

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23500855

研究課題名(和文)人工知能システムや遺伝子多型を用いた、生活習慣病発症予防のための縦断研究

研究課題名(英文)Longitudinal study for the prevention of lifestyle-related diseases

研究代表者

広瀬 寛(HIROSE, Hiroshi)

慶應義塾大学・保健管理センター・准教授

研究者番号：50208881

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：25～60歳の非糖尿病患者における6年間の縦断的検討で、男性では耐糖能改善が2名、不変347名、悪化41名、女性では改善は0名、不変133名、悪化14名であった。

耐糖能悪化と強く相関したベースラインの因子は、年齢、BMI、血糖、TG、LDL-C、ALT、 γ -GTP、HOMA-R、HMW-ADPNであった。喫煙、飲酒や運動習慣などとの関連は認められなかった。

男性で不変=0/悪化=1を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析にて、男性ではベースラインの血糖、HMW-ADPN($F=11.5$, $r'=-0.165$)、年齢の順に採択された($P<0.0001$, $R^2=0.156$)。

研究成果の概要(英文)：In the 6-year longitudinal study on non-diabetic Japanese, aged 25-60 years, glucose tolerance had improved in only 2 subjects, was unchanged in 347 and worsened in 41 in males, and 0, 133 and 14, respectively, in females.

Baseline factors correlating significantly with status [No change = 0/Worsened = 1] in males were age, BMI, plasma glucose, TG, LDL-cholesterol, ALT, γ -GTP, HOMA-R, high-molecular-weight (HMW)-adiponectin levels. No correlations were observed with baseline smoking, alcohol consumption or exercise status.

Stepwise multiple regression analysis of [No change/Worsened] as a dependent variable revealed that baseline glucose ($F=51.2$, $r'=0.300$), HMW-adiponectin ($F=11.5$, $r'=-0.165$) and age ($F=5.1$, $r'=0.110$) to show significant independent correlations in males ($P<0.0001$, $R^2=0.156$).

研究分野：スポーツ・健康科学

キーワード：メタボリックシンドローム アディポネクチン 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

現代は飽食の時代であり、機械化や自動車に代表されるように生活様式は次々と西欧化し豊かになった。その反面、高脂肪食や運動不足などにより、わが国においても内臓脂肪蓄積やインスリン抵抗性を基盤とした耐糖能異常、高血圧、脂質代謝異常、動脈硬化症といった生活習慣病が急増し、社会問題となっている。わが国の死亡率を考えた際、第1位はがん（悪性新生物，30.0%）であるが、第2位の心疾患（15.9%）と第3位の脳血管疾患（11.1%）を合わせた「心血管病」としてみると、第1位のがんに近いレベルとなる（2008年人口動態統計）。また、「インスリン抵抗性」とはインスリンの効果を出すのに通常の量以上を必要とする状態であり、原因としては 遺伝、高脂肪食や運動不足などの環境要因、高血糖自体による「糖毒性」によるもの、などがある。インスリン抵抗性を基盤とした耐糖能異常、高血圧、脂質代謝異常といった生活習慣病の病態は、いずれも動脈硬化や心血管病の強力な危険因子である。しかも、それらの各因子は特定の個人に集積しやすく、メタボリックシンドロームを呈し、それらの因子が重複するほど動脈硬化による心血管病のリスクが相乗的に高まることが知られている。したがって、インスリン抵抗性を正すことは、動脈硬化症や心血管病の予防や管理に際して非常に重要である。

脂肪細胞は長い間単なるエネルギーの貯蔵庫と考えられていたが、近年の研究の進歩によりアディポ（サイト）カインと呼ばれる種々の生理活性物質（遊離脂肪酸、TNF- α 、レジスチン、レプチン、アディポネクチン、PAI-1、アンジオテンシノーゲンなど）を合成・分泌する場であることが明らかとなった。アディポネクチンは脂肪細胞に特異的な分泌蛋白であり、血管内皮細胞に直接働いて動脈硬化を抑制し、肥満・糖尿病マウスのインスリン抵抗性や高血糖を改善することが示

された（*Nature Medicine* 7: 941-946 & 947-953, 2001）。最近アディポネクチンは、12量体や18量体といった高分子量型のもの（HMW-ADPN）が、AMPキナーゼの活性化や冠動脈疾患の発症、およびインスリン抵抗性改善薬の効果などに関してより関連していることが報告された。

従来から、これらのアディポカインの基礎研究や遺伝子多型（SNPs）による断面研究は国内外でも数多く見られたが、長軸的に経過を追った縦断研究は少ないのが現状である。わが国の死亡原因を見た際に、「心血管病」がかなり高いのは、人口の高齢化に加え、過食や運動不足により肥満・耐糖能異常・高血圧・脂質異常症といった生活習慣病が増加したためと考えられる。これらの病態の遺伝的背景や生活習慣との関連を解明することは、動脈硬化症や心血管病の予防や管理に際し非常に重要であり、医療経済的にもたいへん大きなインパクトを持つものと考えられる。

2. 研究の目的

(1) 耐糖能異常や高血圧、脂質異常症といった生活習慣病の発症を予知・予防することを目標として、当施設の健康診断や外来通院患者、人間ドック受診者などを対象に、各種健診項目や内臓脂肪・皮下脂肪面積、インスリン抵抗性指数（HOMA-R）、高分子量アディポネクチン濃度、およびライフスタイルなどの意義を検討する。縦断研究には、人工知能システム（Hirose H, Hozawa S, Saito I, et al: *Comput. Biol. Med.* 41: 1051-6, 2011）も用いる。

(2) 2型糖尿病などに関連がある遺伝子多型（SNPs）がどのような機序で病態に関与するのかを、インスリン抵抗性指数であるHOMA-Rや細胞機能であるHOMA- β なども含めて検討する。

3. 研究の方法

(1) 当総合大学在籍の教職員を対象に健康診断データを追跡し、主に耐糖能の悪化に寄与するベースラインの因子があるか否かを男女別に解析した。2004年に25~60歳かつ糖尿病(DM)でなく、2010年にも当施設の定期健康診断を受診し本研究に関してインフォームド・コンセントの得られた男性390名(44.8±8.3歳、BMI 23.6±3.1 kg/m²)、女性147名(40.8±8.1歳、BMI 20.8±2.9 kg/m²)を対象とした。

身長、体重、血圧、脈拍数を測定し、血液検査は午前中空腹時に行った。2004年および2010年の各時点で、空腹時血糖(FPG)126 mg/dl以上またはHbA1c(NGSP値)6.5%以上のDM群、FPG 110-125 mg/dlかつ/またはHbA1c(N) 6.0-6.4%のPreDM群、FPG 109以下かつHbA1c(N) 5.9%以下の正常群に分類し、耐糖能スコア(GTS)をそれぞれ3、1、0点とした。GTSをもとに改善(-1)、不変(0)、悪化(1、2、3)群とし、これらに寄与するベースラインの因子を、年齢、BMI、血糖、血清脂質、HOMA-R、HOMA- β 、および高分子量アディポネクチン(HMW-ADPN)濃度を含めて検討した。血清インスリン濃度はEIAにて、HMW-ADPN濃度は富士レビオ社のELISAキットを用いて測定した。

インフォームド・コンセントの得られた35~66歳の日本人高LDL-C血症患者を対象とし、ロスバスタチン5mg/日に変更または新規投与した12ヵ月後の血清脂質や各種代謝指標に及ぼす影響を検討し、他のスタチン継続群と比較・検討した。

人間ドック受診者を対象に、臍高部CTで計測した内臓脂肪面積(VFA)、皮下脂肪面積(SFA)やHOMA-R、HOMA- β とメタボリックシンドローム(MetS)、糖尿病(DM)、高血圧(HT)などとの関係を検討した。

(2) 採血した血液10 mLからDNAを抽出し、

解析に供した。提供者から研究試料の提供を受ける場合は、提供者に対して事前に十分な説明を行った上で、自由意志に基づく同意(インフォームド・コンセント)が与えられた。研究試料の提供を求められた者は、提供に同意しないことや、それを撤回することにより何ら不利益を被ることがあってはならない。提供者の遺伝情報は厳重に管理され、十分に保護されなければならない。このために、提供資料の匿名化を行い、提供者と新たに付ける符号との対応表は個人識別情報管理者によって厳重に管理された。

TCF7L2、KCNQ1など2型糖尿病との関連が報告されているSNPsや、関与が未知のSNPsに関して、直接シーケンス法またはInvader法を用いて多数例を解析し、耐糖能異常や高血圧・メタボリックシンドロームなどに関するSNPsを検討した。

4. 研究成果

(1) 2004年をベースラインとした6年後(2010年)の耐糖能は、男性では改善群2名、不変群347名、悪化群41名(各25, 9, 7名)、女性では改善群0名、不変群133名、悪化群14名(各12, 1, 1名)であった。

不変=0/悪化=1と有意に相関したベースラインの因子は、男性では年齢、BMI、血圧、血糖、HOMA-R、HOMA- β 、TG、LDL-C、HMW-ADPN、Hb、UA、肝機能であり、女性では年齢、BMI、血糖、HOMA-R、TG、LDL-C、Cr、 γ -GTPであった。男女とも、喫煙・飲酒・運動・朝食・間食など生活習慣との関連は認められなかった。

不変/悪化を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析にて、男性ではベースラインの血糖(除外F値51.2, $r^2=0.300$)、HMW-ADPN($F=11.5$, $r^2=-0.165$)、および年齢($F=5.1$, $r^2=0.110$)の順に採択されたが、女性ではnが少なかったためか血糖(除外F値27.3, $r^2=0.399$)しか採択されなかった。以上より、

25～60歳の非DM男性における6年間の縦断的検討で、ベースラインの血糖以外にHMM-ADPN低値および年齢高値が耐糖能悪化の予知因子であることが示唆された。

高分子量アディポネクチン(HMM-ADPN)濃度には性差があり、男性では女性の約半分の値であった。男女ともHDLコレステロールと強い正の相関、BMIやTG、インスリン抵抗性指数(HOMA-R)と負の相関を示し、HMM-ADPNの低い群ではMetSの者が多かった。ベースラインで30～59歳の男性における6年間の縦断研究で、HMM-ADPN濃度の低い群では年齢およびBMIで補正後も6年後のMetS発症と有意に関連していた(ハザード比1.56, 95%信頼区間1.05-2.29, $P=0.028$)。MetSの男性16名を対象に食事や運動の指導を3か月間行った介入研究では、食後2時間のインスリンおよびTG値、腹囲が低下し、HMM-ADPN濃度は有意に増加した。以上より、血中HMM-ADPN濃度はMetSの構成因子やインスリン抵抗性と強く関連しており、重要な血中マーカーであると考えられた。

ロスバスタチン5mgの新規投与群では、血清LDL-Cは平均184.5mg/dlから116.6mg/dl, L/H比は3.52から2.17と著明に改善した($P<0.01$)。HDL-CやHbA1c, HMM-ADPN, eGFRとも増加傾向だったが、有意ではなかった。他のスタチンからロスバスタチン5mg/日への変更群では、LDL-Cは150.7mg/dlから104.8mg/dlに, L/H比は2.68から1.91と、どちらも有意に改善した($P<0.05$)。eGFRは増加傾向であった。他のスタチン継続群では、LDL-Cは123.7mg/dlから130.7mg/dl, L/H比は1.94から2.18と、有意な変化はなかった。HDL-Cは低下傾向、eGFRは74.1から70.2と有意に低下した。

人間ドックを受診した45～74歳の男性においてVFAやHOMA-Rは耐糖能やMetSだけでなくHTとも関連しており、病態の予防や治療などに際して大変重要な指標であること

が示唆された。

(2) ANK1やDUSP9 locusの遺伝子多型と2型糖尿病との関連が認められた。また、2型糖尿病と関連のある49のSNPsによるGenetic risk scoreの有用性が認められた。さらに、KCNJ15内のSNPは日本人集団においても2型糖尿病と有意に関連しており、この関連はBMI 25の肥満2型糖尿病症例でより強く認められた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Hirose H、High-molecular-weight adiponectin and Ningen Dock: useful biomarker of metabolic syndrome and related disorders (Review)、Ningen Dock International、査読有、Vol.1、No.1、2014、7-15、DOI、URLとも無し

広瀬 寛、神田武志、河邊博史、齋藤郁夫、ロスバスタチン5mg/日投与時の各種代謝指標に及ぼす影響、慶應保健研究、査読有、32巻、1号、2014、43-47、URL: <http://www.hcc.keio.ac.jp/japanese/healthcenter/research/bulletin/boh2014/32-043-047.pdf>

広瀬 寛、河邊博史、齋藤郁夫、非糖尿病男性における6年間の縦断研究で血清高分子量アディポネクチン濃度低値は耐糖能悪化の予知因子となりうる、人間ドック、査読有、27巻、3号、2012、585-590、URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/ningendock/27/3/27_585/_pdf

〔学会発表〕(計5件)

Hirose H、Associations of visceral fat area and HOMA-R with both diabetes mellitus and hypertension in a health checkup program、第50回欧州糖尿病学

会、2014年9月15日～19日、ウィーン
コンベンションセンター、ウィーン（オ
ーストリア）

広瀬 寛、臍高部 CT スキャンによる内臓
脂肪・皮下脂肪面積や HOMA-R・HOMA-
と糖尿病・高血圧・メタボリックシンド
ロームなどとの関係、第55回日本人間ド
ック学会、2014年9月5日、福岡国際会
議場（福岡県・福岡市）

広瀬 寛、生活習慣病とアディポネクチン
について、第52回全国大学保健管理研究
集会 ランチョンセミナー、2014年9月4
日、慶應義塾大学三田キャンパス（東京
都・港区）

広瀬 寛、ロスバスタチン 5mg/日投与時
の各種代謝指標に及ぼす影響、第45回日
本動脈硬化学会、2013年7月18日、京
王プラザホテル（東京都・新宿区）

広瀬 寛、血清高分子量アディポネクチン
濃度低値は非糖尿病男性において耐糖能
悪化の予知因子となり得る、第55回日本
糖尿病学会、2012年5月18日、パシフ
ィコ横浜（神奈川県・横浜市）

河邊 博史（KAWABE, Hiroshi）

慶應義塾大学・保健管理センター・教授

研究者番号：90129403

6．研究組織

(1)研究代表者

広瀬 寛（HIROSE, Hiroshi）

慶應義塾大学・保健管理センター・准教授

研究者番号：50208881

(2)研究分担者

朴沢 重成（HOZAWA, Shigenari）

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：40181482

齊藤 郁夫（SAITO, Ikuo）

慶應義塾大学・保健管理センター・教授

研究者番号：60129442

(3)連携研究者