

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：84423

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19266

研究課題名(和文) 非肥満糖尿病の要因解明のための血糖変動に影響する遺伝要因・ライフスタイルの探索

研究課題名(英文) Genetic factors and lifestyles associated with blood glucose fluctuations in middle-aged Japanese people without obesity

研究代表者

羽山 実奈 (Mina, Hayama-Terada)

公益財団法人大阪府保健医療財団大阪がん循環器病予防センター(予防推進部・循環器病予防健診部・健康開発・循環器病予防部門・特別研究員)

研究者番号：10731549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：40-60歳の大阪地域住民400人における糖尿病関連SNP解析の結果、危険対立遺伝子の頻度に対するHbA1cの経年的な上昇の多変量調整オッズ比は、KCNQ1遺伝子1.13 (0.56-2.26)、CDKAL1遺伝子2.14 (1.09-4.18)、CDN2A/B遺伝子1.09 (0.57-2.09)であった。24人の持続血糖測定(CGM)の結果、血糖値の変動(平均血糖値の標準偏差)はCDKAL1遺伝子と有意な関連を認めた。ライフスタイルに関しては、HbA1cの上昇は、運動習慣や喫煙習慣とは関連を認めなかったが、血糖値の変動は、夕食後の身体活動量の少ないことや体格指標の増加と有意な関連を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満のない一般住民において、HbA1cの経年的な上昇にCDKAL1遺伝子の関連がみられた。さらに、CDKAL1遺伝子はCGMで測定した24時間の血糖変動と有意な関連を認めた。CDKAL1遺伝子は、国内外で報告された日本人集団を含む東アジア人における糖尿病感受性候補領域のうち、危険対立遺伝子の頻度が40%以上で、膵細胞機能との関連が示唆されている。本研究結果により、非肥満者の多い日本人の糖尿病の発症リスクに遺伝要因の関与が示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated diabetes-related SNPs associated with pancreatic  $\beta$ -cell function in 400 residents aged 40 to 60 years. The multivariate-adjusted odds ratios of the HbA1c uptrend according to the frequency of risk alleles of diabetes-related SNPs were KCNQ1 gene (rs2237892) 1.13 (0.56-2.26) ( $P = 0.73$ ), CDKAL1 gene (rs4712523) 2.14 (1.09-4.18) ( $P = 0.03$ ), and CDN2A/B gene (rs2383208) 1.09 (0.57-2.09) ( $P = 0.79$ ). We also explored continuous blood glucose measurement (CGM) on 24 subsamples. Blood glucose fluctuation (standard deviation of mean blood glucose) was significantly associated with CDKAL1 genotype. The HbA1c uptrend was not associated with exercise and smoking habits while blood glucose fluctuation was associated with lower physical activity after dinner and body mass index increase.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：2型糖尿病 血糖変動 遺伝要因 生活習慣 地域住民 非肥満

## 1. 研究開始当初の背景

わが国における糖尿病患者の急増は公衆衛生上重要な課題である。平成 24 年国民健康・栄養調査では、糖尿病が強く疑われる成人男女が約 950 万人と推計されており、平成 19 年以来約 60 万人も増加した。超高齢化社会を迎え、欧米的な生活様式が増えているわが国においても、欧米諸国と同様に、肥満や運動不足による糖尿病有病率の上昇が予測されている。一方で、日本人の 2 型糖尿病は、インスリン抵抗性よりむしろインスリン分泌能低下が多く、非肥満症例が諸外国に比べて多いことが特徴的であり、平成 25 年度大阪府内市町村国民健康保険における特定健診データの分析結果でも、ヘモグロビン A1c (HbA1c) 有所見者数(糖尿病が疑われる人)は、非肥満者、肥満者ともに同程度である。そこで、糖尿病既往等のない非肥満者を対象とした血糖変動パターンと遺伝要因及びライフスタイルとの関連を分析することで、日本人における糖尿病発症予防のためのオーダーメイド介入方法の開発に貢献できる。

持続血糖測定 (Continuous Glucose Monitoring: CGM) は、平成 22 年以降、わが国でも保険適用され、糖尿病臨床で活用されている。これまで、耐糖能正常例の血糖変動は、24 時間平均血糖値 100 mg/dL 前後、標準偏差 15 mg/dL の範囲で推移することが報告されている (Diabetes Care 2009, 2010)。また、耐糖能正常例に比べて、耐糖能異常例や 2 型糖尿病例では、日内血糖変動が大きいことが示されている (Clin Endocrinol(Oxf) 2012)。欧州の 2 型糖尿病患者の HbA1c 別 CGM パターンを解析した結果では、HbA1c 6.5%未満の群に比べて、HbA1c レベルが高い群ほど、特に朝食後の血糖値が高く、糖尿病の罹病期間が長くなるにつれ、食後高血糖並びに空腹時血糖値が上昇することが報告されている (Diabetes Care 2007)。HbA1c は、平均血糖値の良い指標ではあるが (Diabetes Care 2008)、急激な血糖上昇とその後の低血糖を認めるような日内血糖変動がある例では、HbA1c のみで血糖変動の度合いを推測することは不可能である。さらに、耐糖能正常例の中でも、インスリン分泌能が低下し始めると、糖負荷試験における血糖上昇幅が大きくなり、血糖上昇のピーク値までの時間が遷延することが報告されている (Diabetes Technol Ther 2009)。我々の予備的な検討においても、同じ HbA1c レベルであっても CGM パターンは異なり、睡眠直前に血糖上昇を認め、朝食欠食にもかかわらず、朝の血糖上昇を認めた例を見出している。本研究では、HbA1c の経年推移区分別の CGM パターンを調査し、それに影響する遺伝要因とライフスタイルを明らかにすることを目的とする。特に、肥満のない地域住民を対象として、日常生活における血糖変動を観察し、遺伝要因やライフスタイルとの関連を検討した報告はこれまでになく、日本人に多い非肥満糖尿病の発症要因に関する新たなエビデンスの創出が期待できる。

## 2. 研究の目的

日本人の 2 型糖尿病は、欧米人に比べて、肥満が軽度であり、インスリン分泌の低下が主な原因の一つと考えられている。しかしながら、国内外を含めて非肥満の一般住民を対象とした血糖変動パターンについて、遺伝要因やライフスタイル(食行動、運動、睡眠等)との関連を詳細に検討した疫学研究は見当たらない。本研究では、非肥満住民を対象に、平均血糖値の指標であるヘモグロビン A1c の経年的推移の区分別に、遺伝子解析及び 24 時間持続血糖測定を行い、血糖変動と遺伝要因やライフスタイルとの関連を分析することによって、より個別性の高い非肥満糖尿病の予防に関するエビデンスを得ることを目的とする。

## 3. 研究の方法

研究 1-1) 膵β細胞機能に関連した糖尿病関連 SNP 解析 (コホート内症例対照研究):

### 【対象と方法】

2007~2011 年 (A1) に循環器健診を受診した 40~60 歳の大阪地域住民のうち、2012~2016 年 (A2) に同健診を受診した者を対象とした。A1 及び A2 において、糖尿病・循環器疾患・がんの既往、体格指標 (body mass index; BMI) 25 kg/m<sup>2</sup>以上の者と A1 において HbA1c 7.0%以上の者を除外した。A1 と A2 との間で HbA1c が 0.2%上昇した 190 人 (上昇群) (男性 37 人、女性 153 人) と性別、年齢、A1 の HbA1c 値、A1・A2 の健診間隔を 1 対 1 でマッチさせた対照 (A1 と A2 との間で HbA1c の変化が 0.2%未満) 190 人を分析した。

### (1) 検査方法

糖尿病関連 SNP として、これまで、国内外で報告された日本人集団を含む東アジア人における糖尿病感受性候補領域のうち、危険対立遺伝子の頻度が 40%以上で、膵β細胞機能との関連が示唆されている KCNQ1 遺伝子 (rs2237892 C/T)、CDKAL1 遺伝子 (rs4712523 G/A)、CDKN2A/B 遺伝子 (rs2383208 A/G) の 3SNPs を分析した。シーケンサーは、イルミナ社 MiSeq を用い、得られたリードの構成から各変異を解析した。

HbA1c は、2007~2012 年はラテックス凝集反応法 (AU2700, オリンパス)、2013 年は HPLC 法 (HLC-723 G8, 東ソー) を用いて JDS 値を測定し、2014 年以降は HPLC 法 (HLC-723 G8, 東ソー) を用いて NGSP 値を測定した。JDS 値は以下の換算式 [NGSP 値 (%) = 1.02 × JDS 値 (%) + 0.25 %] を用いて NGSP 値に換算した (J Diabetes Investig 2012)。

その他、身長・体重による BMI の算出、血糖、トリグリセライド、肝酵素 (ALT、γ-GTP) の測定を行った。また、糖尿病の家族歴、喫煙習慣、運動習慣に関する問診を行った。

## (2) 統計解析

HbA1cの上昇群と対照の間での年齢(歳)、BMI(kg/m<sup>2</sup>)、体重の変化率、血糖値(mg/dL)、トリグリセライド値(mg/dL)、ALT(U/L)、 $\gamma$ -GTP(U/L)の各平均値の差の検定はt検定を用いた。糖尿病の家族歴、現在喫煙者、過去喫煙者、運動習慣(3か月以上、1回につき15分以上の運動を週1回以上行っている)の各頻度(%)及び糖尿病関連SNP〔KCNQ1遺伝子(rs2237892)、CDKAL1遺伝子(rs4712523)、CDN2A/B遺伝子(rs2383208)〕の危険対立遺伝子の頻度の差の検定はカイニ乗検定を用いた。

さらに、条件付きロジスティック回帰分析を用いて、糖尿病関連SNPの危険対立遺伝子の頻度におけるHbA1cの経年的な上昇に対するオッズ比及び多変量調整オッズ比を算出した。調整因子は、2型糖尿病の発症に関連することがこれまでの研究で示唆される項目、すなわち、BMI、体重変化率、血糖値、トリグリセライド値、ALT、 $\gamma$ -GTP、糖尿病の家族歴・運動習慣・喫煙習慣の有無とした。

統計解析ソフトはSAS(version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用い、有意水準は5%未満(両側検定)とした。

研究1-2) 膵 $\beta$ 細胞機能に関連した糖尿病関連SNP解析(前向きコホート研究):

### 【対象と方法】

2007~2011年(A1)に循環器健診を受診した40~60歳の大阪地域住民のうち、2012~2016年(A2)に同健診を受診した者を対象とした。A1及びA2において、糖尿病・循環器疾患・がんの既往、体格指標(body mass index; BMI)25 kg/m<sup>2</sup>以上の者とA1においてHbA1c 7.0%以上の者を除外し、400人(男性84人、女性316人、平均年齢51.8 $\pm$ 6.3歳)を対象とした。

### (1) 検査方法

糖尿病関連SNPの分析、HbA1c、その他、身長・体重によるBMIの算出、血糖、トリグリセライド、肝酵素(ALT、 $\gamma$ -GTP)の測定及び糖尿病の家族歴、喫煙習慣、運動習慣に関する問診については研究1-1のとおり行った。

### (2) 統計解析

A1とA2との間でHbA1cが0.2%上昇した者をHbA1cの上昇群、それ以外の者を不変・低下群として、両群間の年齢(歳)、BMI(kg/m<sup>2</sup>)、体重の変化率、血糖値(mg/dL)、トリグリセライド値(mg/dL)、ALT(U/L)、 $\gamma$ -GTP(U/L)の各平均値、及び糖尿病の家族歴、現在喫煙者、過去喫煙者、運動習慣の各頻度(%)と糖尿病関連SNPの危険対立遺伝子の頻度について、共分散分析による性・年齢調整及び検定を行った。

さらに、糖尿病関連SNPの危険対立遺伝子の頻度とHbA1cの上昇との関連を分析した。HbA1cの上昇の有無(A1とA2との間でHbA1cが0.2%上昇有;1、無;0)を従属変数、性別、年齢、A1のHbA1c値、健診間隔、BMI、体重変化率、血糖値、トリグリセライド値、ALT、 $\gamma$ -GTP、糖尿病の家族歴・運動習慣・喫煙習慣の有無を独立変数として、多重ロジスティック回帰分析を行った。

研究2) CGM血糖変動パターンと遺伝要因及びライフスタイルの比較検討:

### 【対象と方法】

2007~2011年(A1)に循環器健診を受診した40~60歳の大阪地域住民のうち、2012~2016年(A2)に同健診を受診した者を対象とした。A1及びA2において、糖尿病・循環器疾患・がんの既往、体格指標(body mass index; BMI)25 kg/m<sup>2</sup>以上の者とA1においてHbA1c 7.0%以上の者を除外し、CGM検査に同意した24人(男性1人、女性23人、平均年齢51.5 $\pm$ 6.3歳)を対象とした。

### (1) 検査方法

CGMは、2017年4月から2018年3月の間の1日間、CGM測定器(iPro2, メドトロニック)及び活動量計(HJA-750C, オムロン)を用いて、CGM及び活動量を測定した。CGM測定中は、自己検査用グルコース測定器(ワンタッチウルトラビュー, ジョンソン・エンド・ジョンソン)を用いて、自己血糖測定を1日3回行い、CGM測定血糖値を補正した。また、検査中の食事、運動、睡眠等の状況について、自己記録に基づいて聞き取り調査を行った。

HbA1c及び血糖は、直近の循環器健診で測定し、BMI及び腹囲は、直近2年間の循環器健診で算出及び測定した。糖尿病関連SNPの解析は、研究1-1のとおり行った。

### (2) 統計解析

CGMで測定した24時間血糖値の変動の目安は、平均血糖値の標準偏差(mg/dL)を用いて、三分位(13未満、13以上21未満、21以上)に分け、性・年齢を調整変数として、共分散分析を用いて糖尿病関連SNPの危険対立遺伝子の頻度及び運動、睡眠、食事のライフスタイル等を比較した。

## 4. 研究成果

研究1-1) 膵 $\beta$ 細胞機能に関連した糖尿病関連SNP解析(コホート内症例対照研究):

HbA1cの上昇群と対照の基本特性は、それぞれ、年齢(歳)51.5 $\pm$ 6.3、52.1 $\pm$ 6.3(P=0.42)、BMI(kg/m<sup>2</sup>)21.3 $\pm$ 2.0、21.1 $\pm$ 2.0(P=0.28)、体重の変化率-0.002 $\pm$ 0.051、-0.018 $\pm$ 0.056(P=0.002)、血糖値(mg/dL)93.2 $\pm$ 10.0、94.3 $\pm$ 8.4(P=0.27)、トリグリセライド値(mg/dL)105.8 $\pm$ 90.1、88.4 $\pm$ 72.6(P=0.004)、ALT(U/L)19.0 $\pm$ 9.7、18.2 $\pm$ 8.0(P=0.40)、 $\gamma$ -GTP(U/L)37.9 $\pm$ 68.8、27.8 $\pm$ 25.1(P=0.06)であった。上昇群と対照の次の割合は、それぞれ、糖尿病の

家族歴あり 15.8%、16.8% (P = 0.78)、現在喫煙習慣あり 17.9%、12.6% (P = 0.15)、過去喫煙習慣あり 15.8%、13.2% (P = 0.47)、運動習慣あり 55.3%、49.0% (P = 0.22)であった。

KCNQ1 遺伝子 (rs2237892)、CDKAL1 遺伝子 (rs4712523)、CDN2A/B 遺伝子 (rs2383208) の危険対立遺伝子の頻度は、HbA1c の上昇群 0.626、0.461、0.535、対照 0.650、0.424、0.542 であり、有意差を認めなかった (P = 0.48、0.29、0.83)。

HbA1c の上昇に関する糖尿病関連遺伝子の危険対立遺伝子の頻度のオッズ比及び多変量調整オッズ比は、KCNQ1 遺伝子 0.78 (0.41–1.51) (P = 0.46)、0.85 (0.40–1.80) (P = 0.66)、CDKAL1 遺伝子 1.35 (0.76–2.42) (P = 0.31)、1.18 (0.62–2.25) (P = 0.62)、CDN2A/B 遺伝子 0.94 (0.52–1.69) (P = 0.84)、1.24 (0.64–2.45) (P = 0.53)であった。

研究 1-2) 膵β細胞機能に関連した糖尿病関連 SNP 解析 (前向きコホート研究) :

HbA1c の上昇群と不変・低下群の基本特性 [平均値 (標準誤差)] は、それぞれ、年齢 (歳) 51.3 (0.4)、52.3 (0.4) (P = 0.14)、BMI (kg/m<sup>2</sup>) 21.3 (0.1)、21.1 (0.1)、体重の変化率 -0.001 (0.004)、-0.018 (0.004) (P = 0.002)、血糖値 (mg/dL) 93.2 (0.6)、94.1 (0.6) (P = 0.31)、トリグリセライド値 (mg/dL) 104.7 (5.4)、89.0 (5.4) (P = 0.04)、ALT (U/L) 19.0 (0.6)、18.3 (0.6) (P = 0.43)、γ-GTP (U/L) 36.8 (3.4)、28.3 (3.4) (P = 0.08)であった。上昇群と不変・低下群の次の割合 (標準誤差) は、それぞれ、男性 23.7 (2.9)%、18.3 (2.9)% (P = 0.19)、糖尿病の家族歴あり 15.1 (2.6)%、17.4 (2.6)% (P = 0.54)、現在喫煙習慣あり 16.9 (2.3)%、13.1 (2.3)% (P = 0.25)、過去喫煙習慣あり 17.2 (2.3)%、13.3 (2.3)% (P = 0.23)、運動習慣あり 55.6 (3.5)%、49.4 (3.5)% (P = 0.21)であった。

KCNQ1 遺伝子 (rs2237892)、CDKAL1 遺伝子 (rs4712523)、CDN2A/B 遺伝子 (rs2383208) の危険対立遺伝子の頻度 (標準誤差) は、HbA1c の上昇群 0.634 (0.023)、0.465 (0.024)、0.537 (0.024)、不変・低下群 0.642 (0.023)、0.421 (0.024)、0.549 (0.024)であり、有意差を認めなかった (P = 0.81、0.20、0.73)。

HbA1c の上昇に関する糖尿病関連遺伝子の危険対立遺伝子の頻度のオッズ比及び多変量調整オッズ比は、KCNQ1 遺伝子 0.93 (0.51–1.71) (P = 0.82)、1.13 (0.56–2.26) (P = 0.73)、CDKAL1 遺伝子 1.48 (0.83–2.64) (P = 0.19)、2.14 (1.09–4.18) (P = 0.03)、CDN2A/B 遺伝子 0.88 (0.50–1.57) (P = 0.67)、1.09 (0.57–2.09) (P = 0.79)であった。

研究 2) CGM 血糖変動パターンと遺伝要因及びライフスタイルの比較検討 :

CGM で測定した 24 時間血糖値の変動 [平均血糖値の標準偏差 (mg/dL)] の三分位群 (13 未満、13 以上 21 未満、21 以上) における各項目の平均値・頻度 (標準誤差) は、第 1 三分位群から第 3 三分位群にかけて順に、年齢 (歳) 51.1 (2.3)、51.9 (2.4)、51.5 (2.2) (P = 0.97)、男性 0%、0%、11% (P = 0.50)、CGM 装着時間 (分) 1426.5 (4.0)、1418.3 (4.3)、1424.5 (3.8) (P = 0.36)、朝食前 CGM 血糖値 (mg/dL) 105.1 (6.6)、99.3 (7.0)、107.8 (6.3) (P = 0.67)、朝食後 CGM 血糖ピーク値 (mg/dL) 126.6 (7.2)、135.7 (7.2)、148.0 (6.5) (P = 0.12)、朝食後 CGM 血糖ピーク値までにかかる時間 (分) 64.2 (13.4)、44.8 (13.4)、70.8 (12.0) (P = 0.36)、朝食にかける時間 (分) 28.4 (7.5)、26.1 (8.0)、21.3 (7.2) (P = 0.79)、昼食前 CGM 血糖値 (mg/dL) 106.0 (4.8)、99.8 (5.1)、109.8 (4.9) (P = 0.38)、昼食後 CGM 血糖ピーク値 (mg/dL) 132.7 (7.6)、164.6 (8.8)、159.7 (7.8) (P = 0.02)、昼食後 CGM 血糖ピーク値までにかかる時間 (分) 58.2 (9.0)、57.2 (10.4)、65.7 (9.2) (P = 0.80)、昼食にかける時間 (分) 18.6 (2.8)、24.8 (3.0)、19.0 (2.7) (P = 0.26)、夕食前 CGM 血糖値 (mg/dL) 103.0 (5.8)、93.1 (6.2)、107.6 (5.9) (P = 0.26)、夕食後 CGM 血糖ピーク値 (mg/dL) 127.6 (6.1)、134.6 (6.6)、171.5 (5.9) (P < 0.001)、夕食後 CGM 血糖ピーク値までにかかる時間 (分) 77.5 (14.1)、71.7 (15.1)、91.1 (14.4) (P = 0.65)、夕食にかける時間 (分) 27.1 (4.6)、30.9 (4.9)、29.4 (4.4) (P = 0.85)、睡眠時間 (分) 385.6 (24.2)、437.3 (25.9)、394.8 (23.2) (P = 0.32)、睡眠時 CGM 血糖値 (mg/dL) 102.5 (5.8)、88.2 (6.2)、86.1 (5.6) (P = 0.12)、間食の回数 (回) 2.73 (0.54)、1.39 (0.57)、1.60 (0.51) (P = 0.20)、3 メッツ以上の活動 (分) 105.1 (14.9)、80.2 (15.9)、80.3 (14.3) (P = 0.41)、朝食後から昼食までの 3 メッツ以上の活動 (分) 35.2 (12.2)、24.0 (10.6)、32.8 (8.1) (P = 0.74)、昼食後から夕食までの 3 メッツ以上の活動 (分) 25.5 (11.1)、20.6 (14.4)、60.3 (17.6) (P = 0.25)、夕食後から就寝までの 3 メッツ以上の活動 (分) 8.1 (1.3)、4.8 (1.4)、2.8 (1.2) (P = 0.02)、直近の健診の血糖値 (mg/dL) 91.8 (2.1)、87.7 (2.3)、95.1 (2.1) (P = 0.08)、直近の健診の HbA1c (%) 5.82 (0.10)、5.95 (0.11)、5.89 (0.10) (P = 0.69)、直近の健診の BMI (kg/m<sup>2</sup>) 20.5 (0.5)、21.0 (0.6)、21.1 (0.5) (P = 0.65)、前年からの BMI 変化率 -0.02 (0.01)、0.03 (0.01)、0.01 (0.01) (P = 0.04)、直近の健診の腹囲 (cm) 77.8 (1.7)、77.8 (1.8)、79.9 (1.6) (P = 0.60)、前年からの腹囲変化率 0.01 (0.01)、0.03 (0.01)、-0.01 (0.01) (P = 0.08)であった。要約すると、血糖値の変動は、食事にかける時間や睡眠時間とは明らかな関連を認めなかったが、夕食後の身体活動量の少ないことや前年からの体格指標 (BMI) の増加とは有意な関連を認めた。

糖尿病関連 SNP の危険対立遺伝子の頻度は、CGM 血糖値の変動の第 1 三分位群から第 3 三分位群にかけて順に、KCNQ1 遺伝子 (rs2237892) 0.613、0.492、0.670 (P = 0.54)、CDKAL1 遺伝子 (rs4712523) 0.365、0.143、0.614 (P = 0.02)、CDN2A/B 遺伝子 (rs2383208) 0.520、0.523、0.633 (P = 0.77) であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	磯 博康  (Iso Hiroyasu)  (50223053)	大阪大学・医学系研究科・教授    (14401)	