

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460905

研究課題名(和文)高齢者メタボリック症候群における遺伝子発現制御機構の解明

研究課題名(英文)The elucidation of the mechanism for regulating gene expression in metabolic syndrome in the elderly.

研究代表者

小黑 亮輔(OGURO, RYOSUKE)

大阪大学・医学部附属病院・特任助教(非常勤)

研究者番号：70630705

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ADAR遺伝子多型”rs280553(A/G)”は70±1歳の高齢者において血清中性脂肪(TG)値、メタボリック症候群(Mets)における脂質異常基準(TG>150mg/dlおよび/またはHDL<40mg/dl)と有意に関連し、その3年後(73歳時)には血清TG値、血清HDL値、Metsにおける脂質異常基準と有意に関連していた。rs280553のGアレルを持つ群で脂質異常症のリスクが高く、脂質異常症治療の有無で補正した多変量解析においてrs280553は70歳～73歳の3年間のHDL変化(HDL)と有意に関連しAA+AG群よりもGG群で有意に血清HDLが低下していた。

研究成果の概要(英文)：A single nucleotide polymorphism of the adenosine deaminase, RNA-specific (ADAR) gene “rs280553 (A/G)” was significantly associated with serum triglyceride(TG) level, and a criteria for metabolic syndrome (TG > 150mg/dl and/or HDL < 40mg/dl) in 70 ± 1 elderly. Three years later, rs280553 was also significantly associated with serum TG level, serum high density lipoprotein (HDL) cholesterol level, and a criteria for metabolic syndrome (TG > 150mg/dl and/or HDL < 40mg/dl) in 73 ± 1 elderly. In this study population, the subject with G allele had higher risk for dyslipidemia. In this cohort analysis, rs280553 was significantly associated with the delta of HDL cholesterol level (HDL) between 70(±1) and 73(±1) years, and the subject with GG genotypes had lower HDL cholesterol level than AA and AG genotypes.

研究分野：医歯薬学、老年医学

キーワード：高齢者 メタボリック症候群 遺伝子多型 ADAR遺伝子 脂質異常症

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群(Mets)は腹部肥満を基盤とした危険因子の集積状態であり、脳・心血管病(CVD)のリスクとされ、加齢と共にその頻度は増加する。Mets は高齢者より非高齢者においてCVD発症への影響が大きいことから、その予防運動は非高齢者を中心に展開されている。しかし、Mets は認知症やロコモティブシンドロームなど高齢者で問題となる疾患の進展・悪化に関連すると報告されており、今後は、高齢者におけるMets 予防・管理の重要性が増すものと思われる。ヒト長寿関連遺伝子は疾患抵抗性を高める遺伝子と捉えられ、ヒト全ゲノムが解読されて以降、ゲノムワイド関連解析(GWAS)により網羅的な検索がなされ、ヒト長寿関連遺伝子と、その変異が報告されつつある。日本人や欧米人など複数の人種において、その一塩基多型(SNP)と長寿との関連が示されたRNA 編集酵素(ADAR) 遺伝子もその一つである。(Sebastiani P et al. Pros One 2009) 研究代表者は、このADAR に着目し、日本を代表するコホート研究である端野・壮警研究(北海道:約1500例、平均年齢62.7歳)を対象に、長寿関連ADAR と疾病との関連を検討し、ADAR のSNP が腹囲、血清中性脂肪濃度、血清アディポネクチン濃度といったMets 関連マーカーと相関する事を報告した(Oguro R et al. Exp Gerontol 2012)。ADAR がヒト長寿に関連する詳細な経路は明らかにされていないが、この結果はADAR がMets の発症を修飾することで長寿と関連している事を示唆している。ADAR はRNA 修飾を通じて遺伝子発現制御(エピジェネティクス)に関わる因子であるが、DNA メチル化を初めとするエピジェネティクスは加齢と共に変化する事が知られ、ADAR のMets 発症に与える影響は加齢に伴って変化する可能性が高い。今後、更なる増加が予想される高齢者Mets の病態解明の為に、加齢に伴って変化していくMets 発症の制御機構を明らかにしていく必要があり、高齢者Mets への関与が予想されるADAR の疾病制御機構を明らかにするためには、既報(平均62.7歳)より高年齢の集団を対象に、その機能を検討し、加齢変化を追跡していく必要がある。

2. 研究の目的

年齢は疾患発症の最大要因であり、年齢のばらつきを除く事は疾患関連遺伝子を検討する上で重要である。本研究は、年齢を均一化した高齢者集団を対象としたデータベースを構築し、ADAR が高齢者Mets に及ぼす遺伝的影響を検討する事を目的とする。

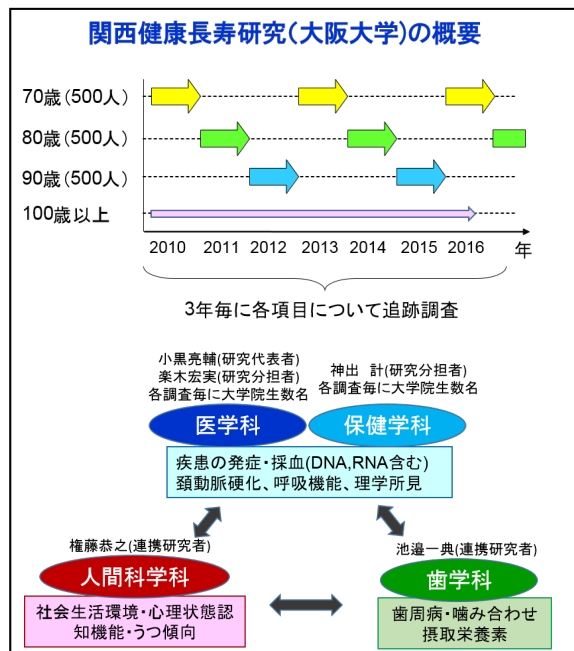
解析対象は研究代表者がH22年より従事している関西健康長寿研究(SONIC研究)を用いる。本研究は、70歳、80歳、90歳の高齢者500人および、100歳超の高齢者を対象に臨床調査を施行し、3年毎の追跡検査を行うものであり、血圧・腹囲を含む理学所見や

一般採血だけでなくDNA、RNA、頸動脈エコー、認知機能など様々なデータを収集することで(1)世代ごとに年齢の影響を排除した解析が可能、(2)Mets を含めた疾病の経年変化のみならずDNA~RNA 発現を含めた様々なデータの検討が可能なデータサンプルとなる。

3. 研究の方法

(1)年齢を均一化した高齢者コホート調査の実施(関西健康長寿研究:関西SONIC研究)

研究代表者がH22年より従事している高齢者コホート研究である関西健康長寿研究(関西SONIC研究)のデータ収集を継続する。本研究は兵庫県伊丹市および朝来市に在住の住民基本台帳から選出した、70歳、80歳、90歳の高齢者各500人(兵庫県伊丹市および朝来市在住の高齢者250人ずつ)および100歳超の高齢者を対象に、問診(既往疾患、内服薬など)、血圧測定、身体計測(身長、体重、腹囲、皮下脂肪厚など)、呼吸機能検査、頸動脈エコー、血液検査(血算、生化学DNA、RNAなど)、認知機能検査、歯科検査、運動機能検査などを施行し、3年ごとの追跡検査を行うものであり、H25年度までに第1回目の調査および70歳の3年後追跡調査が終了している。



本研究における各年度の調査概要は以下とおりである。

H26年度:H23年に初回調査を行った83(±1)歳の高齢者の3年後追跡調査を行うとともに、追跡調査不参加によるサンプル減少を補うため83(±1)歳の新規対象者をリクルートし調査を行う

H27年度:H24年に初回調査を行った93±1歳の高齢者の3年後追跡調査を行う。サンプル減少に対し新規リクルートを行う。

H28年度:H22年度に初回調査を行った76±1歳の高齢者の6年後追跡調査およびH25年度に新規リクルートした76±1歳高齢者の3年後追跡調査を行う。

## (2)ADAR 遺伝子多型の遺伝子型同定

70 歳、80 歳、90 歳の対象者のうち DNA サンプルを抽出しえた高齢者の DNA を用い、Taqman PCR 法により既報において Mets との関連を認めた ADAR の SNP(rs2805533)の遺伝子型を同定する。解析においては個人情報および臨床データと連動しない匿名化番号によるサンプル管理を行う。

## (3) ADAR 遺伝子多型との Mets および関連パラメータとの関連解析

JMP Pro10.0 および 13.0(SAS Institute Inc.)を用いて解析を行う

### 4. 研究成果

#### (1)地域高齢者におけるメタボリック症候群の現状(70 歳と 80 歳の比較)

初回調査を行った 70 歳(n=494)、80 歳(n=512)の高齢者の背景を以下に示す。70 歳と 80 歳における Mets 診断項目について比較したところ、腹囲、拡張期血圧(DBP)、中性脂肪(TG)の平均値には世代間で有意差を認めなかったが、収縮期血圧(SBP)、空腹時血糖値(FBS)は 80 歳で有意に平均値が高く、HDL コレステロールは 80 歳で有意に平均値が低かった。Mets の診断基準である腹囲(男性 85 cm、女性 90 cm)、血圧(SBP 130mmHg かつ/または DBP 85mmHg)、空腹時血糖値 110mg/dl、脂質異常(TG 150mg/dl かつ/または HDL<40mg/dl)を満たす割合を検討したところ腹囲(70 歳:41.1%、80 歳:38.6%)および空腹時血糖(70 歳:18.0%、80 歳:22.6%)では有意差を認めなかったが、血圧(70 歳:75.0%、80 歳:87.4%)および脂質異常(70 歳:23.5%、80 歳:30.0%)は有意に 80 歳で基準を満たす割合が高かった。Mets の診断基準を満たす者の割合は 70 歳で全体の 14.2%、80 歳で全体の 17.3%であった。

	70 歳	80 歳	P 値
BMI	22.9±3.1	22.4±2.9	0.01
腹 囲 (cm)	84.5±8.2	84.5±8.8	0.93
SBP(mmHg)	138±17	148±18	<.0001
DBP(mmHg)	80±10	81±9	0.14
FBS(mg/dl)	97.7±28.0	102.7±29.8	0.01
HDL(mg/dl)	63.1±15.5	59.0±15.3	<.0001
TG(mg/dl)	119.3±65.7	127.0±67.4	0.08
Mets 各項目			
腹 囲	41.1%	38.6%	0.41
血 圧	75.0%	87.4%	<.0001
FBS 110	18.0%	22.6%	0.09
脂質異常	23.5%	30.0%	0.03
Mets の診断	14.2%	17.3%	0.19

#### (2)ADAR 遺伝子多型(rs2805533)の解析

初回調査参加者のうち遺伝子解析が可能であった 70 歳(n=411)および 80 歳(n=489)における rs2805533(A/G)の各アレル頻度は 70 歳で AA 型 50.1%(n=206)、AG 型 39.9%(n=164)、GG 型 10.0%(n=41)であり、80 歳では AA 型 51.1%(n=250)、AG 型 42.1%(n=206)

GG 型 6.8%(n=33)であった。なお既報における集団の頻度は AA 型 49.4%、AG 型 42.1%、GG 型 8.5%であった。

	AA 型(%)	AG 型(%)	GG 型(%)
70 歳	50.1	39.9	10.0
80 歳	51.1	42.1	6.8
既報	49.4	42.1	8.5

#### (3)70 歳、80 歳の初回調査時における ADAR 遺伝子多型(rs2805533)と Mets および関連パラメータとの関連

70 歳の各遺伝子型におけるパラメータ平均値を以下の表に示す。

各項目のうち 3 遺伝子型間での有意差を認めたものは、DBP(AA:78.3±10.4 mmHg、AG:81.4±10.1 mmHg、GG:81.2±9.4 mmHg)、TG(AA:112.7±62.9 mg/dl、AG:127.9±68.9 mg/dl、GG:133±73.1 mg/dl)、脂質異常(AA:19.2%、AG:29.9%、GG:31.7%)であり、G アレルが増えるにしたがい各パラメータは悪化傾向となった。Mets の有病率は AA、AG、GG の 3 群間比較解析では有意差を認めなかったが(P=0.10)、AA 群と AG+GG 群の 2 群間で比較したところ AA 群の Mets 有病率は 12.2%、AG+GG 群の Mets 有病率は 19.4%となり 2 群間に有意差を認め G アレルを持つ群で Mets の有病率が高かった(P=0.049)。その他、AA 群と AG+GG 群との比較において有意差を認めたパラメータ値は DBP(AA:78.3±10.5 mmHg、AG+GG:81.4±9.9 mmHg; P<0.01)、TG(AA:112.7±63.0 mg/dl、AG+GG:129.0±69.6 mg/dl; P=0.01)、脂質異常(AA:19.2%、AG+GG:30.2%; P<0.01)であり、腹囲は AA 群 83.8±8.1cm、AG+GG 群 85.4±8.2 cm で AA 群よりも AG+GG 群で大きい傾向であったが有意差は認められなかった(P=0.053)。

(70 歳:各遺伝子型の平均値; 単変量解析)

	AA	AG	GG	p 値
腹 囲 (cm)	83.8	85.3	85.8	0.14
SBP(mmHg)	137.5	140.6	137.1	0.21
DBP(mmHg)	78.3	81.4	81.2	0.01
FBS(mg/dl)	98.2	96.0	103.3	0.33
HDL(mg/dl)	63.7	62.2	60.9	0.47
TG(mg/dl)	112.7	127.9	133.2	0.04
Mets 項目				
腹 囲(%)	38.2	44.1	45.0	0.46
血 圧(%)	71.6	80.3	70.0	0.12
FBS 110(%)	16.3	18.5	22.0	0.65
脂質異常(%)	19.2	29.9	31.7	0.03
Mets 診断(%)	12.2	20.5	15.0	0.10

同様に 80 歳の初回調査時における各遺伝子型におけるパラメータ平均値を以下の表に示す。

各項目のうち 3 遺伝子型間で有意差を認めたものは HDL(AA:57.3±15.1mg/dl、AG:60.2±15.3 mg/dl、GG:64.4±16.4 mg/dl; P=0.02)であり G アレルを持つに従い HDL 値が高くなるという 70 歳と逆の傾向を認めた。AA 型と AG+GG 型の 2 群間比較では腹囲(AA:85.2

±9.0 cm、AA + AG : 83.5 ± 8.5 cm ; P=0.04 ) HDL ( AA : 57.3 ± 15.1mg/dl、AG+GG : 60.8 ± 15.5mg/dl ; P=0.01 ) に有意差を認めた。  
(80 歳 : 各遺伝子型の平均値 ; 単変量解析)

	AA	AG	GG	p 値
腹囲 (cm)	85.2	83.5	83.8	0.12
SBP (mmHg)	148.2	149.2	146.8	0.72
DBP (mmHg)	80.4	81.2	79.8	0.53
FBS (mg/dl)	102.6	102.5	105.6	0.87
HDL (mg/dl)	57.3	60.2	64.4	0.02
TG (mg/dl)	126.8	129.6	123.5	0.85
Mets 項目				
腹囲 (%)	41.35	36.5	25.81	0.20
血压 (%)	85.8	89.2	84.9	0.53
FBS 110 (%)	24.3	18.7	33.3	0.13
脂質異常 (%)	29.2	31.6	27.3	0.81
Mets 診断 (%)	16.4	19.6	10.0	0.37

#### (4)73 歳における Mets 関連パラメータと ADAR 遺伝子多型との関連

73 歳の追跡調査データを用いて rs2805533 と Mets 指標との関連を単変量解析にて検討したところ rs2805533(A/G)は TG 値と有意に関連し、AA 型は AG 型 + GG 型に比べて TG 値が低かった (AA : 132.2 ± 94.4mg/dl、AG + GG : 154.0 ± 91.5mg/dl ; P=0.046 )。また rs2805533 は 73 歳時の HDL 値と有意に関連し、AA 型は AG 型および GG 型に比べて有意に HDL 値が高く (AA : 59.4 ± 14.4mg/dl、AG+GG : 55.4 ± 14.5mg/dl ; P=0.02)、脂質異常症治療の有無で補正した後も有意な関連性が見られた (P=0.02 )。性別で補正した多変量解析において rs2805533 は 73 歳時の腹囲と有意に関連し AA 型は AG+GG 型よりも腹囲が小さかった (AA : 83.6 ± 8.8 cm、AG+GG : 85.5 ± 8.9cm ; P=0.04)。血压や血糖値と rs2805533 との間には有意な関連は認めなかった。

Mets の診断および腹囲 (男性 85 cm、女性 90 cm )、血压 (SBP 130mmHg かつ/または DBP 85mmHg)、空腹時血糖値 110mg/dl、脂質異常 (TG 150mg/dl かつ/または HDL < 40mg/dl) との関連を検討したところ、単変量解析において rs2805533 は 73 歳時の脂質異常と有意に関連し AA 型は AG + GG 型に比べて有意に診断基準を満たす割合が低く (AA : 31.0%、AG+GG 型 : 48.3% ; P=0.003)。脂質異常症治療の有無で補正した多変量解析においても有意に rs2805533 は脂質異常症と関連していた (P=0.004)。Mets 診断を含め、その他の診断項目の割合は遺伝子型間で有意差を認めなかった。

(73 歳 : 各遺伝子型の平均値 ; 単変量解析)

	AA	AG	GG	P 値
腹囲 (cm)	83.6	85.7	84.6	0.17
SBP (mmHg)	136.4	138.4	133.6	0.33
DBP (mmHg)	78.0	78.0	76.6	0.73
FBS (mg/dl)	110.1	110.2	107.0	0.82
HDL (mg/dl)	59.4	55.4	55.5	0.07
TG (mg/dl)	132.2	156.6	144.1	0.11
Mets 項目				

腹囲 (%)	37.0	43.5	45.2	0.48
血压 (%)	69.2	73.5	64.5	0.56
FBS 110 (%)	35.6	35.6	25.8	0.56
脂質異常 (%)	31.0	50.0	41.9	0.01
Mets 診断 (%)	19.3	27.2	22.6	0.32

(73 歳 : AA 型、AG+GG 型の平均値 ; 単変量解析)

	AA	AG+GG	P 値
腹囲 (cm)	83.6	85.5	0.07
SBP (mmHg)	136.4	137.4	0.62
DBP (mmHg)	78.0	77.7	0.84
FBS (mg/dl)	110.1	109.6	0.86
HDL (mg/dl)	59.4	55.4	0.02
TG (mg/dl)	132.2	154.0	0.046
Mets 項目			
腹囲 (%)	37.0	43.8	0.23
血压 (%)	69.2	71.6	0.65
FBS 110 (%)	35.6	33.6	0.71
脂質異常 (%)	31.0	48.3	0.003
Mets 診断 (%)	19.3	26.2	0.16

#### (5)70 歳代における Mets パラメータの経年変化と ADAR 遺伝子多型との関連

70 歳から 73 歳の 3 年間における各パラメータの変化の平均値は、腹囲 : 0.02 ± 4.80 cm、HDL : -5.25 ± 8.23mg/dl、TG : 23.8 ± 77.5mg/dl、FBS : 16.1 ± 26.0mg/dl、SBP : -1.3 ± 17.0mmHg、DBP : -1.9 ± 9.2mmHg であり 3 年間で新たに Mets 基準を満たした高齢者の割合は、腹囲 (男性 85 cm、女性 90 cm) で 5.1%、血压 (SBP 130mmHg かつ/または DBP 85mmHg) で 11.7%、脂質異常 (TG 150mg/dl かつ/または HDL < 40mg/dl) で 21.1%、FBS (110) で 24.9% であった。

3 年間の変化量との関連を検討したところ rs2805533 は単変量解析においては各値と有意な関連性を認めなかった。HDL 変化量 (HDL) は AA + AG 型 (-4.74mg/dl) に比べ GG 型 (-7.77mg/dl) で減少量が大きかったが統計学的な有意差はなかった (P=0.05)。

HDL の変化に脂質異常症の治療歴および性別が関連している可能性があるため治療歴および性別で補正した多変量解析を行ったところ rs2805533 と HDL との間には有意な関連を認めた (P=0.03)。

(70 歳 : 3 年間の変化量の平均値 ; 単変量解析)

	AA	AG	GG	P 値
腹囲 (cm)	-0.21	0.58	-0.61	0.31
SBP (mmHg)	-1.50	-2.73	-0.37	0.74
DBP (mmHg)	-1.08	-3.03	-2.09	0.23
HDL (mg/dl)	-4.72	-4.76	-7.77	0.15
TG (mg/dl)	23.4	20.5	26.9	0.91
FBS (mg/dl)	16.2	15.5	16.0	0.98
Mets 基準新規				
腹囲 (%)	6.6	3.0	5.9	0.37
血压 (%)	8.6	13.2	20.0	0.17
FBS 110 (%)	25.0	26.3	19.4	0.73
脂質異常 (%)	18.9	22.9	22.6	0.71
Mets 新規 (%)	10.3	10.9	13.3	0.89

以上の結果をまとめると、既報においてメタボリック症候群(Mets)と関連した ADAR 遺伝子多型(rs2805533)は本研究においても Mets 関連パラメータと有意に関連し、70 歳および 80 歳代のどちらにおいても脂質異常に関連する項目(HDL、TG)と有意な関連を認めたと、70 歳においては GG 型で HDL が低く脂質異常症のリスクと考えられるのに対し、80 歳では GG 型で HDL がより高値であった。この原因として ADAR 遺伝子による Mets 関連遺伝子の発現制御が年齢により異なる可能性や、未検討の交絡因子が関連している可能性などが考えられ、今後の検討課題としたい。

#### 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 2 件)

Ryuno H, Kamide K (2 番目), Gondo Y (3 番目), Oguro R (5 番目), Ikebe K (21 番目), Rakugi H (28 番目) (他 22 名). Longitudinal association of hypertension and diabetes mellitus with cognitive functioning in a general 70-year-old population: the SONIC study. 査読有、Hypertens Res. 2017 Feb 23. doi: 10.1038/hr.2017.15 [Epub ahead of print]

Ryuno H, Kamide K (2 番目), Gondo Y (3 番目), Oguro R (5 番目), Ikebe K (20 番目), Rakugi H. (27 番目), (他 21 名) Differences in the association between high blood pressure and cognitive functioning among the general Japanese population aged 70 and 80 years: The SONIC study. 査読有、Hypertens Res. 2016 Jul;39(7):557-63. doi: 10.1038/hr.2016.25.

[学会発表](計 3 件)

神出計、高齢者高血圧治療における降圧薬感受性遺伝子の関与 SONIC 研究、第 57 回日本老年医学会学術集会、2015 年 6 月 13 日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

龍野洋慶、高齢期における動脈硬化進展リスクの検討 SONIC 研究 3 年間の追跡調査からの知見、第 38 回日本高血圧学会総会、2015 年 10 月 9 日、愛媛県民文化会館(愛媛県・松山市)

小黒亮輔、地域高齢者における認知機能とアルブミン/グロブリン比との関連(SONIC 研究)、第 56 回日本老年医学会学術集会、2014 年 6 月 12 日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

[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  
大阪大学老年学研究会  
<http://gerontology-osaka.jp/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小黒亮輔 (OGURO, Ryosuke)  
大阪大学・医学部附属病院・特任助教  
研究者番号：70630705

##### (2) 研究分担者

神出 計 (KAMIDE, Kei)  
大阪大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：80393239

楽木 宏実 (RAKUGI, Hiromi)  
大阪大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：20252679

##### (3) 連携研究者

権藤 恭之 (GONDO, Yasuyuki)  
大阪大学・人間科学研究科・准教授  
研究者番号：40250196

池邊 一典 (IKEBE, Kazunori)  
大阪大学・歯学系研究科・准教授  
研究者番号：70273696

##### (4) 研究協力者

龍野洋慶 (RYUNO Hirochika)