

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25253046

研究課題名(和文) 動脈硬化の進展にかかわる新しいバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Explorative Study on new biomarker of atherosclerosis

研究代表者

上島 弘嗣 (Ueshima, Hirotugu)

滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・特任教授

研究者番号：70144483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,400,000円

研究成果の概要(和文)：(1)縦断解析：インスリン抵抗性と冠動脈硬化進展、歩数とメタボリックシンドローム発症との関連、(2)国際共同研究：米国住民コホートMESAとの冠動脈硬化日米比較、ピッツバーグ大学等との共同研究にてオメガ3脂肪酸と冠動脈石灰化発症との関連等、(3)遺伝子、メタボローム、新興バイオマーカー：アルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子多型とLDL-コレステロール、リポプロテイン関連ホスホリパーゼA2とその遺伝子多型と潜在性動脈硬化との関連等を明らかにした。尿中メタボローム・酸化変性LDLも測定済みであり引き続き有用なバイオマーカーの探求を続ける。

研究成果の概要(英文)：We have reported the association of insulin resistance and progression of coronary artery calcification (CAC), and the association between step count and onset of metabolic syndrome in longitudinal analyses. We also reported a comparative study of CAC between our cohort (Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis: SESSA) and a community-based cohort in the US (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis: MESA). In other collaborative studies with University of Pittsburgh, we have reported the association of n-3 fatty acid and CAC. Moreover, we investigated the association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and atherosclerosis as well as the association of low density lipoprotein (LDL) cholesterol with polymorphism of aldehyde dehydrogenase. Metabolome in the urine, and oxidized LDL in the blood have been already measured and we will continue to seek for novel biomarkers that are useful in prevention of atherosclerotic diseases.

研究分野：循環器疾患の疫学

キーワード：潜在性動脈硬化 進展 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

我々は、日米二つのランダムサンプル(40歳代男性白人、日本人それぞれ300人)の比較研究(ERA JUMP研究)により、HDLコレステロール以外の古典的危険因子は同等または日本人が悪い状況であったにもかかわらず、潜在性動脈硬化の指標である冠動脈石灰化および頸動脈の内膜中膜肥厚は日本人の方がはるかに軽度であったこと(Sekikawa Aほか、*Int J Epidemiol.* 2005、Sekikawa Aほか、*Metabolism.* 2008)、一方ハワイ在住の日系米人男性300名との比較では、日本人よりも日系米人の方が動脈硬化度は白人並に進展していたこと(Abbott RDほか、*Am J Epidemiol.* 2007)を報告した。これらの結果は、日本人であっても、白人なみに冠動脈や頸動脈の動脈硬化が進展する可能性があることを示している。

この要因を探るべく、血中脂肪酸分析、NMRによるリポ蛋白分画、炎症性マーカー、遺伝子分析、等を行ってきた(Lee Sほか、*Br J Nutr* 2012、Sekikawa Aほか、*J Epidemiol* 2012)。現在、動脈硬化予防に血中の魚油の主成分脂肪酸(ドコサヘキサエン酸)が関与していることを見出した(Sekikawa Aほか、*J Am Coll Cardiol* 2008)。また申請代表者らは、ロンドン大学などの国際共同研究(INTERMAP)により、メタボローム解析による客観的な栄養素およびその代謝産物と血圧との関連を検討し、その手法がNatureなどに報告され、新しい栄養疫学の分野へと発展しつつある(Holmes Eほか、*Nature* 2008)。さらに、我が国におけるメタボローム研究拠点である慶應義塾大学・先端研生命科学研究所との共同研究を、慶應義塾大学医学部と進めつつある。一方、酸化LDLは内皮障害の重要な因子であることが知られているが、共同研究者である国立循環器病研究センターの沢村らはその新しい測定法を開発し(Sawamura Tほか、*Nature* 1997)、酸化LDL受容体である可溶性Lectin-like oxidized LDL Receptor (LOX-1)と酸化LDLとの積値であるLOX-Indexが、日本人集団における冠動脈疾患のみならず脳梗塞をも予測する有用な指標であることを岡村(本研究共同研究者)らと共に報告した(Inoue Nほか、*Clin Chem* 2010)。これらの成果を踏まえ、動脈硬化の進展要因の新しいバイオマーカーを探索することが本申請の主目的である。

2. 研究の目的

(1) 過去に実施した草津市のランダムサンプル約1500名のうちSESSA対象者1200名(残りの300名はERAJUMP対象者であり追跡完了済み)ベースライン調査対象者に、CTによる冠動脈石灰化、頸部エコーによる頸動脈硬化度等の繰り返し調査を行っている研究の後半部分、すなわち潜在性動脈硬化症に関する追跡調査を完了させる。

(2) 世界的にも研究が急速に進展しつつあるメタボローム解析による新しいバイオマーカーの探索を行い、潜在性動脈硬化症の進展要因を明らかにする。

(3) 新しく開発された手法による酸化LDLの指標の測定を行い、以上を総合して動脈硬化の進展に寄与する新しいバイオマーカーを探索する。

3. 研究の方法

(1) 潜在性動脈硬化症の検査として、引き続き以下の調査を行う

CTによる冠動脈石灰化の測定・評価
頸動脈エコーによる頸動脈内膜中膜肥厚・プラークの評価

CTによる腹部内臓脂肪・皮下脂肪の計測
脈波速度の計測

血圧測定、家庭血圧(一週間)、身長、体重測定、空腹時採血による血液化学検査(LDLコレステロール、HDLコレステロールを含む)、血糖値、HbA1c、等の測定

動脈硬化、脂質代謝、血圧値に関連する遺伝子多型の分析

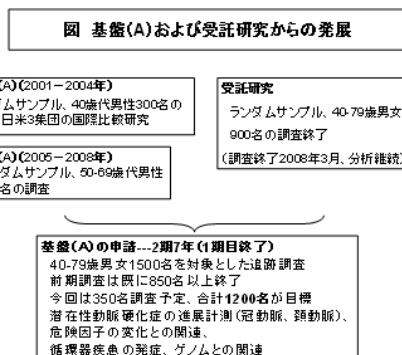
(2) メタボローム解析による動脈硬化進展要因の探索(保存生体試料を用いて、慶應義塾大学との共同研究)

(3) 酸化LDLの指標(LOX Index)の分析(国立循環器病研究センターとの共同研究)

(4) 国際比較疫学研究の進展 我々の研究と同様の動脈硬化疫学研究である米国MESA(多民族動脈硬化研究: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis)との日米比較共同研究をさらに進める(米国NIH MESAのデータは既に取得)

(5) 40歳代男性 日米比較研究の推進(ERAJUMP: 米国ピッツバーク大学公衆衛生大学院)

(6) 発症登録: 追跡調査の参加者全員に、予後追跡に関する調査の協力を依頼している。説明後同意を得られた対象者からは今後の循環器疾患発症や生存・死亡などの予後追跡調査が可能な体制を整備する。



4. 研究成果

これまでの主な成果を以下に概説する。

(1) 縦断解析：冠動脈硬化の進展にメタボリック症候群の構成要素とは独立してインスリン抵抗性が関与することを国際誌に報告した (*ATVB* 2016)。また客観的に評価された歩数値とメタボリックシンドローム発症との関連についての論文を peer review 雑誌に発表した (*日循予防誌*. 2017)。

(2) 横断解析：喫煙習慣(現在喫煙・禁煙・非喫煙) および喫煙本数と潜在性動脈硬化との関連についての論文を国際誌に発表した (*JAHA* 2016)。また、喫煙が相対的に腹部肥満(CT を用いて評価された内臓肥満を含む)と関連していることを国際雑誌に発表した (*Prev Med Rep*. 2016)。

(3) 国際共同研究の成果検討：米国の地域住民コホート MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) との比較にて冠動脈硬化の日米差が若年男性になる程小さくなる傾向を報告した (*AJE* 2014)。また、ピッツバーグ大学、ハワイ大学等との国際共同研究 ERA-JUMP のデータを用いた、3 脂肪酸と冠動脈石灰化発症との関連 (*Heart* 2014)、および大動脈石灰化と大動脈硬化との関連 (*Hypertension* 2017) について国際雑誌に発表した。

(4) 京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター田原准教授らとともにアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子多型に関する分析を実施し、メンデルランダム化解析の手法を用いて関連遺伝子と LDL-コレステロールとの関連の報告を行った (*Atherosclerosis*. 2014, 2016)。

(5) その他の新興バイオマーカーに関しても、リポタンパク質関連ホスホリパーゼ A2 (LpPLA2) と潜在性動脈硬化との関連をメンデルランダム化解析の手法にて検討した研究 (*Atherosclerosis* 2016)、核磁気共鳴法で測定した HDL や LDL などのリポ蛋白粒子が HDL-コレステロールや、LDL-コレステロールを含む従来の危険因子とは独立して潜在性動脈硬化と関連したこと (*Atherosclerosis*. 2016; *J Clin Lipidol*. 2016) などを報告した。この他にも尿中メタボロームおよび酸化変性 LDL (いずれも慶應大学などとの共同研究) 測定もすでに行っており、今後とも有用なバイオマーカーの探求を続けていく。

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 27 件)

久松隆史, 三浦克之, 渋川武志、(他 11 名) 客観的に評価された歩数値とメタボリックシンドローム発症との関連：地域住民 5 年前向き研究 (滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA) 日本循環器病予防学会誌、査読有、52 巻、2017、227-239

Guo J, Fujiyoshi A, Willcox B, (他 15 名). Increased Aortic Calcification Is Associated With Arterial Stiffness Progression in Multiethnic Middle-Aged Men. *Hypertension*. 査読有、69 巻、2017、102-108.

Zaid M, Miura K, Fujiyoshi A, (他 16 名), Associations of serum LDL particle concentration with carotid intima-media thickness and coronary artery calcification. *J Clin Lipidol*. 査読有、10 巻、2016、1195-1202
DOI: 10.1016/j.jacl.2015.12.027.

Yamazoe M, Hisamatsu T, Miura K, (他 11 名), Relationship of Insulin Resistance to Prevalence and Progression of Coronary Artery Calcification Beyond Metabolic Syndrome Components: Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 査読有、36 巻、2016、1703-1708
DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307612.

Ueshima H, Kadowaki T, Hisamatsu T, (他 17 名), Lipoprotein-associated phospholipase A2 is related to risk of subclinical atherosclerosis but is not supported by Mendelian randomization analysis in a general Japanese population. *Atherosclerosis*. 査読有、246 巻、2016、141-147
DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.12.027.

Tabara Y, Ueshima H, Takashima N, (他 7 名), Mendelian randomization analysis in three Japanese populations supports a causal role of alcohol consumption in lowering low-density lipoprotein cholesterol levels and particle numbers. *Atherosclerosis*. 査読有、254 巻、2016、242-248
DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.021.

Hisamatsu T, Miura K, Arima H, (他 15 名), Smoking, Smoking Cessation, and Measures of Subclinical Atherosclerosis in Multiple Vascular Beds in Japanese Men. *J Am Heart Assoc*. 査読

有、29卷、2016、e003738
DOI: 10.1161/JAHA.116.003738.

Fujiyoshi A, Miura K, Kadowaki S, (他14名), Lifetime cigarette smoking is associated with abdominal obesity in a communitybased sample of Japanese men: The Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA). *Prev Med Rep.* 査読有、16卷、2016、225-232
DOI: 10.1016/j.pmedr.2016.06.013.

Okamura T, Miura K, Sawamura T, (他11名), Serum level of Lox-1 ligand containing ApoB is associated with increased carotid intima-media thickness in Japanese community dwelling men, especially those with hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 査読有、10卷、2016、172-180
DOI: 10.1016/j.jacl.2015.10.010.

Lee S, Ahuja V, Masaki K, (他10名), A significant association of vitamin D deficiency with coronary artery calcification among middle-aged men: for the ERA JUMP study. *J Am Coll Nutr.* 査読有、35卷、2016、614-620

El-Saed A, Masaki K, Okamura T, (他12名), The associations of C-reactive protein with serum levels of polyunsaturated fatty acids and trans fatty acids among middle-aged men from three populations. *J Nutr Health Aging.* 査読有、20卷、2016、16-21
DOI: 10.1007/s12603-015-0551-7.

Zaid M, Fujiyoshi A, Miura K, (他14名), High-density lipoprotein particle concentration and subclinical atherosclerosis of the carotid arteries in Japanese men. *Atherosclerosis.* 査読有、239卷、2015、444-450
DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.031.

Torii S, Arima H, Ohkubo T, (他13名), Association between Pulse Wave Velocity and Coronary Artery Calcification in Japanese men. *J Atheroscler Thromb.* 査読有、22卷、2015、1266-1277
DOI: 10.5551/jat.30247.

Sekikawa A, Miyamoto Y, Miura K, (他7名), Continuous decline in mortality from coronary heart disease in Japan despite a continuous and marked rise

in total cholesterol: Japanese experience after the Seven Country Study. *Intl J Epidemiol.* 査読有、44卷、2015、1614-1624
DOI: 10.1093/ije/dyv143.

Ahuja V, Kadowaki T, Evans RW, (他14名), Comparison of HOMA-IR, HOMA-and disposition index between US white men and Japanese men in Japan; the ERA JUMP study. *Diabetologia.* 査読有、58卷、2015、265-271
DOI: 10.1007/s00125-014-3414-6.

El Khoudary SR, Shin C, Masaki K, (他14名), Ectopic cardiovascular fat in middle-aged men: Effects of race/ethnicity, overall and central adiposity. The ERA JUMP study. *Int J Obes (Lond).* 査読有、39卷、2015、488-494
DOI: 10.1038/ijo.2014.154.

Vishnu A, Choo J, Wilcox BJ, (他16名), Brachial-Ankle Pulse Wave Velocity is Associated with Coronary Calcification among 1,131 Healthy Middle-Aged Men. *Int J Cardiol.* 査読有、189卷、2015、67-72
DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.04.020

Nagasawa SY, Ohkubo T, Masaki K, (他18名), Associations between Inflammatory Markers and Subclinical Atherosclerosis in Middle-aged White, Japanese-American and Japanese Men: The ERA-JUMP Study. *J Atheroscler Thromb.* 査読有、22卷、2015、590-598
DOI: 10.5551/jat.23580.

Fujiyoshi A, Miura K, Ohkubo T, (他8名), Cross-sectional comparison of coronary artery calcium scores between Caucasian men in the United States and Japanese men in Japan: the multi-ethnic study of atherosclerosis and the Shiga epidemiological study of subclinical atherosclerosis. *Am J Epidemiol.* 査読有、180卷、2014、590-598
DOI: 10.1093/aje/kwu169.

Hisamatsu T, Fujiyoshi A, Miura K, (他13名), Lipoprotein particle profiles compared with standard lipids in association with coronary artery calcification in the general Japanese population. *Atherosclerosis.* 査読有、236卷、2014、237-243
DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.

- 07.019.
- 21 Sekikawa A, Miura K, Lee S, (他 17 名), Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids and incidence rate of coronary artery calcification in Japanese men in Japan and white men in the USA: population based prospective cohort study. *Heart*. 査読有、100 巻、2014、569-573
DOI: 10.1136/heartjnl-2013-304421.
 - 22 Choo J, Shin C, Barinas-Mitchell E, (他 12 名), Regional Pulse Wave Velocities and Their Cardiovascular Risk Factors Among Healthy Middle-Aged Men: A Crosssectional Population-based Study. *BMC Cardiovasc Disord*. 査読有、14 巻、2014、5
DOI: 10.1186/1471-2261-14-5
 - 23 Vishnu A, Choo J, Masaki K, (他 13 名), Particle Numbers of Lipoprotein Subclasses and Arterial Stiffness among Middle-aged men from the ERA JUMP study. *J Hum Hypertens*. 査読有、28 巻、2014、111-117
DOI: 10.1038/jhh.2013.60.
 - 24 Maeda T, Takeuchi K, Xiaoling P, (他 7 名), Lipoprotein-associated phospholipase A2 regulates macrophage apoptosis via the Akt and caspase-7 pathways. *J Atheroscler Thromb*. 査読有、21 巻、2014、839-853
 - 25 Kadota A, Miura K, Okamura T, (他 10 名), Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Apparently Healthy Japanese Individuals with an Estimated 10-Year Absolute Risk of CAD Death According to the Japan Atherosclerosis Society (JAS) Guidelines 2012: The Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA). *J Atheroscler Thromb*. 査読有、20 巻、2013、755-766
 - 26 Fujiyoshi A, Sekikawa A, Shin C, (他 18 名), A cross-sectional association of obesity with coronary calcium among Japanese, Koreans, Japanese Americans, and U.S. whites. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 査読有、14 巻、2013、921-927
DOI: 10.1093/ehjci/jet080
 - 27 Sekikawa A, Shin C, Masaki KH, (他 13 名), Association of total marine fatty acids, eicosapentaenoic and docosa-

hexaenoic acids, with aortic stiffness in Koreans, whites, and Japanese Americans. *Am J Hypertens*. 査読有、26 巻、2013、1321-1327
DOI: 10.1093/ajh/hpt107.

[学会発表](計 33 件)

Kadota A, Miura K, Okamura T, (他 10 名)、Carotid intima-media thickness and plaque among apparently healthy Japanese with estimated 10-year absolute risk of CAD death according to the Japan Atherosclerosis Society (JAS) Guideline 2012: the Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA)、81st European Atherosclerosis Society Congress、平成 25 年 6 月 2 日～5 日、リヨン(フランス)

Hisamatsu T, Miura K, Ohkubo T, (他 10 名)、Lipoprotein Particle Profiles by Nuclear Magnetic Resonance, Standard Lipids and Coronary Artery Calcification in a Japanese General Population: the Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、平成 25 年 7 月 18 日～19 日、東京京王プラザホテル(東京都新宿区)

藤吉朗、三浦克之、門脇紗也佳、(他 11 名)、地域住民男性における生涯喫煙量と内臓脂肪との関連: SESSA 研究、第 34 回日本肥満学会、平成 25 年 10 月 11 日～12 日、東京国際フォーラム(東京都千代田区)

Okamura T, Sawamura T, Hisamatsu T, (他 5 名)、Modified LDL (Serum level of LOX-1 ligand containing ApoB) was associated with increased carotid intima-media thickness in Japanese community dwelling men especially with hypercholesterolemia、9th World Stroke Congress、平成 26 年 10 月 22 日～25 日、イスタンブール(トルコ)

Hisamatsu T, Miura K, Fujiyoshi A, (他 7 名)、Association of unrecognized myocardial infarction with silent cerebral lesions in elderly Japanese、第 40 回日本脳卒中学会総会、平成 27 年 3 月 26 日～29 日、NTT クレドホール・リーガロイヤルホテル広島ほか(広島県広島市)

Hisamatsu T, Miura K, Fujiyoshi A, (他 7 名)、Association of Major and Minor

ECG Abnormalities with Subclinical Atherosclerosis in a General Japanese Population: SESSA、第79回日本循環器学会学術集会、平成27年4月24日~26日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

久松隆史、三浦克之、有馬久富、(他8名)、喫煙習慣、喫煙指数、禁煙期間と潜在性動脈硬化との関連: 滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA、第26回日本疫学会学術総会、平成28年1月21日~23日、米子コンベンションセンター(鳥取県米子市)

Yamazoe M, Hisamatsu T, Miura K, (他11名)、Relationship of Insulin Resistance to Prevalence and Progression of Coronary Artery Calcification beyond Metabolic Syndrome in a General Population、AHA EPI Lifestyle 2016、平成28年3月1日~4日、フェニックス(アメリカ合衆国)

Miyazawa I, Ohkubo T, Kadowaki S, (他7名)、Which Factors Predict Longitudinal Change of Pericardial Fat Volume in Japanese Men? : Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA)、第80回日本循環器学会学術集会、平成28年3月18日~20日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

久松隆史、三浦克之、洪川武志、(他11名)、客観的に評価された歩数値とメタボリック症候群発症との関連: 地域住民5年前向き研究(滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA)、第52回日本循環器病予防学会学術集会、平成28年6月17日~18日、埼玉県県民健康センター(埼玉県さいたま市)

田原康玄、上島弘嗣、高嶋直敬、(他7名)、飲酒はLDLコレステロール濃度とLDL粒子数を減らす~メンデルランダム化解析、第52回日本循環器病予防学会学術集会、平成28年6月17日~18日、埼玉県県民健康センター(埼玉県さいたま市)

高嶋直敬、久松隆史、鳥居さゆ希、(他7名)、一般地域男性住民における高い睡眠呼吸障害有所見率とその要因 - SESSA研究 -、第27回日本疫学会、平成29年1月25日~27日、ベルクラシック甲府(山梨県甲府市)

Fujiyoshi A, Ohkubo T, Miura K, (他11名)、Lower eGFR and Proteinuria were

Independently Associated with Lower Cognitive Abilities in Community-Dwelling Men in Japan: SESSA study、AHA Epi/Lifestyle2017、平成29年3月7日~10日、ポートランド(アメリカ合衆国)

[その他]
ホームページ
<https://hs-web.shiga-med.ac.jp/sessa/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上島 弘嗣 (UESHIMA, Hirotsugu)
滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・
特任教授
研究者番号: 70144483

(2) 研究分担者

三浦 克之 (MIURA, Katsuyuki)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90257452

大久保 孝義 (OHKUBO, Takayoshi)
帝京大学・医学部・教授
研究者番号: 60344652

喜多 義邦 (KITA, Yoshikuni)
敦賀市立看護大学・看護学部・准教授
研究者番号: 30147524

藤吉 朗 (FUJIYOSHI, Akira)
滋賀医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 10567077

門田 文 (KADOTA, Aya)
滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・
特任准教授
研究者番号: 60546068

久松 隆史 (HISAMATSU, Takashi)
滋賀医科大学・医学部・客員准教授
研究者番号: 60710449

村上 義孝 (MURAKAMI, Yoshitaka)
東邦大学・医学部・教授
研究者番号: 90305855

高嶋 直敬 (TAKASHIMA1, Naoyuki)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号: 80435883

宮川 尚子 (MIYAGAWA, Naoko)
滋賀医科大学・医学部・特任助教
研究者番号: 20388169