

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460737

研究課題名(和文)生活習慣との相互作用を考慮した生活習慣病危険遺伝子の検索

研究課題名(英文) Searching genes susceptible for life-style related diseases in consideration with gene-environmental interaction.

研究代表者

大門 眞 (Daimon, Makoto)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20241698

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：生活習慣病の危険遺伝子の解析では、生活習慣病の解析にも関わらず、生活習慣を考慮しては行われていない事が多く、実臨床にあまり役立たない。そこで、生活習慣のデータを踏まえた生活習慣病危険遺伝子の解析を行った。また、遺伝子環境因子相互作用を踏まえた実臨床に使用可能な生活習慣病リスク評価も考案した。合わせて、既報の生活習慣病危険因子の知見を深めるとともに、ホルモン因子(例えば、血漿レニン活性、アルドステロン値、その比、等)が死亡あるいは生活習慣病のリスクであることを明らかにした。これらの知見は、実臨床に直接役立つ、個別化医療(precision medicine)へ繋がるものと思われた。

研究成果の概要(英文)：Most studies to find genes susceptible for life-style related diseases have been conducted without regarding life-style factors per se. This strategy conveys a risk that the results obtained were not useful in ordinary clinical settings. Therefore, we examined gene-environmental interactions for several genetic factors known as susceptible for such life-style related diseases, and tried to invent methods to use such data of interactions to evaluate risks of the diseases. We further extended the knowledge of classical risk factor for life-style related diseases, together with clarifying several environmental factors such as plasma renin activity, aldosterone concentration, their ratio as a risk for death and/or life-style related disease. These findings seem to be very useful in ordinary clinical settings and thus pave the way to the precision medicine.

研究分野：医歯薬額

キーワード：分子疫学

1. 研究開始当初の背景

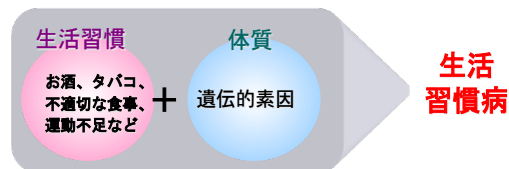
(1) 生活習慣病危険遺伝因子検索の現況

糖尿病、高血圧、高脂血症、等の生活習慣病は遺伝因子と活動状況、栄養状況等の環境因子が関与して発症する疾患であり、多因子疾患と位置づけられる。これら疾患の危険遺伝因子としては、候補遺伝子解析、ゲノムワイド関連研究(GWAS)から、多数の遺伝因子が報告されているが、疾患と関連する程度(オッズ比は1.5-2程度が多い)は高くなく、また、環境因子との相互作用が考慮されていないものが殆どある。そこで、私達は、環境因子との相互作用を考慮した危険遺伝因子の解析にとりかかり、現在、研究を進めてきた。

(2) 環境要因との相互作用を考慮した危険遺伝因子の検索の必要性

既報の研究結果は多様である。ある研究で関連が指摘されても、他の研究で否定される遺伝子型は多数ある。かかる場合、再現性がないとして否定的に捉えられる事が多いが、対象群の

生活習慣病



多くの原因によっておこる

「多因子疾患」

背景である、環境因子の違いによる場合も考えられる。例えば、塩分摂取量が多い場合にのみ高血圧の危険因子として働く遺伝子多型(塩分摂取量の多くない対象では、検出出来ない)、あるいは、摂取エネルギー量が多い場合にのみ、肥満、糖尿病の危険因子として働く遺伝子多型(摂取エネルギー量の多くない対象では検出出来ない)、の場合は、環境因子を考慮しない解析では、認めるのは難しいかもしれない。また、たまたま有る解析で有意な関連が認められたとしても、その背景にある環境と遺伝因子との相互作用については不明のままである。環境と遺伝因子との関連についての情報は、実際診療の場での活用性が高い。例えば、塩分摂取量が多い場合にのみ高血圧の危険因子となる遺伝因子の場合は、減塩の重要性を強調した栄養指導を行い、また、塩分摂取量が多くない例に対しては危険遺伝因子を持っていない例と同様に対応できることとなる。そこで、環境因子を詳細に調べ、そのデータを用いて、補正、あるいは、階層化して、解析し、環境因子との関連を含めて、危険遺伝因子を検索することが重要となる。

(3) これまでの研究成果。

私達は、山形県高島町の40歳以上の全住民を対象とし、2004-2006年に健診を行った(受検者3,869名)。これらを対象として生活習慣病を中心とした各種疾患の発症についての追跡調査を始めている。ベースラインで、アディポネクチン等の生活習慣病の血清マーカーを含めた詳細な検査や、栄養食事、及び、身体活

動、等の生活習慣についての詳細な調査(国立健康・栄養研究所の方法; BDHQ 及び JALPAQ)をおこなっている。また、対象の内、同意を得られたもの、約3,000名よりDNAを抽出済みで、内約1,600名を対象にDNAチップ(Illumina 660W-Quad)を用いて既に約60万単塩基多型(SNP)を解析済みである。これらデータを用いて、生活習慣因子との相互作用を考慮して遺伝子解析を進める。また、前段階として、候補遺伝子解析より、GNB3 遺伝子が、塩分摂取量特異的に糖尿病発症と関連する事(Daimon M, et al. Biochem Biophys Res Commun2008; 374: 576-580.)や、FTO 遺伝子が中程度以上の運動強度の運動の多寡に特異的に肥満と関連する事(Karasawa S, et al. Endocr J 2010; 57: 293-301)を認め報告しており、解析の手法、準備は整っており、さらなる発展をめざす。

2. 研究の目的

生活習慣病は種々の環境、及び、遺伝因子が関与する多因子疾患であるが、その発症、増悪に関連する危険因子の検索は、これら因子の相互作用は考慮されずに行われる事が多い。殊に、遺伝因子の解析では、生活習慣病についての解析にも関わらず、生活習慣を考慮しては行われることは殆どなく、これまでの報告が実臨床に应用可能な結果であったかは疑問である。そこで、本研究では、生活習慣の詳細なデータを踏まえて危険遺伝因子を検索したい。

3. 研究の方法

(1) 断面研究による疾患感受性遺伝子多型の解析。

生活習慣因子との相互作用を考慮して、生活習慣病(糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満、心筋梗塞、及び、脳血管疾患)の疾患感受性遺伝子を検索する。生活習慣の指標、例えば、摂取エネルギー量、塩分摂取量、エネルギー消費量、等により、統計学的に補正(多重解析にこれら因子を加える)、あるいは、階層化して、関連解析を行う。これにて、生活習慣・遺伝因子の関連を踏まえた、危険遺伝因子を明らかにする。なお、対象の候補遺伝子を、広く、かつ、漏らさず抽出する為に、既報、及び、機能から、関連すると思われる遺伝子、及び、ゲノムワイド関連解析(GWAS)で有意となった遺伝子全てを対象とする。この場合、有意水準のp値は通常より甘めにして漏らさない様に配慮する。絞り込んだ遺伝子に関しては、契機と成った多型(TagSNP)の周囲の多型も新たに調べ、それを用いて関連解析の精度を高める。

(2) コホートの追跡、及び、それを用いた解析。

本コホートを対象に、各種検査データ、疾患の新規発症状況、死亡、等、の追跡を行っており、これを継続する。各種疾患の発症をエンドポイントとした、危険遺伝因子の解析も、生活習慣を考慮しても行う。

4. 研究成果

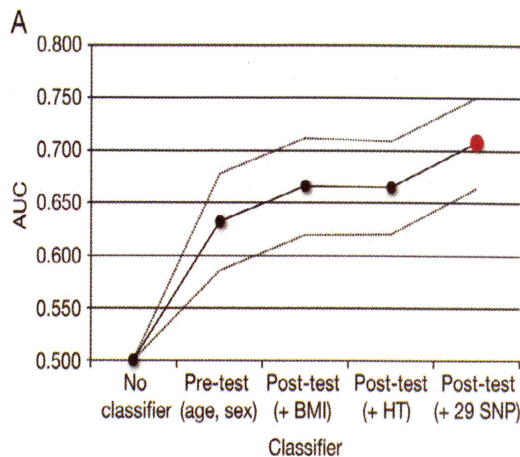
(1) 横断的研究

糖尿病と関連するFTO等の種々遺伝因子と病態との関連をさらに詳細に大規模共同研究にて進めた、また、種々の既報の遺伝因子を統合して用いる事により糖尿病のリスクをより良く評価する方法を考案し、さらに遺伝子環境因子相互作用を考慮した肥満予防の可能性についても報告した。以下に、幾つか概説する。

① 尤度比を用いた2型糖尿病の統合的リスク評価

【目的】多因子疾患のオーダーメイド予防には、個人毎の複数の遺伝因子と環境因子の統合的な評価が不可欠。ベイズの定理によれば、個人に対して行われた複数の検査所見と一般の有病率(事前確立)から、検査後(事後)確立が得られ、それを用いた個人の疾病予測が可能である。そこで、尤度比(事後/事前確立)を用いた新たな2型糖尿病のリスクを評価する方法を検討した。

【方法】オープンデータとなっている日本人のSNPの、肥満、高血圧と2型糖尿病との関連研究の結果より、一般住民での尤度比を計算した。次に、その値を用いて、私達の地域コホート(n=1,263)に、尤度比を用いた評価法を適用し、本評価法と非侵襲性糖尿病スクリーニングTOPICS(年齢、性別、BMI、喫煙、家族歴、及び高血圧の有無)及び糖尿病リスクアレル数カウント(GRS: Genetic Risk Scale)の識別能力の違いをROC解析を用いて比較した。



【結果】AUC値は、それぞれ、0.707, 0.719, 0.624となり、尤度比を用いた本評価法とTOPICSはGRSの識別能力より優れていた。

【結語】尤度比を用いた本評価法が有用であることを提示した。

② 遺伝子環境因子相互作用を考慮した肥満予防の可能性

【目的】肥満には環境因子のみならず遺伝因子も関与している事は多くの研究より明らかにされてきたが、その相互作用を考慮しての研究は少ない。しかしながら、その相互作用を明らかにする事は、体質に応じた環境因子のコントロールを行う事(個別化医療、あるいはprecision

medicine)に繋がる事で、個々の危険因子を明らかにする事にも増して重要と思われる。そこで、遺伝因子と肥満との関連に環境因子がどの様に影響しているかを、一般住民を対象とした横断及び追跡調査より検討した。

【方法】山形県高島町住民検診の2004—2006年参加者3,291人の内、2011年末まで追跡調査できた2,134(男/女:1/1;年齢:62.5±10.3;追跡期間5-7年)を対象に生活習慣指標と肥満(BMI)との関連を調べた。内 遺伝子解析の協力を得られた1620名では、既報の東アジア人での肥満関連遺伝子の単塩基多型(SNP)を用いた加重遺伝リスクスコア(weighted genetic risk score:GRS)を用いて遺伝因子とBMIとの関連を生活習慣指標も独立因子として加えて重回帰分析を用いて調べた。

【結果】1. 横断研究:GRSとBMIは有意に関連(p<0.001)。この有意性は種々の生活習慣因子で補正しても保たれており独立した危険因子だった(p<0.001)。GRSは種々の生活習慣因子と有意な相互作用を示した:炭水化物摂取量、動物性及び植物性蛋白摂取量、動物性及び植物性脂肪摂取量、食物繊維摂取量、運動量、インスリン抵抗性指数(HOMA-R)(これらとの有意差は全てp<0.001)、及びアルコール摂取量(p=0.014)。

2. 追跡調査:GRSはBMIの変化と関連しておらず、生活習慣因子を含めての解析でも有意な相互作用は認められなかった。

【結語】肥満に関して遺伝因子と生活習慣との相互作用があることを明らかにした。しかしながら、追跡調査では、この相互作用は明らかではなく、今後の課題として残ったが、生活習慣因子を考慮した遺伝因子の解析の重要性を確認出来た。

(2) 追跡研究

追跡研究も順調に進めており、以下に幾つかの結果を概説する。

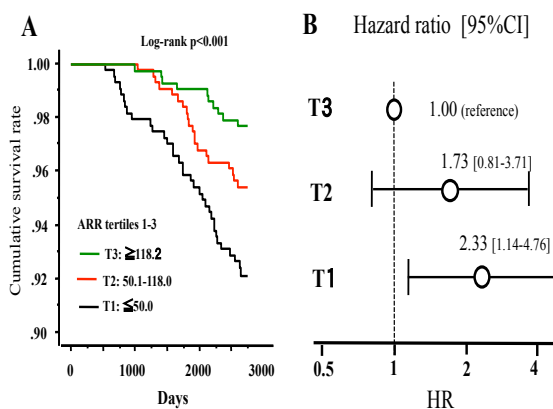
① 血漿アルドステロン/レニン比(ARR)低値は全死亡の危険因子

【背景】レニン-アンジオテンシン-アルドステロンシステム(RAAS)は、全身(Systemic)作用としては心血管系に働き血圧調整を行う。また、組織レベルでの(Local)作用も有り、このLocal RAAS系は、肝臓、腎臓、膵臓、脳、血管系、脂肪組織、等の殆どの組織で発現しており、血管造成、細胞増殖、炎症、活性酸素産生等に関与している。従って、RAASは、Systemic RASとしての大血管障害(CVD)への関与に加えて、local RASとして、癌、糖尿病、肥満、炎症等の種々疾患、病態と関連すると考えられる。そこで、私達はRAASのマーカー、血漿レニンの活性(PRA)と死亡との関連を解析し、PRA高値が全死亡、CVD及び癌による死亡の危険因子と成っている事を先の研究にて報告した(Metabolism 2012;61:504)。今回、この研究を進展させ、RAASの他のマーカー、アルドステロン(Ald)及びAld/PRA(ARR)と死亡との関連を一般

住民を対象とした追跡調査より検討した。

【方法】対象：山形県高島町住民検診の2004—2006年参加者で、PRA、アルドステロンのデータが揃っている者1,310人（男/女：588/722；年齢：65.9±9.8）。追跡調査：死亡、及び、死因を、2011年末まで追跡調査した（追跡中央値：2,691日、64名が死亡）。血漿アルドステロン(Ald)及びAld/PRA(ARR)と全死亡との関連を、Kaplan-Meier生存曲線法、Cox比例ハザード法で解析した。Ald、PRA、ARRは連続変数、及び、群別(3分位)で解析した。死因別(CVD、癌、その他)解析には、 χ^2 乗解析、及び、多重ロジスティック解析を用いた。

【結果】1. PRA (2.02±2.83 Vs. 1.22±1.86, P<0.001)、ARR (113.5±176.9 Vs. 161.7±195.2, P=0.832)は男女で有意に異なっていたが、Ald (74.2±35.9 Vs. 74.6±38.1 pg/ml, P<0.001)は同様であった。男女の違い、年齢及び高血圧治療の有無で補正して解析を行った。2. Aldと全死亡との関係はU字型であり、中央群に比して高値群(HR:1.33, 95% CI: 0.69-2.56)、低値群(1.46, 0.80-2.68)共に全死亡の危険因子の傾向が見られたが、有意ではなかった。3. ARR低値群は高値群に比して有意に全死亡が多かった(2.33, 1.14-4.76)。4. 全死亡の危険因子となるARRのカットオフ値をROC曲線からもとめると、72となった。5. 死因別解析では、ARR低値群は高値群に比して、CVD(1.83 vs 0.23%, p=0.019)及び癌(2.98 vs



0.92%, 0.028)の死亡率が有意に高かった。

【結語】PRA高値は、一般住民においても、大血管障害死亡のみならず、全死亡の独立した危険因子である。癌死亡の危険因子の可能性あり。

② 脂質異常症治療と死亡率との関連

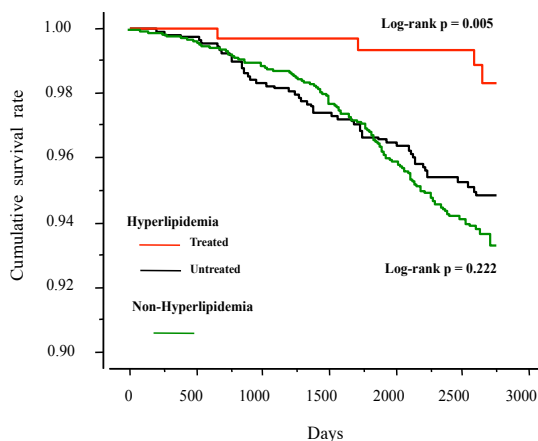
【目的】脂質異常の治療が、実臨床では、死亡との程度関与しているかを一般住民を対象とした追跡調査より検討した。

【方法】対象：山形県高島町住民検診の2004—2006年参加者3,291人（男/女：1,515/1,776；年齢：62.5±10.3）。追跡調査：死亡、及び、死因を、2011年末まで追跡調査した（追跡中央値：2,655日、169人が死亡）。高脂血症(1,395)の診断は、治療中、及び、TC≥220あるいはTG≥150 mg/dlとした。高脂血症治療

と全死亡との関連をCox比例ハザード法で解析した。

【結果】1. 高脂血症治療は、種々の因子(年齢性別、Hb、血清アルブミン、血圧、HbA1c、喫煙、脂質、等)で補正しても、全死亡低下と関連していた(治療Vs. 非治療, HR: 0.24, p=0.008; 治療Vs. 非高脂血症, 0.34, 0.042)。2. 非高脂血症は高脂血症非治療より全死亡低下と関連していた(0.70, ;0.041)。3. 高脂血症は、癌死亡低下とも有意に関連していた(治療Vs. 非治療, 0.08, 0.018; 非高脂血症Vs. 高脂血症非治療, 0.44, 0.024)。

高脂血症治療と全死亡のリスク



【結語】高脂血症治療のトータルの効果を検討した本研究では、高脂血症は全及び癌死亡のリスクだが、治療はそのリスクを軽減し、高脂血症のない人よりも低くする事、また、その効果は脂質改善効果と独立している事が示唆された。高脂血症治療の治療は、より積極的に治療を進める事が必要と思われた。

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15件)

- ① Yamagata University Genomic Cohort Consortium, Narimatsu H...Daimon M (45番目), Oizumi T (48番目), (他56名). Constructing a contemporary gene-environmental cohort: study design of the Yamagata Molecular Epidemiological Cohort Study. *J Hum Genet.* 2013;58(1):54-6. doi: 10.1038/jhg.2012.128. 査読有
- ② Kaino W, Daimon M, Sasaki S, (他11名). Lower physical activity is a risk factor for a clustering of metabolic risk factors in non-obese and obese Japanese subjects: the Takahata study. *Endocr J.* 2013; 60(5):617-28. doi:10.1507/endocrj. EJ12-0351. 査読有

- ③ Konta T, Kudo K, Sato H, …Daimon M(10 番目), (他 10 名). Albuminuria is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in the Japanese population: the Takahata study. *Clin Exp Nephrol*. 2013;17(6):805-10. doi:10.1007/s10157-013-0770-3. 査読有
- ④ Daimon M, Sato H, Kaino W, (他 10 名). Association of the G-protein β 3 subunit gene polymorphism with the incidence of cardiovascular disease independent of hypertension: the Funagata study. *J Hum Hypertens*. 2013 ;27(10):612-6. doi:10.1038/jhh. 2013. 28. 査読有
- ⑤ Shibata Y, Inoue S, Igarashi A, …Daimon M (15 番目), (他 15 名). A lower level of forced expiratory volume in 1 second is a risk factor for all-cause and cardiovascular mortality in a Japanese population: the takahata study. *PLoS One*. 2013 Dec 13;8(12):e83725. doi:10.1371/ journal.pone. 0083725. 査読有
- ⑥ Qi Q, Kilpeläinen TO, Downer MK, …Daimon M (20 番目), (他 105 名). FTO genetic variants, dietary intake and body mass index: insights from 177,330 individuals. *Hum Mol Genet*. 2014;23(25):6961-6972. doi:10.1093/hmg/ ddu411. 査読有
- ⑦ Sato N, Htun NC, Daimon M, (他 8 名). Likelihood ratio-based integrated personal risk assessment of type 2 diabetes. *Endocr J*. 2014;61:967-988. doi:10.1507/endocrj.EJ14-0271. 査読有
- ⑧ Otaki Y, Watanabe T, Takahashi H, … Daimon M (14 番目), (他 14 名). Association of heart-type fatty acid-binding protein with cardiovascular risk factors and all-cause mortality in the general population: the Takahata study. *PLoS One*. 2014;9(5):e94834. doi:10.1371/ journal.pone.0094834. 査読有
- ⑨ Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Gao P, Khan H, (他 14 名), Daimon M (18 番目), (他 56 名). Glycated hemoglobin measurement and prediction of cardiovascular disease. *JAMA*. 2014;311:1225-1233. doi: 10.1001/jama.2014.1873. 査読有
- ⑩ Pereira TV, Kimura L, Suwazono Y, Nakagawa H, Daimon M, Oizumi T, (他 10 名), Multivariate meta-analysis of the association of G-protein beta 3 gene (GNB3) haplotypes with cardiovascular phenotypes. *Mol Biol Rep*. 2014;41:3113-3125. doi: 10.1007/ s11033-014-3171-0. 査読有
- ⑪ Daimon M, Konta T, Oizumi T, (他 10 名). Lower aldosterone-renin ratio is a risk factor for total and cancer death in Japanese individuals: the Takahata study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82:489-96. doi:10.1111/cen. 12615. 査読有
- ⑫ He L, Tuomilehto J, Qiao Q, Söderberg S, Daimon M, Chambers J, Pitkaniemi J. DECODA study group. Impact of classical risk factors of type 2 diabetes among Asian Indian, Chinese and Japanese populations. *Diabetes Metab*. 2015;41:401-9. doi: 10.1016/ j.diabet.2015.07. 003. 査読有
- ⑬ Daimon M, Oizumi T, Kameda W, (他 7 名). Association of Treatment for Hyperlipidemia with Decreased Total Mortality in Japanese Individuals: the Yamagata (Takahata) Study. *J Atheroscler Thromb*. 2015;22:1030-9. doi: 10.5551/jat.29181. 査読有
- ⑭ White IR, Rapsomaniki E; Emerging Risk Factors Collaboration. Covariate-adjusted measures of discrimination for survival data. *Biom J*. 2015;57:592-613. doi: 10.1002/bimj.201400061. 査読有
- ⑮ Nakamura S, Narimatsu H, Sato H, …Daimon M(8 番目), (他 11 名). Gene-environment interactions in obesity: implication for future applications in preventive medicine. *J Hum Genet*. 2016;61:317-22. doi: 10.1038/jhg.2015.148. 査読有
- [学会発表] (計 10 件)
- ① 大門 真, …大泉 俊英 (10 番目), (他 11 名). GNB3 遺伝子 C825T 多型は糖尿病、高血圧と独立した大血管障害の危険因子. 日本糖尿病学会年次学術集会. 2013 年 5 月 17 日、ホテル日航熊本 (熊本県・熊本市).
- ② Muramatsu M, Daimon M, Sato N. A genomic nomogram of type 2 diabetes risk assessment for Japanese. The 14th International Meeting on Human genome variation and Complex Genom Analysis. Sept 30-Oct 2, 2013. Seoul, South Korea.
- ③ 大門 真, 大泉 俊英, (他 5 名). 糖尿病、脂質異常症、高血圧症の治療と全死亡との関連. 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2014 年 5 月 24 日、大阪国際会議場 (大阪府・大阪市).
- ④ 和田 輝里子, …大泉 俊英 (8 番目), 大門 真 (9 番目), (他 12 名). 大豆食品摂取による血中アディポネクチン値への影響についての疫学的検討. 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2014 年 5 月 22 日、大阪国際会議場 (大阪府・大阪市).
- ⑤ 多田 杏子, …大泉 俊英 (7 番目), … 大門 真 (9 番目), (他 7 名). 血中アディポネクチン値と心血管疾患発症との関連. 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会.

2014年5月22日、大阪国際会議場（大阪府・大阪市）。

- ⑥ 柄澤 繁、…大泉 俊英(8番目)、大門 眞(9番目)、(他12名)。地域一般住民における果実摂取量と糖・脂質代謝・肝機能・尿酸との関連：高島町研究。第57回日本糖尿病学会年次学術集会。2014年5月22日、大阪国際会議場（大阪府・大阪市）。
- ⑦ 大門 眞、今田恒夫、大泉 俊英、(他10名)。血漿アルドステロン／レニン比（ARR）低値は全死亡の危険因子。第87回日本内分泌学会学術総会。2014年4月26日、福岡国際会議場（福岡県・福岡市）。
- ⑧ 佐藤憲子、トン ネーチン、大門眞、(他8名)。尤度比を用いた2型糖尿病の統合的リスク評価。日本人類遺伝学会第59回大会。2014年11月20日、タワーホール船堀（東京都・江戸川区）。
- ⑨ 大門 眞、大泉 俊英、(他9名)。糖尿病の治療は未だ不十分？-死亡との関連- 第58回日本糖尿病学会年次学術集会。2015年5月24日、海峡メッセ下関（山口県・下関市）。
- ⑩ 大門 眞、大泉 俊英、(他9名)。脂質異常症治療は死亡率改善と関連する。第88回日本内分泌学会学術総会。2015年4月24日、ホテルニューオータニ東京（東京都・千代田区）。

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~inter3/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大門 眞 (DAIMON MAKOTO)
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：20241698

(2) 研究分担者

大泉 俊英 (OIZUMI TOSHIHIDE)
山形大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：00344797

(3) 連携研究者

無し
研究者番号：