

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17402

研究課題名（和文）脂質に着目した脳・心血管疾患の個別化予防実現のためのゲノム・メタボローム疫学研究

研究課題名（英文）Genomic and metabolomic epidemiological study of lipids for personalized prevention of cardiovascular diseases

研究代表者

平田 あや（Hirata, Aya）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：20845739

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：冠動脈疾患発症に関連する詳細リポ蛋白分画を検討した結果、大型HDLの脂質や粒子数は冠動脈疾患発症リスクと負の関連を示し、小型HDLでは正の関連を示した。またHDL-Cと飲酒による代謝プロファイルの検討では、HDL-Cだけでなく飲酒の有無によって代謝が大きく異なり、HDL-Cが同値の集団であっても飲酒習慣によって関連の方向が異なっていることが示された。小型HDL-Cと大型HDL-CのGWASでは、大型HDL-Cについては先行研究でHDL-CやHDL機能、CAD発症との関連が報告されている遺伝子のSNPと関連を認めたが、それらのSNPと飲酒習慣との交互作用は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人では報告の少ない詳細リポ蛋白分画の脂質と冠動脈疾患発症との関連を検討し、冠動脈疾患発症に関連する脂質プロファイルを明らかにしたことの意義は大きい。またそこで関連の示されたHDL分画の脂質のGWASならびに関連のあったSNPと飲酒習慣の脂質に対する交互作用を検討し、飲酒習慣との交互作用は示されなかったものの、HDLはその分画によって関連する遺伝子が異なる可能性が示唆された。今後の研究の展望として、飲酒以外の生活習慣要因との交互作用についても検討するため、本研究で得られた知見から想定される効果量や遺伝様式を参考にすることで適切な症例数設計に基づく研究が実施できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Lipids and particles of large HDL were negatively associated with risk of coronary artery disease (CAD) development, while those of small HDL showed positive associations. Regarding metabolomics profile of HDL-C and alcohol consumption, the metabolomics profile was altered not only by HDL-C levels but also by alcohol drinking habits, indicating that the direction of the association differed according to drinking habits, even in HDL-C equivalence groups. GWAS of small HDL-C and large HDL-C showed associations with SNPs in genes reported to be associated with HDL-C, HDL function and CAD development in previous studies for large HDL-C, but no interaction between these SNPs and drinking habits.

研究分野：脂質、循環器病予防、公衆衛生学、疫学

キーワード：リポ蛋白分画 飲酒 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

脳・心血管疾患はわが国における死因の上位を占めており、その発症予防は公衆衛生上の重要な課題となっている。脂質異常症 [高 **LDL** コレステロール (**LDL-C**) 血症、高トリグリセライド (**TG**) 血症、低 **HDL** コレステロール (**HDL-C**) 血症] は、脳・心血管疾患の主要な危険因子であり、なかでも高 **LDL-C** 血症は冠動脈疾患と強く関連することが複数の疫学研究から報告されている。一方、これまで予防的に働くと考えられてきた **HDL-C** については、著しい高値を示す集団ではかえって脳・心血管疾患リスクが増加することが明らかとなっている (*J Clin Lipidol.* 2018; 12: 674-684)。

LDL や **HDL** などのリポ蛋白は、酸化などの修飾を受けてレセプターへの結合能などの血中動態が変化することにより動脈硬化を惹起すると考えられており、とりわけ **HDL** の機能の低下は、量とは独立した動脈硬化の危険因子であることが明らかとなっている。リポ蛋白は、その分画によりアポ蛋白の種類やコレステロール、**TG** などの含有量が異なっており、血中におけるリポ蛋白分画は生体内での脂質代謝動態を示唆している。そのため、リポ蛋白分画を用いることで血中における代謝動態を反映したりリポ蛋白の質的な評価が可能になると考えられるが、日本人一般集団において詳細なりポ蛋白分画と動脈硬化性疾患との関連を検討した報告は少ない。

脂質と生活習慣に関する先行研究では、飲酒や喫煙、多価不飽和脂肪酸摂取や有酸素運動などが **LDL-C** や **HDL-C** に影響することが報告されている (*Am J Clin Nutr.* 2015;102:40-8, *Asia Pac J Clin Nutr.* 2013;22:222-8)。しかし生活習慣が脂質代謝動態にどのような影響をもたらすのかを検討した報告はほとんどない。また脳・心血管疾患および脂質異常症や高血圧、糖尿病などその危険因子は、一般に生活習慣病と呼ばれるが、実際には遺伝要因に過食や身体活動不足などの生活習慣をはじめとした環境要因が加わって発症する多因子疾患であり、疾患の発症には様々な割合で個人の体質が寄与している。しかし、国内における脳・心血管疾患やその危険因子に対する遺伝要因と環境要因の交互作用を検討した報告は少なく、日本人集団におけるエビデンスの構築が当面の課題となっている。

2. 研究の目的

このような背景から、本研究ではまず動脈硬化性疾患に関連する脂質プロファイルを明らかにするため、日本の地域住民を対象にリポ蛋白詳細分画の脂質と冠動脈疾患 (**coronary artery disease: CAD**) 発症との関連を検討した。次に **CAD** 発症との関連が示されたりポ蛋白分画の **GWAS** を実施し、同定された **SNP** と生活習慣との交互作用を検討した。

3. 研究の方法

(1) リポ蛋白詳細分画の脂質と **CAD** 発症に関するネステッド・ケースコントロール研究
鶴岡メタボロームコホート研究は山形県鶴岡市に在住する **35-74** 歳の男女 **11,002** 名を対象に、**2012** 年度よりベースライン調査を開始した地域コホート研究である。本研究では鶴岡メタボロームコホート研究参加者のうち **2019** 年 **10** 月 **31** 日までに **CAD** を発症した **53** 名に対して性、年齢 ± 3 歳、対象者の種類 (職域 or 地域住民) により **1:2** の時点マッチングでコントロール群を選定し、欠損値のある者を除外した **153** 名 (ケース **51** 名、コントロール **102** 名) を解析対象としたコホート内ネステッド・ケースコントロール研究を実施した。

HPLC (高速液体クロマトグラフィー) 法で測定したリポ蛋白: **CM** (**chylomicron**)、**VLDL** (**very-low-density lipoprotein**)、**LDL** (**low-density lipoprotein**)、**HDL** (**high-density lipoprotein**) の詳細 **20** 分画 (分画は粒子サイズにより定義されている) に含まれるコレステロールとトリグリセライド、ならびに粒子数をリスク要因とした。これらの詳細リポ蛋白分画の脂質および粒子数は、株式会社免疫生物研究所 (**Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd.**) の **LipoSEARCH®** で測定し、各値を対数変換した。

統計解析は、条件付きロジスティック回帰モデルで **VLDL**、**LDL**、**HDL** 各分画のコレステロール、トリグリセライド (**TG**)、粒子数の **1SD** ごとの **CAD** 発症オッズ比 (**OR**) を算出した。共変量は **BMI**、空腹時血糖、収縮期血圧、喫煙習慣、飲酒習慣、降圧剤、血糖降下薬、脂質異常症治療薬の服用とした。

(2) **HDL-C** に対する生活習慣要因の探索ならびに **HDL-C** と生活習慣によるメタボロームのプロファイルの検討

鶴岡メタボロームコホート研究のベースライン参加者のうちリポ蛋白分画を測定した **595** 名を解析対象とした。**CAD** との関連が示された **very small HDL-C** と **small HDL-C** の総和を **S-HDL-C**、**very large HDL-C** と **large HDL-C** の総和を **L-HDL-C** とし、その値を対数変換した。**S-HDL-C**、**L-HDL-C** 各々に対する生活習慣要因を探索するため、**S-HDL-C**、**L-HDL-C** を従属変数、性・年齢・**BMI**・喫煙習慣 (**never, past, current**)・飲酒習慣 (**never, past, current**) を独立変数とした重回帰分析を行った。次に **S-HDL-C**、**L-HDL-C** の中央値と現在飲酒の有無の組み合わせにより対象者を **4** 群に分類し、各群におけるメタボロームのヒートマップを **S-HDL-C**、**L-HDL-C** 別に作成し、メタボロームのプロファイルを比較した。

(3) **S-HDL-C** (**very small HDL-C** + **small HDL-C**) および **L-HDL-C** (**very large HDL-C** +

large HDL-C)の GWAS ならびに **SNP** と飲酒習慣との交互作用の検討

上記と同様の集団において、各 **HDL-C** の **GWAS** を実施するため、ジャポニカアレイ®による **SNP** ジェノタイピングを行なったゲノムデータを用いて、**S-HDL-C**、**L-HDL-C** を従属変数、それぞれの **SNP** 座位におけるマイナーアレルの数(0,1,2)・性・年齢を独立変数として **SNP** ごとに重回帰分析を行った。次に各 **HDL-C** に対する飲酒と **SNP** の交互作用を検討するため、モデルの独立変数に飲酒習慣・飲酒習慣と **SNP** の交互作用を追加して **SNP** ごとに重回帰分析を行った (**R 4.0.3**, <https://www.r-project.org/>)。この分析で出力された要約統計量を用いて、 $p\text{-value} \leq 1e-5$ の **SNP** についてアノテーションを行った (**FUMA GWAS**, <https://fuma.ctglab.nl/>)。

4. 研究成果

(1) リポ蛋白詳細分画の脂質と **CAD** 発症に関するネステッド・ケースコントロール研究結果を表 1 に示す。小型 **HDL** の粒子数、コレステロール、**TG** は **CAD** 発症リスクと正の関連を示し、大型 **HDL** では負の関連を示した。米国の **Women's Health Study** の報告では、**NMR** で測定した **HDL** 粒子数について本研究と一致した知見を得ている (**Circulation. 2009 Feb 24;119:931-9**)。また小型 **HDL** は抗動脈硬化作用の一つである **ABCA1** 結合を介したコレステロールの引き抜きに関与することが知られるが、その一方で小型 **HDL** の増加は、機能低下した **HDL** のマーカーである **LAA** の増加やコレステロール引き抜き能の低下と正の関連を示し、大型 **HDL** の増加はそれらと負の関連を示すことが報告されている (**Atherosclerosis. 2020;313:20-25**, **J Lipid Res. 2017;58:600-606**)。従って小型 **HDL** の増加は、機能低下を呈し成熟 **HDL** への変化を阻害された新生 **HDL** の増加を示唆すると考えられた。

本研究で小型 **LDL**、大型 **VLDL** の粒子数、コレステロール、**TG** が **CAD** 発症リスクと正の関連を示したことについては、これまでの複数の疫学研究で **small dense LDL** と冠動脈疾患発症との関連が報告されており、本研究の知見と一致する (**J Am Coll Cardiol. 2007;49:547-53**, **Atherosclerosis. 2006;189:206-14**)。この背景として、**VLDL** 過剰産生や小型 **VLDL** への分解阻害によって大型 **VLDL** の産生が増加することで血中の **TG** 濃度が上昇し、小型 **LDL** 優位となる。小型 **LDL** はサイズの小さく密度の大きいリポ蛋白で、酸化されやすく血管内皮に取り込まれやすいことから強い動脈硬化惹起作用を有することが明らかになっている (**Arterioscler Thromb. 1991;11:298-306**, **Ann Intern Med. 2009;150:474-84**)。

表 1. 脂質 1SD 増加に対する冠動脈疾患発症オッズ比 (95%信頼区間)

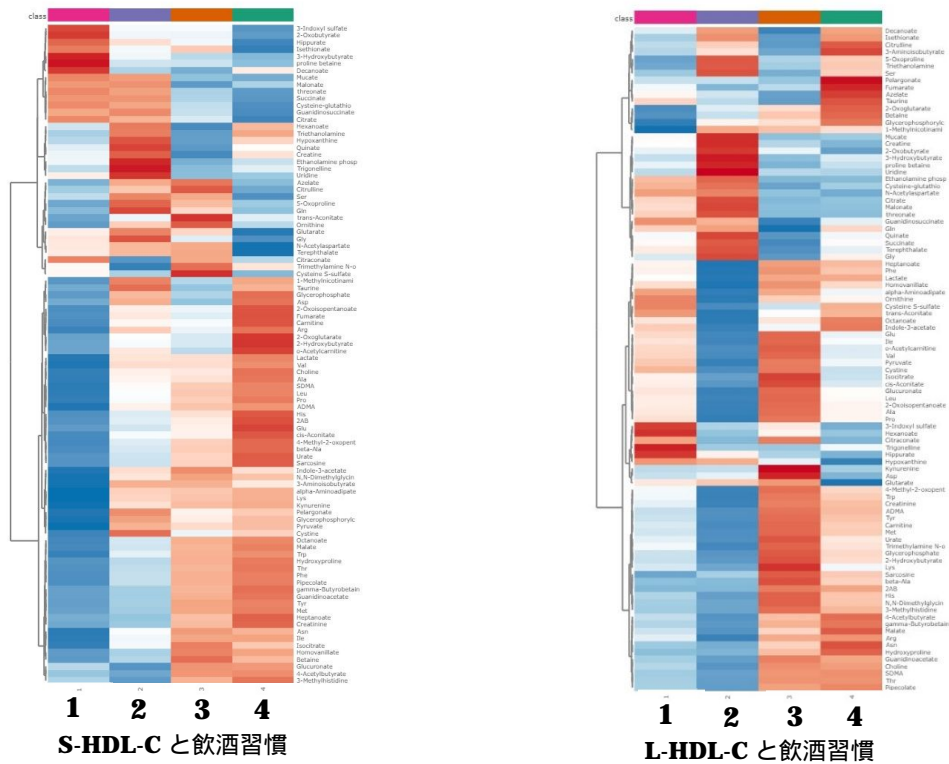
標準測定による脂質		コレステロール		TG	
LDL-C (F式)	1.18 (0.79-1.76)	Total	Total	Total	Total
Non-HDL-C	1.65 (1.04-2.62) *	Total-C	1.26 (0.77-2.07)	Total-TG	1.57 (1.00-2.46) *
HDL-C	0.55 (0.30-0.99) *	CM	CM	CM	CM
TG	1.61 (1.04-2.49) *	CM-C	2.04 (1.21-3.44) *	CM-TG	2.12 (1.22-3.69) *
粒子数		VLDL	VLDL	VLDL	VLDL
CM		VLDL-C(all)	1.65 (1.03-2.64) *	VLDL-TG(all)	1.77 (1.08-2.90) *
CM-P	2.10 (1.22-3.62) *	Large-VLDL-C	2.02 (1.18-3.44) *	Large-VLDL-TG	1.98 (1.17-3.36) *
VLDL		Medium-VLDL-C	1.50 (0.96-2.35)	Medium-VLDL-TG	1.45 (0.93-2.25)
Large-VLDL-P	1.97 (1.16-3.35) *	Small-VLDL-C	0.95 (0.64-1.42)	Small-VLDL-TG	1.07 (0.74-1.57)
Medium-VLDL-P	1.52 (0.97-2.39)	LDL	LDL	LDL	LDL
Small-VLDL-P	1.01 (0.69-1.50)	LDL-C(all)	1.16 (0.73-1.84)	LDL-TG(all)	1.08 (0.74-1.57)
LDL		Large-LDL-C	0.79 (0.53-1.19)	Large-LDL-TG	0.94 (0.64-1.38)
Large-LDL-P	0.81 (0.53-1.22)	Medium-LDL-C	1.09 (0.69-1.73)	Medium-LDL-TG	1.03 (0.70-1.51)
Medium-LDL-P	1.10 (0.70-1.74)	Small-LDL-C	1.80 (1.04-3.12) *	Small-LDL-TG	1.36 (0.91-2.02)
Small-LDL-P	1.81 (1.06-3.09) *	Very small-LDL-C	1.83 (1.06-3.15) *	Very small-LDL-TG	1.41 (0.95-2.11)
Very small-LDL-P	1.90 (1.10-3.29) *	HDL	HDL	HDL	HDL
HDL		HDL-C(all)	0.60 (0.35-1.02)	HDL-TG(all)	0.99 (0.68-1.46)
Very large-HDL-P	0.57 (0.34-0.97) *	Very large-HDL-C	0.56 (0.33-0.94) *	Very large-HDL-TG	0.82 (0.54-1.25)
Large-HDL-P	0.48 (0.28-0.83) *	Large-HDL-C	0.49 (0.28-0.83) *	Large-HDL-TG	0.63 (0.39-1.02)
Medium-HDL-P	0.80 (0.49-1.28)	Medium-HDL-C	0.75 (0.46-1.21)	Medium-HDL-TG	1.15 (0.78-1.70)
Small-HDL-P	1.59 (0.93-2.71)	Small-HDL-C	1.43 (0.85-2.41)	Small-HDL-TG	1.36 (0.90-2.04)
Very small-HDL-P	1.29 (0.78-2.12)	Very small-HDL-C	1.31 (0.79-2.16)	Very small-HDL-TG	1.46 (0.97-2.21)

TGおよび詳細リポ蛋白分画関連項目は対数変換per1sd

(2) **HDL-C** に対する生活習慣要因の探索ならびに **HDL-C** と生活習慣によるメタボロームのプロファイルの検討

S-HDL-C、**L-HDL-C** 各々に対する生活習慣要因を重回帰モデルで検討した結果、非飲酒を参照群として現在飲酒が **L-HDL-C** と有意な正の関連を示し ($\beta = 5.02, p < 0.001$)、**S-HDL-C** は正の関連を示した ($\beta = 0.03, p = 0.34$)。

HDL-C の中央値と飲酒習慣の有無による各群のメタボロームのプロファイルを図 1 に示す。**HDL-C** 値だけでなく飲酒の有無によっても代謝が大きく変化しており、**HDL-C** 同群であっても飲酒習慣によって関連の方向が異なることが示された。



1: 飲酒なし&HDL-C low, 2: 飲酒なし&HDL-C high, 3: 飲酒あり&HDL-C low, 4: 飲酒あり&HDL-C high

図 1. HDL-C の中央値と飲酒の有無の組み合わせによる 4 群のヒートマップ

(3) S-HDL-C (very small HDL-C + small HDL-C) L-HDL-C (very large HDL-C + large HDL-C) の GWAS ならびに飲酒習慣の交互作用の検討

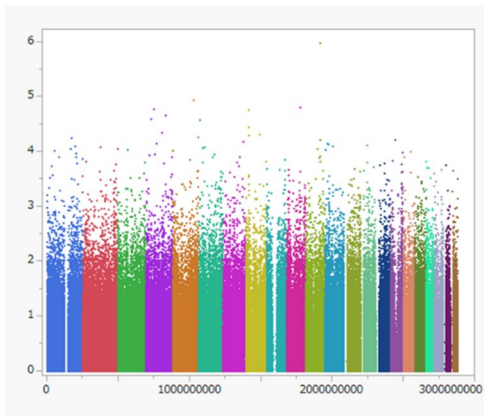


図 2. S-HDL-C に関する GWAS のマンハッタンプロット (性、年齢)

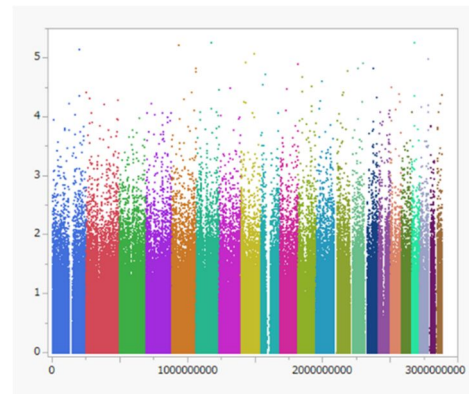


図 3. S-HDL-C に関する GWAS のマンハッタンプロット (性、年齢、飲酒、SNP と飲酒の交互作用で調整)

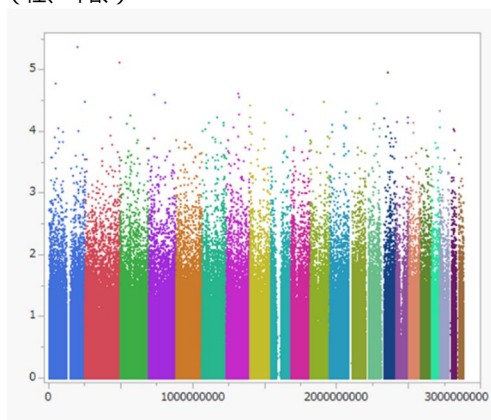


図 4. S-HDL-C に関する SNP と飲酒習慣の交互作用の GWAS のマンハッタンプロット (性、年齢、飲酒で調整)

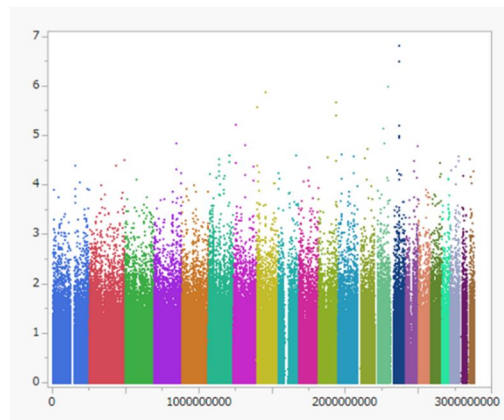


図 5. L-HDL-C に関する GWAS のマンハッタンプロット (性、年齢)

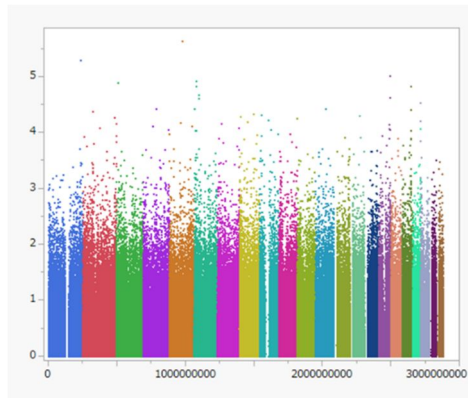


図 6. L-HDL-C に関する GWAS のマンハッタンプロット (性、年齢、飲酒、SNP と飲酒の交互作用で調整)

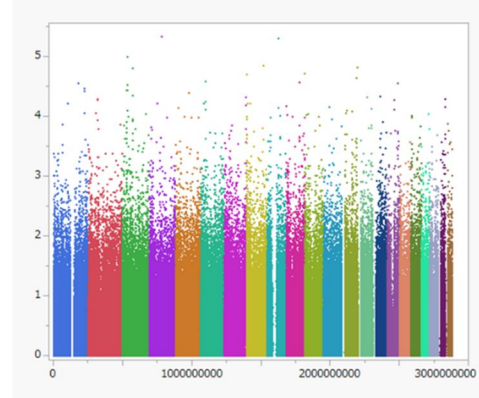


図 7. L-HDL-C に関する SNP と飲酒習慣の交互作用の GWAS のマンハッタンプロット (性、年齢、飲酒で調整)

表 2. S-HDL-C に関連する SNPs と飲酒習慣の交互作用

rsID	Chr	Position	Alleles	Frequency	Closest Gene	Effect	P-value	Main Effect	P-value for main effect	Interaction Effect	P-value for interaction
rs1077834	15	58723479	C>T	0.48	<i>ALDH1A2</i> <i>LIPC</i>	0.08	1.46E-07	0.07	3.72E-03	0.01	6.59E-01
rs1800588	15	58723675	T>C	0.48	<i>ALDH1A2</i> <i>LIPC</i>	0.08	3.06E-07	0.06	6.91E-03	0.02	5.76E-01
rs79573649	14	88748906	A>G	0.18	<i>KCNK10</i>	0.09	9.88E-07	0.08	2.59E-03	0.01	7.79E-01
rs55977291	8	58452189	A>C	0.13	<i>RP11-246K15.1</i>	0.11	1.28E-06	0.13	6.44E-05	-0.04	3.70E-01
rs651821	11	116662579	T>C	0.35	<i>APOA5</i>	0.07	2.10E-06	0.06	8.74E-03	0.01	6.77E-01
rs7017831	8	1581891	G>A	0.08	<i>DLGAP2</i>	-0.12	2.60E-06	-0.11	5.37E-03	-0.02	7.29E-01
rs662799	11	116663707	A>G	0.35	<i>APOA5</i>	0.07	3.77E-06	0.06	1.37E-02	0.01	6.58E-01
rs115823970	7	19470226	A>G	0.04	<i>AC007091.1</i>	-0.18	6.01E-06	-0.11	9.23E-02	-0.09	2.47E-01
rs261338	15	58735005	G>A	0.14	<i>ALDH1A2</i> <i>LIPC</i> <i>RP11-355N15.1</i>	-0.09	6.08E-06	-0.10	4.40E-03	0.03	5.28E-01
rs376172646	14	62167808	T>G	0.01	<i>HIF1A</i>	-0.38	7.05E-06	-0.36	8.54E-04	-0.05	7.79E-01

表 3. L-HDL-C に関連する SNPs と飲酒習慣の交互作用

rsID	Chr	Position	Alleles	Frequency	Closest Gene	Effect	P-value	Main Effect	P-value for main effect	Interaction Effect	P-value for interaction
rs114392320	1	193117505	C>T	0.02	<i>CDC73</i>	-0.08	4.13E-06	-0.10	7.98E-05	0.04	1.86E-01
rs1878393	2	236276440	G>A	0.34	<i>AC092576.1</i>	-0.02	7.44E-06	-0.01	8.46E-02	-0.01	1.79E-01

GWAS の結果を図 2-7、表 2、表 3 に示す。S-HDL-C の GWAS で $P\text{-value} \leq 1e-5$ を示した SNP は、rs1077834, rs1800588, rs79573649, rs55977291, rs651821, rs7017831, rs662799, rs115823970, rs261338, rs376172646 であった。rs1800588 や rs651821、rs662799 は先行研究においても HDL-C との関連が報告されており、rs651821 と rs662799 の近傍に存在する遺伝子 APOA5 は CAD 発症と関連することが知られている (BMJ Open. 2018;8:e020016. J Lipid Res. 2010;51:422-30.)。また APOA5 の遺伝子多型は HDL の機能であるコレステロール引き抜き能 (CEC) と関連することが報告されている (J Am Heart Assoc. 2018;7:e009545.)。しかし本研究ではこれらの SNP と飲酒との S-HDL-C に対する交互作用は認められなかった。L-HDL-C の GWAS で $P\text{-value} \leq 1e-5$ を示した SNP は rs114392320 と rs1878393 で、これらの近傍に存在する遺伝子はそれぞれ CDC73、AC092576.1 であった。これらの遺伝子と HDL との関連を示し得る報告はなく、本研究では HDL の量および機能に関連する遺伝子領域は同定されなかった。

<今後の研究の展望>

生活習慣要因として食事や運動習慣についても検討し、それらと遺伝的要因との交互作用を探索する必要がある。また複数の遺伝子にまたがる効果を検出するため、複数の SNP の効果を勘案したモデルの採用について検討した上で、生活習慣との交互作用をより適切なモデルで検討することの必要性も考えられた。一方、本研究で得られた知見から想定される効果量や遺伝様式について検討することで適切な症例数設計に基づく研究が実施できる可能性があり、引き続きの検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平田あや
2. 発表標題 HDLと動脈硬化性疾患の疫学研究とその応用的発展
3. 学会等名 第55回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 平田あや、原田成、飯田美穂、加藤寿寿華、松元美奈子、宮川尚子、土岐了大、枝川竣、佐田みずき、桑原和代、岡村智教、武林亨
2. 発表標題 日本の地域住民におけるリポ蛋白詳細分画と冠動脈疾患発症との関連
3. 学会等名 第55回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川田陽子、平田あや、桑原和代、佐田みずき、宮寄潤二、久保田芳美、久保佐智美、西田陽子、平田匠、東山綾、門田文、杉山大典、西川智文、宮松直美、宮本恵宏、岡村智教
2. 発表標題 都市住民における睡眠時間と脂質との関連：神戸研究
3. 学会等名 第55回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

〔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
---------	---------