

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293138

研究課題名(和文) JACC Studyによる早世死亡マーカー探索のためのコホート内症例対照研究

研究課題名(英文) A nested case-control study in the JACC Study to investigate biomarkers of premature death

研究代表者

玉腰 暁子 (Tamakoshi, Akiko)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90236737

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：JACC Studyで保管してきた血清を用い、65歳以前の死亡者336例と開始時40-64歳のものをから無作為に抽出したサブコホート926名のmiRNA(miR-21、miR-29a、miR-126)、Vit E、レチノール、高感度CRP(hsCRP)を測定した。各測定項目につき最も高い四分位を基準としてその他のグループの早世死亡リスクを求めたところ、miR-29a、hsCRPで最も低い四分位群のリスクが有意に低下、miR-126で低下傾向を示した。その他の測定項目では特に関連を認めなかった。今回の結果を慎重に解釈、解析し、これら項目の早世マーカーとしての意義を確認していく。

研究成果の概要(英文)：Using serum stored from the JACC Study, we measured levels of miRNA (miR-21, miR-29a and miR-126), Vitamin E, retinol and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and compared 336 cases of death before 65 years old with 926 sub-cohort members randomly selected from those aged 40-64 years at baseline. Compared with those in the highest quartile, those whose miR-29a and hsCRP levels were in the lowest quartile had a significantly lower risk of premature death. A similar tendency was also found for miR-126 levels. However, it was not statistically significant. Other biomarkers showed no meaningful associations. We will interpret the results carefully to ascertain the significance of these biomarkers.

研究分野：疫学

キーワード：miRNA ケースコホート研究 早世マーカー

## 1. 研究開始当初の背景

日本人の平均寿命は、平成 14 年は男性 78.32 歳、女性 85.23 歳であったものが、平成 24 年は男性 79.94 歳、女性 86.41 歳と延伸している。一方で現在でも寿命を全うできない早期死亡 (premature death) も避けがたく一定割合存在する。これら死亡者の中には、死亡原因は様々でも、身体機能に影響を与えるような何らかの共通した要因が存在する可能性がある。健康日本第二次の目標に「健康寿命の延伸」が掲げられているが、特に高齢期 (65 歳) を迎える前の死亡 (早世) は平均寿命、健康寿命の短縮に寄与することから早世予防は、超高齢社会を迎えた我が国において取り組むべき重要な課題であり、そのために、どのような要因が関連するかを検討する必要がある。

1988 年より開始された JACC Study は、日本を代表する大規模コホート研究の 1 つである<sup>1)</sup>。今までに主要ながんや循環器疾患と生活習慣あるいは血液項目との関係を明らかにしてきた。今回、JACC Study は 2009 年末までの情報収集をもってコホート研究としての追跡を終えた。そこで、研究を終了するにあたって、ベースライン時の生活習慣に加え約 20 年にわたる追跡結果が判明している対象者の検体を現在も保管しているメリットを生かし、がん、循環器疾患等個別の生活習慣病に特異的なメカニズム検討とは異なる視点から早世との関連が疑われる血清マーカー miRNA、Vit E ならびに hsCRP の測定・解析を行い、65 歳以前の死亡者とその対象を比較することにより、長期的な早世マーカーとしての意義を検討する。これらの項目は hsCRP を除き、今までのところ大規模なコホート研究、すなわち健康障害が生じる前に得られた検体を用いてその後の死亡との関連を検討するようなデザイン下での検討はほとんど行われていない。したがって、得られた結果は今後さらに加速する超高齢社会に

において、早世に関わるメカニズムや対処法を検討する一助になるものと期待された。

## 2. 研究の目的

1980 年代後半に開始された JACC Study で蓄積したデータ、生体試料を用いて、研究開始時 40-64 歳かつ検体の利用可能なものから無作為に抽出したサブコホート、ならびに 65 歳以前に死亡した早世症例に対し、血清中の miRNA、Vit E ならびに hsCRP の測定を行い、健康寿命の短縮に直結する早世のマーカーとしての意義を検討する。

## 3. 研究の方法

### JACC Study の概要

1988~90 年に 40~79 歳の男女 110,585 人を対象に開始された。生活習慣に関する情報は自記式調査票により得た。調査票に含まれる項目は、既往歴、家族歴、運動を含む生活習慣、健診受診歴、食習慣、食物摂取頻度、飲酒習慣、喫煙習慣、仕事関連要因、心理状態、生育環境、結婚歴、女性の生殖歴である。調査にあたっては当該市町村の長又は担当者の了解を得たほか、原則として、調査票の表紙に研究であることを明記し、参加拒否者は対象から外した。ただし、45 地区中 9 地区では代表者の承諾で実施した。血清の利用に関するインフォームド・コンセントは開始時の調査と同様、原則として個別に文書で得たが、地域によっては口頭で行った他、代表者からの承諾で実施した地区もある。追跡は各地区の責任者の下で行われ、個人識別情報を外し ID を用いて事務局に報告された。

### 測定対象

1988 年より開始された JACC Study では、開始時に対象者の協力を得て、生活習慣を調査した他、約 1/3 のものから血清の提供を受け、保管してきた。追跡調査として、死亡 (死因と死亡年月日)、転出 (転出年月日) と一部地域でのがん罹患 (部位と罹患年月日) を把

握し、死亡・転出については2009年末まで追跡を終えた。そこで、それまでに判明した65歳以前の死亡者を症例とし、開始時40-64歳のものをから無作為に抽出したサブコホートと比較することとした。なお、開始時40-64歳のもので検体が採取されたのは29,410名、うち測定可能な検体が残っていたのは25,418名であった。今までに、全死亡、がん、循環器疾患に関わる血清項目を検討するために症例対照研究を実施してきており、そのため特に死亡者では検体が利用できないものが多くなった。

#### 測定項目

JACC Studyで保管してきた血清を用い、miRNA(miR-21、miR-29a、miR-126)、Vit E、レチノール、高感度CRP(hsCRP)を測定した。miRNAは血清から抽出した上で、SYBR Greenを用いるリアルタイムPCRにより定量した。Vit EならびにレチノールはHPLC法によった。なお、Vit Eについては、 $25.0$ 、 $50.0$ 、 $75.0$ の4分画を測定したが、今回は濃度の高いトコフェロールについて検討した。hsCRPの測定は高感度ラテックス凝集免疫法で行った。測定はhsCRPを除き藤田保健衛生大学で行い、hsCRPの測定は江東微生物研究所に発注した。

#### 解析

検体が利用可能なもの全体とサブコホートとの特性を比較したうえで、Coxの比例ハザード回帰モデルによるcase-cohort解析により早世に対する各測定値の意義を検討した。解析は、性と年齢を調整要因として施設別に求めた結果を統合した。

## 4. 研究成果

### 症例とサブコホート

検体を採取したもので65歳以前に内因性の疾患により死亡したものは775名、そのうち実際に測定可能な検体が残っていた全336例(43.4%)を今回の症例として検体を測定した。女性に比べ男性で、年齢の上のものに

比べ若いもので、利用可能な検体がより効率に残っていた。死因別では、循環器疾患(28.4%)、がん(37.8%)で検体の残っていた率が低かった。

サブコホートは研究開始時40-64歳、かつ検体が利用可能なものから無作為に抽出した。抽出率を2.5%に設定したが、性・年齢階級(5歳間隔)・地域・検体採取年単位で抽出を行った結果、人数が少ない層が多かったため、実際には3.6%にあたる926名がサブコホートとして選択された。このうち、症例が17例、66歳以上で死亡したものが63例含まれていた。

### 解析結果

サブコホートは喫煙、飲酒、運動習慣等の分布がほぼ検体利用可能な全体集団と同じであったことから、無作為に適切に抽出されたと考えられた。

今回測定した項目のサブコホート内での分布は、25%、50%、75%値の順に、miR-21(25.38、26.79、28.89)、miR-29a(28.23、29.65、32.68)、miR-126(25.45、27.00、29.32)、

トコフェロール(569.4、726.8、891.1)、レチノール(38.82、46.91、56.01)、hsCRP(0.014、0.028、0.063)であった。

最も高い四分位を基準としてその他のグループの早世死亡リスクを求めたところ、miR-29a、hsCRPで最も低い四分位群のリスクが有意に低下、miR-126で低下傾向を示した。その他の測定項目では特に関連を認めなかった。

### 考察

今回、JACC Studyで保管してきた検体を用いて、サブコホートを抽出、65歳以前の死亡者と比較することで、早世マーカーの検出を試みた。検体は、これまでもnested case-control studyのデザインでいくつかのがん部位、循環器疾患などのリスク要因の探索に用いていたことから、症例は相対的にその他の死因を多く含むものとなった。

検討した項目の中で、miR-29a、miR-126、hsCRP が高くなるほど死亡リスクが上昇する結果を得た。hsCRP は炎症マーカー、酸化促進マーカーとして、動脈硬化性疾患である心筋梗塞、脳卒中に関しては既に複数の検討があり、がんでも慢性炎症の観点からいくつか報告がある。さらに今回、特定の疾患によらない内因性の早世全体に対してもリスクとなりうる可能性が示されたことは興味深い。miRNAはタンパク質をコードしない20~25塩基程度の本鎖 RNA であり、標的 mRNA に相補的に結合することにより遺伝子発現を制御する。個々の miRNA は数百の遺伝子を直接的に抑制することから、細胞の分化や増殖、免疫など様々な現象に関与していると考えられている。これまでに miR-29a は細胞増殖、アポトーシス、メタスターシスなどのがんに関与する経路に働くことにより、多くのがんに抑制的に働くことが知られている。また、miR-126 は脂質代謝、動脈硬化など加齢に関連する様々な疾患の発生と進展に何らかの役割を果たすものと考えられている。今回の結果を慎重に解釈、解析し、早世マーカーとしての意義を確認する予定である。なお、疾患の病態や進行度合いにより miRNA 発現量や発現している種類が異なることが報告されており、抽出した残余を保存していることから、今後も異なる miRNA を測定し、その意義を確認することが可能である。

## 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 31 件)

1. Tan C, Mori M, Adachi Y, Wakai K, Suzuki S, Suzuki K, Hashimoto S, Watanabe Y, Tamakoshi A. Diabetes Mellitus and Risk of Colorectal Cancer Mortality in Japan: the Japan Collaborative Cohort Study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016 Oct 01;17(10):4681-8. 【査読あり】  
【<http://journal.waocp.org/?sid=Entr ez:PubMed&id=pmid:27892965&key=2016.17.10.4681>】
2. Watanabe Y, Iwamura A, Shimada YJ, Wakai K, Tamakoshi A, Iso H. Transforming Growth Factor-beta1 as a Predictor for the Development of Hepatocellular Carcinoma: A Nested Case-Controlled Study. *EBioMedicine*. 2016 Oct;12:68-71. 【査読あり】  
【doi:10.1016/j.ebiom.2016.09.001】
3. Adachi Y, Nojima M, Mori M, Matsunaga Y, Akutsu N, Sasaki S, Endo T, Kurozawa Y, Wakai K, Tamakoshi A. Insulin-like growth factor-related components and the risk of liver cancer in a nested case-control study. *Tumour Biol*. 2016 Sep 23;37(11):15125-32. 【査読あり】  
【doi:10.1007/s13277-016-5360-z】
4. Lin Y, Obata Y, Kikuchi S, Tamakoshi A, Iso H. Helicobacter Pylori Infection and Risk of Death From Cardiovascular Disease Among the Japanese Population: a Nested Case-Control Study within the JACC Study. *J Atheroscler Thromb*. 2015 Jun 17;22(11):1207-13. 【査読あり】  
【doi: 10.5551/jat.27987】
5. Dong JY, Iso H, Kitamura A, Tamakoshi A. Multivitamin Use and Risk of Stroke Mortality: The Japan Collaborative Cohort Study. *Stroke*. 2015 Mar 31;46(5):1167-72. 【査読あり】 【doi: 10.1161/STROKEAHA.114.008270】
6. Umesawa M, Iso H, Mikami K, Kubo T, Suzuki K, Watanabe Y, et al. Relationship between vegetable and carotene intake and risk of prostate cancer: the JACC study. *Br J Cancer*.

- 2014;110(3):792-6. 【査読あり】【doi: 10.1038/bjc.2013.685】
7. Wakai K, Naito M, Date C, Iso H, Tamakoshi A. Dietary intakes of fat and total mortality among Japanese populations with a low fat intake: the Japan Collaborative Cohort (JACC) Study Nutrition & Metabolism 2014;11:12. 【査読あり】【doi: 10.1186/1743-7075-11-12】

〔学会発表〕(計 20 件)

1. 門野彩花, 山岸良匡, 磯博康, 玉腰暁子. 血清中性脂肪と虚血性心疾患・心筋梗塞死亡との関連: The JACC Study. 第26回日本疫学会学術総会; 2016.1.21-23; 鳥取県・米子市コンベンションセンター; 2016.
2. Eguchi E, Iso H, Honjo K, Tamakoshi A. Does Education Modify the Association between Healthy Lifestyle Behaviors and Cardiovascular Mortality?: The JACC Study. 第25回日本疫学会学術総会; 2015.1.21-23; 愛知県・ウインクあいち; 2015.
3. Gero K, Iso H, Kitamura A, Yamagishi K, Yatsuya H, Tamakoshi A. Sport club participation during adolescence and sports-related physical activity during adulthood in relation to mortality from cardiovascular disease: The JACC Study. The AHA Epidemiology and Prevention/Lifestyle 2015 Scientific Sessions; March 3-6, 2015; Baltimore, U.S.A; 2015.
4. Shirakawa T, Yamagishi K, Iso H, Tamakoshi A. Alcohol consumption and mortality from aortic dissection and aneurysm among middle-aged Japanese men and women: The Japanese

- Collaborative Cohort Study (JACC). The 20th IEA World Congress of Epidemiology 2014; Aug 17-21, 2014; Anchorage, U.S.A; 2014.
5. Ukawa S, Tamakoshi A, Yatsuya H, Yamagishi K, Ando M, Iso H. Prospective cohort study on television viewing time and chronic obstructive pulmonary disease mortality: findings from the Japan Collaborative Cohort Study. . 20th World Congress of Epidemiology 2014; Aug 17-21, 2014; Anchorage, U.S.A.; 2014.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://publichealth.med.hokudai.ac.jp/jacc/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

玉腰 暁子 (TAMAKOSHI, Akiko)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号: 90236737

### (2)研究分担者

渡辺 能行 (WATANABE, Yoshiyuki)  
京都府立医科大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号: 00191809

磯 博康 (ISO, Hiroyasu)  
大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50223053

若井 建志 (WAKAI, Kenji)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50270989

鈴木 康司 (SUZUKI, Koji)

藤田保健衛生大学・保健学研究科・教授

研究者番号：60288470

藤野 善久 (FUJINO, Yoshihisa)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80352326

山田 宏哉 (YAMADA, Hiroya)

藤田保健衛生大学・医学部・助教

研究者番号：80610352