

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440255

研究課題名(和文) ヒト肝細胞増殖因子と動脈硬化および環境因子との関連解明

研究課題名(英文) Background mechanism of Hepatocyte Growth Factor and Atherosclerosis in relation to Environmental Factors.

研究代表者

中里 未央 (NAKAZATO, Mio)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：00380973

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：特定健診受診者1486人を対象として肝細胞増殖因子(HGF)を測定した。また骨髄機能指標としてヘモグロビン値に着目し、ヘモグロビン値は高血圧及び動脈硬化に有意な正の関連を有することを認めた。HGFは高血圧罹患患者において高血圧関連血管障害程度の指標に成り得ると報告があることから、ヘモグロビンとHGFの関連の検討も行った。男女ともにヘモグロビン値は有意な正の関連を高血圧罹患患者で認め、日常診療において容易に測定可能なヘモグロビン値が高血圧関連血管障害の指標に成り得る事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We measured the values of hepatocyte growth factor (HGF) in 1486 subjects who were undertaking a general health check-up. To evaluate the activity of bone marrow we focused on hemoglobin values and found that hemoglobin is significantly positively associated with hypertension and atherosclerosis. Since HGF is reported to be act as a potential index of severity of hypertension, we investigated the correlation between HGF and hemoglobin. The result of our present study showed that for both men and women hemoglobin is significantly positively correlated with HGF among hypertensive subjects but not among non-hypertensive subjects. Those results support hemoglobin as an efficient tool to evaluate vascular damage induced by hypertension in daily medical practice because hemoglobin can easily be measured.

研究分野：応用人類学

キーワード：肝細胞増殖因子 高血圧 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

ヒト肝細胞増殖因子(human hepatocyte growth factor: HGF)は、肝細胞のみでなく、多くの上皮系及び内皮系細胞に対し増殖や分化機能調整の働きを有することが判明している。血管新生や血管内皮障害への修復もこれらの働きに起因するものである。従って動脈硬化の初期病変である血管内皮障害がHGFの産生を亢進させ、その血中濃度を上昇させる。この血中濃度のHGF上昇が一つのシグナルとして、多機能幹細胞の増加及び血中濃度の上昇を促し、引いては血管内皮のダメージを修復していると考えられる。

また、先行研究において、血漿HGF濃度が頸動脈動脈硬化に有意な正の関連を有することが報告されている(Yamamoto Y, et al. J Hypertens 2001)。高血圧罹患者では高血圧非罹患者に比較し有意に血清HGF濃度が高い事が報告されており(Nakamura Y, et al. Hypertension 1996)、さらには高血圧罹患者において血清HGF測定は血管内皮障害の程度を評価するのに有用であるとする報告もある(Morishita R. Hyper Res. 1999)。

これらの研究結果は、高血圧に関連した血管内皮障害によりHGF産生が惹起されるため、HGF濃度自体は血管修復の程度を示しており、血管内皮障害を直接的に示唆しているものではない事を想定させる。

一方において、近年、損傷血管の修復をつかさどる血管リモデリングと、造血能などの骨髄機能との間には密接な関係が存在することが多くの研究で報告されている。特に血管修復に重要な役割を担う多機能幹細胞は、骨髄で産生される事が報告されている(Calvi LM, et al. nature 2003)。また、高齢者における骨髄機能の低下が貧血や造血幹細胞障害の原因になることは知られている(Guralnik JM, et al. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2005)。

従って、骨髄機能を示唆し得る造血能とHGFの関連を検討し、血管内皮障害への影響を検討することは、動脈硬化リスク因子の洗い出しのみでなく、その背景に存在するメカニズムを明確にすることが可能になると想定される。さらには、環境が動脈硬化に与える生理的多様性や全身的協関を調査し、動脈硬化性疾患発症予防の基礎データを得ることが期待される。

2. 研究の目的

長崎県離島の一般定期健診受診者を対象に一般的な問診・身体測定・血液及び尿検査を行う。さらに動脈硬化指標(頸動脈内中膜複合体厚:CIMT、心足首血管指:CAVI)、血清

HGF測定を行い、他の動脈硬化性疾患リスク因子との関連について解析を行う。これによりHGFの動脈硬化性疾患リスク因子への寄与程度が確認できる。また、血管修復と密接な関連を有する骨髄機能に関しても検討を行う。具体的には、日常診療に用いられている最も簡易な骨髄機能指標としてヘモグロビン値に着目し、高血圧及び動脈硬化の指標としての有用性に関し検討を行う。これにより骨髄での造血能が亢進していることを示唆し得るヘモグロビン高値と、血管内皮障害が進行していると想定しうる高血圧及び動脈硬化との関係を明確にすることが可能となり、一般地域住民集団における動脈硬化性疾患リスクとしての血管修復と骨髄機能との関連のメカニズムを明確にすることに繋がる。

3. 研究の方法

主に五島市が毎年定期的実施している特定健診の受診者で文章による同意が得られた住民を対象にデータとサンプルの収取を行った。

血清サンプルは血球成分と血清に分離し、-20℃に保存し後の分析に備えた。年齢、性別、身体測定値、BMIなどの基本データ及び、問診情報、一般的な採血および尿検査データはデータ入力都度、データベースに入力した。

動脈硬化の臨床的指標として、CIMT(Carotid Intima-Media Thickness)とCAVI(Cardio-Ankle vascular Index)の測定を行った。CAVIは、動脈硬化のstiffnessを測定をする脈波伝播速度に関して、血圧の影響を受けないように発展させてものであり、我々もCAVIの値が年齢やCIMTと強く相関し動脈硬化のスクリーニングツールとして有用であることを報告している(Kadota K, et al. Circulation Journal 2008)。

HGFの測定は保存した凍結血清を用いて血清量がごく少量で済むマルチサスペンションで測定を行った。

4. 研究成果

まずは、骨髄活動性を示唆し得るヘモグロビンの値が仮説通りに動脈硬化と有意な関連を示す事を検討する必要がある。30-79歳の男性1,412人、女性2,528人を対象にCAVI ≥ 9 と定義した血管壁Stiffness上昇との関係に関して検討を行った。結果は、男女ともにヘモグロビン値と有意な関係をBMI $\leq 25\text{kg}/\text{m}^2$ でのみ認め、BMI $\geq 25\text{kg}/\text{m}^2$ の群では認めなかった。ヘモグロビン1標準偏差時上昇あたりの血管壁Stiffness上昇は古典的心臓血管病リスク因子を調整したオッズ比においてBMI $< 25\text{kg}/\text{m}^2$ では、男性:1.40 (1.14-1.73)、女性:1.19 (1.02-1.40)、BMI $\geq 25\text{kg}/\text{m}^2$ では、男性:

0.88 (0.67-1.15)、女性: 1.12 (0.86-1.46)であった(Shimizu Y, et al. Geriatri Gerontol Int 2014)。

さらに高血圧は、動脈硬化と双方向性の関係、すなわち高血圧の存在は動脈硬化を悪化させること、また、動脈硬化の存在は高血圧を悪化させることが知られており、ヘモグロビン値と高血圧の関係においても同様の検討を行った。結果は、高血圧は、男女ともにヘモグロビン値と有意な関係をBMI $\leq 25\text{kg/m}^2$ でのみ認め、古典的心臓血管病リスク因子を調整したオッズ比においてBMI $< 25\text{kg/m}^2$ では、男性:1.34 (1.12-1.60)、女性: 1.31 (1.16-1.47)、BMI $\geq 25\text{kg/m}^2$ では、男性: 1.01(0.79-1.30)、女性: 1.09(0.87-1.37)であった(Shimizu Y, et al. Inten Med,2014)。

造血能を示唆し得るヘモグロビン値が血管修復過程で形成される動脈硬化に関しても、血管壁障害因子である高血圧に対しても、有意な正の関連をBMI $< 25\text{kg/m}^2$ の群において認めることがこれらの研究により判明した。これらの結果は動脈硬化及び高血圧の存在が骨髄における造血機能の亢進に関連している事を示唆する。

次に、高血圧罹患群において血清 HGF 測定は血管内皮障害の程度を評価するのに有用であると報告されているため(Morishita R.Hyper Res.1999)、血清 HGF とヘモグロビン値の関係に関して60歳以上の血清 HGF を測定したBMI $\leq 25\text{kg/m}^2$ の男性:231人、女性:464人を対象に検討を行った。男女ともに有意な正の関連を既知の心臓血管病リスク因子を調整した線形モデルにおいて有意な正の関連を男女ともに認め論文報告した(男性において $\beta=31.82, p<0.001$ 、女性: $\beta=21.71, p<0.001$)(Kadota K,et al. Acta Med Nagasaki 2015)。本研究結果により、男女ともに血清 HGF は高血圧による血管内皮障害を示唆するが、日常臨床で容易に用いるヘモグロビンがこの高血圧による血管内皮障害を評価するのに有用である可能性が示唆された。

Multiple Linear Regression Analysis of HGF with Hb adjusted for Confounding Factors

	Men			Women		
	β	95%CI	p	β	95%CI	p
No. of participants	231			464		
Age	1.43	(-1.28, 4.14)	0.299	3.6	(2.20, 5.00)	<0.001
Hemoglobin (Hb)	31.82	(14.26, 49.38)	<0.001	21.71	(10.40, 33.02)	<0.001

さらには、先行研究において HGF は高血圧による血管障害の重症度判定に有用な指標に成り得るとの報告があること(Nakamura S, et al. Biochem Biophys Res Commun.1999) (Morishita R, et al. Hypertens Res.1999)、また我々が行った解析において、ヘモグロビン値は高血圧及び血管壁 Stiffness 上昇に正の関

連があることを認めた事より、ヘモグロビン値も HGF 同様に高血圧における血管障害の重症度判定に有用な指標に成り得ると考えた。

そこで、本研究課題において HGF 想定を測定した40歳以上の男性:392人、女性:716人を対象に Cross-sectional study を行った。結果は、男女ともにヘモグロビン値は HGF と有意な正の関連を高血圧罹患群において認めるも、非高血圧罹患群においては認めなかった。既知の心臓血管病リスク因子を調整した線形モデルにおいて HGF 値に対するヘモグロビンの標準パラメータ推定値 β は非高血圧群において、男性で $\beta=0.3, p=0.975$ 、女性: $\beta=0.4, p=0.925$ 、高血圧罹患群においては $\beta=32.7, p<0.001$ 、女性: $\beta=18.7, p=0.002$ であった。

Multiple Linear Regression of HGF with Hb adjusted for Confounding Factors in Men

	Hypertension (-)			Hypertension (+)		
	β	95%CI	p	β	95%CI	p
No. of participants	194			198		
Age	1.3	(-0.9, 3.5)	0.255	-0.3	(-3.0, 2.4)	0.815
Hemoglobin (Hb)	0.3	(-15.9, 16.4)	0.975	32.7	(14.4, 51.0)	<0.001

Multiple Linear Regression of HGF with Hb adjusted for Confounding Factors in Women

	Hypertension (-)			Hypertension (+)		
	β	95%CI	p	β	95%CI	p
No. of participants	402			314		
Age	1.1	(-0.02, 2.2)	0.055	2.6	(0.8, 4.5)	0.006
Hemoglobin (Hb)	0.4	(-7.5, 8.3)	0.925	18.7	(6.7, 30.7)	0.002

今回の検討において高血圧による血管内皮障害の重症化指標として有用であると報告されている血清 HGF 値の代用として、日常臨床において容易に測定可能なヘモグロビン値の有効性が示唆された。また、その背景メカニズムとして血管修復能と骨髄機能の間における密接な関連の存在が示唆された。

しかしながら、現時点においては横断研究のみしか行えておらず、因果関係に関しては不明である。今後は HGF 値及びヘモグロビン値に着目し高血圧関連疾患への追跡研究および高血圧治療による HGF 値及びヘモグロビン値の変動を解析すると言った追跡研究が必要である。

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)

〔雑誌論文〕(計4件)

1. Kadota K, Shimizu Y, Nakazato M, Noguchi Y, Koyamatsu J, Yamanashi H, Nagayoshi M, Murase K, Arima K, Maeda T. Hemoglobin as a response marker of endothelial cell damage in elderly non-overweight non-anemic subjects.

Acta Med Nagasaki 2016;60:103-108.

【査読有り】

2. Shimizu Y, Kadota K, Nakazato M, Noguchi Y, Koyamatsu J, Yamanashi H, Nagayoshi M, Nagata S, Arima K, Maeda T. Hemoglobin as a possible biochemical index of hypertension-induced vascular damages. J Physiol Anthropol. 2016;35:4. Doi: 10.1186/s40101-016-0085-7. PMID: 26818627. 【査読有り】
3. Shimizu Y, Nakazato M, Sekita T, Kadota K, Yamasaki H, Takamura N, Aoyagi K, Maeda T. Association between hemoglobin levels and arterial stiffness for general population in relation to body mass index status: The Nagasaki Islands study. Geriatr Gerontol Int 2014;14:811-818. Doi: 10.1111/ggi.12171. Epub 2013 Nov 12. PMID: 24215101. 【査読有り】
4. Shimizu Y, Nakazato M, Sekita T, Kadota K, Arima K, Yamasaki H, Takamura N, Aoyagi K, Maeda T. Association between the hemoglobin levels and hypertension in relation to the BMI status in a rural Japanese population: the Nagasaki Islands Study. Intern Med 2014; 53:435-440. PMID:24583431 【査読有り】

〔学会発表〕(計 1 件)

清水悠路、永吉真子、前田隆浩、高血圧の影響を考慮したヘモグロビンと肝細胞増殖因子(HGF)の関係、第26回日本疫学会総会 2016年1月22日、米子コンベンションセンター

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

中里 未央 (NAKAZATO, Mio)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：00380973

(2)研究分担者

清水 悠路 (SHIMIUZU, Yuji)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師

研究者番号：40569068

(3)連携研究者

なし