

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670312

研究課題名(和文) 血清アルブミンを用いた生体のredox評価法は生活習慣病のリスク指標となりうるか

研究課題名(英文) Use of human serum albumin as the measure of human body redox state might provide a new index of risk for lifestyle-related diseases

研究代表者

近藤 高明 (Kondo, Takaaki)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00195900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト血清アルブミンの還元型(HMA)と酸化型(HNA)の合計中のHMAの割合であるf(HMA)を全身の酸化還元状態の指標と見なし、動脈硬化指標としての頸動脈中内膜肥厚(IMT)との関連、および腎機能指標(eGFR)との関連を明らかにする調査研究を行った。一般健常者集団(約300人)を対象とした断面的解析の結果、全身が還元状態である集団では酸化状態である集団より動脈硬化のリスクが低いことと、腎機能が良好であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Human serum albumin takes either reduced (HMA) or oxidized form (HNA) in the human body. In this study, the fraction of HMA was examined for its association with the carotid intima-media thickness as atherosclerosis status, and eGFR as kidney function among about 300 healthy middle-aged and elderly persons. Results demonstrated reduced whole body state, as compared with oxidized state, is associated with decreased risk for atherosclerosis and favorable kidney function.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：血清アルブミン redox 動脈硬化 腎機能

1. 研究開始当初の背景

血液中に最も多く存在するタンパクであるヒト血清アルブミン(HSA)は血漿膠質浸透圧の調整や輸送のほか、生体内に酸化還元緩衝能が必要となったときの redox 反応における重要な役割を担っている。アミノ酸 585 個からなる HSA は N 末端から 34 番目の遊離システイン残基(Cys34)の状態によって還元型アルブミン(HMA、human mercaptalbumin)と酸化型アルブミン(HNA、human nonmercaptalbumin)に分類され、後者はさらに可逆的に酸化された HNA-1 と不可逆的な酸化状態である HNA-2 に分けられる。健常成人では HMA は HSA の 70-80% を占め、HNA-1 は 20-30%、HNA-2 は 2-5% 占めることが明らかにされている。HSA は血漿タンパクの多くを占めその Cys34 は酸化種の攻撃を受けやすく、様々な病的状態での HNA の増加が見られる。これまで腎不全、様々な肝疾患、冠動脈疾患、糖尿病、白内障、侵襲的手術、強度の運動といった状態での報告がなされている。

HSA の酸化還元と疾患との関連を扱った研究として、国内においては HMA、HNA 構成を指標とした腎不全患者での透析導入前後での小分子濃度の変化との関連、慢性腎疾患(CKD)患者での心血管合併症の発症予測能などの報告があり、老人性白内障患者の眼房水で分析を行ったという報告も見られるが、健常人を対象にした疫学研究で疾患の発症リスクもマーカーとしての応用例は国内外とも皆無である。HMA/HNA 構成分析用のキットは市販されておらず、多数の検体を分析するには安定した測定系を立ちあげなければならないことが、疫学的応用へのネックとなっていることが推定される。我々の研究室では高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた安定的な測定手技を利用できるので、その疫学的有用性を明らかにするために本研究を計画するにいたった。

2. 研究の目的

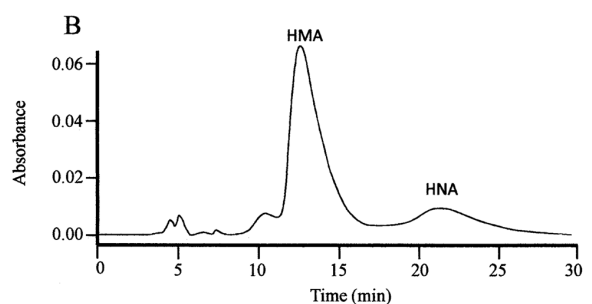
(1) 健常成人集団を対象として、血清 HMA/HNA 構成が生活習慣病の危険因子として知られている生活習慣(加齢、飲酒、喫煙、運動、食習慣など)などの修飾をうけながら、生活習慣病のリスクとして確立している因子(血圧、脂質値、血糖値など)とどのように関連するかを明らかにすることを目的としたが、本研究では特に動脈硬化指標との関連性に着目した。

(2) 従前の研究では CKD 患者や腎不全患者での血清 HMA/HNA 構成と予後の関連性が検討されているという成果を踏まえ、健常成人集団で eGFR と血清 HMA/HNA 構成との関連性についての解析も目的とした。

(3) さらに追加的な研究として、血清 HMA/HNA 構成が健常成人集団で高次脳機能といかに関連するかを探索することも目的として加えた。

3. 研究の方法

(1) 平成 26 年度と 27 年度の 8 月下旬に、北海道二海郡八雲町での実施される予定の町民ドックで約 600 名から同意をえて研究用の血清の提供を受ける。血清検体アルブミンの酸化型・還元型の分離測定は HPLC による確立した手技として報告されている、HPLC-post column BCG 法を用いる。この手法は従来の分析法の改良法であり、血清中の尿酸やビリルビンによるクロマトグラムへの影響を除去できる。



ヒト血清アルブミンの酸化還元分画クロマトグラム

(2) 動脈硬化の指標として総頸動脈での超音波による内膜中膜肥厚 (IMT) の計測とブラークの有無を左右両側で実施し、それらの結果と血清 HMA/HNA 構成との関連性を解析する。

(3) 腎機能指標として eGFR を性別に年齢と血清クレアチニン値から推定し、その結果と血清 HMA/HNA 構成との関連性を解析する。

(4) 対象者に高次脳機能検査 (Stroop、Rivermead、言語流暢性) を実施し、それらの結果と血清 HMA/HNA 構成との関連性を解析する。

いずれの解析においても、交絡要因として年齢、平均血圧、飲酒習慣、喫煙状態、運動習慣、血清 HDL コレステロール、血清 LDL コレステロール、血清中性脂肪、治療中の慢性疾患の有無を含めた多変量解析による統計学的解析を実施する。統計解析モデルとしては一般線形解析モデルとロジスティック回帰モデルを採用する。また HNA-2 は分画割合が低値で安定した結果を得にくいいため、HNA-1 と HNA-2 は個別の測定結果を用いず HNA-1 の測定結果のみを HNA の測定結果と見なす。なお血清 HMA や血清 HNA には標準品が存在しないため、各々の濃度を定量することはできない。したがって本研究ではクロマトグラムに表示される血清 HMA と血清 HNA のピーク面積の和を求め、それに対する血清 HMA ピーク面積の割合 f(HMA) を生体 redox 状態を表す変数として扱い、統計解析においては f(HMA) を予測変数 (独立変数) とする。

4. 研究成果

(1) 274 名 (男性 119、女性 155) を対象にした一般線形回帰モデルでは、IMT と f(HMA) との間に弱い負の関連性を認めた ($p=0.09$ 、 $r=-0.09$)。ロジスティック回帰モデルでは、ブラークの存在は f(HMA) との

間に有意な関連性を示した ($p=0.02$)。f(HMA) の最小値から最大値の変化に対するブラーク形成オッズ比は、0.10 (95%信頼区間、0.01-0.06) であった。

(2) eGFR との関連性に関して 286 名 (男性 126、女性 160) を対象にした一般線形回帰モデルでは、男女とも eGFR と f(HMA) との間には有意な正の関連性を認めた (いずれも $p<0.01$ 、 $r=0.25$ および 0.38)。最大四分位での f(HMA) は最小四分に対して最も高い腎機能を示し、調整オッズ比は男性で 0.12 (95%信頼区間、0.01-0.99)、女性で 0.18 (95%信頼区間、0.02-0.91) であった。

(3) 高次脳機能と f(HMA) との間では、情報処理能力に関する項目と有意な関連性を認めたが、その他の項目では有意な関連性を認めなかった。

従来の報告では、病理学的状態下での HSA による redox 状態評価の意義が探索されてきた。本研究では健常成人集団でも HSA の redox 状態が動脈硬化や腎機能を反映して変動すること明らかにし、また高次脳機能との関連性も示唆された。ただし f(HMA) は同一年齢群でも個人間変動が大きいことが報告されており、また本研究は断面調査での結果のみを表している。従って今後はサンプルサイズを追加し、追跡研究デザインでの疫学的調査を実施する予定である。

< 引用文献 >

Ueyama, J., et al. (2015). A revised method for determination of serum mercaptalbumin and non-mercaptalbumin by high-performance liquid chromatography coupled with postcolumn bromocresol green reaction. *Ann Clin Biochem* 52(1): 144-150.

Terawaki, H., et al. (2004). Oxidative stress is enhanced in correlation with renal

dysfunction: examination with the redox state of albumin. *Kidney Int* 66(5): 1988-1993.

Era, S., et al. (1995). Age-related change in redox state of human serum albumin. *Biochim Biophys Acta* 1247(1): 12-16.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計4件)

一般成人集団を対象とした血清アルブミンの redox 状態と認知機能指標との関連, 藤井亮輔, 近藤高明, 八田武志, 岩原昭彦, 伊藤恵美, 鈴木康司, 浜島信之, 第10回日本臨床検査学教育学会学術大会, 2015年

Relationship between the redox state of human serum albumin and eGFR in a general Japanese population, 藤井亮輔, 青井亜里沙, 上山純, 近藤高明, 第25回日本疫学会学術総会, 2015年

Relationship between the redox state of human serum albumin and estimated glomerular rate in a general Japanese population, FUJII Ryosuke, AOI Arisa, UHEYAMA Jun, KONDO Takaaki, 2014 Nagoya-Yonsei University Research Exchange Meeting on Health Sciences, 2014年

一般成人集団における血清アルブミンの redox 状態と動脈硬化指標の関連, 藤井亮輔, 青井亜里沙, 上山純, 市野直浩, 刑部恵介, 杉本恵子, 鈴木康司, 浜島信之, 近藤高明, 第84回日本衛生学会学術総会, 2014年

〔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〕

ホームページ等

http://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100001210_ja.html

6 . 研究組織

(1)研究代表者

近藤 高明 (KONDO, Takaaki)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号: 00195900

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし