

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：33906

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25460795

研究課題名(和文) 過重労働に関わる新しい心血管マルチバイオマーカーの探索およびその検証的縦断研究

研究課題名(英文) Longitudinal study of cardiovascular multi-biomarkers in long-time workers.

研究代表者

平井 真理 (Hirai, Makoto)

椋山女学園大学・看護学部・教授

研究者番号：90242875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：長時間労働に関する心血管バイオマーカーの検索で、small-dense (SD)-LDL等が有用である可能性を既に報告した。今回は、これらを、企業体の2回(1年間隔)の健診時に測定し、同時に喫煙歴・食事嗜好・時間外労働時間等を調査した。本研究において、2回の測定の比較で、喫煙者でかつ時間外労働を有する群では、LDLに有意差を認めずSD-LDLとSD-LDL/LDLに有意な増加を認めた。また、非喫煙者で時間外労働を有する群では、SD-LDL/LDLについてのみ有意な増加が認められた。これらの所見から、時間外労働はSD-LDL/LDLが増加することで動脈硬化巣形成を促進する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Long-time working increases cardiovascular diseases even in young workers. However, the mechanisms for this have not yet been elucidated. We analyzed biomarkers to clarify the pathobiochemical mechanisms involved in the development of cardiovascular diseases induced by long-time working in office and factory workers. We measured the followings twice (1-year interval): small dense (SD) low-density lipoprotein (LDL); total cholesterol; LDL cholesterol; high-density lipoprotein cholesterol. We also used questionnaires concerning smoking habit and body weight gain or loss time twice with 1-year interval. In smokers with overtime work, SD-LDL and the ratio of SD-LDL to LDL significantly increased however, LDL did not change significantly. In non-smokers with overtime work, only the ratio of SD-LDL to LDL increased significantly. Lowering SD-LDL might be of importance and beneficial in preventing cardiovascular events in office and factory workers with long-time working.

研究分野：循環器内科

キーワード：長時間労働 バイオマーカー small-dense LDL

1. 研究開始当初の背景

長時間労働はわが国の大きな社会問題であり、世界の先進国でわが国ほど長時間労働が多い国は少なく景気の動向から今後長時間労働が強化され長時間労働に起因する心血管系疾患の増大が懸念されており、その予防戦略や治療戦略の新たな展開が期待されている。一方、心血管系事故は、1) 動脈硬化進展、2) プラーク生成・不安定化・破綻、3) 血栓形成、4) 心筋虚血、5) 心筋壊死、6) 心筋線維化とリモデリング等に深く関係していることが知られている。また、これらの病態生理学的変化の進展とその機序を新たなバイオマーカーにより明らかにすることが可能であることが示唆されている。しかしながら、これまで長時間労働が心血管系リスクを増大する病態生理学的機序の解明に病態生化学的手法である新しいバイオマーカーを応用検討した報告は少ない。

そこで、今回の研究の目的は主として2つあり、第1は、長時間労働が、動脈硬化の形成・進展・破綻や心筋線維化の進展に及ぼす影響とその機序を動脈硬化進展・粥腫形成・粥腫破綻・血栓形成・マクロファージ遊走促進・酸化ストレス・炎症関連・脂質代謝・心筋線維化等の指標である心血管系バイオマーカーを用いて明らかにすることであり、第2は、これまでにわれわれが長時間労働で増加することを明らかにした酸化LDLを含む心血管マルチバイオマーカーについて、長時間労働の頻度の高い労働者と長時間労働をしない労働者の2群を3年間以上縦断的に研究することでこれらの心血管系バイオマーカーの長時間労働における病態生化学的意義をさらに検証的に明確にすることである。これには、バイオマーカーに影響を及ぼす可能性のある喫煙・仕事の質・食生活等の交絡因子についての調査も併せて実施する。われわれはこれまで従来から臨床に広く用いられてきた総コレステロール・HDLコレステロール・LDLコレステロール・中性脂肪・CBC・尿酸・血糖・HbA1c・血圧・肥満度等に加え、新しいバイオマーカーであるMMP-9・MCP-1・IL-6・TNF- α ・small-dense LDL・MDA-LDL・ホモシステイン・高感度CRP・高分子アディポネクチン・レプチン等を長時間労働が認められた月に測定することにより長時間労働が心血管疾患あるいは心血管事故を惹起する機序の解明を試みてきた。すなわち、MMPに関してはプラークの不安定化因子あるいは予後予測因子としては未だ確立されていないが細胞外基質を分解し平滑筋細胞が中膜から内膜に移動し動脈硬化進展過程で重要な役割を果たしMMP-9がこの過程で重要であることが報告されている。Small-dense LDLに関してはIn vitroにて酸化を受けやすく高値例は急性心筋梗塞の発症率が正常群の3倍であることが報告されている。ホモシステインに関しては5 μ mol/Lの上昇で冠動脈疾患発症リス

クが1.32倍に増加することが報告されている。MCP-1は、単球・マクロファージ・血管内皮等から産生されるケモカインで、1) 単球等の遊走活性、2) 活性酸素・リソゾーム酵素の産生・放出、3) 炎症性サイトカインの産生誘導、4) 平滑筋細胞の遊走・増殖、5) 心筋細胞のアポトーシス誘導等の機能を有し、動脈硬化の発症進展や左室リモデリング等に深く関与している(Boring L、他、Nature 1998)。IL-6等の炎症性サイトカインはその最も上流に位置しその測定の重要性が指摘されている。また、高感度-CRPは古典的危険因子とは独立した予後予測因子であることが大規模臨床試験で報告されている(Ridker PM、他、N Engl J Med 2005)が近年注目されIL-6・TNF- α ・高感度CRPが良い指標になることが報告されている。既に、喫煙量とアディポネクチン血中濃度は逆相関すること、レプチン血中濃度はアディポネクチンのそれよりも血管炎症性バイオマーカーと強い相関があること、アディポネクチン血中濃度は左室肥大と逆相関を有し独立した予後予測因子であることを報告してきた(Tamakoshi K、他、Clin Endocrinol 2007, Mitsuhashi H、他、Hypertension 2007)。このように、心血管マルチバイオマーカーは長時間労働に惹起される心血管病変形成あるいは進展の機序解明に有用な情報を提供することから、本研究の成果は長時間労働に伴う心血管疾患の予防戦略・リスク層別化・治療戦略に新たな展開をもたらすものと期待できる。

2. 研究の目的

近年、長時間労働による壮年期の心血管系疾病有病率の増加は大きな社会問題となっている。昨今の経済事情による雇用状況の悪化のしわ寄せによって長時間労働の増強が懸念され、今後長時間労働による心血管事故の増加が惹起される危険がある。しかしながら、長時間労働に起因する心血管疾患発生の病態生理学的機序の詳細は未だ十分解明されていない。一方、心血管系バイオマーカーが動脈硬化進展や粥腫破綻等の病態解明のよい指標となりうることが判明した。われわれは、これまで従来から臨床に広く用いられてきた総コレステロール・HDLコレステロール・LDLコレステロール・中性脂肪・CBC・尿酸・血糖・HbA1c・血圧・肥満度等に加え、新しいバイオマーカーであるMMP-9・MCP-1・IL-6・TNF- α ・small-dense LDL・MDA-LDL・ホモシステイン・高感度CRP・高分子アディポネクチン・レプチン等の心血管マルチバイオマーカーを測定して、長時間労働が心血管系リスク進展に及ぼす病態生化学的機序を解明することにより長時間労働によって惹起される心血管疾患の予防戦略・リスク層別化・治療戦略を試みてきた。

そこで、今回の研究の目的は、これまでにわれわれが長時間労働で増加することを

明らかにした small-dense LDL を含む心血管マルチバイオマーカーについて、長時間労働の頻度の高い労働者と長時間労働をしない労働者の2群を喫煙習慣の有無等とともに2年間以上縦断的に研究することでこれらの心血管系バイオマーカーの長時間労働における病態生化学的意義をさらに検証的に明確にすることである。

3. 研究の方法

本研究は1年間の間隔で2回の健康診断を受けるとともに small-dense LDL および MDA-LDL 等の追加検査を受けた労働者で本研究の written informed consent が得られた者を対象とした。本研究では、従来実施されていた長時間労働による健康調査アンケート・メンタルテスト・心電図・血球検査等に加え、small-dense LDL・MDA-LDL・一般生化学検査・白血球分画・HbA1c 等も同時に測定した。以前測定した心血管系バイオマーカーであるアディポネクチン・レプチン・MMP-9・small-dense LDL・MDA-LDL・ホモシステイン・IL-6・TNF- α ・高感度 CRP (hs-CRP)・MCP-1・BNP 等は前回の研究で長時間労働時と長時間労働をしなかった時の間に有意差が認められなかったため今回はこれらを測定しなかった。

1年の間隔をおいて2回の健診を受診した労働者から written informed consent を得て、患者基本属性である年齢・性別・身長・体重・BMI・血圧等を測定し心電図を記録した。さらに健康アンケート・メンタルヘルスチェック・採血を実施し、データベースの構築を図った。採血資料に関しては、血清あるいは血漿に分離し-80℃にて凍結保存し測定に備え、可及的速やかに測定すると共に連結可能匿名化資料として一部凍結保存を継続した。採血に関しては静脈より採血し、small-dense LDL は血清 1 mL、酸化 LDL として MDA-LDL は ELISA 法にて測定用に血清 0.3ml をそれぞれ分離凍結保存した。一般生化学検査はこれまでどおりの契約業者にて実施し、small-dense LDL および MDA-LDL 等の特殊検査項目については専門の検査機関に依頼し測定精度の確保に努めた。統計学的検討は、IBM SPSS statistics ver.23 を用いて、paired t-test あるいは Wilcoxon signed-rank test により検定し、危険率 5%未満を統計的有意差ありとした。

4. 研究成果

139人において1年間の間隔を置いて2回の健診とその際の追加採血の同意が得られ検査が実施された。平均年齢:33.9 \pm 10.5歳、男性:124人(89%)、身長:168.3 \pm 5.6cm、体重:62.1 \pm 9.7kgであった。喫煙者は83人、平均睡眠時間:6.2 \pm 0.9時間、時間外労働をしている者は115人で、月平均26.6 \pm 24.6時間の時間外労働を行っていた。

時間外労働を有していた群においては、

LDL コレステロール値に関しては2年間で有意差は認められなかったが、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値は有意に増加していた($p<0.05$)。時間外労働を有していなかった群においては、LDL コレステロール値、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値に関しては2年間で有意差は認められなかった。喫煙群においては、LDL コレステロール値に関しては2年間で有意差は認められなかったが、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値は有意に増加していた($p<0.05$)。禁煙群においては、LDL コレステロール値および small-dense LDL に関しては2年間で有意差は認められなかったが、small-dense LDL/LDL コレステロール値は有意に増加していた($p<0.05$)。禁煙して、時間外労働もない群においては、2年間で、LDL コレステロール、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値に有意な差は認められなかった。禁煙して、時間外労働のある群においては、LDL コレステロールおよび small-dense LDL に有意な差は認められなかったが small-dense LDL/LDL コレステロール値は有意に増加していた。喫煙習慣があり時間外労働をしている群においては、LDL コレステロール値に関しては2年間で有意差は認められなかったが、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値は有意に増加していた($p<0.05$)。喫煙習慣があり、時間外労働をしていない群においては、今回対象数が少なかったこともあり($n=8$)、2年間で、LDL コレステロール、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値に有意な差は認められなかった。

表1. 時間外労働を有する群

LDL コレステロール	103.5 \pm 22.6
LDL コレステロール (1年後)(mg/dL)	103.2 \pm 23.6
SD LDL コレステロ ール(mg/dL)	28.2 \pm 15.6
SD LDL コレステロ ール(1年後)(mg/dL)	30.6 \pm 16.4*
SD LDL/LDL コレ ステロール	0.27 \pm 0.11
SD LDL/LDL コレ ステロール(1年後)	0.29 \pm 0.12*

* $p<0.05$ vs 1年前 (mean \pm SD)
SD-LDL, small-dense LDL

表2. 時間外労働を有しない群

LDL コレステロール	113.6 ± 33.4
LDL コレステロール (1年後)	111.8 ± 36.4
SD LDL コレステロ ール	26.1 ± 9.9
SD LDL コレステロ ール(1年後)	29.4 ± 12.0
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.23 ± 0.07
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.26 ± 0.07

(mean ± SD)

表3. 全症例

LDL コレステロール	105.8 ± 24.5
LDL コレステロール (1年後)	106.1 ± 25.7
SD LDL コレステロ ール	27.6 ± 13.8
SD LDL コレステロ ール(1年後)	30.2 ± 14.1*
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.26 ± 0.99
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.28 ± 1.01*

*p<.05 vs 1年前 (mean ± SD)

表4. 喫煙習慣を有する群

LDL コレステロール	104.5 ± 25.4
LDL コレステロール (1年後)	105.7 ± 25.9
SD LDL コレステロ ール	26.8 ± 12.1
SD LDL コレステロ ール(1年後)	29.7 ± 11.9*
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.25 ± 0.99
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.28 ± 0.09*

*p<.05 vs 1年前 (mean ± SD)

表5. 禁煙群

LDL コレステロール	105.9 ± 23.1
LDL コレステロール (1年後)	103.0 ± 27.0
SD LDL コレステロ ール	28.4 ± 17.9
SD LDL コレステロ ール(1年後)	31.6 ± 20.1
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.26 ± 0.12
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.29 ± 0.13*

*p<.05 vs 1年前 (mean ± SD)

表6. 禁煙群で時間外労働を有しない群

LDL コレステロール	114.4 ± 31.7
LDL コレステロール (1年後)	108.0 ± 38.6
SD LDL コレステロ ール	25.2 ± 10.1
SD LDL コレステロ ール(1年後)	26.7 ± 16.1
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.21 ± 0.04
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.24 ± 0.04

(mean ± SD)

表7. 喫煙者で時間外労働を有する群

LDL コレステロール	101.3 ± 23.4
LDL コレステロール (1年後)	102.1 ± 22.5
SD LDL コレステロ ール	26.7 ± 12.9
SD LDL コレステロ ール(1年後)	29.0 ± 12.4*
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.26 ± 0.11
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.28 ± 0.11*

*p<.05 vs 1年前 (mean ± SD)

表8．禁煙者で時間外労働を有する群

LDL コレステロール	107.2 ± 21.4
LDL コレステロール (1年後)	105.9 ± 25.7
SD LDL コレステロ ール	30.8 ± 19.5
SD LDL コレステロ ール(1年後)	33.1 ± 21.6
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.27 ± 0.14
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.30 ± 0.15*

*p<.05 vs 1年前 (mean ± SD)

表9．喫煙者で時間外労働を有しない群

LDL コレステロール	113.1 ± 36.5
LDL コレステロール (1年後)	114.1 ± 37.5
SD LDL コレステロ ール	26.7 ± 10.4
SD LDL コレステロ ール(1年後)	31.1 ± 9.5
SD LDL / LDL コレ ステロール	0.24 ± 0.07
SD LDL / LDL コレ ステロール(1年後)	0.28 ± 0.09

*p<.05 vs 1年前 (mean ± SD)

長時間労働による壮年期の心血管系疾患の増加が問題となっている。しかしながら、長時間労働に起因する心血管疾患発生の機序は十分解明されていない。MMP-9、SD-LDL、HOM は冠動脈疾患発症リスクを増加すること、高感度-CRPおよびADIは古典的危険因子とは独立した予後予測因子であること等が報告されている。時間外労働を有していた群においては、LDL コレステロール値に関しては2年間で有意差は認められなかったが、small-dense LDL および small-dense LDL/LDL コレステロール値は有意に増加していた (p<0.05)。また、禁煙していて、時間外労働のある群においては、LDL コレステロールおよび small-dense LDL に有意な差は認められなかったが small-dense LDL/LDL コレステ

ロール値は有意に増加していた。

small-dense LDL/LDL が時間外労働を有する群において有意な増加を示したことは時間外労働により small-dense LDL/LDL の上昇が動脈硬化巣形成を促進する可能性が示唆された。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

6．研究組織

(1)研究代表者

平井 眞理 (HIRAI Makoto)

椋山女学園大学・看護学部・教授

研究者番号：90242875

(2)研究分担者

玉腰 浩司 (TAMAKOSHI Koji)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：30262900