

令和元年5月22日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26350908

研究課題名(和文) 活性酸素を管理指標とした生活習慣病の包括的テラーメイド予防法の開発

研究課題名(英文) Personalized prevention for lifestyle-related diseases in control of reactive oxygen species

研究代表者

小風 暁 (KOKAZE, Akatsuki)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：70271583

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の成果は、日本人の長寿に関連するミトコンドリアDNA (Mt5178C/A) 多型は、喫煙習慣が肝障害リスクに及ぼす影響、コーヒー飲用が赤血球パラメーターに及ぼす影響、コーヒー飲用が肝障害リスクに及ぼす影響、コーヒー飲用が血清クロール値に及ぼす影響、およびコーヒー飲用が眼圧へ及ぼす影響を修飾することを明らかにしたことである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Mt5178C/A多型と喫煙習慣との肝障害リスクに対する交互作用、Mt5178C/A多型とコーヒー飲用との赤血球パラメーター、肝障害リスク、血清クロール値、眼圧に対する交互作用は、生活習慣病のためのテラーメイド予防法の開発に役立つと思われる。

研究成果の概要(英文)：Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 C/A polymorphism modifies the effects of cigarette smoking on the risk of liver injury and those of coffee consumption on erythrocytic parameters, risk of liver injury, serum chloride level and intraocular pressure. These findings will contribute the establishment of personalized behavior modification program for the prevention of lifestyle-related diseases.

研究分野：衛生学公衆衛生学

キーワード：ミトコンドリアDNA 遺伝子多型 コーヒー 肝障害 赤血球パラメーター 血清クロール 眼圧

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリア DNA 5178 シトシン/アデニン (Mt5178 C/A) 多型 (NADH デヒドロゲナーゼ サブユニット 2 237 ロイシン/メチオニン (ND2-237 Lue/Met) 多型) は日本人の長寿に関連する遺伝子多型で、百寿者には Mt5178A (ND2-237Met) 型が多いことが報告されている (Tanaka et al. Lancet 1998)。Mt5178 C/A 多型については、Mt5178C (ND2-237Leu) 型の人は Mt5178A 型の人と比較して心筋梗塞 (Mukae et al. Circ. J. 2003; Takagi et al. Atherosclerosis 2004) や脳血管疾患 (Ohkubo et al. J. Neurol. Sci. 2002) など動脈硬化性疾患を発症するリスクが高いことが、また、同じ 2 型糖尿病患者においても Mt5178C 型の患者は Mt5178A 型の患者と比較して動脈硬化が進行しやすいこと (Matsunaga et al. Diabetes Care 2001) が報告されている。研究代表者は、Mt5178C 型の男性は Mt5178A 型の男性と比較して喫煙によって呼吸機能が低下しやすいことを報告した (Kokaze et al. J. Hum. Genet. 2007)。

(1) 《心臓リハビリテーション実施者を対象とした活性酸素産生に対する Mt5178 C/A 多型における gene-environment interaction の解明》の研究背景

研究代表者がこれまでに報告したその他の gene-environment interaction (Kokaze et al. J. Epidemiol. 2009; Kokaze et al. J. Hum. Genet. 2010; Kokaze et al. Lipids Health Dis. 2012; Kokaze et al. BMC Nephrol. 2013; Kokaze et al. J. Negat. Results Biomed. 2013) も含めて、これらの Mt5178 C/A 遺伝子型間での差については活性酸素が関与していることが推測されているが、その機序は解明されていない。活性酸素の関与については、酸化ストレスマーカーを用いて Mt5178 C/A 遺伝子型間での差を評価した研究や Mt5178 C/A 多型における酸化ストレスマーカーに対する gene-environment interaction を報告した研究は申請時点において確認できなかった。

(2) 《既存データのマイニングによる新たな gene-environment interaction の探索》および《行動変容を企図するリスク値の検討》の研究背景

(2) Mt5178 C/A 多型に関する遺伝情報を用いた生活習慣病の一次予防のための行動変容プログラムの開発には、これまで同様、そのツールとなり得る Mt5178 C/A 多型と生活習慣の交互作用 (gene-environment interaction) のさらなる探索も必要である。科学研究費補助金 (基盤研究 (C) (14570355)) にて研究代表者が構築したデータベースに対するマイニング手法により、新たな gene-environment interaction を報告できる可能性は極めて高いと考えた。

(2) 遺伝情報を用いた生活習慣病の一次予防のための行動変容プログラムを開発する場合、疾患罹患のリスクが遺伝的に何倍高いと告知されれば、禁煙、節酒などの行動変容を考えるか (行動変容を企図する遺伝的リスク値) を事前に調査する必要があると思われた。しかし、行動変容を企図する遺伝的リスク値に関する報告は、申請時点において確認できなかった。科学研究費補助金 (基盤研究 (C) (23500859)) にてアンケートは実施したものの、研究期間内での論文の作成にまでは至らなかった。

2. 研究の目的

(1) 心臓リハビリテーション実施者を対象として、酸化ストレスマーカーを選定し、活性酸素産生に対する Mt5178 C/A 多型における gene-environment interaction を明らかにする。

(2) 研究代表者がこれまでに構築した既存データへのマイニング手法によって、Mt5178 C/A 多型と生活習慣との健康状態への新たな交互作用の探索を行う。

(2) 疾患別 (悪性新生物、虚血性心疾患、脳血管疾患、糖尿病、慢性閉塞性肺疾患など)、生活習慣別 (喫煙、飲酒、コーヒー飲用、緑茶飲用、身体活動など) に行動変容を企図する遺伝的リスク値を検討する。

3. 研究の方法

(1) 昭和大学病院心臓リハビリテーション外来の受診者 750 名を対象として、研究の趣旨などを説明し、研究協力のインフォームドコンセントを取得する。同意が得られた研究協力者から採血後、末梢血白血球より DNA を抽出し、制限酵素 AluI を用いた polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法により Mt5178 C/A 遺伝子型の判別を行う。活性酸素産生指標の選定を行い、研究協力者から採取する。また、研究協力者の性別、年齢、身長、体重、血圧、血糖値、血中脂質濃度などの臨床データを収集する。また、生活習慣などについては質問票調査を行う。個人情報取り扱いに十分配慮した上で、データベースを構築する。構築したデータベースを用いて心臓リハビリテーション実施者を対象とした活性酸素産生に対する Mt5178 C/A 多型における gene-environment interaction についての解析を行う。

(2) 茨城県水戸市 M 病院の人間ドック受診者で当研究の趣旨・内容を十分に説明し、同意を得られた男女計 602 名を対象とした。なお、上記を対象とした本研究は研究代表者の前任校である杏林大学医学部「医の倫理委員会」の承認の下で実施されている。食後 12 時間以上経過した対象者から採血後、末梢血白血球より DNA を抽出し、制限酵素 AluI を用いた PCR-RFLP 法により Mt5178 C/A 遺伝子型の判別を行った。遺伝子型および人間ドックの結果を用いてデータベースを構築し(科学研究費補助金(基盤研究(C)(14570355)))、マイニングの手法にて Mt5178 C/A 多型と生活習慣との健康状態への新たな交互作用の探索を行った。

(2) 東京都、神奈川県、埼玉県にある一般企業(IT 企業、小売企業、外食企業、介護企業など)の従業員約 2,000 名を対象として、質問票調査を実施した(科学研究費補助金(基盤研究(C)(23500859)))。なお、本研究は昭和大学医学部「医の倫理委員会」の承認の下で実施されている。

4. 研究成果

(1) 心臓リハビリテーション実施者を対象とした活性酸素産生に対する Mt5178 C/A 多型における gene-environment interaction の解明を計画していたが、活性酸素産生指標の選定ができずに、断念することとなった。

(2) Mt5178 C/A 多型と生活習慣との健康状態への新たな交互作用をいくつか見出すことができた。

1) Mt5178C/A 多型における喫煙習慣と肝酵素(AST、ALT、GGT)との関係について検討した。女性、B 型・C 型肝炎患者、データに欠損がある人を除く男性 421 名(54.1 ± 7.7 歳)を解析の対象とした。喫煙習慣については、喫煙習慣なし(過去に喫煙していた人を含む)、1 日 20 本以下、1 日 21 本以上の 3 群に分けて検討した。ロジスティック回帰分析を行ったところ、Mt5178A 型においては喫煙本数が増えるほど肝障害(ALT > 30U/L; GGT ≥ 60U/L or > 51U/L)のリスクが上昇する傾向を認めた(順に P for trend = 0.031, P for trend = 0.007, P for trend = 0.004)。年齢、BMI、飲酒習慣、コーヒー飲用、降圧剤服用の有無、糖尿病治療の有無で調整後も同様の結果であった(順に P for trend = 0.032, P for trend = 0.019, P for trend = 0.009)。驚くべきことに、Mt5178C 型においては、喫煙本数が増えるほど肝障害(ALT > 30U/L or ≥ 25U/L)のリスクが低下する傾向を認めた(順に P for trend = 0.026, P for trend = 0.003)。

以上の結果を電子ジャーナル(Kokaze et al. *Tob. Induc. Dis.* 12: 11, 2014)にて報告した。

2) Mt5178C/A 多型におけるコーヒー飲用と赤血球パラメーターとの関係について検討した。女性、データ欠損がある人を除く男性 436 名(54.1 ± 7.8 歳)を解析の対象とした。ヘモグロビン値 14g/dL 未満を貧血と定義し、コーヒー飲用については、1 日 1 杯未満、1-3 杯、4 杯以上の 3 群に分けた。Mt5178C 型においては、年齢、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣、緑茶飲用で調整したところ、コーヒー飲用杯数が多いほど赤血球数、ヘモグロビン値が低下した(順に P for trend = 0.022, P for trend = 0.035)。また、統計学的有意差は認められなかったが、コーヒー飲用杯数が多いほど貧血のリスクが上昇する傾向を認めた(P for trend = 0.078)。コーヒー飲用が 1 日 1 杯未満の人に比べて、1 日 4 杯以上の人では貧血のリスクの有意な上昇を認めた(adjusted OR = 3.771, 95% CI: 1.088-13.06, P = 0.036)。一方、Mt5178A 型においてはコーヒー飲用杯数が多いほど貧血のリスクが低下する傾向を認めた(P for trend = 0.049)。年齢、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣、緑茶飲用での調整後はその傾向は認められなかった。

以上の結果を電子ジャーナル(Kokaze et al. *J. Physiol. Anthropol.* 33: 37, 2014)および学会(第 61 回昭和大学学士会総会)にて報告した。

3) Mt5178C/A 多型におけるコーヒー飲用と肝酵素(AST、ALT、GGT)との関係について検討した。女性、B 型・C 型肝炎患者、データに欠損がある人を除く男性 421 名(54.1 ± 7.7 歳)を解析の対象とした。コーヒー飲用については、1 日 1 杯未満、1 日 1-2 杯、1 日 3 杯以上の 3 群に分けた。ロジスティック回帰分析を行ったところ、Mt5178C 型においてコーヒー飲用が増えるほど肝障害(AST 30IU/L; ALT 25IU/L; GGT ≥ 60U/L or > 51U/L)のリスクが低下した(順に P for trend = 0.026, P for trend = 0.015, P for trend = 0.049, P for trend = 0.015)。年齢、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣、緑茶飲用、降圧剤服用の有無、糖尿病治療の有無で調整後も同様の結果であった(順に P for trend = 0.013, P for trend < 0.001, P for trend = 0.002, P for trend < 0.001)。一方、Mt5178A 型においてはコーヒー飲用と肝酵素との関連は認められなかった。

以上の結果を電子ジャーナル(Kokaze et al. *J. Physiol. Anthropol.* 35: 15, 2016)および学会(第 85 回日本衛生学会学術総会)にて報告した。

4) **Mt5178C/A** 多型とコーヒー飲用との血清電解質（ナトリウム、クロール、カリウム、カルシウム）濃度への交互作用について検討した。女性、糖尿病患者、データ欠損がある人を除く男性 **402** 名（ 53.9 ± 7.8 歳）を解析の対象とした。コーヒー飲用については、1日1杯未満、1日1-3杯、1日4杯以上、の3群に分けた。また、血清クロール濃度低値が心血管系疾患の危険因子として報告されていることから、血清クロール濃度 **100mEq/L** 未満を血清クロール濃度低値とした。**Mt5178C** 型においてコーヒー飲用が増えるほど血清ナトリウム濃度および血清塩素濃度が上昇した（順に **P for trend = 0.033**, **P for trend = 0.001**）。年齢、**BMI**、飲酒習慣、喫煙習慣、緑茶飲用、降圧剤服用の有無で調整後も同様の結果であった（順に **P for trend = 0.044**, **P for trend = 0.002**）。また、コーヒー飲用杯数が増えるほど血清塩素濃度低値のリスクは低下した（**P for trend = 0.032**）。年齢、**BMI**、飲酒習慣、喫煙習慣、緑茶飲用、降圧剤服用の有無で調整後も同様の結果であった（**P for trend = 0.028**）。なお、**Mt5178A** 型においてはコーヒー飲用と血清電解質濃度との関連は認められなかった。

以上の結果を電子ジャーナル（**Kokaze et al. Nutrients 10: 1344, 2018**）および学会（第88回日本衛生学会学術総会）にて報告した。

5) **Mt5178C/A** 多型とコーヒー飲用との眼圧への交互作用について検討した。女性、眼科疾患患者、データ欠損がある人を除く男性 **431** 名（ 54.1 ± 7.8 歳）を解析の対象とした。**75%**値である眼圧 **14.5mmHg** 以上を眼圧高値とした。**Mt5178C** 型では、単回帰分析においてコーヒー飲用杯数が増えるほど眼圧が低下した（**P = 0.029**）。説明変数に年齢、**BMI**、喫煙習慣、飲酒習慣を加えて重回帰分析を行った結果においてもコーヒー飲用杯数が増えるほど眼圧が低下した（**P = 0.038**）。また、ロジスティック回帰分析において、コーヒー飲用については1日1杯未満、1日1-3杯、1日4杯以上、の3群に分け、上述の項目も加えて解析を行ったところ、コーヒー飲用が増えるほど眼圧高値のリスクは低下した（**P for trend = 0.004**）。なお、百寿者に多いとされる **Mt5178A** 型においては、コーヒー飲用杯数と眼圧との関連、およびコーヒー飲用と眼圧高値のリスクとの関連はともに認められなかった。

以上の結果を学会（第29回日本疫学会学術総会）にて報告した。

(2) データの解析はあまり進展せず、学術雑誌および学会における報告には至らなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Kokaze A*, Ishikawa M, Matsunaga N, Karita K, Yoshida M, Ochiai H, Shirasawa T, Yoshimoto T, Minoura A, Oikawa K, Satoh M, Hoshino H, Takashima Y. NADH dehydrogenase subunit-2 237 Leu/Met polymorphism influences the association of coffee consumption with serum chloride levels in male Japanese health checkup examinees: an exploratory cross-sectional analysis. *Nutrients* 10: 1344, 2018.
DOI: 10.3390/nu10101344

Kokaze A*, Yoshida M, Ishikawa M, Matsunaga N, Karita K, Ochiai H, Shirasawa T, Nanri H, Mitsui K, Hoshino H, Takashima Y. Mitochondrial DNA 5178 C/A polymorphism modulates the effects of coffee consumption on elevated levels of serum liver enzymes in male Japanese health check-up examinees: an exploratory cross-sectional study. *Journal of Physiological Anthropology* 35: 15, 2016.
DOI: 10.1186/s40101-016-0098-2

Kokaze A*, Ishikawa M, Matsunaga N, Karita K, Yoshida M, Ohtsu T, Ochiai H, Shirasawa T, Nanri H, Saga N, Ohtsu I, Hoshino H, Takashima Y. Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 C/A polymorphism modulates the effects of coffee consumption on erythrocytic parameters in Japanese men: an exploratory cross-sectional analysis. *Journal of Physiological Anthropology* 33: 37, 2014.
DOI: 10.1186/1880-6805-33-37

Kokaze A*, Yoshida M, Ishikawa M, Matsunaga N, Karita K, Ohtsu T, Ochiai H, Shirasawa T, Nanri H, Baba Y, Hoshino H, Takashima Y. NADH dehydrogenase subunit-2 237 Leu/Met polymorphism modifies effects of cigarette smoking on risk of elevated levels of serum liver enzyme in male Japanese health check-up examinees: a cross-sectional study. *Tobacco Induced Diseases* 12: 11, 2014.
DOI: 10.1186/1617-9625-12-11

*Corresponding Author

〔学会発表〕(計 4 件)

小風 暁、吉田正雄、石川 守、苅田香苗、落合裕隆、白澤貴子、吉本隆彦、箕浦 明、佐藤正夫、高島 豊：長寿関連ミトコンドリア DNA 多型におけるコーヒー飲用と眼圧との関係解析．第 29 回日本疫学会学術総会．平成 31 年 2 月 1 日．

小風 暁、石川 守、吉田正雄、苅田香苗、落合裕隆、白澤貴子、吉本隆彦、箕浦 明、佐藤正夫、高島 豊：長寿関連ミトコンドリア DNA 多型におけるコーヒー飲用と血清電解質濃度との関係解析．第 88 回日本衛生学会学術総会．平成 30 年 3 月 23 日．

小風 暁、吉田正雄、石川 守、苅田香苗、大津忠弘、落合裕隆、白澤貴子、南里妃名子、佐藤正夫、星野祐美、高島 豊：長寿関連ミトコンドリア DNA 多型におけるコーヒー飲用と肝機能検査成績との関係解析．第 85 回日本衛生学会学術総会．平成 27 年 3 月 28 日．

小風 暁、大津忠弘、落合裕隆、白澤貴子、南里妃名子：長寿関連ミトコンドリア DNA 多型とコーヒー飲用との赤血球パラメーターへの交互作用．第 61 回昭和大学学生会総会．平成 26 年 12 月 6 日．

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

昭和大学医学部衛生学公衆衛生学講座 ホームページ

<http://www.showa-u.ac.jp/sch/med/major/pubheal/index.html>

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：木庭 新治

ローマ字氏名：Koba Shinji

所属研究機関名：昭和大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号：20276546

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。