

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300252

研究課題名(和文)BRAP、TLR4、APOB遺伝子多型の生活習慣病罹患リスクに関する縦断研究評価

研究課題名(英文)Longitudinal study for the effect of genetic polymorphism of BRAP, TLR4, APOB gene on the incidence risk of lifestyle related diseases

研究代表者

諏訪園 靖(Suwazono, Yasushi)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90302546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本の一般人において縦断調査を行い、BRCA1-関連蛋白(BRAP)遺伝子、Toll様受容体4遺伝子、アポリポタンパク質B遺伝子の多型の、生活習慣病の発症との関連を明らかにし、予防医学的に評価することを目的とした。生活習慣との交互作用を含めて、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症、高尿酸血症、高GTP血症などの発症や、検査結果の経年変化について検討を進め、BRAP遺伝子のrs11066001多型が、糖尿病発症や、HbA1cの上昇について、有意に関連していることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the effect of genetic polymorphism for BRCA1 associated protein (BRAP), toll-like receptor 4 (TLR4), apolipoprotein B(APOB) gene on the incidence risk of lifestyle related diseases in a large-scale longitudinal cohort study. Based on the incidences of hypertension, diabetes mellitus, obesity, dyslipidemia, hyperuricemia and high serum gamma-GTP level and the serial change in those related physiological and laboratory results, BRAP gene polymorphism (rs11066001) was shown to have significant effect on the onset of diabetes mellitus and HbA1c level.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：遺伝子多型 メタボリック症候群 高脂血症 糖尿病 追跡調査

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。高血圧症、肥満、心疾患等の慢性疾患の遺伝は多因子遺伝と考えられており、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が、調査結果にバイアスをかけることが懸念されるため、適切な統計学的手法を導入することも重要である。そして、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、セロトニン受容体の遺伝多型を分析し、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、前述のとおり、多因子遺伝の疾患の本態を明らかにするためには、より多くの遺伝子を測定し、さらにすでに測定した遺伝子多型との健康影響の比較や、組み合わせによる相互作用の検討が重要であり、新しい遺伝子多型の測定が必須であるとの考えにいたった。

2. 研究の目的

BRCA1-関連蛋白(BRAP、rs11066001、rs3782886) は、心筋梗塞患者での疫学調査により見出され、冠動脈の炎症が、その機序として指摘されている。¹⁾また、Toll 様受容体 4(TLR4、Asp299Gly、Thr399Ile)については、炎症反応におけるサイトカイン誘導を介する動脈硬化に関連するとされ、心筋梗塞²⁾や心筋梗塞後の心不全³⁾との関連が報告され、近年ではメタボリック症候群、耐糖能異常、脂質代謝異常にも関連が報告されている。⁴⁾アポリポタンパク質 B(APOB、T71I、A591V、P2712L、R3611Q)遺伝子についても、高コレステロール血症との関連が報告されてお

り⁵⁾、注目を集めている。しかしながら、日本人における調査はほとんどなく、縦断的な検討もなされていない。そこで、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、これらの遺伝子が、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症などの生活習慣病の発症に影響を与えているのか、そしてその影響が、生活習慣や、すでに測定した遺伝子多型と比較して、どの程度であるか明らかにし、また遺伝子同士の組み合わせによる相互作用を予防医学的に評価することを目的とした。

3. 研究の方法

対象者は、男性 1458 人、女性 1192 人である。対象者に関し健康診断時の年齢、既往歴、家族歴、生活習慣、身体計測値、血圧測定値、および尿、血液の測定結果を結合した。

また、BRAP、TLR4、APOB 遺伝子多型についてはプライマー、アンブダイレクトバッファー (Ampdirect® Plus / NovaTaq Hot Start DNA Polymerase) による直接 PCR 法を行い、シーケンサーで多型を決定した。

分析した遺伝子多型と健康診断データを集積し、高血圧 (140/90mmHg 以上)、過体重 (Body Mass Index 25kg/m² 以上)、肥満 (BMI 30kg/m² 以上) 糖尿病 (HbA1c6% 超)、高脂血症 (総コレステロール値 240mg/dl 以上、HDL40mg/dl 未満)、高 -GTP 血症 (男 60IU/l 以上、女 30IU/l 以上)、高尿酸血症 (7mg/dl 超) との関連について、pooled logistic 回帰分析を行い、生活習慣等の他の要因と、その変動を考慮した多変量解析による追跡調査を行った。さらに、混合線形モデルを用い、縦断調査において連続変数として、収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧、HbA1c、BMI、尿酸、総コレステロール値、HDL、-GTP、ALT について、関連を検討した。

4. 研究成果

BRAP 遺伝子の rs11066001、s111800925、s77447086、rs74325447、rs なしの新規遺伝子多型、rs80154506 について、測定が終了した。結果として、rs11066001 については、男性では、CC 型 88 人(6.0%)、TC 型 457 人(31.4%)、TT 型 911 人(62.6%)、女性では、CC 型 53 人(4.5%)、TC 型 384 人(32.3%)、TT 型 752 人(63.2%)であった。rs111800925 については、男性では、GG 型 1456 人(100.0%)、女性では、GG 型 1189 人(100.0%)であった。rs77447086 については、男性では、CC 型 1456 人(100.0%)、女性では、CC 型 1189 人(100.0%)であった。rs74325447 については、男性では、AA 型 1456 人(100.0%)、女性では、AA 型 1189 人(100.0%)であった。rs なしの新規遺伝子多型については、男性で

は、AA型 1453人(99.8%)、AC型 3人(0.2%)女性では、AA型 1189人(100.0%)であった。rs80154506については、男性では、AAの削除なし 1456人(100.0%)、女性では、AAの削除なし 1189人(100.0%)であった。多型性が明らかであった、BRAP遺伝子のrs11066001については、縦断的に生活習慣関連疾患発症との関連について評価を実施した。

pooled logistic regression analysis では、高血圧については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.10 (0.61 - 1.98)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.60 (0.60 - 4.28)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.37 (0.92 - 2.05)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.27 (0.53 - 3.06)であった。

肥満については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.41 (0.43 - 4.59)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.62 (0.19 - 14.03)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.42 (0.39 - 5.20)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、5.09 (0.69 - 37.60)であった。

過体重については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.67 (0.32 - 1.38)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.76 (0.17 - 3.27)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.88 (0.55 - 1.42)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.04 (0.41 - 2.60)であった。

糖尿病については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.56 (0.37 - 6.63)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、2.04 (0.90 - 4.65)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、5.05 (1.23 - 20.78)であった。

高脂血症については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.26 (0.80 - 1.96)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.28 (0.56 - 2.92)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.83 (0.54 - 1.29)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.84 (0.37 - 1.93)であった。

低HDL血症については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.79 (0.33 - 1.89)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、2.02 (0.56 - 7.36)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.93 (0.53 - 1.65)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.72 (0.25 - 2.06)であった。

高尿酸血症については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、2.15 (0.29 - 16.02)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.91 (0.59 - 1.41)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.73 (0.27 - 1.97)であった。

高-GTP血症については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.17 (0.73 - 1.86)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.25 (0.52 - 3.04)、男性のTC型のオッズ比

と95%信頼区間は、0.75 (0.51 - 1.11)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.30 (0.10 - 0.87)であった。

メタボリック症候群については、女性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、0.43 (0.16 - 1.15)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.54 (0.33 - 7.21)、男性のTC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.27 (0.72 - 2.25)、CC型のオッズ比と95%信頼区間は、1.13 (0.35 - 3.67)であった。

混合線形モデルの結果では、収縮期血圧については、女性では、CC型の補正平均値と95%信頼区間は、117.3(114.4-120.2)、TC型の補正平均値と95%信頼区間は、116.7(115.6-117.8)、TT型の補正平均値と95%信頼区間は、116.3(115.5-117.0)、で、CC型とTT型間の差の有意確率は、1.000、TC型とTT型間の差の有意確率は、1.000であった。

男性では、CC型の補正平均値と95%信頼区間は、122.1(119.8-124.5)、TC型の補正平均値と95%信頼区間は、121.9(120.8-122.9)、TT型の補正平均値と95%信頼区間は、123.6(122.8-124.3)、で、CC型とTT型間の差の有意確率は、0.526、TC型とTT型間の差の有意確率は、0.019であった。

拡張期血圧については、女性では、CC型の補正平均値と95%信頼区間は、71.5(69.7-73.4)、TC型の補正平均値と95%信頼区間は、70.1(69.4-70.8)、TT型の補正平均値と95%信頼区間は、70.1(69.6-70.6)、で、CC型とTT型間の差の有意確率は、0.300、TC型とTT型間の差の有意確率は、1.000であった。

男性では、CC型の補正平均値と95%信頼区間は、74.4(72.8-76.1)、TC型の補正平均値と95%信頼区間は、74.0(73.3-74.7)、TT型の補正平均値と95%信頼区間は、74.9(74.4-75.4)、で、CC型とTT型間の差の有意確率は、1.000、TC型とTT型間の差の有意確率は、0.113であった。

平均血圧については、女性では、CC型の補正平均値と95%信頼区間は、86.8(84.7-88.9)、TC型の補正平均値と95%信頼区間は、85.6(84.8-86.4)、TT型の補正平均値と95%信頼区間は、85.5(85.0-86.1)、で、CC型とTT型間の差の有意確率は、0.510、TC型とTT型間の差の有意確率は、1.000であった。

男性では、CC型の補正平均値と95%信頼区間は、90.3(88.6-92.1)、TC型の補正平均値と95%信頼区間は、89.9(89.2-90.7)、TT型の補正平均値と95%信頼区間は、91.1(90.6-91.7)、で、CC型とTT型間の差の有意確率は、0.791、TC型とTT型間の差の有意確率は、0.028であった。

HbA1cについては、女性では、CC型の

補正平均値と 95 % 信頼区間は、4.92(4.82-5.02)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、5.04(5.00-5.08)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、4.95(4.93-4.98)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.001 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、5.13(5.04-5.22)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、5.18(5.14-5.21)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、5.01(4.98-5.03)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.018、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.000 であった。

BMI については、女性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、22.7(21.8-23.5)、TC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、22.0(21.7-22.3)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、22.2(21.9-22.4)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.523、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.733 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、23.7(23.1-24.3)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、23.1(22.8-23.4)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、23.2(23.1-23.4)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.387、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.710 であった。

尿酸については、女性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、4.04(3.85-4.22)、TC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、3.97(3.90-4.04)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、4.00(3.95-4.05)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、5.58(5.37-5.79)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、5.58(5.48-5.67)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、5.78(5.71-5.84)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.172、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.001 であった。

総コレステロールについては、女性では、CC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、194.2(187.2-201.3)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、200.8(198.1-203.4)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、196.7(194.8-198.5)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.026 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、195.1(188.9-201.4)、TC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、199.0(196.3-201.7)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、197.4(195.4-199.3)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.696 であった。

HDL については、女性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、62.2(59.0-65.4)、TC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、65.2(64.0-66.4)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、64.6(63.7-65.5)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.322、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.893 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、52.8(50.4-55.3)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、54.2(53.1-55.3)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、57.0(56.3-57.8)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.003、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.000 であった。

GGT については、女性では、CC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、15.06(12.41-17.70)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、16.53(15.53-17.52)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、16.20(15.49-16.91)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.824、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、29.90(18.99-40.80)、TC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、32.85(28.11-37.59)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、46.08(42.71-49.45)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.012、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.000 であった。

ALT については、女性では、CC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、16.47(14.62-18.31)、TC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、17.63(16.94-18.33)、TT 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、17.70(17.21-18.20)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、1.000、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.123 であった。

男性では、CC 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、26.82(22.24-31.40)、TC 型の補正平均値と 95 % 信頼区間は、27.12(25.15-29.09)、TT 型の補正平均値と 95% 信頼区間は、31.51(30.10-32.92)、で、CC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.001、TC 型と TT 型間の差の有意確率は、0.000 であった。

以上の検討により、BRAP 遺伝子の rs11066001 多型が、糖尿病発症や、HbA1c の上昇について、有意に関連していることが明らかとなった。

TLR4 遺伝子多型については、rs76014534, rs200276033, rs4986790, rs148638298, rs4986791 の測定の一部が終了した。結果として、男性 50 人、女性 44 人の測定をしたが、全員がそれぞれ、AA 型(rs76014534)、GG 型(rs200276033)、AA 型(rs4986790)、CC 型(rs148638298)、CC 型(rs4986791)で多型性は現時点では認められ

なかった。今後は、さらに分析を計測して終了させるとともに、APOB 遺伝子についても測定を進め、昨年測定した BRAP 遺伝子の結果をあわせ、生活習慣との交互作用を含めて、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症、高尿酸血症、高 GTP 血症などについて横断的、さらに縦断的にも関連性の検討を進めている。

これまで、生活習慣病に関して、遺伝子多型を予防医学的に十分な科学的根拠の元に応用、活用するには至っていないと考えられる。その一因として、単一遺伝子による疾患とは異なり、大規模集団を用い、生活習慣等の他の要因を考慮した追跡研究により、そのリスクを明確にし、有用性を評価することが必須であるにもかかわらず、良好な対象集団の確保が非常に困難なことがある。

本研究では約 2,600 人の労働者において縦断的に追跡し調査を行った。また、生活習慣関連疾患罹患について、pooled logistic regression analysis、混合線形モデルを用いることで、追跡期間中にも変化する生活習慣について補正を考慮した上で、遺伝子多型のリスクを明確にし、健康診断等の予防衛生活動に活用しうるか検証しうるという点に特色と意義があると考えられる。さらに複数の遺伝子多型を組み合わせる際、その変異型の組み合わせを同時に持つ対象者の人数がある程度確保されていることが必須であり、集団の対象数が多いことも重要である。この点もこの調査研究の特徴である。

(引用文献)

- 1) Ozaki K et al: Nat Genet 41:329, 2009
- 2) Nebel A et al: Mech Ageing Dev 128: 409, 2007
- 3) Satoh M et al: Int J Cardiol 109:226, 2006
- 4) Steinhardt AP et al: Metabolism 59: 711, 2010
- 5) Benn M et al: J Clin Endocrinol Metab 93: 1038, 2008

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

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

(2)研究分担者

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

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