

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460760

研究課題名(和文) 高齢者コホートをを用いた長寿に関連する血中マーカーの解明

研究課題名(英文) Association of alpha-klotho and angiotensin-like protein 2 with mortality in the younger elderly

研究代表者

鶴川 重和 (UKAWA, SHIGEKAZU)

北海道大学・医学研究科・助教

研究者番号：40706751

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)：-Klothoは抗老化ホルモン、Angpt12は慢性炎症の指標として注目されている。本研究は、NISSIN Projectを用いて、-KlothoおよびAngpt12の長寿マーカーとしての意義を検討した。対象者2,851人からサブコホート714人と、2015年末までの死亡者374人を解析対象者とした。-KlothoおよびAngpt12の中央値はそれぞれ、670 pg/mL、3.76 ng/mLであった。Weighted Cox proportional hazard modelを用いた解析の結果、Angpt12と総死亡との間に正の関連を認めた。-Klothoでは関連を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Alpha-klotho (Klotho) has been identified as a biomarker of aging. Angiotensin-like protein 2 (Angpt12) has also been identified as an indicator of chronic inflammation. However, evidence for an association between Klotho and Angpt12 with mortality has not been established. We conducted a stratified case-cohort study using data from the NISSIN Project, a prospective cohort study. A total of 2,851 participants aged 64/65 years at baseline formed the original cohort, from 1996 to 2005. A sub-cohort of 714 participants and 374 deaths (88 deaths within the sub-cohort) were analyzed. A weighted Cox proportional hazard model was used to evaluate the association of Klotho and Angpt12 with mortality. The median (25-75 percentile) concentration of Klotho and Angpt12 was 670 (540.0-883.5) pg/mL, 3.76 (3.07-4.57) ng/mL, respectively. There is a positive association between Angpt12 and mortality, whereas no association was found between Klotho and mortality.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：高齢者 長寿 コホート研究 生活習慣

### 1. 研究開始当初の背景

我が国は、平均寿命が男性 80.79 歳、女性 87.059 歳<sup>1</sup>と世界最長寿国の一つである。時間の経過とともに不可逆的に進行する形態的、生理的な生体の衰退現象、つまり老化を抑制し、健康に長生きすることは誰も希望することであるが、老化は非常に複雑な現象であり、そのメカニズムには不明な点が多い。

抗老化ホルモンの一つとして関心が寄せられる  $\alpha$ -Klotho 蛋白質は、一回膜貫通型の  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性を有する蛋白質で、おもに腎尿管で産生され、他には脳脈絡膜、副甲状腺の主細胞でも産生される<sup>2</sup>。ヒトを対象とした研究では、Klotho 遺伝子の突然変異型を持ち、血中の  $\alpha$ -Klotho 蛋白質の発現が低下した人は、そうでない人と比較して HDL コレステロール値が低く、収縮期血圧が高く、脳卒中発症者が多く、死亡率も高い<sup>3-5</sup>ことが報告されている。また、血中  $\alpha$ -Klotho 蛋白質は心血管疾患の抑制に働き<sup>6</sup>、高齢者における腎機能の低下<sup>7</sup>や、ADL の低下<sup>8</sup>、握力の低下<sup>9</sup>に関連するとされる。これまでのところ、ヒトにおける血中  $\alpha$ -Klotho 蛋白質量とその後の死亡やがん罹患を含めた長寿との関連については、横断研究を中心にいくつかの報告を認めるものの、その知見は十分ではない。

近年、Angiopoietin-like protein 2(Angptl2)は、血管内皮細胞の炎症性病変を引き起こし、動脈硬化を生じさせる<sup>10</sup>ことや、脂肪細胞の慢性炎症を引き起こすことでインスリン抵抗性を増加させ、ひいては糖尿病発症の原因物質としての役割を果たす<sup>11</sup>ことが明らかにされつつある。そのため Angptl2 は、心血管疾患やメタボリック・シンドローム、糖尿病治療の標的物質として関心が寄せられているものの、老化や長寿の観点から検討された研究は未だない。

### 2. 研究の目的

本研究は、「NISSIN Project」コーホート研究を用いて、血中  $\alpha$ -Klotho 蛋白質および Angptl2 の長寿マーカーとしての意義を解明する。本研究では、愛知県の中で最も平均寿命が長い N 市の 65 歳を対象として  $\alpha$ -Klotho 蛋白質および Angptl2 の死亡への影響を検討することで、 $\alpha$ -Klotho 蛋白質および Angptl2 の長寿マーカーとしての意義を明らかにする。

### 3. 研究の方法

対象地域：N 市は、平均寿命が男性 80.7 歳、女性 87.0 歳と愛知県の中で男女とも平均寿命が最も長い市町村(2005 年)であり、老化や長寿の要因を検討するのに適している。  
研究デザイン：前向きコーホート研究  
研究対象者：本研究は、N 市の 65 歳健やか健診をベースとした NISSIN Project コーホート研究<sup>12</sup>を利用する。本コーホートには、10 年間(1996-2005 年)で 3,073 名が参加している。

本研究は、当該期間の N 市当該年齢住民の約 50%をカバーしている。

ベースライン調査：通常の健診項目(症状、既往歴、家族歴、喫煙・飲酒習慣など)と老健法および N 市が定める項目(胃がん、子宮、大腸、肺がん、前立腺、歯科)および体脂肪率測定、骨密度測定に加えて、詳細な問診票により運動習慣、睡眠習慣、食習慣、食物摂取頻度、仕事関連要因、余暇の過ごし方など生活の仕方、心理状態、性格傾向、婚姻歴などを調査し、健診時に内容確認を行った。

追跡調査：登録から 5 年後の 70 歳健診(健診項目と問診票、物忘れチェック、転倒)に加えて、死亡・転出・介護認定・地域がん登録によるがん罹患を現在まで追跡している。  
測定項目：対象者へは、長期保存用の血液採取を依頼し、拒否のなかった者について血漿(1mL を 1-2 本)を -80℃フリーザー内に保存している(採取率 98%)。血漿 100 $\mu$ l から、サンドイッチ法による Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)法を用いて  $\alpha$ -Klotho 蛋白質および Angptl2 を測定した。

### 4. 研究成果

血液検体が得られた 2,851 人をコーホート登録年度と性別で層化し、各層で対象者の 25%にあたる 714 (男性 360、女性 354) 人をサブコーホートとしてランダムサンプリングした。次いで、登録から 2015 年末までの死亡者 374 (男性 257、女性 117) 人、登録から 2012 年末までのがん罹患患者 182 (男性 124、女性 58) 人、および要介護認定者 225 (男性 106、女性 119) 人を抽出した。サブコーホートにおける  $\alpha$ -Klotho 蛋白質および Angptl2 濃度の中央値(25-75 パーセンタイル)はそれぞれ、670(540.0-883.5) pg/mL、3.76(3.07-4.57) ng/mL であった。

#### (1) 慢性腎臓病の有無別血漿中 Angptl2 濃度と高尿酸血症との関連

高尿酸血症(Hyperuricemia, HUA)の定義を痛風治療薬内服中または血清尿酸値 > 7 mg/dL、慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease, CKD)の定義を蛋白尿(+)または eGFR < 60 mL/min/1.73m<sup>2</sup>とした。eGFR の推定には、男性 eGFR (ml/分/1.73 m<sup>2</sup>) = 194 × Cr<sup>-1.094</sup> × 年齢<sup>-0.287</sup>、女性 eGFR (ml/分/1.73 m<sup>2</sup>) = 194 × Cr<sup>-1.094</sup> × 年齢<sup>-0.287</sup> × 0.739 を用いた。サブコーホートの対象者のうち、HUA および CKD に欠測のない 687 人を解析対象者とし、Angptl2 濃度の四分位点を算出し 3 群 (<2.83[Q1]、2.83-4.23[Q2-Q3]、≥4.24[Q4] ng/mL)に分けた。その後、CKD の有無別 Angptl2 と HUA との関連を検討するため、Inverse propensity weighting Poisson regression model により有病率比と 95%信頼区間(confidence interval, CI)を算出した。一般化傾向スコアの算出には、登録年、性、body mass index、喫煙・飲酒習慣、一日あたりの睡眠・歩行時間、蛋白質、脂質、炭水化物摂取量、収縮期血圧、空腹時血糖、

HbA1c、中性脂肪、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、高感度 CRP 値、高血圧、糖尿病治療薬内服の有無、心血管疾患、がん既往の有無を用いた。その結果、HUA の有病者は 101 人であった。CKD 無し、かつ Angptl2<2.83 ng/mL の人と比較して、2.83-4.23、≥4.24 ng/mL の人、CKD あり、かつ Angptl2<2.83、2.83-4.23、≥4.24 ng/mL の人の HUA 有病率比 (95%CI)は、それぞれ 2.58(1.03, 6.55)、4.18(1.67, 10.49)、4.31(1.52, 12.18)、4.39(1.70, 11.36)、7.23(2.18, 17.81)であり、CKD の有無とは独立して Angptl2 濃度と HUA との間に有意な正の関連を認めた。

#### (2) α-Klotho 蛋白質および Angptl2 と総死亡との関連

サブコーホート 714 人、死亡者 374 (サブコーホートとの重複 88) 人の計 1,000 人を解析対象者として、α-Klotho 蛋白質および Angptl2 と総死亡との関連を検討した。解析には、Weighted Cox proportional hazard model を用い、登録年、性、body mass index、喫煙・飲酒習慣、一日あたりの睡眠・歩行時間、空腹時血糖、HbA1c、中性脂肪、LDL-コレステロール、HDL-コレステロールを調整した。その結果、Angptl2 濃度が高くなるにつれて総死亡リスクが上昇する傾向を認めた。一方、α-Klotho 蛋白質濃度と総死亡リスクとの間には関連を認めなかった。

#### 結論

本研究結果より、Angptl2 が長寿に関連する予測マーカーとして活用できる可能性が示唆された。今後は、死亡のみならず我が国で急増している要介護状態への移行への影響を検討するとともに、未だ不明な点が多い Angptl2 に影響を与える生活習慣の検討を行う予定である。

#### <引用文献>

1. 厚生労働省. 平成 27 年簡易生命表の概況. 2016.
2. Takeshita K, Fujimori T, Kurotaki Y, Honjo H, Tsujikawa H, Yasui K, Lee JK, Kamiya K, Kitaichi K, Yamamoto K, Ito M, Kondo T, Iino S, Inden Y, Hirai M, Murohara T, Kodama I and Nabeshima Y. Sinoatrial node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of klotho gene expression. *Circulation*. 2004;109:1776-82.
3. Arking DE, Becker DM, Yanek LR, Fallin D, Judge DP, Moy TF, Becker LC and Dietz HC. KLOTHO allele status and the risk of early-onset occult coronary artery disease. *Am J Hum Genet*. 2003;72:1154-61.
4. Arking DE, Atzmon G, Arking A, Barzilay N and Dietz HC. Association between a functional variant of the KLOTHO gene and high-density lipoprotein cholesterol, blood pressure, stroke, and longevity. *Circ Res*.

2005;96:412-8.

5. Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, Guralnik JM and Ferrucci L. Plasma klotho and mortality risk in older community-dwelling adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011;66:794-800.
6. Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, Guralnik JM and Ferrucci L. Plasma klotho and cardiovascular disease in adults. *J Am Geriatr Soc*. 2011;59:1596-601.
7. Shimamura Y, Hamada K, Inoue K, Ogata K, Ishihara M, Kagawa T, Inoue M, Fujimoto S, Ikebe M, Yuasa K, Yamanaka S, Sugiura T and Terada Y. Serum levels of soluble secreted alpha-Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. *Clin Exp Nephrol*. 2012;16:722-9.
8. Crasto CL, Semba RD, Sun K, Cappola AR, Bandinelli S and Ferrucci L. Relationship of low-circulating "anti-aging" klotho hormone with disability in activities of daily living among older community-dwelling adults. *Rejuvenation research*. 2012;15:295-301.
9. Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, Guralnik JM and Ferrucci L. Relationship of low plasma klotho with poor grip strength in older community-dwelling adults: the InCHIANTI study. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112:1215-20.
10. Tazume H, Miyata K, Tian Z, Endo M, Horiguchi H, Takahashi O, Horio E, Tsukano H, Kadomatsu T, Nakashima Y, Kunitomo R, Kaneko Y, Moriyama S, Sakaguchi H, Okamoto K, Hara M, Yoshinaga T, Yoshimura K, Aoki H, Araki K, Hao H, Kawasuji M and Oike Y. Macrophage-derived angiotensin-like protein 2 accelerates development of abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:1400-9.
11. Oike Y and Tabata M. Angiotensin-like proteins--potential therapeutic targets for metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Circ J*. 2009;73:2192-7.
12. Kitamura T, Kawamura T, Tamakoshi A, Wakai K, Ando M and Ohno Y. Rationale, design, and profiles of the New Integrated Suburban Seniority Investigation (NISSIN) Project: a study of an age-specific, community-based cohort of Japanese elderly. *J Epidemiol*. 2009;19:237-43.

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6件)

- ① Matsunaga T, Naito M, Wakai K, Ukawa S, Zhao W, Okabayashi S, Ando M, Kawamura T, Tamakoshi A. Leisure-time physical activity and risk of disability incidence: A 12-year prospective cohort study among the young elderly of the same age at baseline. *J Epidemiol.* (In Print) (査読有)
- ② Kojima R, Ukawa S, Ando M, Kawamura T, Wakai K, Tsushita K, Tamakoshi A. Association between falls and depressive symptoms or visual impairment among Japanese young-old adults. *Geriatr Gerontol Int.* 2016;16(3):384-91. doi: 10.1111/ggi.12487. (査読有)
- ③ Zhao W, Ukawa S, Tsushita K, Kawamura T, Wakai K, Ando M, Tamakoshi A. Association of gait speed with mortality among the Japanese elderly in the New Integrated Suburban Seniority Investigation Project: a prospective cohort study. *Age Ageing.* 2015;44(1):153-7. doi: 10.1093/ageing/afu121. (査読有)
- ④ Oikawa J, Ukawa S, Ohira H, Kawamura T, Wakai K, Ando M, Hata A, Tamakoshi A. Diabetes mellitus is associated with low secretion rates of immunoglobulin A in saliva. *J Epidemiol.* 2015;25(7):470-4. doi: 10.2188/jea.JE20140088. (査読有)
- ⑤ Zhao W, Ukawa S, Kawamura T, Wakai K, Ando M, Tsushita K, Tamakoshi A. Health benefits of daily walking on mortality among younger-elderly men with or without major critical diseases in the New Integrated Suburban Seniority Investigation Project: A prospective cohort study. *J Epidemiol.* 2015;25(10):609-16. doi: 10.2188/jea.JE20140190. (査読有)
- ⑥ Ukawa S, Tamakoshi A, Wakai K, Ando M, Kawamura T. Body mass index associated with hypertension in Japanese younger elderly people: Findings from the New Integrated Suburban Seniority Investigation. *Intern Med.* 2015;54(24):3121-5. doi: 10.2169/internalmedicine.54.4702. (査読有)

〔学会発表〕(計9件)

- ① 張琳, 鶴川重和, 趙文靜, 若井建志, 津下一代, 岡林里枝, 川村孝, 安藤昌彦, 玉腰暁子. 高齢者における睡眠時間とその後の要介護状態との関連: NISSIN Project. 第23回日本行動医学会学術総会. 沖縄科学技術大学院大学(沖縄県恩納村)(2017.3.17-18)
- ② 鶴川重和, 森永潤, 尾池雄一, 若井建志, 岡林里枝, 趙文靜, 津下一代, 安藤昌彦, 川村孝, 玉腰暁子. 慢性腎臓病の有無別血漿中 Angpt12 濃度と高尿酸血症との関

連 (NISSIN Project). 第27回日本疫学会学術総会. ベルクラシック甲府(山梨県甲府市)(2017.1.25-27)

- ③ Zhao W, Ukawa S, Okada E, Kawamura T, Wakai K, Ando M, Tamakoshi A. Dietary Pattern and All-cause Mortality in the Young-elderly Japanese in the New Integrated Suburban Seniority Investigation Project: A Prospective Cohort Study. The Gerontological Society of America's 69th Annual Scientific Meeting, New Orleans, U.S.A.(2016.11.16-20)
- ④ 小島令嗣, 鶴川重和, 趙文靜, 津下一代, 岡林里枝, 若井建志, 鈴木康司, 玉腰暁子. 高齢者の Adiponectin 濃度と総死亡の関連 NISSIN Project より. 第75回日本公衆衛生学会総会. グランフロント大阪(大阪府大阪市)(2016.10.26-28)
- ⑤ Okabayashi S, Kawamura T, Tamakoshi A, Ukawa S, Wakai K, Ando M, Tsushita K, Ohira H. Factors associated with the decline in competence of daily living among Japanese early-elderly: findings from the NISSIN prospective cohort study. 48th Asia-Pacific Consortium for Public Health Conference. Tokyo, Japan(2016.9.16-19)
- ⑥ 松永貴史, 内藤真理子, 若井建志, 鶴川重和, 趙文靜, 岡林里枝, 安藤昌彦, 川村孝, 玉腰暁子. 運動習慣が要介護認定に及ぼす影響 - 前期高齢者における検討 -. 第26回日本疫学会学術総会. 鳥取県米子市(2016.1.21-23)
- ⑦ Sasakabe T, Wakai K, Ukawa S, Ando M, Kawamura T, Tsushita K, Tamakoshi A. Food group intakes and all-cause mortality among the Japanese young elderly: NISSIN Project. 第25回日本疫学会学術総会. 愛知県名古屋市(2015.1.21-23)
- ⑧ 小島令嗣, 鶴川重和, 津下一代, 若井建志, 玉腰暁子. 前期高齢者のうつおよび視覚障害とその後の転倒の関連 NISSIN Project より. 第73回日本公衆衛生学会総会. 栃木県総合文化センター(栃木県宇都宮市)(2014.10.5-7)
- ⑨ Zhao W, Ukawa S, Tsushita K, Kawamura T, Wakai K, Ando M, Okabayashi S, Matsushita M, Oikawa J, Kojima R, Tamakoshi A. Impact of gait speed on mortality among the younger-elderly Japanese in the New Integrated Suburban Seniority Investigation Project: a prospective cohort study. 20th World Congress of Epidemiology 2014. Anchorage, U.S.A.(2014.8.17-21)

〔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

Age-specific cohort 研究による高齢者の健康  
障害予防に関する研究（NISSIN Project）

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

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

鶴川 重和 (Ukawa, Shigekazu)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：40706751

### (2)研究分担者

川村 孝 (Kawamura, Takashi)

京都大学・保健管理センター・教授

研究者番号：10252230

若井 建志 (Wakai, Kenji)

名古屋大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：50270989

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