

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01704

研究課題名(和文) 職場コホートでのプールドロジスティック解析応用による糖尿病関連SNPの解明

研究課題名(英文) Association of genetic polymorphism with the development of diabetes mellitus using a pooled logistic regression analysis in a longitudinal cohort study

研究代表者

能川 和浩 (NOGAWA, KAZUHIRO)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：00612194

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、糖尿病に関連しているといわれるSNP(Ankyrin1の遺伝子多型 rs515071)が糖尿病発症に及ぼす影響の強さを明らかにすることを目的とした。喫煙習慣、飲酒習慣、運動習慣、糖尿病の家族歴、血圧、ALT、脂質、尿酸値、クレアチニン値を補正し、糖尿病発症に関するオッズ比を算出したが、遺伝子多型に関して、糖尿病発症に明らかな関連は認められず、特に女性においては発症者数が少なかったことから算出することができなかった。継続的に調査を実施し、関与を明らかにしていきたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the effect of potential genetic polymorphism (Ankyrin1(ANK1), rs515071) with the development of diabetes mellitus using a pooled logistic regression analysis in a longitudinal cohort study. We evaluated the odds ratios and 95% confidence intervals for the development of diabetes mellitus adjusting for other potential factors such as various physiological and blood chemistry parameters and lifestyle factors. We could not find clear association of ANK1 (rs515071) with the development of DM and we couldn't calculate the odds ratios for ANK1 in women. We would like to continue conducting investigations and clarifying the involvement of this polymorphism.

研究分野：環境労働衛生学

キーワード：遺伝子多型 糖尿病 縦断研究

1. 研究開始当初の背景

分子生物学の医学への応用が急速に進歩し、近年は後天性の慢性疾患でも関連遺伝子が報告されている。糖尿病の遺伝は多因子遺伝と考えられており、高血圧症、肥満なども含め、複数の遺伝子が相互作用しつつ、あるいは環境因子や宿主側の要因(生活習慣等)から影響を受けつつその相互作用によって発症すると考えられる。したがって大規模な一般人の集団に対しこれらの遺伝子の影響とその組み合わせによる効果の検討、および遺伝子と宿主側の要因(生活習慣等)との組み合わせによる効果の検討を行う必要があるとの考えに至った。同時に、長期にわたる縦断研究においては、飲酒や喫煙などの生活習慣の経時的な変動とともに、血圧やコレステロール値などの健康診断結果が結果に影響することが考えられ、適切な統計学的手法を導入することも重要である。

現在までに、われわれの研究グループは、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン変換酵素、アドレナリン 3 受容体、G 蛋白 3 サブユニット、LDL 受容体関連蛋白 5、セロトニン受容体、BRCA1-関連蛋白、Toll 様受容体等の SNP (遺伝子多型) を分析し、高血圧、肥満、糖尿病、高脂血症等の疾患との関連性についての横断的調査研究、さらに生活習慣等の変動も考慮した pooled logistic regression analysis による縦断的調査研究を継続している。現在のところ、この pooled logistic regression analysis を適応して、遺伝子多型の健康影響を調査した報告は、国内、国外でも我々のほかにはない、独自のものである。

結果として、それぞれの遺伝子がどのようにこれらの疾患に関連しているか、また各遺伝子の相互作用についても明らかとなり、多数の論文において報告を続けてきたが、さらに、糖尿病発症についても、より新しい遺伝子を測定し、糖尿病発症への影響を明らかにするとともに、遺伝子同士の組み合わせによる相互作用を評価することで、今後の予防医学に寄与できると考えた。

2. 研究の目的

Ankyrin1(ANK1) の遺伝子多型(rs515071)は、糖尿病関連遺伝子として患者と正常人のゲノムワイド関連解析により見出されて、ブドウ糖の取り込みや細胞膜構造、膵細胞の発生とインスリン遺伝子発現に関連した機序が示されている(註 1, 2, 3)。本研究では、日本の一般人において大規模かつ長期間にわたる縦断調査を行い、上記新規多型について、健診結果(HbA1c)への影響とともに、糖尿病発症の関連についての横断調査と縦断調査、さらに従来検討してきた遺伝子多型の組み合わせと糖尿病発症の関連性について、毎年の健診結果を補正しつつ、予防医学的に評価することを目的とした。

3. 研究の方法

本調査では、労働者約 2,600 人を対象として、平成 9 年から、平成 28 年までの健康診断結果をデータベース化し、長期の追跡調査をおこなった。また、毎年健診で測定する生活習慣病関連指標として、Body Mass Index、血圧、血清コレステロール値等を連続変数として説明変数に用い、Ankyrin 1(ANK1)の遺伝子多型(rs515071)との関連を調査した。糖尿病の発症は、HbA1c6.4(NGSP)以上または、糖尿病治療薬の内服開始とした。解析においては、pooled logistic 回帰またはあるいは時間依存共変量を含む比例ハザード回帰モデルを応用し、すでに分析した多型と、新規多型の健診結果(HbA1c)や糖尿病発症との関連について横断・縦断調査を実施し、さらにこれらの多型の組合せの影響を検討することとした。

なお本研究にあたり、平成 13 年「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則ったインフォームドコンセントの、同意が得られた対象者(男性 1458 人、女性 1168 人)を対象に、平成 25 年改正の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、再度倫理審査委員会の承認を受けている。

4. 研究成果

[横断調査結果]

Table11 に、対象者について示す。対象者は男性 1452 名(平均年齢 38.7 歳)、女性 1168 名(平均年齢 39.1 歳)である。このうち、HbA1c>6.4%(NGSP)または内服加療している対象者は男性 33 名(2.3%)、女性 10 名(0.9%)であった。平均 HbA1c は男性・女性ともに 5.4%であった。

Table1

Table 1. Characteristics of subjects.				
	Men		Women	
Total number of subjects	1452		1168	
	N	%	N	%
Hb A1c>6.4% or medication	33	2.3%	10	0.9%
Family history of diabetes (presence)	106	7.3%	79	6.8%
Smoking habit(smoking)	848	58.4%	52	4.5%
Alcohol consumption (at least 6 times a week)	570	39.3%	21	1.8%
Habitual exercise (absence)	932	64.2%	912	78.1%
	M	SD	M	SD
Age	38.7	9.8	39.1	9.3
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	22.9	2.9	22.0	3.2
Blood pressure(mmHg)				
Systolic	122.6	13.7	115.1	13.6
Diastolic	74.4	10.6	69.8	10.0
Mean	90.5	10.4	84.9	10.3
ALT (IU/L)	27.0	19.9	15.6	7.5
Creatinine (mg/dL)	1.0	0.1	0.8	0.1
Total serum cholesterol (mg/dL)	193.6	34.5	193.2	33.9
Uric acid (mg/dL)	5.7	1.1	4.0	0.8
Hb A1c (%)	5.4	0.5	5.4	0.4

M: Mean, SD: Standard deviation

次に、糖尿病発症に関する遺伝子型(Genotype)のオッズ比をロジスティック回帰分析により算出した。TT 型では CC 型に対し、男性において、オッ

ズ比および 95% 信頼区間は 2.94(95%CI 0.77-11.28 P=0.116)、女性において 6.12 (0.53-70.67, P=0.147) であった。

CT 型では CC 型に対し男性において、オッズ比は 1.33(0.59-2.97 P=0.490)、女性において 3.52(0.82-15.14 P=0.090) であり、いずれも糖尿病の有病について有意な関連を認めなかった。

糖尿病家族歴の有無では、男性において 4.27(1.71-10.67 P=0.002) と有意差を認めた。女性は症例が少なく算出できなかった。喫煙習慣の有無では、男性において、2.54(1.07-6.06 P=0.035) と有意差を認めた。女性は症例が少なく算出できなかった。そのほか、男性の年齢、男性・女性の BMI、男性の平均血圧、女性の ALT、において糖尿病との関係を認めた。

飲酒習慣、運動習慣、女性の平均血圧、男性の ALT については有意差を認めなかった。

男性のクレアチニン (+0.1mg/dl) については、オッズ比 0.52(0.37-0.72 P=0.040)、尿酸については 0.52(0.37-0.72 P<0.001) と糖尿病について負の関連を認めた。

#### [縦断調査結果]

次に 5 年間追跡による縦断調査を実施した。追跡開始時の対象者について、Table 2 に示す。研究のエンドポイントとしての糖尿病発症は、HbA1c>6.4%(NGSP) または糖尿病治療薬内服開始とした。

対象者は男性 980 名 (平均年齢 37.7 歳)、女性 718 名 (平均年齢 38.8 歳) であった。糖尿病の家族歴のあるものは男性 67 名 (6.8%)、女性 50 名 (7.0%) であった。平均 HbA1c は男性・女性ともに 5.4% であった。

Table 2

	Men		Women	
	N	%	N	%
Total number of subjects	980		718	
Family history of diabetes (presence)	67	6.8%	50	7.0%
Smoking habit (smoking)	573	58.5%	33	4.6%
Alcohol consumption (at least 6 times a week)	372	38.0%	13	1.8%
Habitual exercise (absence)	645	65.8%	556	77.4%
	M	SD	M	SD
Age	37.7	9.9	38.8	9.2
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.8	2.9	21.9	3.1
Blood pressure (mmHg)				
Systolic	122.4	13.3	115.2	13.8
Diastolic	74.1	10.4	69.8	10.2
Mean	90.2	10.0	85.0	10.6
ALT (IU/L)	26.8	18.5	15.8	8.1
Creatinine (mg/dL)	1.0	0.1	0.8	0.1
Total serum cholesterol (mg/dL)	191.2	33.6	193.0	33.5
Uric acid (mg/dL)	5.7	1.1	4.0	0.8
HbA1c (%)	5.4	0.3	5.4	0.3
M: Mean, SD: Standard deviation				

糖尿病発症者数は男性 39 名 (4.0%)、女性 8 名 (1.1%) であった。観察年数は男性 3869、女性 2716、平均観察期間は男性 3.95 年、女性 3.78 年であった。

次に pooled logistic 回帰分析を用いた、糖尿病発症に関する遺伝子多型のオッズ比を示す。

TT 型では、男性、女性ともに発症数が少なく算出できなかった。

CT 型では、男性においてオッズ比 0.63 (95%CI: 0.30-1.31 P=0.219) であり有意な関連を認めなかった。女性においては発症数が少なく、算出できなかった。

そのほかの因子では、女性の家族歴において、8.83(1.83-42.63 P=0.007) と相関関係を認めた。男性は認めなかった。また男性・女性の年齢、男性の ALT、女性の尿酸値において糖尿病発症との相関関係を認めた。

喫煙習慣、アルコール摂取習慣、運動習慣、BMI、クレアチニン、コレステロールにおいては糖尿病発症との相関関係を認めなかった。

#### まとめ

以上の通り、糖尿病発症について、男性・女性ともに Ankyrin 1(ANK1) の遺伝子多型 (rs515071) の関与は明確にならなかった。そのほかの因子では糖尿病の家族歴、年齢については糖尿病発症との相関関係を認めた。横断研究において、男性のクレアチニンおよび尿酸について負の相関関係を認めた。本研究の縦断調査においては、特に女性で、発症者数の少なさから遺伝子多型に関するオッズ比を算出できなかった。今後も追跡調査を継続し、遺伝子多型の関与を明らかにすること、また他の生活習慣病発症についての関与を明らかにしていきたいと考えている。

#### 文献

- 1) Cho YS et al., Nat Genet, 44, 67-72(2012)
- 2) Imamura M et al., Hum Mol Genet, 21, 3042-9(2012)
- 3) Sakai K et al., PLoS One, 8, e76317(2013)

#### 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)

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

能川 和浩 (NOGAWA, KAZUHIRO)  
千葉大学・大学院医学研究院・講師  
研究者番号：00612194

### (2) 研究分担者

諏訪園 靖 (SUWAZONO, YASUSHI)  
千葉大学・大学院医学研究院・教授  
研究者番号：90302546

高見 美幸 (TAKAMI, MIYUKI)  
千葉大学・大学院医学研究院・技術職員  
研究者番号：70571355

### (3) 連携研究者

中川 秀昭 (NAKAGAWA, HIDEAKI)  
金沢医科大学・総合医学研究所・教授  
研究者番号：00097437

森河 裕子 (MORIKAWA, YUKO)  
金沢医科大学・看護学部・教授  
研究者番号：20210156

櫻井 勝 (SAKURAI, MASARU)  
金沢医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：90397216