

平成11年度厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書（別添2）・分担研究報告書（別添3）

高齢化社会における循環器未病対策と医療経済に関する疫学的基礎研究
(H11—長寿—044)

主任研究者	都島基夫	国立循環器病センター総合外来部(動脈硬化代謝内科)医長
分担研究者	広瀬信義	慶応義塾大学医学部老年科 講師
	丸山太郎	埼玉社会保険病院内科 部長
	村田 満	慶応義塾大学医学部内科 講師
	丸山千寿子	日本女子大学家政学部 助教授

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

高齢化社会における循環器未病対策と医療経済に関する疫学的基礎研究

主任研究者 都島 基夫 国立循環器病センター総合外来部（動脈硬化代謝内科）医長

研究要旨：発症の準備状態の未病診断として、臨床疫学的に遺伝子多型、ホモシステインなどの新旧のリスクファクターの意義について考察し、また、超高齢者における長寿の立場からその成因を検討した。さらに、疾患発症の予防治療における指針づくりや、コストエフィカシーの検討しにに向けての基礎データづくりを行い、初年度においては主として疫学的臨床的な断面調査を行った。生活習慣病遺伝子多型としては、paraoxonase (192Gln/Arg)、GP Ib (145Thr/Met4G/5G)、CETP (Taq I B1/B2) が、動脈硬化性疾患を発症させる比較的強力な作用を持つと考えられる。また、超高齢まで生きるには、発癌の遺伝子や痴呆の遺伝子を持っていると不利であることが示された。新しい危険因子であるホモシステインは、動脈硬化を進め、心血管病の発症につながる可能性が示唆され、MTHFR(677C/T) 遺伝子多型を持つ場合には、葉酸やビタミン B6、B12 などの摂取が必要であることが指摘された。

分担研究者 広瀬信義

慶応義塾大学医学部老年科講師

丸山太郎

埼玉社会保険病院内科部長

村田 満

慶応義塾大学医学部内科講師

丸山千寿子

日本女子大学家政学部助教授

いで発症した場合のコストの差を明らかにすることが目的である。すなわち、未病を日本的に予防医学の立場からの定義すると、(1) “quality of life” が大きく障害（疾病）されていない、(2) 疾病準備状態であり、循環器疾患における未病には、生活習慣病とよばれる、合併症がない糖尿病、高血圧、高脂血症、喫煙習慣などのリスクファクターから、遺伝子多型性、遺伝子欠損症、高齢（老化）なども含まれてくる。疾病を発症させない予防効果と発症後の治療に要する医療費、介護費に加え、働けなくなった減収、家族の労働などを比較する、マクロ的な cost effective analysis が本研究の目的である。また、臨床においては、個人の医療費負担とその efficacy と

A. 研究目的

生活の質（quality of life : QOL）を損なう循環器疾患の発症の準備状態である、未病の診断、動脈硬化の発症と進展に及ぼすリスクファクターや異常病態の検出と、発症前の早期動脈硬化を診断してその管理をすることによる、コストとこれを行わな

いうミクロ的な cost effective analysis も検討項目となる。遺伝子多型については、多因子遺伝病である common disease に一つ一つの遺伝子の phenotype は大きな影響を与えないが、複数の多型遺伝子が環境因子と複雑に絡み合って易罹病性を決定する。一つのリスクとしての遺伝子が環境因子との相互作用でどのようなインパクトをもつかを予防医学的見地から解明することにより、循環器未病対策における遺伝子多型検査の意義を明確にすることも本研究の目的となる。

B. 研究方法

1) 未病としての生活習慣病の遺伝子多型:

住民簡易ドックとして、交流が少ない漁村と農村をもつ三重県紀勢町の住民健診を募り、1985年より毎年健診ドックを実施してきた。冠動脈疾患死亡率は農村 7.6%、漁村 12.3% (全国 8.4%) である。(倫理面への配慮) 遺伝子解析にあたっては、個別に検査の内容と意義を説明し、文書にて同意を取得した。また、一部に頸動脈エコー、頸動脈脈波伝播速度を計測した。遺伝子解析項目として、ACE(intron16I/D), 2) β 3-AR (54Trp/Arg), 3) FA binding protein 2 (54Ala/Thr), 4) GP Ib (145Thr/Met4G/5G), 5) PAI-1 (4G/5G), 6) paraoxonase (192Gln/Arg), 7) NOS (4repeat/5repeat), 8) LPL-Hind III (intron 6), -Pvu II (intron 6), 9) CETP (Taq I B1/B2), 10) MTHFR(677C/T) について検討した(丸山太郎、村田満分担) とくに、これらの遺伝子変異の疾患への関与をしることを目的に、retrospective に

虚血性脳血管障害の遺伝子多型の影響を見る、血小板フォンウィルブランドの受容体である膜糖蛋白 GP Ib α (145Thr/Met) を検討した(村田満分担)。

2) ホモシステイン(Hcy)の解析結果と、動脈硬化の進展に及ぼす影響

近年、分子生物学の発展に伴い、種々の新しいリスクファクターが挙げられているが、従来の classical risk factor に比し、そのリスクとしての強さが明確ではない。今年度はホモシステインについて、動脈硬化への作用を検討した。住民ドック対象者(丸山千寿子、都島基夫)と、国立循環器病センター動脈硬化代謝内科受診患者(都島基夫)を比較した。住民では動脈硬化の測定を頸部エコー、頸部脈波速度、ankle-brachial pressure index(ABI)、患者では腹部大動脈の壁狭窄体積率、石灰化体積率、壁狭窄石灰化体積率で求め、また心血管病の発症の有無別で、ホモシステインの動脈硬化の進展に及ぼす影響を検討した。住民では食事における葉酸やビタミン B6、B12 の摂取量との関連について検討した。

3) 超高齢者における健康長寿の原因(広瀬信義分担)

超高齢者の長命の成因を探るため、今年度は長寿に及ぼす発癌遺伝素因を検討した。都内在住の46名の百寿者と95名の健康人を対象とした。phase 2 detoxifying enzyme の1種である Glutathione S Transferase (GST) の4種のアイソフォームをもち、様々な xenobiotics の解毒に関与するが、このうちM1は喫煙関連腫瘍(肺癌、膀胱癌など)と関連し、T1は骨髄異型性症候群との関連が報告されている。さらにアルツハイマー病や動脈硬化の危険因

子であるアポ蛋白 E 4 のアイソフォームと GST 欠損症（動脈硬化と発癌の double risk）が百寿者と対照群で異なるかについても比較検討を行った。GSTM1 および T1 欠損症は末梢血より DNA を抽出し PCR 法を用いて完全欠損症（homozygous deletion）の頻度を決定した。アポ蛋白 E のアイソフォームは免疫等電点電気泳動法により決定した。（倫理面への配慮）調査にあたり、本人又は主介護者に調査内容を説明し同意を得た。

4) 医療経済的側面から見た日本の医療（さくら総合研究所、環境・高齢社会研究センター、志水武史委託）

現在の日本の医療を(1) 医療制度における問題点、(2) 米国におけるマネジケアと医療提供システム (HMO)、(3) HMO における健康増進に対する取り組み、一米国医療保険会社の健康増進プログラム、(4) 疾病予防および健康増進に対する経済的動機、(5) わが国における疾病予防・健康増進の促進にむけて、に分けて考察した。

C. 研究結果

1) 未病としての生活習慣病の遺伝子多型：

50 歳から 69 歳の 199 名の女性では頸動脈にプラークを有する割合は漁村地区では 23.1%、農村地区では 9.4%と漁村地区に有意に高率であり (P=0.0078)、両地域の冠動脈疾患死亡率の差を裏付けるものであった。

PON 遺伝子、CETP 遺伝子の genotype に地域差が認められた。PON 遺伝子は漁村地区では漁村地区では GlnGln 型 18 名 (9.2%)、GlnArg 型 78 名 (40.0%)、ArgArg

型 99 名 (50.8%)、農村地区では GlnGln 型 37 名 (20.5%)、GlnArg 型 81 名 (45.0%)、ArgArg 型 62 名 (34.4%) と分布に有意差を認めた (p < 0.0007)。CETP 遺伝子は B1 allele の頻度が漁村地区 60.0%であり、農村地区 49.7%に比べ、漁村地区に有意に B1 allele を多く認めた (P=0.0052)。

プラークの有無と PON 遺伝子、CETP 遺伝子多型 (女性) : PON 遺伝子多型に関しては、プラークを有するものが G-allele を有する頻度が低い傾向、CETP 遺伝子多型に関して B1-allele はプラークをない群では 73.7%、プラークを有する群で 91.3%とプラークを有する群に B1-allele を高頻度に認めた。女性において B1 allele を有する B1B1 型、B1B2 型において HDL-C は低値を、B1allele を有さない B2B2 型で高値を示した。

今回検討したほかの 8 遺伝子については有意差を認めなかった。(以上丸山太郎分担)

虚血性脳血管障害を対象にした血小板フォンウィルブランドの受容体である膜糖蛋白 GP Ib α の 145Thr/Met 多型の検討の結果、ラクナ梗塞の発症に関与することが示された。この遺伝的要因の効果は特に後天的危険因子が少ない若年者や女性や非喫煙者でより顕著であった (村田満分担)。

2) ホモシステイン (Hcy) の解析結果と、動脈硬化の進展に及ぼす影響

ホモシステイン濃度は、男性で有意に高く、女性ではホモシステインは年齢、尿酸値、収縮期および拡張期血圧と正の相関があったが、男女とも肥満度、血清脂質、アポ蛋白、血糖との相関は認めなかった。患者の

ホモシステイン濃度は住民と比べ有意の高値を示し、喫煙者では非喫煙者よりも有意に高値であった。

住民では頸動脈内中膜複合体肥厚度 (IMT)、血圧補正した頸動脈脈波伝播速度 (PWVc) との関係を見たが、IMT と有意な関係はなく、PWVc は女性だけで有意な正相関を示した。

患者においては、ホモシステインは腹部大動脈壁肥厚狭窄体積率とは正相関傾向、石灰化体積率、壁肥厚石灰化体積率とは有意の正相関を示し、ホモシステインが高いと動脈硬化が強いことが示された。動脈硬化の指標となる血中可溶性接着分子 VCAM-1、ICAM-1 とも有意の正相関を示した。動脈硬化に基づく心血管病を発症した既往のある患者では、あきらかな動脈硬化性疾患を有さない患者よりもホモシステイン値は男女とも有意に高値を示した。Stepwise Logistic Regression Analysis によっても、ホモシステインは動脈硬化性疾患の独立した危険因子であることが示された (上都島基夫分担)。

年齢、BMI は、MTHFR 遺伝子多型別頻度に差はなく、ホモシステイン濃度は AA 群、AV 群に対し VV 群で有意に高値だった。男女間の葉酸推定摂取量は女性で男性に比べて高値であった。女性では、葉酸推定摂取量には MTHFR 遺伝子多型群間で差がみられなかったが、血清葉酸濃度は AA 群に比べて AV 群が、AV 群に比べて VV 群が有意に低値を示した。すなわち、高ホモシステイン値は葉酸摂取量よりも血清葉酸濃度の低値と関係が強いことが明らかであった。

(丸山千寿子分担)

3) 超高齢者における健康長寿の原因 (広

瀬信義分担)

GS TM 1 欠損症は百寿者では 33%であったが対照群では 53%であり有意に欠損症が低下していた。T 1 欠損症は百寿者 41%に対し、対照群では 48%で有意差は認めなかった。M 1 および T 1 欠損症は百寿者では 15%であり対照群では 30%と百寿者群で低下傾向を認めたが有意差はなかった。M 1 欠損症の頻度は百寿者女性では 17%に対し男性では 64%であった。対照群での欠損症は女性 51%に対して男性では 53%であった。T 1 欠損症については百寿者男女性、対照群男女間でいずれも有意差を認めなかった。

ついでアポ蛋白 E 4 と M 1 + T 1 欠損症の頻度を検討した。M 1 と T 1 欠損症を持ちかつ E 4 を持つ百寿者は観察されなかった。

D. 考察

今回、我々は冠動脈疾患の死亡率の異なる 2 地域間において 9 種類の遺伝子多型を調べた。PON 遺伝子多型 (Gln/Arg) で Arg allele、CETP 遺伝子 (B1/B2) 多型で B1 allele は動脈硬化形成へ働くと考えられ、Arg allele、B1 allele は冠動脈疾患の危険因子になりうると考えられた。これらの多型を有する群において、脂質代謝に影響をおよぼす環境因子の是正、または抗高脂血症薬の選択が冠動脈疾患発症予防につながる可能性があると考えられた。血小板 GPIIb/IIIa 受容体遺伝子 145T/M 多型はすでに村田が冠動脈疾患の易罹病性や重症度と有意の関係することを報告しているが、今回、虚血性脳血管障害にも関与することが分かった。このことは、脳梗塞の予防における抗血小板療法の位置づけに重みを与えるも

のである。

高ホモシステイン血症では動脈壁への脂質の沈着が促進する。本研究では血管内皮の障害を反映する VCAM-1、ICAM-1 が血漿ホモシステインと正相関を示し、血管弾力性の指標となる頸動脈脈波伝播速度が女性でホモシステイン濃度と正相関が示された。患者群の大動脈硬化の進行を進める可能性が示され、血漿ホモシステイン濃度が高い群ほど頸動脈壁プラークの出現率が高く、ホモシステインが血管内皮を傷害して sclerosis の進展に加担する initiator となる可能性が示唆された。

MTHFR 遺伝子多型異常、VB6、VB12、葉酸の摂取不足などが報告されているが、本対象集団では有意な関係が認められなかった。MTHFR 遺伝子多型については、今回の検討でも男女ともに AA、AV に比べ変異アレルホモ型の VV の方が血漿ホモシステイン濃度が高値であった。

GSTM 1 欠損症は百寿者で有意に低下していたが、T 1 欠損症の頻度は百寿者と対照群で差を認めなかった。このことは M 1 が寿命に関連していることを示唆する。さらに M 1 欠損症の頻度が性差により異なるかを検討した。T 1 欠損症は百寿者、対照群で性差を認めなかった。M 1 欠損症は百寿者女性で男性に比較して有意に低かった。このことより GSTM 1 は女性の寿命に関連していることが考えられた。アポ蛋白 E 4 と M 1、T 1 重複欠損症は百寿者では観察されず、癌と動脈硬化、痴呆の危険因子を持つ者は長寿に不利であることが示唆された。

E. 結論

未病状態としての遺伝子多型は、環境因

子により疾患発症につながる可能性が高く、遺伝子多型の種類によってもその影響力の強さがことなる。遺伝子欠損症と遺伝子多型性では、病気の発症に対する位置づけがことなる。

頸動脈硬化に血漿ホモシステインのような新しいリスクファクターが出現しているが、環境の条件下ではその影響力は古典的なメジャーリスクファクターほど強くない。

M1 とアポ E の検討では癌と動脈硬化、痴呆の危険因子を持つ者は長寿に不利であることが示唆された。生活習慣の留意により癌、動脈硬化、痴呆の発症を予防することが長寿につながる事が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表 未

現在、投稿中 (動脈硬化)

2. 学会発表

Am College Angiology World Congress
Kona USA

Total Plasma Homocysteine Levels in
Premature and Progressed
Atherosclerotic Patients.

Ohara S, Tsushima M, Hasegawa M, Komatsu
R, Suzuki M, Koh H, Nishioeda Y, Harano Y

第 97 回日本内科学会講演会 平成 12 年 4
月 7 日 京都

血漿ホモシステイン濃度と動脈硬化に関する臨床疫学的研究—住民と患者の比較—

都島基夫ほか

第 30 回日本動脈硬化学会総会 1999. 6. 24、
25 宮崎

ホモシステインと動脈石灰化

新井康通、広瀬信義、都島基夫、藤井効、
村山晃、木村満

第 30 回日本動脈硬化学会総会 1999. 6. 24、
25 宮崎

一般住民における血中ホモシステイン濃度
と栄養摂取量について

丸山千寿子、都島基夫、中野里美、京谷晋
吾、仲森隆子、丸山太郎

第 21 回臨床栄養学会学術講演会
1999. 11. 8-9、東京都市センター会館

一般住民におけるホモシステイン濃度に影
響を及ぼす食事性因子の検討

丸山千寿子、都島基夫、京谷晋吾、中野里
美、仲森隆子、丸山太郎

平成 11 年度日本動脈硬化学会冬期大会
1999. 11. 25-26 大阪リーガロイヤル 松
澤佑次 1) 血漿ホモシステイン濃度の動
脈硬化の関与に関する臨床研究

大原せつ、都島基夫、小松良哉、洪秀樹、
西大條靖子、鈴木正昭、原納優

Yamamura K, Arai Y, Takayama M, Ebihara
Y and Hirose N: The frequency of null
genotype of glutathione S-transferase M1
is lower in Japanese Centenarians. The
56th Annual Meeting of the American
Geriatrics Society (Philadelphia, USA).

第 4 1 回日本老年医学会学術総会 (京都)
百寿者の栄養状態、日常生活度、認知機能
に対する炎症反応の影響。

山村憲、広瀬信義、新井康通、海老原良典、
高山美智代

平成 11 年度日本動脈硬化学会冬期大会 (大阪)

発癌及び動脈硬化危険因子の長寿に対する
影響—百寿者における G S T 欠損症および
apoE phenotype の頻度—。

山村憲、竹下潤、中沢進、新井康通、広瀬
信義

第 4 回 L p (a) カンファレンス (大阪)

百寿者の認知機能に対するアポ E および L
p (a) アイソフォームの影響。

新井康通、広瀬信義

平成 11 年度日本動脈硬化学会冬季大会
(大阪)

百寿者の血液凝固、線溶系の検討。

新井康通、広瀬信義、中沢進、山村憲、高
山美智代、海老原良典

第 4 1 回日本老年医学会学術総会 (京都)

百寿者における Insulin-like growth
factor-1 濃度と BMI, 栄養指標、日常
生活活動度の関連。

新井康通、広瀬信義、山村憲、海老原良典、
高山美智代

第 1 8 回日本痴呆学会 (熊本)

百寿者の認知機能におよぼすアポ E 多型性、
栄養状態の影響について。

新井康通、広瀬信義

Sonoda A, Murata M, Oota A, Tada Y,
Takeshita E, Ito D, Tanahashi N, Fukuuchi
Y, Yoshida T, Saito I, Yamamoto M, Ikeda
Y, Watanabe K: Association between
platelet glycoprotein Ib α 145Thr/Met
genotype and ischemic cerebrovascular

disease. Will be presenting at 41 st
Annual meeting of the American Society of
Hematology, New Orleans, USA. Dec 1999.

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

疫学・未病対策総括 動脈硬化定量診断

主任研究者 都島 基夫 国立循環器病センター総合外来部（動脈硬化代謝内科） 医長

研究要旨

発症の準備状態の未病診断のひとつとしてホモシステインの疫学的臨床的断面調査を行った。ホモシステイン値は住民では男性で女性より高値を示し、住民に比し患者群では高値を示した。患者群で血管内皮の障害を反映する VCAM-1、ICAM-1 がホモシステインと正相関を示し、血管弾力性の指標となる大動脈や頸動脈脈波伝播速度が女性住民でホモシステイン濃度と正相関があった。ホモシステインは患者群で大動脈の石灰化や壁肥厚の進行を進める可能性が示された。また、動脈硬化性疾患ではホモシステインが高値を示した。

A. 研究目的

生活の質（quality of life : QOL）を損なう循環器疾患の発症の準備状態の未病時の病態のうち、発症前の早期動脈硬化の評価を含む動脈硬化の発症進展に及ぼすファクターを検討することが目的である。リスクファクターには、血管壁を障害し、内皮細胞の透過性を高めて、最終的には泡沫細胞を形成するのに助ける initiator、実際にたまっているコレステロールの代謝に関与する promoter などに分けられる。リスクファクターの違いで sclerosis が強いのか atherosclerosis が強いかが規定される。今年度は、initiator の一種であるホモシステインについて、日本人の疫学および臨床的な検討を行い、動脈硬化の進展や発症、冠動脈疾患などの循環器病の発症との関連について考察した。

B. 研究方法

1. 対象：健常住民における調査では、三重県紀勢町の生活環境が異なり、交流が少なかった山村と漁村の住民、男性 134 人、女性 265 人が対象である。患者群としては国立循環器病センター動脈硬化代謝内科を受診した 166 人（60.9 歳）で、このうち、51 人が虚血性心臓病や脳血管障害を発症した循環器病の患者であった。
2. 測定項目：血漿ホモシステイン濃度は、フッ化ソーダ入り採血管に早朝空腹時に採血し、直ちに遠心分離して 8 時間以内に high performance liquid chromatography 法により測定した。内皮細胞から分泌される可溶性接着分子 VCAM-1、ICAM-1 を EIA 法にて測定した。早期動脈硬化度は、住民では、GE 横河製 LOGIQ500 型超音波画像診断装置により 10MHz の LA39 リニアプローブを用いて得られた超音波

断層画像から総頸動脈内中膜複合体肥厚度を計測した。頸動脈脈波伝播速度は日本コーリン社製血圧脈波検査装置 BP-203RPE により測定した。患者群については、腹部大動脈 X 線 CT により壁肥厚狭窄体積率 (AWV)、石灰化体積率 (ACV)、壁肥厚石灰化体積率 (AWCV) を筆者らが開発した TES100-ICAP を用いた画像カラー分析法により計測した。これらの測定値と、血清脂質や喫煙や血圧などの classical なリスクファクターとの関連について検討した。統計処理は平均値の群間比較については分散分析-t 検定を行った。

住民健診はドック健診の形で、町を通じて検診項目を示して健診希望者を募り検査を行った。遺伝子解析にあたっては、個別に検査の内容と意義を説明し、文書にて同意を取得した。ホモシステイン測定の意義について、各個に口頭にて説明をして同意を得た。

C. 研究結果

1. ホモシステインと他の危険因子との関係。

住民におけるホモシステイン濃度は、男性で 10.7 ± 2.4 、女性で $9.1 \pm 2.5 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0.0001$) と、男性で有意に高値を示した。地域別では農村で 10.0 ± 2.8 、漁村で $9.3 \pm 2.4 \mu\text{mol/L}$ と農村で有意に高かったが ($p < 0.01$)、男女別に分けると有意差はなかった。ホモシステインは、年齢 ($p < 0.0001$)、ヘマトクリット ($p = 0.03$)、尿酸 ($p < 0.0001$) と有意の正相関を示した。女性ではホモシステインは収縮期 ($p = 0.01$) および拡張期血圧 ($p = 0.005$) と正の相関があった。しかし、男女とも肥

満度、血清脂質、アポ蛋白濃度との相関は認めなかった。

患者のホモシステイン濃度は男性が 16.4 ± 6.1 、女性が $12.0 \pm 3.8 \mu\text{mol/L}$ で、住民と比べ有意の高値を示した ($p < 0.0001$)。喫煙者 ($p < 0.0001$) や基礎疾患では、糖尿病群 ($p < 0.05$)、高血圧群で ($p < 0.05$)、で高値を示した。しかし、年齢、肥満度、空腹時血糖、総コレステロール、LDL コレステロール、トリグリセライド値とは相関はなく、HDL コレステロール値は有意の負の相関を示した ($p < 0.001$)。

2. 動脈硬化とホモシステイン

住民では男女に分けてホモシステイン濃度と頸動脈内中膜肥厚度、血圧補正した頸動脈脈波伝播速度 (PWVc) との関係のみた。男 (84 人) 女 (217 人) とともに IMT と有意な関係はなく、PWVc とは男性 (31 人) では相関はなかったが、女性 (76 人) では有意な正相関を示した ($p = 0.016$)。さらに女性では大動脈脈波伝播速度とも有意な正相関を示した (76 人、 $p < 0.025$)。ankle brachial index はホモシステインとは有意の関係はなかった。

32 人の患者では、ホモシステインは壁肥厚狭窄体積率とは $r = 0.33$ 、 $p = 0.06$ の正相関傾向、石灰化体積率とは $r = 0.39$ 、 $p < 0.05$ 、壁肥厚石灰化体積率とは $r = 0.59$ 、 $p < 0.001$ と有意の正相関を示した。動脈硬化の指標となる血中可溶性接着分子 VCAM-1 とは $r = 0.33$ 、 $p < 0.01$ 、ICAM-1 とは $r = 0.29$ 、 $p < 0.01$ と有意の正相関を示した。

3. 動脈硬化性疾患との関連

患者群では動脈硬化に基づく心血管病を発症の既往のある患者男性 32 人、女性 19

人では、あきらかな動脈硬化性疾患を有さない患者、男性 49 人、女性 63 人をコントロールとして比較した。動脈硬化性心血管病でのホモシステイン値は男性 18.8 ± 6.5 、女性 $14.2 \pm 5.1 \mu\text{mol/L}$ で、対照のそれぞれ 14.9 ± 5.5 、 $12.0 \pm 3.7 \mu\text{mol/L}$ と比較して有意に高値を示した（ともに $p < 0.0001$ ）。冠動脈疾患、脳血管障害、閉塞性動脈硬化症患者でも対照群よりも高値を示した。Stepwise Logistic Regression Analysis によっても、ホモシステインは動脈硬化性疾患の独立した危険因子であることが示された。

D. 考察

ホモシステインが高いホモシステイン血症では若年からの動脈硬化や血栓症の発症がみられ、高ホモシステイン血症では動脈壁への脂質の沈着が促進する。本研究では血管内皮の障害を反映する VCAM-1、ICAM-1 がホモシステインと正相関を示した。血管弾力性の指標となる、大動脈や頸動脈脈波伝播速度が女性でホモシステイン濃度との正相関が示され、患者群の大動脈のとくに石灰化の進行を進める可能性が示された。これらのことは、ホモシステインが血管内皮を傷害して脂質の透過を進めて泡沫細胞形成の initiator となること、sclerosis の進展に加担する可能性が示唆された。動脈硬化性疾患でも血中ホモシステイン値が高く、これら疾患のリスクファクターとなりえることを示した。高ホモシステイン血症は葉酸、ビタミン B6、B12 の摂取が不足するとおきやすいことが知られ、生活習慣病の一種ともいえる。今後、フィールドにお

けるインターベンションを加えることにより低下する可能性があり、prospective なメガスタディーが期待できる。

E. 結論

ホモシステインが高値を示す人に動脈硬化が発症、進展しやすく、動脈硬化性疾患のリスクファクターになりうる可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表 未

現在、投稿中（動脈硬化）

2. 学会発表

Am College Angiology World Congress
Kona USA

Total Plasma Homocysteine Levels in
Premature and Progressed
Atherosclerotic Patients.

Ohara S, Tsushima M, Hasegawa M,
Komatsu R, Suzuki M, Koh H, Nishioeda
Y, Harano Y

第 97 回日本内科学会講演会 平成 12 年
4 月 7 日 京都

血漿ホモシステイン濃度と動脈硬化に関する
臨床疫学的研究—住民と患者の比較—
都島基夫ほか

第 30 回日本動脈硬化学会総会
1999. 6. 24、25 宮崎

ホモシステインと動脈石灰化
新井康通、広瀬信義、都島基夫、藤井効、
村山晃、木村満

第 30 回日本動脈硬化学会総会

1999.6.24、25 宮崎

一般住民における血中ホモシステイン濃度と栄養摂取量について

丸山千寿子、都島基夫、中野里美、京谷晋吾、仲森隆子、丸山太郎

第 21 回臨床栄養学会学術講演会

1999.11.8-9、東京都市センター会館

一般住民におけるホモシステイン濃度に影響を及ぼす食事性因子の検討

丸山千寿子、都島基夫、京谷晋吾、中野里美、仲森隆子、丸山太郎

平成 11 年度日本動脈硬化学会冬期大会

1999.11.25-26 大阪リーガロイヤル 松

澤佑次 1) 血漿ホモシステイン濃度の動脈硬化の関与に関する臨床研究

大原せつ、都島基夫、小松良哉、洪秀樹、西大條靖子、鈴木正昭、原納優

参考文献

1. 中野里美、丸山太郎、丸山千寿子、春日 明、広瀬 寛、京谷晋吾、原 泰志、仲森隆子、鈴木裕也、都島基夫、猿田享男：動脈硬化の成因における環境因子と遺伝因子の寄与について、—三重県紀勢町における動脈硬化の疫学的研究—、日本未病システム学会雑誌、4 (2) :28-30、1998

2. 丸山千寿子、中西 守、内田景博、仲森隆子、中野里美、原 泰志、京谷晋吾、丸山太郎、都島基夫：骨粗鬆症早期診断と予防における TrFsACP 測定の意義、日本未病システム学会雑誌、4 (2) :43-46、1998

3. Mudd SH, Skovby F, Levy HL et al, The natural history of homocysteinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. Am J Hum Genet 1985, 37:1-31

4. Nygard O, Nordrehaug JE, Resfum H et al :Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. New Engl J Med 1997, 337: 230-236

5. Tsushima M, Koh H, Suzuki M, et al: Noninvasive quantitative evaluation of early atherosclerosis and the effect of monatepil, a new antihypertensive agent. An interim report.

Am J Hypertens. 1994; 7 : 154S~160S,

6. 都島基夫：(会長講演) 未病としての動脈硬化、一動脈硬化早期診断とリスクファクター、日本未病システム学会雑誌、1998 ; 4 (1) : 8-11

発癌及び動脈硬化危険因子の長寿に及ぼす影響に関する研究

分担研究者 広瀬信義 慶應義塾大学医学部老年科 講師

研究要旨 長寿に対する発癌遺伝素因の検討を行った。Glutathione S Transferase (GST) M1欠損症の頻度は、百寿者女性に少なくM1は女性の寿命に関連していることが考えられた。さらにM1+T1欠損症でアポ蛋白E4を持つ者は百寿者で観察されず、動脈硬化、痴呆及び発癌の危険因子を持つ者は長寿に不利であることが示唆された。

A. 研究目的

Glutathione S Transferase (GST) は phase2 detoxifying enzyme の1種であり、4種のアイソフォームが存在する。様々な xenobiotics の解毒に関与するが、このうちM1は喫煙関連腫瘍(肺癌、膀胱癌など)と関連し、T1は骨髄異型性症候群との関連が報告されている。長寿に及ぼす発癌遺伝素因を検討する目的で、百寿者と若年対照群での GST M1およびT1欠損症の頻度を比較した。さらにアルツハイマー病や動脈硬化の危険因子であるアポ蛋白E4のアイソフォームと GST 欠損症(動脈硬化と発癌の double risk)が百寿者と対照群で異なるかについても比較検討を行った。

B. 研究方法

都内在住の46名の百寿者と95名の健常人を対象とした。GST M1およびT1欠損症は末梢血よりDNAを抽出しPCR法を用いて完全欠損症(homozygous deletion)の頻度を決定した。アポ蛋白E

のアイソフォームは免疫等電点電気泳動法により決定した。

倫理面への配慮

調査にあたり、本人又は主介護者に調査内容を説明し同意を得た。本研究の実施については本学倫理委員会に申請中である。

C. 研究結果

百寿者の平均年齢は 100.2 ± 0.9 才であり、若年対照群は 45.8 ± 10.7 才であった。GST M1欠損症は百寿者では33%であったが対照群では53%であり有意に欠損症が低下していた ($\chi^2 = 4.23$, $p = 0.03$)。T1欠損症は百寿者41%に対し、対照群では48%で有意差は認めなかった ($\chi^2 = 0.38$, $p = 0.47$)。M1およびT1欠損症は百寿者では15%であり対照群では30%と百寿者群で低下傾向を認めたが有意差はなかった ($\chi^2 = 3.06$, $p = 0.08$)。ついで性差による欠損症の頻度を比較した。M1欠損症の頻度は百寿者女性では17%に対し男性では64%であった (χ^2

=7.54、
p=0.006)。一方対照群での欠損症は女性
51%に対して男性では 53%であった ($\chi^2=0.03$ 、 $p=0.86$)。T1 欠損症につい
ては百寿者女性 41%に対して男性 36% ($\chi^2=0.001$ 、 $p=0.98$) であつた。対照群
では女性 44%、男性 56%であり ($\chi^2=0.77$ 、 $p=0.38$) いずれも有意差を認め
なかつた。

ついでアポ蛋白 E4 と M1+T1 欠損症の
頻度を検討した。M1 と T1 欠損症を持
ちかつ E4 を持つ百寿者は観察されなかつた。

D. 考察

GSTM1 欠損症は百寿者で有意に低下し
ていたが、T1 欠損症の頻度は百寿者と
対照群で差を認めなかつた。このことは
M1 が寿命に関連していることを示唆す
る。さらに M1 欠損症の頻度が性差によ
り異なるかを検討した。T1 欠損症は百
寿者、対照群で性差を認めなかつた。M
1 欠損症は百寿者女性で男性に比較して
有意に低かつた。このことより GSTM1 は
女性の寿命に関連していることが考えら
れた。アポ蛋白 E4 と M1、T1 重複欠
損症は百寿者では観察されず、癌と動脈
硬化、痴呆の危険因子を持つ者は長寿に
不利であることが示唆された。

E. 結論

なぜ M1 が女性の長寿に関与するかは
今後の検討が必要である。癌と動脈硬化、
痴呆の危険因子を持つ者は長寿に不利で
あることが示唆された。生活習慣の留意
により癌、動脈硬化、痴呆の発症を予防

することが長寿につながる事が考えら
れた。

F. 研究発表

2、学会発表

1, Yamamura K, Arai Y, Takayama M,
Ebihara Y and Hirose N: The frequency of
null genotype of glutathione S-
transferase M1 is lower in Japanese
Centenarians. The 56th Annual Meeting
of the American Geriatrics Society
(Philadelphia, USA).

2, 山村憲、広瀬信義、新井康通、海老
原良典、高山美智代：百寿者の栄養状態、
日常活動度、認知機能に対する炎症反応
の影響。第 41 回日本老年医学会学術
総会（京都）

3、山村憲、竹下潤、中沢進、新井康通、
広瀬信義：発癌及び動脈硬化危険因子
の長寿に対する影響—百寿者における G
S T 欠損症および apoE phenotype の頻
度—。

平成 11 年度日本動脈硬化学会冬期大
会（大阪）

4、新井康通、広瀬信義、都島基夫、藤
井効、村山晃、木村満：ホモシステイン
と動脈石灰化。第 31 回日本動脈硬化学
会総会（宮崎）

5、新井康通、広瀬信義：百寿者の認知
機能に対するアポ E および Lp (a) ア
イソフォームの影響。第 4 回 Lp (a)
カンファレンス（大阪）

6、新井康通、広瀬信義、中沢進、山村憲、
高山美智代、海老原良典：百寿者の血液
凝固、線溶系の検討。平成 11 年度日本
動脈硬化学会冬季大会（大阪）

7、新井康通、広瀬信義、山村憲、海老

原良典、高山美智代：百寿者における
Insulin-like growth factor-1 濃度と B
M I，栄養指標、日常生活活動度の関連。
第 4 1 回日本老年医学会学術総会（京都）

8、新井康通、広瀬信義：百寿者の認知
機能におよぼすアポ E 多型性、栄養状態
の影響について。第 1 8 回日本痴呆学会
（熊本）

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

高齢化社会における循環器未病対策と医療経済に関する疫学的基礎的研究

— 遺伝子解析・未病診断・統計解析 —

分担研究者 丸山太郎 埼玉社会保険病院 内分泌代謝内科部長

研究要旨：動脈硬化性心疾患の発症に関与する遺伝因子を明らかにし、発症を予測することを目的とし、三重県度会郡紀勢町の地域住民健診を行い、今年度は以下の成績を得たので報告する。

A. 研究目的

我々は1985年より三重県紀勢町の疫学調査を行ってきた。紀勢町は地域的に農村地区と漁村地区に分かれており、1988年から1998年における冠動脈疾患の死亡率は農村地区では7.6%であり1995年の日本国民の冠動脈疾患死亡率の8.4%とほぼ一致していたが、漁村地区の死亡率は12.3%と極めて高率であった。さらに、30才から70才に限ると漁村(16.8%)の死亡率は農村(5.3%)の3倍に達するものであった(図-1)

この地域において、地域差のある遺伝子多型があれば冠動脈疾患の危険因子となりうると考えた。

B. 研究方法

対象は三重県紀勢町の成人病検診を受けた一般住民 589名(男性204名、女性385名)とした。対象個々につき身長、体重、body mass index (BMI)、血圧、血液検査(総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、中性脂肪)を測定し

た。また、動脈硬化の指標とし、50歳から69歳を対象に頸動脈エコーを施行した。

今回はACE (intron16 insertion / deletion)、 β 3-AR (54Trp/Arg)、AGT (235Met/Thr)、FABP2 (54Ala/Thr)、GPIb α (145Thr/Met)、PON(192Gln/Arg)、NOS(4repeat/5repeat)、MTHFR (677C/T)、LPL (Pvu II; intron 6、Hind III; intron 8) および CETP (B1B2) 遺伝子多型の関与について解析した。各遺伝子は末梢血白血球分画より、標準法にてDNAを抽出し、polymerase chain reaction(PCR)を施行後、制限酵素を用い、PCR-RFLP法にて調べた。

なお、遺伝子解析にあたっては受診者に検査の意義と研究の目的を説明し、文書にて同意を得た後に行った。

C. 研究結果

プラークの頻度と地域差(女性)(図-2): 50歳から69歳の女性、199名の結果である。両地域におけるプラークを有する割合は漁村地区では23.1%、農村地区では

9.4%であり、漁村地区に有意に高率にプラークを認めた ($P=0.0078$)。この成績は両地域の冠動脈疾患死亡率の差を裏付けるものであった。

各遺伝子多型の地域分布、頻度：

両地域において、PON 遺伝子、CETP 遺伝子の genotype に有意差が認められた。PON 遺伝子は漁村地区では漁村地区では GlnGln 型 18 名 (9.2%)、GlnArg 型 78 名 (40.0%)、ArgArg 型 99 名 (50.8%)、農村地区では GlnGln 型 37 名 (20.5%)、GlnArg 型 81 名 (45.0%)、ArgArg 型 62 名 (34.4%)、と分布に有意差を認めた ($p < 0.0007$) (表-1)。

CETP 遺伝子は漁村地区では B1B1 型 62 名 (35.4%)、B1B2 型 86 名 (49.2%)、B2B2 型 27 名 (15.4%)、農村地区では B1B1 型 48 名 (24.9%)、B1B2 型 96 名 (49.7%)、B2B2 型 27 名 (25.4%)、分布に有意差を認めた ($p < 0.0199$)。Allele で解析すると、B1 allele の頻度は漁村地区 60.0%であり、農村地区 49.7%に比べ、漁村地区に有意に B1 allele を多く認めた ($P=0.0052$) (表-2)。

今回検討したほかの 8 遺伝子については有意差を認めなかった (表-1)。

プラークの有無と PON 遺伝子、CETP 遺伝子多型 (女性)：

プラークの有無と PON 遺伝子、CETP 遺伝子多型の関係を女性において検討した。PON 遺伝子多型に関しては、genotype、G allele の有無のいずれにおいても有意差を認めなかったが、プラークを有するものが G allele を有する頻度が低い傾向にあ

った。CETP 遺伝子多型に関して Genotype では明らかでないが、B1allele、B2allele の有無で解析すると B1allele はプラークを有しない群では 73.7%、プラークを有する群で 91.3%とプラークを有する群に B1 allele を高頻度に認めた。

地域、性別における高血圧、脂質代謝、糖代謝などの成績

表-3 に両地域の健診受診者の年齢、BMI、血圧、血中脂質濃度、血糖、喫煙の有無などを示す。CETP 遺伝子の分布の相違を反映してか、HDL コレステロールレベルに有意差を認めたほか、BMI にも有意差が認められたが、その他には両地域の冠動脈疾患の死亡率の差に関与すると思われる相違は認めなかった。

CETP 遺伝子多型と HDL-C、LDL-C の関係 (図-3)：

女性において B1 allele を有する B1B1 型、B1B2 型において HDL-C は低値を、B1allele を有さない B2B2 型で高値を示した。(58.2 ± 11.9, 60.7 ± 15.9 vs 67.3 ± 13.7, $P=0.0012$, $P=0.0113$)。また、有意差は認めないが、男女共に B2B2 型に比べ B1B1 型、B1B2 型と B1allele を有する genotype に HDL-C が低く、LDL-C が高い傾向を認めた。

D. 考察

今回、我々は冠動脈疾患の死亡率の異なる 2 地域間において 9 種類の遺伝子多型を調べた。頸動脈プラークは冠動脈疾患の存在に関係すると考えられており、頸動脈プラークの有無の地域差を検討したところ、

農村地区に比べ漁村地区において、プラークを有する率が高く、冠動脈疾患の死亡率が高いことを裏付ける結果であった。

遺伝子多型については、PON 遺伝子多型、CETP 遺伝子多型が漁村地域において有意に ArgArg、B1B1 型が多かった。CETP 遺伝子多型の分布の相違を反映してか、HDL-C が男女とも漁村地域において低値を示した。また、明かな有意差を認めないが男女共に CETP 遺伝子多型により HDL-C だけでなく、LDL-C も相関関係が示唆され興味深い所見を得た。

以上の結果より PON 遺伝子多型 (Gln/Arg) で Arg allele、CETP 遺伝子 (B1/B2) 多型で B1 allele は動脈硬化形成へ働くと考えられ、Arg allele、B1 allele は冠動脈疾患の危険因子になりうると考えられた。

これらの多型を有する群において、脂質代謝に影響をおよぼす環境因子の是正、または抗高脂血症薬の選択が冠動脈疾患発症予防につながる可能性があり、今後検討していく予定である。

E. 結語

PON 遺伝子 (Gln/Arg) 多型、CETP 遺伝子 (B1/B2) 多型は当地域の冠動脈疾患の危険因子の可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Mackness MI, et al. : Paraoxonase and coronary heart disease. Curr Opin Lipidol, 1998(9): 319-324
- 2) Kuivenhoven JA, et al. : The role of a

common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. N Engl J Med. 1998 Jan 8;338 (2) : 86-93

3) 都島基夫 : 動脈硬化の診断の進歩 : 概説. 日本臨床 1993 ; 91 : 2023-2029

4) 岡田豊治ら : 断層エコー法を用いた頸動脈硬化の性状分類と冠動脈硬化の関連について. 医学検査 1996 ; 45 (7) : 1156-1160

5) Kuivenhoven JA, et al. : Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997 Mar;17 (3) : 560-568

表 1 両地域における各遺伝子の分布と頻度

Genotype (allele1/allele2)	漁村				農村		P value
	allele1/allele2	allele1/allele2	allele2/allele2	allele1/allele2	allele1/allele2	allele2/allele2	
ACE (ins/del)	84 (41.2%)	88 (43.1%)	32 (15.7%)	73 (38.6%)	91 (48.1%)	25 (13.2%)	NS
β -3-AR (³⁴ Trp/Arg)	120 (63.5%)	63 (33.3%)	6 (3.2%)	106 (56.4%)	72 (38.3%)	10 (5.3%)	NS
AGT (²³⁵ Met/Thr)	50 (24.5%)	124 (60.8%)	30 (14.7%)	49 (26.1%)	110 (58.5%)	29 (15.4%)	NS
FABP2 (⁵⁴ Ala/Thr)	89 (44.5%)	89 (44.5%)	22 (11.0%)	87 (47.0%)	66 (35.7%)	32 (17.3%)	NS
GP1b α (¹⁴⁵ Thr/Met)	153 (76.9%)	40 (20.1%)	6 (3.0%)	130 (70.7%)	49 (26.6%)	5 (2.7%)	NS
PON (¹⁹² Gln/Arg)	18 (9.2%)	78 (40.0%)	99 (50.8%)	37 (20.6%)	81 (45.0%)	62 (34.4%)	0.0007
MTHFR (⁶⁷⁷ C/T)	94 (46.3%)	90 (44.3%)	16 (7.9%)	81 (45.5%)	72 (40.4%)	25 (14.0%)	NS
NOS (4repeat/5repeat)	173 (85.6%)	28 (13.9%)	1 (0.5%)	147 (80.8%)	31 (17.0%)	4 (2.2%)	NS
LPL-Pvu II (intron 6)	11 (56.7%)	66 (34.0%)	117 (60.3%)	14 (8.0%)	72 (40.9%)	90 (51.1%)	NS
LPL-Hind III (intron 8)	8 (4.0%)	46 (23.0%)	146 (73.0%)	10 (5.5%)	57 (31.3%)	115 (63.2%)	NS

NS: Not significant. χ square test (2x3 contingency table)

表-2 両地域におけるCETP遺伝子 (B1/B2) 多型の分布、頻度

	漁村 (n=175)	農村 (n=193)	
Genotypes			
B1B1	62(35.4%)	48(24.9%)	
B1B2	86(49.2%)	96(49.7%)	p < 0.0199
B2B2	27(15.4%)	49(25.4%)	
Allele frequencies			
B1 allele	60.0%	49.7%	
B2 allele	40.0%	50.3%	p = 0.0052