

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461349

研究課題名(和文) 低侵襲アプローチによる糖尿病大血管症リスク層別化システムの構築

研究課題名(英文) Development of non-invasive risk stratification systems for diabetic macroangiopathy

研究代表者

片上 直人 (KATAKAMI, NAOTO)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・寄附講座講師

研究者番号：10403049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病患者においては、いわゆる古典的危険因子の評価のみでは心血管疾患ハイリスク群を効率よく抽出することはできない。本研究では、エコー検査による頸動脈内膜中膜複合体肥厚度(IMT)やプラーク組織性状の定量的評価、脈波伝播速度(PWV)といった全身の動脈硬化進展度を非侵襲的、簡便、低コストで評価可能なツールを活用することによって、心血管疾患ハイリスク群の検出能が向上することを明らかにした。また、複数の因子の遺伝子多型の集積効果を評価することによって、心血管疾患リスクが高い糖尿病患者を診断可能であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Cardiovascular disease (CVD) leads to the impairment of quality of life and is one of the major causes of mortality, and once it has developed, diabetic patients have worse outcome as compared to non-diabetic patients. Although early detection of the patients to treat will allow clinical interventions to prevent CVD, cardiovascular risk assessment based on conventional risk factors showed only moderate performance. As simple, non-invasive, and inexpensive procedure, carotid ultrasound and measurement of brachial-ankle pulse wave velocity (baPWV) are candidates of the useful tools to assess near future risk at individual level. In this study, we revealed that measurement of carotid intima-media thickness and baPWV as well as ultrasonic tissue characterization of carotid plaques improved the ability to identify the diabetic individuals with high risk for CVD. In addition, a polygenic assessment approach can be a super-early diagnostic tool to identify high risk individuals.

研究分野：医歯薬学

キーワード：糖尿病大血管症 心血管疾患 頸動脈エコー IMT 超音波組織性状 遺伝子多型 脈波伝播速度

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者では心血管疾患の発症リスクが極めて高く、発症後の予後も悪い。逆に、心血管疾患は糖尿病患者の主たる死因、QOLを損なう原因として重要である。WHOの2011年のデータでは、糖尿病が原因となり死亡した人の数は全世界で約460万人と推計される。我が国の2011年のデータでも、糖尿病人口は約1067万人、糖尿病に関連する死亡は8万人にも上り、いずれも年々増加傾向にある。

このため、糖尿病患者の動脈硬化を早期診断し、心血管疾患に対する予防介入を開始することは急務である。しかし、1000万人超の糖尿病患者が心血管疾患を発症するリスクは均一ではない。従って、まず糖尿病患者の中から特にリスクの高い集団を抽出し、ハイリスク集団に対しては、より強力な予防措置を取ることが望まれる。ところが、現在、糖尿病患者集団の中からかかるハイリスク集団を効率よく抽出するシステムは存在しない。確かに、糖尿病に加え、高血圧、脂質異常症といった他の古典的危険因子をも合併した患者では心血管疾患のリスクは明らかに上昇するが、これら古典的危険因子の評価をベースに作成されたリスクスコアの心血管疾患発症予測能は決して高くないことは多くの研究によって明らかにされている。一方、冠動脈造影検査、冠動脈CT、心筋シンチグラフィ、脳MRI検査等は、心血管疾患ハイリスク群の検出能は高いものの、侵襲性、簡便性、経済性の点で課題があり、全患者にこれらの検査を実施することは非現実的である。

従って、心血管疾患の精査対象とすべき集団をスクリーニングするための非侵襲的、簡便な方法とそれらを効率よく運用するためのシステムが確立されれば、健康寿命の延長に資するところは大きい。

## 2. 研究の目的

### (1) 頸動脈エコー検査を活用した糖尿病大血管症ハイリスク群スクリーニングシステムの構築

頸動脈はアテローム性動脈硬化の好発部位であり、頸動脈にみられる動脈硬化性病変は全身の動脈硬化を反映し、脳血管障害や冠動脈疾患との関係が深い。頸動脈エコー検査は、動脈硬化病変の視覚的かつ定量的な評価、血流や血管弾性の評価に利用され、非侵襲的、簡便、低コストで施行できるため、心血管イベントハイリスク群のスクリーニングに適している。特に、頸動脈内膜中膜複合体肥厚度(intima-media thickness of carotid artery; IMT)は、病理学的に評価した実際の内膜中膜複合体の厚さとよく相関するだけでなく、動脈硬化性疾患の有無や心血管イベントの予測因子となることが知られている[0' Leary DH, et al. *N Engl J Med* 1999]。一方、急性冠症候群やアテローム血栓性脳梗

塞等のアテローム血栓症の発症には、脂質に富み線維性被膜が薄い不安定プラークの破綻が重要な役割を担うため、ハイリスク群の抽出には動脈壁組織性状の評価が重要である。頸動脈は粥状動脈硬化の好発部位であるため、頸動脈壁の性状評価を通じて、全身の動脈の粥状動脈硬化性変化、さらには疾患発症リスクを推定できる可能性がある。しかしながら、2型糖尿病患者における頸動脈プラーク組織性状評価の有用性を示した報告は少なく、心血管疾患の予測能に及ぼす影響も明らかにされていない。

そこで本研究では、2型糖尿病患者を対象とし、Gray-scale median (GSM)で評価した頸動脈プラークの組織性状と心血管イベントとの関連について調査した。

### (2) baPWV 検査を活用した糖尿病大血管症ハイリスク群スクリーニングシステムの構築

欧米で用いられる頸動脈 - 大腿動脈間脈波伝播速度(carotid-femoral PWV, cfPWV)は、心血管イベントや心血管死の予測因子であることはすでに多くの研究によって示されている。一方、上腕 - 足首間脈波伝播速度(baPWV)はcfPWVと強く相関し、血圧脈波検査装置を用いて簡便に測定することができるため、我が国で広く行われている検査であるが、baPWVが心血管疾患ハイリスク群の予測に有用かどうかについては十分なエビデンスがない。

本研究では、baPWVおよび頸動脈IMTが2型糖尿病患者における心血管イベント発症の予測に有用であるかどうかを検討した。

### (3) 遺伝子多型を考慮した糖尿病大血管症ハイリスク群早期診断システムの開発

糖尿病大血管症の発症・進展に遺伝因子が関与することは、疫学的研究の結果から明らかであり、そのハイリスク群を早期に同定するには遺伝素因の解明が不可欠である。しかし、糖尿病大血管症の発症に関連する遺伝子多型を探索した研究は極めて少ない。また、遺伝子多型には人種間で出現頻度の異なるものも多く、生活習慣も異なるため、欧米での検討結果がそのまま日本人に当てはまらないことも多い。従って、日本人を対象とした研究を行う必要がある。さらに、一般地域住民等を対象とした検討からは、多くの遺伝子多型が動脈硬化性疾患に関連するものの、いずれの多型も影響は限定的であることがわかっている。

すなわち、これらの多型を個別に診断するだけでは糖尿病大血管症の発症を予測することは極めて困難であることが明らかになってきた。

本研究では、炎症を介して血管障害に関連する事が想定される遺伝子多型と糖尿病大血管症との関連を検討し、これらの遺伝子多型を考慮した糖尿病大血管症ハイリスク群

診断が可能かどうかを検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 頸動脈エコー検査を活用した糖尿病大血管症ハイリスク群スクリーニングシステムの構築

心血管疾患の既往がない40歳以上の2型糖尿病患者に頸動脈エコー検査を施行し、頸動脈にプラーク病変を認められた287例(男性72%、平均年齢 $65 \pm 7$ 歳、罹病期間 $13 \pm 9$ 年、HbA1c $7.5 \pm 1.1\%$ )を対象とし、心血管疾患の発症について前向き追跡調査を行った。

#### (2) baPWV検査を活用した糖尿病大血管症ハイリスク群スクリーニングシステムの構築

心疾患の既往がない無症候2型糖尿病患者1040例(男性65%、年齢 $58.9 \pm 9.6$ 歳、糖尿病罹病期間 $4.8 \pm 4.4$ 年、HbA1c $7.2 \pm 1.1\%$ )を対象に、観察開始時に測定したbaPWVと心血管イベント発症との関連を前向きに観察し、baPWVが心血管疾患ハイリスク群の予測に有用かどうかについて multivariate Cox 比例回帰モデル、時間依存性 ROC 曲線解析等を用いて評価した。

#### (3) 遺伝子多型を考慮した糖尿病大血管症ハイリスク群早期診断システムの開発

日本人2型糖尿病患者4321人(男性57.7%、平均年齢 $60.2 \pm 10.9$ 歳)を対象として、炎症に関連する以下の5つの機能的SNP(*IL-18* G137C, *MCP-1* A-2518G, *CCR2* G190A, *IL-6* C-534G, *IL-10* C-819T)と心血管疾患との関連を横断的に評価した。心血管疾患の診断は、病歴、身体所見、生理・画像検査所見に基づいて行った。まず、各多型と心血管疾患との関連を個別に評価した。また、これら5多型に注目すると、各患者が保有する炎症促進方向に作用するアレル(炎症関連リスクアレル)は、理論的には総計0~10(=各多型につき0~2アレル×5多型)個のいずれかになる。そこで、各患者が保有する炎症関連リスクアレルの総数と心血管疾患との関連を評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 頸動脈エコー検査を活用した糖尿病大血管症ハイリスク群スクリーニングシステムの構築

観察期間中(中央値55カ月)に34例に心血管疾患の新規発症を認められた(脳梗塞11例、虚血性心疾患21例、末梢動脈疾患2例)。心血管疾患発症群では観察開始時のGSMが有意に低く(GSM $38 \pm 16$  vs.  $51 \pm 17$ ,  $p < 0.001$ )、プラーク厚が有意に高値であった( $2.98 \pm 1.05$ mm vs.  $2.16 \pm 0.79$ mm,  $p < 0.001$ )。観察開始時のGSM値により対象者を4群に分け心血管疾患発症リスクの群間比較を行った結

果、最も低値の群(GSM $<37$ )においてのみリスクの有意な上昇を認めた。そこで、GSM $<37$ 以下を低輝度プラークと定義し、心血管疾患リスクとの関連をCox回帰分析にて解析したところ、低輝度プラークを有する群( $n=67$ )は、ない群( $n=220$ )よりも有意に心血管疾患リスクが高かった(HR 6.99、95% CI 3.46-14.14,  $p < 0.001$ )。プラーク厚、プラーク数、HbA1c、Framingham risk score (FRS)、抗血小板薬内服の有無も心血管疾患発症と関連していたが、これらの因子を調整しても低輝度プラークの存在(HR 4.77、95% CI 2.25-10.13,  $p < 0.001$ )は心血管疾患の独立した予測因子であった。これら因子の心血管疾患発症予測能をTime-dependent ROC曲線を用いて評価した結果、FRS単独のAUCは0.60であるが、プラーク厚を付加することで0.73と有意( $p < 0.05$ )に増加し、そこに低輝度プラークの有無を付加することで0.82とさらに有意な( $p < 0.05$ )増加を認めた。

本研究の結果、心血管疾患の既往がない2型糖尿病患者において、頸動脈の低輝度プラークの存在は心血管疾患の独立した予測因子となること、FRSやプラーク厚に低輝度プラークの有無を付加することで、心血管疾患の予測能が向上することが明らかとなった。2型糖尿病患者において、GSMによる頸動脈プラーク組織性状の評価は心血管疾患のhigh-risk患者抽出に有用であることが示された。

#### (2) baPWV検査を活用した糖尿病大血管症ハイリスク群スクリーニングシステムの構築

7.5年間の観察期間中に113件の心血管イベントが発生した。baPWV高値群( $\geq 1550$  cm/s,  $n=520$ )ではbaPWV低値群( $< 1550$  cm/s,  $n=520$ )に比較して心血管イベント発症リスクが有意に高かった( $p < 0.001$ , log-rank test)。baPWVと頸動脈maxIMTがともに高値を示す群では、baPWVかmaxIMTのいずれかのみが高値を示す群より心血管イベント発症リスクが有意に高かった。multivariate Cox比例回帰モデルによる解析の結果、古典的な冠危険因子を調整しても、baPWV(HR=1.30, [95%CI: 1.07-1.57];  $p=0.009$ )とmaxIMT(HR=1.20, [95%CI: 1.01-1.41];  $p=0.033$ )はともに心血管イベント発症の独立した予測因子であることが示された。さらに、時間依存性ROC曲線解析の結果、Framingham Risk ScoreにmaxIMTを付加して予測するとROC-AUCは有意に増加(from 0.60 [95%CI: 0.54-0.67] to 0.63 [95%CI: 0.60-0.82];  $p=0.01$ )し、baPWVを付加すると、さらにROC-AUCが増加する(from 0.63 [95%CI: 0.60-0.82] to 0.72 [95%CI: 0.67-0.78];  $p=0.02$ )ことがわかった。すなわち、無症候2型糖尿病患者において、baPWVの評価は心血管イベント発症ハイリスク群の予測に有用であることが示された。

(3) 遺伝子多型を考慮した糖尿病大血管症ハイリスク群早期診断システムの開発

炎症に関連する5つの機能的SNPはいずれも単独では心血管疾患と統計的に有意な関連は認められなかった。一方、炎症関連リスクアレルを多く有する患者ほど心血管疾患の有病率が高く、両者の間には統計的に有意な関連が認められた( $p$  for trend = 0.021)。さらに、多重ロジスティック回帰分析の結果、古典的な危険因子を調整しても、保有する炎症関連リスクアレルの総数が心血管疾患の独立した説明因子であることが確認された(炎症関連リスクアレル1個増加あたりのオッズ比: 1.12, 95%CI 1.02-1.22,  $p=0.014$ )。但し、これら5多型による心血管疾患のリスク層別化能は低かった(ROC曲線下面積=0.54, 95%CI: 0.51-0.57)。すなわち、日本人2型糖尿病患者において、炎症に関連する5つの遺伝子多型の集積は、心血管疾患と関連する。

複数の炎症関連遺伝子多型(アレル)の“集積”を考慮したリスク評価を行うことで、心血管疾患ハイリスク群の遺伝子診断が可能になることが示唆された。

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 6件)

1. Takahara M, Katakami N, Osonoi T, Saitou M, Sakamoto F, Matsuoka TA, Shimomura I. Different impact of cardiovascular risk factors on arterial stiffness versus arterial wall thickness in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Atheroscler Thromb* 22(9): 971-80, 2015, doi: 10.5551/jat.29090, 査読有り

2. Katakami N, Osonoi T, Takahara M, Saitou M, Matsuoka TA, Yamasaki Y, Shimomura I. Clinical utility of brachial-ankle pulse wave velocity in the prediction of cardiovascular events in diabetic patients. *Cardiovascular Diabetology* 2014 13:128. doi: 10.1186/s12933-014-0128-5., 査読有り

3. Katakami N, Kaneto H, Matsuoka TA, Takahara M, Osonoi T, Saitou M, Kawai K, Ishibashi F, Kashiwagi A, Kawamori R, Shimomura I, Yamasaki Y. Accumulation of oxidative-stress related gene polymorphisms and the risk of coronary heart disease events in type 2 diabetes in an 8-year follow-up. *Atherosclerosis* 235: 408-414, 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atheroscler>

osis.2014.05.936, 査読有り

4. Katakami N, Kaneto H, Shimomura I. Carotid ultrasonography: a potent tool for better clinical practice of atherosclerosis in diabetic patients. *Journal of Diabetes Investigation* 5; 3-12, 2014, doi: 10.1111/jdi.12106.2013, 査読有り

5. Irie Y, Katakami N, Kaneto H, Nishio M, Kasami R, Sakamoto K, Umayahara Y, Sumitsuji S, Ueda Y, Kosugi K, Shimomura I. The utility of carotid ultrasonography in identifying severe coronary artery disease in asymptomatic type 2 diabetes patients without history of coronary artery disease. *Diabetes Care* 36; 1327-1334, 2013, doi: 10.2337/dc12-1327, 査読有り

6. Irie Y, Katakami N, Kaneto H, Takahara M, Nishio M, Kasami R, Sakamoto K, Umayahara Y, Sumitsuji S, Ueda Y, Kosugi K, Shimomura I. The utility of ultrasonic tissue characterization of carotid plaque in the prediction of cardiovascular events in diabetic patients. *Atherosclerosis* 230; 399-405, 2013, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.08.015., 査読有り

[学会発表](計 11件)

1. 片上直人: シンポジウム2 糖尿病の無症候性冠動脈疾患の診断と治療 糖尿病の無症候性冠動脈疾患のサロゲートマーカー、第2回日本慢性疾患重症化予防学会: 2016年2月14日、兵庫

2. 片上直人: シンポジウム 「リスクファクターからみた糖尿病合併症」 糖尿病合併症の遺伝素因 ~大血管症を中心に~、第30回日本糖尿病合併症学会学術集会: 2015年11月28日、愛知

3. 片上直人: “頸動脈エコーで診る” ~心血管イベントの発症抑制に向けて~、第42回日本超音波医学会関西地方学術集会: 2015年9月26日、大阪

4. 片上直人: 糖尿病における酸化ストレスと動脈硬化性疾患 ~予防と早期診断に向けて~、第15回NO学会学術集会: 2015年6月27日、大阪

5. 片上直人: シンポジウム11 肥満・減量と血管壁酸化ストレスの役割 糖尿病における酸化ストレスと動脈硬化性疾患、第15回日本抗加齢医学会総会: 2015年5月30日、福岡

6. 片上直人、安田哲行、松岡孝昭ほか: 糖尿病大血管症の発症予測における上腕-足首間脈波伝播速度(baPWV)の有用性の検討、第58回日本糖尿病学会年次学術集会: 2015

年5月23日、山口

7. 片上直人：シンポジウム1 糖尿病の遺伝素因 糖尿病合併症の遺伝素因 ～大血管症を中心に～、第51回 日本糖尿病学会近畿地方会：2014年10月25日、大阪

8. 片上直人：(招待講演)糖尿病大血管障害の早期診断～心血管イベント発症抑制に向けて～、第50回 日本糖尿病学会近畿地方会：2013年11月23日、京都

9. 片上直人：(招待講演)1型糖尿病における大血管障害～その早期診断と進展予防を目指して～、第28回日本糖尿病合併症学会学術集会：2013年9月14日、旭川

10. 片上直人、金藤秀明ほか：非侵襲的アプローチによる頸動脈壁組織性状の定量評価とその臨床的有用性、第56回 日本糖尿病学会年次学術集会：2013年5月16日、熊本

11. 入江陽子、片上直人、金藤秀明ほか：冠動脈疾患の既往がない無症候型2型糖尿病患者において頸動脈内膜中膜複合体肥厚度は重症冠動脈疾患のスクリーニングに有用である、第56回 日本糖尿病学会年次学術集会：2013年5月17日、熊本

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

片上 直人 (KATAKAMI, Naoto)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座講師

研究者番号：10403049

### (2)研究分担者

松岡 孝昭 (MATSUOKA, Taka-aki)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：10379258

金藤 秀明 (KANETO, Hideaki)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：80448034

安田 哲行 (Yasuda, Tetsuyuki)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30448055