清高分子量アディポネクチン値は血清シスタチン C 値と有意な関連を認めなかった。

(4) 血清 microRNA(miR-21、122、126)と腎機能の関連

アルブミン尿群と正常群の miRNA を比較すると、アルブミン尿群では血清 miR-21 値が正常群と比べ有意に高い結果を得た($p=0.047$)。またアルブミン尿群の血清 miR-122 は正常群に比べ高い傾向を得た($p=0.055$) (図 1)。酸化ストレスや脂質代謝との関連が

示唆されている血清 miR-21、miR-122 値はアルブミン尿との関連が示唆された。また血清 miR-126 レベルは正常群 (eGFR60≤) より腎機能低下 (eGFR60>) 群で有意に低く (図 2)、miR-126 は腎機能低下のメカニズムに関与していることが推察された。

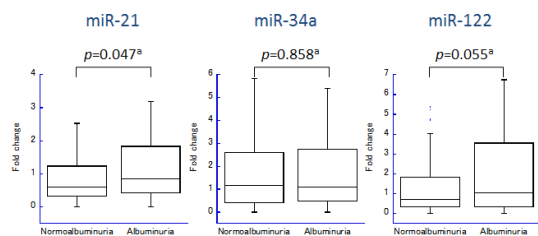


図1 血清miR-21, 34a, 122 値の比較
a: Mann-WhitneyのU検定

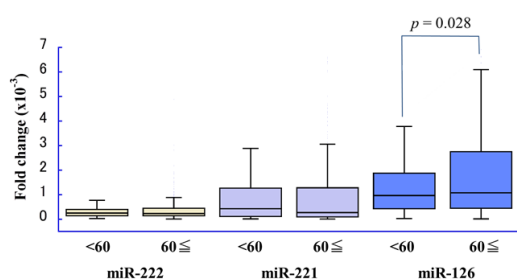


図2 血清miR-126, 221, 222 値の比較
a: Mann-WhitneyのU検定

(5) 住民健診受診者における肥満指標および血清レジスチン値の変化量と推算糸球体濾過量の変化量との関連

重回帰分析により、eGFR 変化量は体重変化量 (=-0.143, $p=0.015$) および血清レジスチン変化量 (=-0.156, $p=0.011$) と有意な関連を認めた (表 4)。性別に解析を行うと、男性では、eGFR 変化量は、ウエスト/ヒップ比変化量と正相関、血清レジスチン値変化量と有意な負相関を認めた。女性では eGFR 変化量は BMI、ウエスト/ヒップ比、体重のそれぞれの変化量と有意な負相関を得た。肥満指標変化量と eGFR 変化量との関連は性差を認めたが、肥満や血清レジスチン高値は腎機能低下の促進に関与することが示唆された。

表4 1年間のeGFR変化量と肥満指標および血清レジスチン値の変化量の関連

	全体		男性		女性	
	β^a	p	β^a	p	β^a	p
BMI変化 (kg/m ²)	-0.162	0.006	-0.067	0.482	-0.198	0.010
WHR変化	-0.021	0.720	0.227	0.012	-0.122	0.122
ウエスト変化 (cm)	-0.112	0.057	0.092	0.313	-0.190	0.015
体重変化 (kg)	-0.143	0.015	-0.080	0.393	-0.180	0.020
レジスチン変化 (ng/ml)	-0.156	0.011	-0.219	0.019	-0.115	0.159

年齢、収縮期血圧、喫煙習慣、飲酒習慣 (全体ではさらに性に) を調整

(6) 動脈硬化指標 Stiffness Parameter と eGFR との関連

男性では 値と meanIMT 値は eGFR と有意な負相関を得 ($r=-0.227$, $p<0.001$, $r=-0.180$, $p=0.008$)、女性では mean IMT 値のみが eGFR と有意な負相関であった ($r=-0.181$, $p=0.002$)。交絡因子を加えた重回帰分析の結果では、男性で 値のみが eGFR と独立した有意な関連を認めた (表 5)。

表5 Stiffness parameter β 及び mean IMT と eGFR との関連

		β	p
男性	Stiffness parameter β	-0.174	0.016
	Mean IMT	-0.002	0.978
女性	Stiffness parameter β	0.016	0.785
	Mean IMT	0.019	0.688

年齢、BMI、ヘモグロビンA1c、LDL-コレステロール、SBP、降圧剤服用の有無を調整

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)

(1) Suzuki K, Honjo H, Ichino N, Osakabe K, Sugimoto K, Yamada H, Kusuha Y, Watarai R, Hamajima T, Hamajima N, Inoue T., Association of serum carotenoid levels with urinary albumin excretion in a general Japanese population: the yakumo study., J Epidemiol. 2013;23(6):451-6. (査読有) doi: 10.2188/jea.JE20130058

〔学会発表〕(計 8 件)

(1) 鈴木康司, 度會理佳, 濱島 剛, 山田宏哉, 市野直浩, 刑部恵介, 杉本恵子, 大橋鉦二, 浜島信之, 井上孝, 住民健診受診者における肥満指標および血清レジスチン値の変化と推算糸球体濾過量の変化との関連., 第 24 回日本疫学会学術総会, 2014 年 1 月 25 日, 宮城県

(2) Suzuki K, Yamada H, Ichino N, Osakabe K, Sugimoto K, Ando Y, Sawada A, Watarai R, Hamajima T, Kusuha Y, Hamajima N, Inoue T., Serum microRNA-126 levels are associated with kidney function in a Japanese population., 13th Asia-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Congress, 2013 年 10 月 27 日 ~ 2013 年 10 月 30 日, インドネシア, バリ

(3) Ichino N, Suzuki K, Osakabe K, Sugimoto K, Yamada H, Watarai R, Hamajima N, Inoue T, Hata T., Stiffness parameter assessed by an ultrasonic phase-locked echo-tracking system is associated with kidney function in a Japanese population., 13th Asia-Pacific Federation for Clinical Biochemistry and Laboratory

Medicine Congress, 2013年10月27日～2013年10月30日, インドネシア, バリ

(4) 鈴木康司、井上 孝、山田宏哉、浜島信之、血清シスタチンC値と血清レジスチンおよびカロテノイド値との関連、第72回日本公衆衛生学会、2013年10月24日、三重県

(5) 鈴木康司、井上孝、市野直浩、刑部恵介、杉本恵子、楠原康弘、落合潤一、山田宏哉、伊藤宜則、浜島信之、住民健診受診者におけるアルブミン尿と血清microRNA (miR-21、miR-122)との関連、第23回日本疫学会学術総会、2013年01月25日、大阪府

(6) 鈴木康司、井上孝、山田宏哉、浜島信之、住民健診受診者における微量アルブミン尿と血清カロテノイド値との関連、第71回日本公衆衛生学会総会、2012年10月25日、山口県

(7) 鈴木康司、井上 孝、市野直浩、刑部恵介、杉本恵子、楠原康弘、落合潤一、山田宏哉、伊藤宜則、浜島信之、住民健診受診者における推算糸球体濾過量 (eGFR)と血清カロテノイド値との関連、第82回日本衛生学会学術総会、2012年3月25日、京都府

(8) 鈴木康司、井上 孝、市野直浩、刑部恵介、杉本恵子、楠原康弘、落合潤一、山田宏哉、伊藤宜則、浜島信之、住民健診受診者におけるメタボリックシンドロームと腎機能低下との関連、第22回日本疫学会学術総会、2012年1月27日、東京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 康司 (Koji Suzuki)
藤田保健衛生大学・医療科学部・准教授
研究者番号：60288470

(2) 研究分担者

市野 直浩 (Naohiro Ichino)
藤田保健衛生大学・医療科学部・准教授
研究者番号：50278280