

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：31201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K15427

研究課題名(和文)ミトコンドリアDNAメチローム解析による動脈硬化機序解明と動脈硬化マーカー開発

研究課題名(英文)Development of the epigenetic marker for atherosclerosis through mitochondrial DNA methylome analysis

研究代表者

三上 貴浩(MIKAMI, Takahiro)

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：90804419

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)：頸動脈狭窄症(carotid artery stenosis; CAS)と相関する血中マーカーXを見出した。さらに、冠動脈疾患(coronary artery disease; CAD)、末梢動脈疾患(peripheral arterial disease; PAD)、脳梗塞(cerebrovascular disease; CVD)のそれぞれについてXとの関連を解析した結果、血中マーカーXはCASのみならず、CAD、PAD、CVDとも相関することが明らかとなった。本研究から、血漿X値が全身動脈硬化症の病態の進行を反映するマーカーであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頸動脈狭窄症、冠動脈疾患、末梢動脈疾患、脳梗塞などの動脈硬化疾患は、その早期発見が予後に直結するため、早期発見が急務である。本研究では、これらの動脈硬化疾患の病勢進行と相関する血中マーカーXを見出し、疾患との関連性を明らかにした。このことにより、動脈硬化症の早期発見の可能性や、早期からの治療介入可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We elucidated that a specific metabolite named X is significantly increased in the whole blood of the patients of carotid artery stenosis (CAS). We further analyzed the association between X level and other atherosclerotic diseases; coronary artery disease (CAD), peripheral arterial disease (PAD), and cerebrovascular disease (CVD). It was elucidated that X was also associated with CAD, PAD, or CVD. In conclusion, X was associated with atherosclerotic diseases, and reflected the progression of atherosclerosis.

研究分野：動脈硬化症

キーワード：動脈硬化 頸動脈狭窄症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

一塩基多型 (SNPs) などのゲノムの変異とは異なり、個体が生きている全期間を通じて、様々な組織の細胞の DNA メチル化の状態は様々な曝露因子により影響を受けて変化する。そこで、これらの DNA メチル化情報は、疾患発症の早期マーカー、環境曝露マーカー、治療効果判定マーカー、加齢マーカーとなる可能性が高く、ヒトの集団を対象に、特に血液細胞を用いて、全ゲノム範囲で DNA メチル化解析を行う研究が始まっている。

本研究開始当初の目的として、血液細胞の DNA メチロームからアテローム性動脈硬化の指標となるバイオマーカーを探索し、さらに動脈硬化という病態における DNA メチル化プロファイルの意義を明らかにすることを計画していた。

本研究の過程において、頸動脈狭窄症(carotid artery stenosis; CAS)の血中オミックス解析を遂行したところ、CAS と相関する血中マーカー X を見出した。動脈硬化の DNA メチローム解析研究を遂行する上で、まずは血中マーカー X の動脈硬化疾患における意義を明らかにすることが DNA メチル化情報の解明につながり得るという点において必要不可欠であると考えた。

### 2. 研究の目的

血漿中 X 濃度と動脈硬化性疾患との相関性を明確にし、X の動脈硬化性疾患発症に対する予測因子としての可能性を模索する。

### 3. 研究の方法

動脈硬化リスク因子を有する 235 名の集団をリクルートし、ゲノム解析に関する同意を得た上で本集団にて X についての検証解析を進めた。

冠動脈疾患(coronary artery disease; CAD)、末梢動脈疾患(peripheral arterial disease; PAD)、脳卒中(cerebrovascular disease; CVD)、CAS のそれぞれに関して、X との相関を検討するために、X の値を男女別に quartile に分け、quartile 1 を reference とした際の quartile 2,3,4 におけるオッズ比を算出した。

さらに、各動脈硬化疾患における X のマーカーとしての可能性を探索するために、Receiver Operating Characteristic 解析を施行した。

### 4. 研究成果

235 名の疾患罹患数を Figure 1 に、背景を Table 1 にそれぞれ示す。この集団は一般的な動脈硬化リスク患者集団を代表していると考えられる。解析対象となる動脈硬化リスク因子の変数に関して、いずれの 2 変数においても Spearman の相関係数が 0.7 を超えるものはなかった。このことから、線形回帰分析・ロジスティック回帰分析の際に独立変数として使用することの多重共線性は回避されていることが証明されており、本集団が統計学的解析に適することが示された。さらに、我々の考案した指標 X の値が対数正規分布に従うことから、X は解析指標として適切であると判断できる。

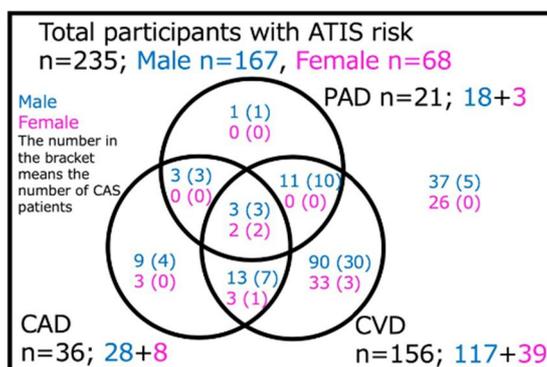


Figure 1

Variables	Male (n=167)	Female (n=68)	Total (n=235)
Age, mean (SE), years	71.2 (0.58)	74.0 (1.00)	72.0 (0.50)
Systolic BP, mean (SE), mm Hg	131.6 (1.2)	133.0 (2.2)	132.0 (1.1)
Diastolic BP, mean (SE), mm Hg	76.3 (0.9)	76.1 (1.4)	76.3 (0.8)
Use of antihypertensive agents, %	52.7	58.8	54.5
Use of anti-platelet agents, %	70.7	54.4	66
Diabetes mellitus, %	30.5	20.6	27.7
HbA1c, mg/dL	5.9 (0.06)	5.9 (0.07)	5.9 (0.04)
Serum total cholesterol, mean (SE), mg/dL	170.3 (2.3)	190.1 (4.0)	176.0 (2.1)
Serum HDL cholesterol, mean (SE), mg/dL	51.1 (1.1)	58.6 (2.2)	53.2 (1.0)
Serum triglyceride, geometric mean (95% CI), mg/dL	115.6 (107.1-124.8)	109.9 (97.5-123.9)	113.9 (106.8-121.5)
Use of lipid-modifying agents, %	53.2	61.8	55.7
BMI, mean (SE), kg/m <sup>2</sup>	25.3 (1.1)	24.0 (0.5)	24.9 (0.8)
eGFR, mean (SE), mL/min per 1.73 m <sup>2</sup>	66.2 (1.3)	67.9 (2.2)	66.7 (1.1)
ECG abnormalities, %	41.3	23.5	36.2
Smoking habits, %	14.4	7.4	12.3
Alcohol intake, %	77.8	35.3	65.5
Crude serum hs-CRP, geometric mean (95% CI), ng/mL	310.0 (256.2-375.0)	182.0 (135.0-245.2)	265.7 (225.7-312.8)
Crude X, geometric mean (95% CI), ng/mL	409.4 (385.7-434.6)	356.4 (324.6-391.3)	393.3 (373.8-413.8)
CAS, %	37.7	8.8	29.4
CAD, %	16.8	11.8	15.3
CVD, %	70.1	57.4	66.4
PAD, %	10.8	4.4	8.9
Complication number, mean (SE)	1.35 (0.08)	0.82 (0.11)	1.20 (0.06)

Table 1

CAD, PAD, CVD のそれぞれに関して、血漿中 X 測定値 quartile 4 での性年齢調整後オッズ比は、それぞれ 2.8、20.7、10.1 であった (ただし quartile 1 を reference とする)。

さらに、Receiver Operating Characteristic 曲線の Area Under the Curve 面積を算出することにより、血漿中 X 濃度が特に CAS や PAD の特異的マーカーとなり得ることが示された (Table 2)。

同対象群で CAD, CVD, PAD, CAS の 4 疾患のうち有する数によって、L0、L1、L2、L3、L4 の 5 群に分け、血漿 X 値を比較検討したところ、有する疾患数が増加するに従って、血漿 X 値が上昇することが確かめられた (Figure 2)。

以上の結果から、血漿 X 値が全身動脈硬化症の病態の進行を反映するマーカーであることが示唆された。

	CAS	PAD	CAD	CVD	CVD without CAS	CVD with CAS
log (X)	0.853 (0.802-0.905) p<0.0001	0.831 (0.751-0.911) p<0.0001	0.642 (0.541-0.743) p=0.0071	0.717 (0.648-0.786) p<0.0001	0.459 (0.385-0.532) p=0.280	0.822 (0.763-0.882) p<0.0001
log (hs-CRP)	0.549 (0.463-0.636) p=0.233	0.487 (0.350-0.623) p=0.840	0.514 (0.414-0.614) p=0.792	0.672 (0.601-0.743) p<0.0001	0.637 (0.565-0.709) p=0.00033	0.527 (0.431-0.622) p=0.548
IL-6	0.595 (0.518-0.671) p=0.023	0.620 (0.511-0.728) p=0.077	0.500 (0.405-0.595) p=0.996	0.730 (0.660-0.800) p<0.0001	0.657 (0.587-0.727) p<0.0001	0.572 (0.490-0.655) p=0.104
hs-TNF $\alpha$	0.527 (0.450-0.605) p=0.511	0.584 (0.445-0.723) p=0.205	0.557 (0.459-0.654) p=0.280	0.263 (0.197-0.328) p<0.0001	0.263 (0.197-0.329) p<0.0001	0.525 (0.442-0.608) p=0.576
log (serum triglyceride)	0.470 (0.392-0.548) p=0.469	0.409 (0.279-0.538) p=0.167	0.596 (0.499-0.692) p=0.068	0.411 (0.333-0.489) p=0.026	0.470 (0.394-0.545) p=0.427	0.432 (0.354-0.510) p=0.123
1/ABI	0.528 (0.447-0.610) p=0.497	0.755 (0.651-0.858) p<0.0001	0.535 (0.425-0.645) p=0.504	0.308 (0.240-0.376) p<0.0001	0.303 (0.231-0.375) p<0.0001	0.530 (0.445-0.615) p=0.503

Table 2

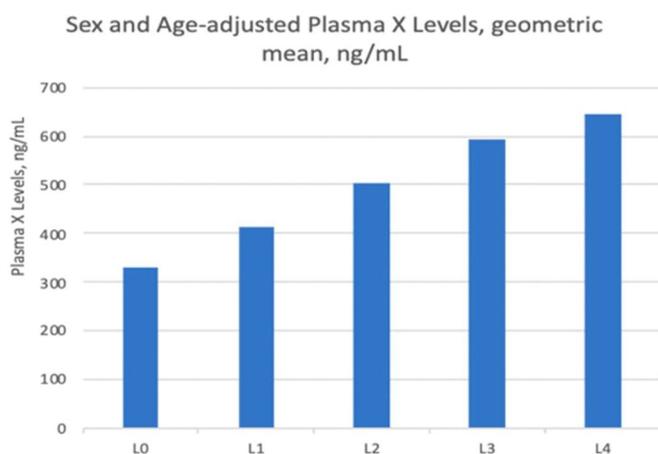


Figure 2

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------