

方病院、国立生育医療センター。

(調査項目) 妊娠がわかる前について両親の生活習慣や生活環境を調査する。食事調査については短縮版の半定量食事摂取頻度調査票(妥当性の検証されている自記式食事歴法質問票)を用い、喫煙や粉塵の暴露、居住状況、自動車やコンピューターに関わる時間、アレルギー疾患を中心とする既往歴については、本研究用に開発した質問票を用いる。両親の性格調査も実施する。調査はすべて対象者の両親からの自己申告による。

(調査実施要領) 主治医はその期間に症例群、対照群の患者に調査の協力を依頼し、協力の得られた患者の両親に調査票を手渡す。同時に、主治医は協力者の氏名、連絡先を事務局に送る。調査票は患者の両親が記入し、事務局に郵送する。事務局担当者は内容を吟味し、予め決められた基準にしたがって、記入ミスや記入誤りを電話で問い合わせる。郵送により食事の個人結果を対象者に返却する。その結果に対する患者の両親からの問い合わせにも事務局が対応する。事務局では症例群のデータに従い、性別、年齢を症例群の得られた施設の小児科に連絡し、対照群のリクルートを小児科主治医に依頼する。

(解析・報告) 解析は条件付きロジスティック回帰分析を用い、各要因の補正相対危険を求める。結果は厚生省に報告書を提出するだけでなく、国際学術雑誌に投稿する。その際、著者は解析、論文執筆を担当した各研究者個人および Japan Neurofibromatosis type 1 Study Group とし、全ての協力医療機関の施設名、医師名を Study Group の一員として、論文の Appendix に列挙する。

#### これまでの経過

当初、35 大学、国立生育医療センター、7 医療機関より参加同意を得て、これら施設との共同研究として福岡大学医学部倫理審査

委員会の承認を得た。ただし、付記事項として各参加施設での倫理審査の承認を得る必要があり、各施設に申請を依頼したが、いくつかの施設で理解を得られなかった。慶応大学では外部への個人情報流出ができないとの理由で倫理審査申請を却下された。新たに 2 大学より協力を得られることとなり、改めて福岡大学医学部倫理審査委員会に申請をし、平成 15 年 7 月 25 日に承認を得た。この際は、付記事項の記載削除を申請時に依頼したため、付記事項に各施設での承認の必要性に関する記載はなかった。よって、いくつかの施設では倫理審査を申請せず、調査に協力をしている。申請をした施設では承認を得るのに相当の時間を必要としたため、実際のリクルートは未だ実施されていない状況である。また、多くの施設では申請等大変な労力を要する本研究に対する熱意が薄れたためか、リクルートの依頼に対しても反応がない状況である。9 月に入って、福島医大皮膚科より参加の打診があり、現在倫理審査をして頂いている。

実際のリクルートについては、大変苦戦を強いられており、予定の調査期間では予定の対象者数を集めることは不可能である。

#### 今後の方針

来年度以降も調査を継続する。モニタリング調査に参加した施設にも本研究の協力を要請したい。この際、各施設での倫理審査の承認にはこだわらない。

#### 文献

1. Rasmussen SA, Friedman JM. NF1 gene and neurofibromatosis 1. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 33-40.
2. Bunin GR, Needle M, Riccardi VM. Paternal age and sporadic neurofibromatosis 1: A case-control study and consideration of the methodologic issues. *Genet Epidemiol* 1997; 14: 507-516.
3. Zahm SH, Fraumeni JF Jr. The epidemiology of soft tissue sarcoma. *Semin Oncol* 1997; 24: 504-514.

## **A case-control study regarding the risk and preventive factors for sporadic neurofibromatosis type 1**

Miyake Yoshihiro (Department of Public Health, Fukuoka University School of Medicine), Yokoyama Tetsuji (Department of Technology Assessment and Biostatistics, National Institute of Public Health), Sasaki Satoshi (Project of Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, National Institute of Health and Nutrition), Agata Toshihiko (Department of Public Health, Jikei University School of Medicine), Furumura Minao, Nakayama Juichiro (Department of Dermatology, Fukuoka University School of Medicine), Tanaka Keiko, Ushijima Kayo, Moriyama Masaki (Department of Public Health, Fukuoka University School of Medicine), Sakamoto Naomasa (Department of Hygiene, Hyogo College of Medicine), Okamoto Kazushi (Department of Public Health, Aichi Prefectural College of Nursing and Health), Kobashi Gen (Department of Public Health, Hokkaido University Graduate School of Medicine), Washio Masakazu (Department of Public Health, Sapporo Medical University School of Medicine), Inaba Yutaka (Department of Epidemiology, Juntendo University School of Medicine)

Neurofibromatosis 1 (NF1) is an autosomal dominant condition with virtually 100 percent penetrance by adulthood. About 50% of NF1 cases result from new mutations. About 90% of new mutations occur on the paternally derived chromosome. We are conducting a case-control study of sporadic NF1 without parental history of NF1 to elucidate risk and preventive factors. Cases are patients with 6 café-au-lait spots or more under 6 years. Controls are recruited by contacting the patients who are hospitalized patients diagnosed as having acute viral or bacterial pneumonia and outpatients with common cold. Two controls are selected for each case with individually matching by hospital, gender and age. The questionnaires ascertain environmental factors of parents of the child before pregnancy such as diet, smoking, occupational exposure. Physicians in the collaborating hospitals hand a set of questionnaires to parents of the eligible patients. The parents fill in the two questionnaires and mail them to the data managing center. Complete data are obtained from 12 cases and 4 control subjects for now.

**Key words:** neurofibromatosis type 1, case-control study

# 後縦靭帯骨化症の発症関連要因・予防要因の解明； 生活習慣と遺伝子多型に関する症例・対照研究

小橋 元（北海道大学大学院医学研究科・老年保健医学）、岡本和士（愛知県立看護大学・公衆衛生学）、鷲尾昌一（札幌医科大学・公衆衛生学）、阪本尚正（兵庫医科大学・衛生学）、佐々木敏（国立健康・栄養研究所）、三宅吉博（福岡大学医学部・公衆衛生学）、横山徹爾（国立保健医療科学院・技術評価部）、田中平三（国立健康・栄養研究所）、日本後縦靭帯骨化症(OPLL)疫学研究グループ

## 要 約

OPLL 発症関連要因、予防要因を、遺伝、環境要因のそれぞれについて、相互の交絡、共同作用とともに解明し、特にハイリスク群に対しての効果的な OPLL 予防対策に資することを目的として、症例・対照研究を行う。前研究期間と合わせて、症例 97 例と病院対照 180 例から調査票・血液が回収されている（今年中にそれぞれ 100 例、200 例を越える予定）。住民対照（北海道）ともあわせて、2004 年 2 月にはすべてのサンプルの DNA 抽出を完了し、遺伝子タイピングを遂行する予定である。今後は遺伝・環境相互作用の検討も含めて、研究をさらに進展させる予定である。

キーワード：後縦靭帯骨化症、生活習慣、遺伝子多型、症例・対照研究、遺伝・環境相互作用

## はじめに

後縦靭帯骨化症（OPLL）は、無症候から四肢麻痺までさまざまな症状を呈する、延髄に好発する特定疾患である。本症は日本人を含むアジア人種に多く、その頻度は一般集団で 1.9%～4.3%といわれ<sup>1)</sup>、また、性別では男性に多く、年齢では 60 歳代にピークがある<sup>2)</sup>。OPLL の発症危険要因としては、高塩分食、低動物性蛋白食といった食事要因が示唆されている<sup>3,4)</sup>が、相反する結果<sup>5)</sup>も見られている。しかしながら、現状では疫学的研究の数がいまだに少ない。

一方、近年の分子生物学の進歩により、OPLL に関連する素因候補遺伝子として、retinoic X receptor  $\beta$  (RXR $\beta$ ) 遺伝子多型、コラーゲン 11A2 (COL11A2) 遺伝子多型などが報告されている<sup>6,7)</sup>。

本研究の目的は、(1) OPLL 発症関連要因、予防要因の遺伝、環境の両要因からの解明、(2) 遺伝、環境要因の交絡、共同作用の解明を行い、これらを特にハイリスク群に対しての効果的な OPLL 予防対策に資することである。

## 方 法

調査研究対象は、北海道、愛知県、福岡県および佐賀県の計 12 病院において過去 3 年以内に OPLL と診断された者および対照者である。対照者は、(1) 事故等で症例と同じ病院を受診した者、あるいは (2) 北海道某町住民検診受診者のうち脊柱疾患のない者から、性、年齢をマッチさせて選んだ。主治医あるいは検診担当者から文書を用いて説明を行い、同意が得られた者には、(1) 自記式質問調査票への回答、(2) 研究協力承諾書への記名、(3) 採血をお願いした。自記式質問票の内容は、(1) 現在および過去の身長・体重、(2) 既往・家族歴、(3) 過去の食品摂取頻度、(4) 職業、作業環境、(5) 睡眠、休養、ストレス、運動、飲酒・喫煙、身体の柔軟性、性格傾向などについてである。得られた血液は EDTA 採血管で -20℃保存している。本研究は、北海道大学倫理委員会および各施設の倫理委員会等において承認済みである。

## 結果および考察

前研究期間と合わせて、症例 97 例と病院対照 180 例から調査票・血液が回収されている（今年中にそれぞれ 100 例、200 例を越える予定）。住民対照（北海道）ともあわせて、2004 年 2 月にはすべ

てのサンプルの DNA 抽出を完了し、遺伝子タイピングを遂行する予定である。解析予定の遺伝子多型は collagen alpha2、TGF- $\beta$  1、nucleotide pyrophosphatase、エストロゲン受容体、ビタミン D 受容体、筋グリコーゲン合成酵素、uncoupling protein 2、TNF- $\alpha$ 、IL-6、NOS3 遺伝子多型等である。遺伝子型データのそれぞれについて解析を行った後、すでにある生活習慣要因と遺伝子多型要因との交絡・共同作用について解析を行う予定である。OPLL は、実際に治療に携わる臨床医に聞くと、「身体が固い」「がっちりした」タイプ (OPLL 体型) に多い印象とのことである。上記のコラーゲン、骨代謝、糖尿病などに関連する各遺伝子多型と身体の硬さ、労働、食生活、睡眠・休養などの生活習慣との交絡状況が具体的に明らかになる可能性がある。

#### 日本後縦靭帯骨化症(OPLL)疫学研究グループ メンバー (50 音順、敬称略) :

会田勝広 (佐賀医科大学整形外科)、浅見豊子 (佐賀医科大学附属病院リハビリテーション部)、安裕裕之 (北海道整形外科記念病院)、大澤良充 (名古屋第一赤十字病院)、太田薫里 (北海道大学大学院医学研究科老年保健医学分野)、大森博之 (旭川医科大学公衆衛生)、織田格 (北海道整形外科記念病院)、金田清志 (美唄労災病院)、古梶正洋 (美唄労災病院)、近藤真 (NTT 東日本札幌病院)、塩崎一抄 (いとう整形外科病院)、春藤基之 (哲仁会えにわ病院)、上金伸一 (室蘭新日鐵病院)、長谷川匡一 (北海道整形外科記念病院)、羽田明 (旭川医科大学公衆衛生)、佛淵孝夫 (佐賀医科大学整形外科)、前田健 (九州大学大学院医学研究院整形外科)、増田武志 (哲仁会えにわ病院)、吉本尚 (小林病院)、渡邊英夫 (名古屋第一赤十字病院)

#### 文 献

- 1) Matsunaga S, Satou T: Epidemiology of the posterior longitudinal ligament. In: Yonenobu K, Sato T, Ono K (eds.) Ossification of Posterior Longitudinal Ligament. Springer-Verlag, Tokyo, Japan. 1997; 11-17.
- 2) Otsuka K, Terayama K, Yanagihara M, et al.: An epidemiological survey on ossification of ligaments in cervical and thoracic spine in individual over 50years of age. J Jpn Orthop Assoc, 1986; 60: 1087-1098.
- 3) Musha Y: Etiological study of spinal ligament ossification with special reference to dietary habits and serum sex hormones. J Jpn Orthop Assoc, 1990; 64: 1059-1071.
- 4) Wang PN, Chen SS, Liu HC, et al.: Ossification of the posterior longitudinal ligament of the spines. A case-control risk factor study. Spine, 1999; 24: 142-144.
- 5) 大野良之、橋本 勉: 生活習慣と難病発生. 医学のあゆみ, 1999 ; 190 : 1031-1033
- 6) Numasawa T, Koga H, Ueyama K, et al.: Human retinoic X receptor beta: complete genomic sequence and mutation search for ossification of posterior longitudinal ligament of the spine. J Bone Miner Res, 1999; 14: 500-508.
- 7) Koshizuka Y, Kawaguchi H, Ogata N, Ikeda T, Mabuchi A, Seichi A, Nakamura Y, Nakamura K, Ikegawa S. Nucleotide pyrophosphatase gene polymorphism associated with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. J Bone Miner Res 2002; 17:138-44
- 8) Nakamura I, Ikegawa S, Okawa A, Okuda S, Koshizuka Y, Kawaguchi H, Nakamura K, Koyama T, Goto S, Toguchida J, Matsushita M, Ochi T, Takaoka K, Nakamura Y. Association of the human NPPS gene with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL). Hum Genet 1999; 104:492-7
- 9) Kamiya M, Harada A, Mizuno M, Iwata H, Yamada Y. Association between a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene and genetic susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament in Japanese patients. Spine 2001;26(11):1264-6; discussion 1266-7
- 10) Maeda S, Koga H, Matsunaga S, Numasawa T, Ikari K, Furushima K, Harata S, Takeda J, Sakou T, Komiya S, Inoue I.

Gender-specific haplotype association of collagen alpha2 (XI) gene in ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *J Hum Genet* 2001;46:1-4

- 11) Kobashi G, Washio M, Okamoto K, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, Sakamoto N, Ohta K, Inaba Y, Tanaka H, Japan Collaborative Epidemiological Study Group for Evaluation

of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the Spine (OPLL) Risk. High body mass index after age 20 and diabetes mellitus are independent risk factors for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL) in Japanese: A case-control study in multiple hospitals. *Spine* (in press)

### **A case-control study to detect lifestyle and genetic risk factors for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spines**

Kobashi Gen (Department of Health for Senior Citizens, Hokkaido University Graduate School of Medicine), Okamoto Kazushi (Aichi Prefectural College of Nursing & Health, Department of Public Health), Washio Masakazu (Department of Public Health, Sapporo Medical University School of Medicine), Sakamoto Naomasa (Department of Hygiene, Hyogo College of Medicine), Sasaki Satoshi ((National Institute of Health and Nutrition), Miyake Yoshihiro (Department of Public Health, Fukuoka University School of Medicine), Yokoyama Tetsuji (Department of Technology Assessment and Biostatistics, National Institute of Public Health) and Tanaka Heizo (National Institute of Health and Nutrition), Japan Collaborative Epidemiological Study Group for Evaluation of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the Spine (OPLL) Risk.

A case-control study is being carried out since 2000 in order to detect and confirm risk factors in lifestyles and genetic variants for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spines (OPLL). Self-administered questionnaires and whole blood samples of 97 patients with OPLL in 11 collaborate hospitals, 180 controls from the hospitals and 530 pooled controls from health check up in a town have been obtained. DNA typing were carrying out now, and the data of gene polymorphisms will be combined with above-mentioned data and used for further multivariate analysis in the near future.

**Key words:** ossification of the posterior longitudinal ligament of the spines, lifestyles, genetic variants, case-control study, gene-environment interaction

# 筋萎縮性側索硬化症の発症関連要因・予防要因の解明 生活習慣および食事要因について

岡本和士（愛知県立看護大学・公衆衛生学）、小橋 元（北海道大学大学院医学研究科・老年保健医学）、鷺尾昌一（札幌医科大学・公衆衛生学）、阪本尚正（兵庫医科大学・衛生学）、佐々木敏（国立健康・栄養研究所）、三宅吉博（福岡大学医学部・公衆衛生学）、横山徹爾（国立保健医療科学院・技術評価部）、田中平三（国立健康・栄養研究所）、稲葉 裕（順天堂大学医学部・衛生学）

## 要 約

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の発症関連要因・予防要因を解明するために、環境および食事要因のそれぞれについて、相互の交絡、共同作用とともに解明し、特にハイリスク群に対する効果的なALS予防対策に資することを目的として、特に、食生活要因について注目した症例・対照研究を行う。愛知県内に在住するALS患者とその対照に郵送に自記式アンケート調査にて情報の収集を行う。本年度は、すでに調査の終了した症例のアンケート調査結果からALS患者の記述疫学特性について報告する。来年度、対照との比較により、今回得られた疫学仮説の検証を行う予定である。

## はじめに

筋萎縮性側索硬化症(ALS)はフリーラジカルによる運動ニューロンの損傷が原因といわれ、随意運動だけが進行性に動作できなくなる疾患であり、筋肉そのものの疾患でなく、筋肉を動かす運動ニューロンがおかされる疾患である。「ルー・ゲーリック病」とも呼ばれている。その特徴として、この疾患の多くは60歳以降に発症し、その生存期間は平均的には3年から5年、患者の5年後の生存率が20%とされている。ALSは特発性と、遺伝性の（一族に起こる）ものの2つのタイプもち、その多くは前者の特発性ALSが症例の90%以上をしめる特徴を有する。

本研究の主な目的はALSの発症および予後進展の防止を目的として、症例対照研究によりALS発症者の生活要因および食事要因、およびALS患者の予後進展要因に関する特性を明らかにすることである。今回は、本年度中に得られた症例となる愛知県内に在住の在宅ALS患者に関する

アンケート調査結果に基づき、ALS患者の疫学特性について報告する。

## 方 法

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の発症にかかわる生活環境要因と食事要因との交互作用を求めることを目的に、愛知県内に居住するALS患者を症例群とし、症例と同じ居住地の選挙人名簿から症例と性・年齢（±2歳）が一致する一般住民2例を対照群とする。

調査方法は症例、対照とも郵送による自記式のアンケート調査方法にて行う。症例は2004年9月に県から郵送される特定疾患の申請書書類に自記式調査票を同封し、対象者に配布し、回収は直接事務局（愛知県立看護大学）へ郵送とした。調査期間は約1ヶ月。対照に関しては、配布回収とも事務局が行う。調査項目は基本的属性（性、年齢、発病時の年齢）に加え、日常生活活動状態、人工呼吸器使用の有無、コミュニケーション手段、日常の生活状況（生きがいの有無、友人・知人の

訪問、家族とのコミュニケーションなど)、ADL (食事、移動、整容、排泄、入浴、歩行、階段昇降、着替え) 行政および医療サービスに対する満足度、病状やQOLの変化(昨年との比較、発病前の居住地、職業および生活習慣(主に身体的および精神的ストレス関連項目)、発病前および現在の食品摂取頻度調査を用いた食事内容(配偶者記入)を用いた。本研究計画は愛知県立看護大学倫理委員会の承認を受けた。倫理委員会に承認を受けるものとし、また研究参加者からは書面による同意(問診票に署名)を得ることとしている。

### 結果

回答の得られたALS患者(症例)は98例であった。症例の平均年齢は62.9(±9.9)歳で、ALS発症時の年齢は平均58.4(±10.7)歳であった。性比(男/女)は1.45:1であった。結果の概要は表1から表4と図1, 2に示した。症例のうち、病前の性格特性のうち、「負けず嫌い」「目標の達成のためには努力した」「精神的ストレスあり」は全体の60%以上に認められた。食事内容では、栄養素摂取別充足率では亜鉛、ビタミンEおよび食物繊維の充足率が100%を大きく下回っていた。また、食品群摂取別充足率では油脂類の充足率、乳類の充足率が100%を大きく上回り、一方、野菜類(緑黄野菜、他の野菜)および卵類の充足率が100%を大きく下回っていた。

### 考察

環境要因と遺伝要因の交互作用はALS発症の発症を予防する上で重要である。症例の疫学特性から、症例は活性酸素の発生(生活状況)がその防御(食事内容)よりも優位な状況にあることが予想された。来年度、対照との比較から、今回得られた疫学仮説と生活環境要因と食事要因の交互作用に関する検証を行う。

### 文献

- 1) Mitani K.: Relationship between especially amyotrophic lateral sclerosis, and magnesium status. *Magnes Res*, 1992; 5: 203-213
- 2) Durlach J, Bac P, Durlach K, et al: Are age-related neurodegenerative linked with various types of magnesium depletion? *Magnes Res*, 1997;10: 339-353
- 3) Bergoni m, Vinceti M, Pietrini V, et al: Environmental exposure to trace elements and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control studies. *Enviromen Res*, 2002; 89: 116-123.
- 4) Longnecker Mp, Kamel F, Umbach DM et al: dietary intake of calcium, magnesium and antioxidants in relation to risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology*, 2000; 19: 210-216.
- 5) Nelson LM, Mattin C, Longstreth WT Jr, McGuire V: Population-based case-control study of amyotrophic lateral sclerosis in western Washington State. II Diet. *Am J Epidemiol*, 2000; 151: 164-173.
- 6) Nelson LM, Mattin C, Longstreth WT Jr, McGuire V. Population-based case-control study of amyotrophic lateral sclerosis in western Washington State. I Cigarette smoking and alcohol consumption *Am J Epidemiol*, 2000; 151: 156-163.
- 7) Kamel F, Umbach DM, Munsut TL et al: Association of cigarette smoking with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology*. 1999; 18:194-202
- 9) Salazar-Grueso EF, Roos RP: Amyotrophic lateral sclerosis and viruses. *Clin Neurosci* 1995-96;3(6):360-7.
- 10) Hand CK, Rouleau GA: Familial amyotrophic sclerosis. *Muscle & Nerve* 2002;25:135-159.

表1. 症例の基本的属性（平成9年受給者との比較）

	本研究対象 平	成9年受給者
性比(男/女)	1.45:1 (58/40)	1.62:1 (2958/1826)
年齢		
40歳未満	3 (3.1%)	3.5
40 - 49	4 (4.1%)	10.1
50 - 59	27 (27.6%)	23.2
60 - 69	36 (36.7%)	36.1
70 -	28 (28.6%)	27.1

表2. ALS発病前の喫煙および飲酒習慣

喫煙習慣		
吸っていた	31	(31.6%)
やめた	18	(18.4%)
吸わない	49	(50.0%)
飲酒習慣		
ほとんど毎日	33	(33.7%)
週3 - 4日	13	(13.3%)
週1 - 2日	4	(4.1%)
ほとんど飲まなかった	48	(49.0%)



表 3. ALS 発病前の生活状況および性格特性

骨折や大けがの既往あり	18	(18.4%)
激しい運動をしていた	11	(11.2%)
筋トレを日課としていた	8	(8.2%)
精神的ストレスあり	62	(63.3%)
色の付いた野菜を好んだ	49	(50.0%)
負けず嫌いだった	62	(63.3%)
目標達成ための努力をした	65	(66.3%)

表 4. 症例(ALS 患者)の栄養素摂取状況 (平成 13 年国民栄養調査結果との比較)

	本研究対象	平成 13 年国民栄養調査結果 (40 歳以上)
総エネルギー量 (g) (kcal)	2026.4	1971.7
糖質摂取量 (g)	281.0	281.6
タンパク質摂取量 (g)	72.7	75.6
脂質摂取量 (g)	54.5	51.3
カルシウム摂取量 (g)	650.0	554.1
マグネシウム摂取量 (g)	265.0	284.8
亜鉛摂取量 (g)	8.6	9.0
ビタミン C 摂取量 (g)	115.9	126.3
ビタミン E 摂取量 (g)	7.9	8.7
食物繊維摂取量 (g)	12.1	16.0
糖質摂取割合	58.3	57.1
脂質摂取割合	23.0	23.1
タンパク質摂取割合	14.0	15.3

図1 栄養素別充足率の比較

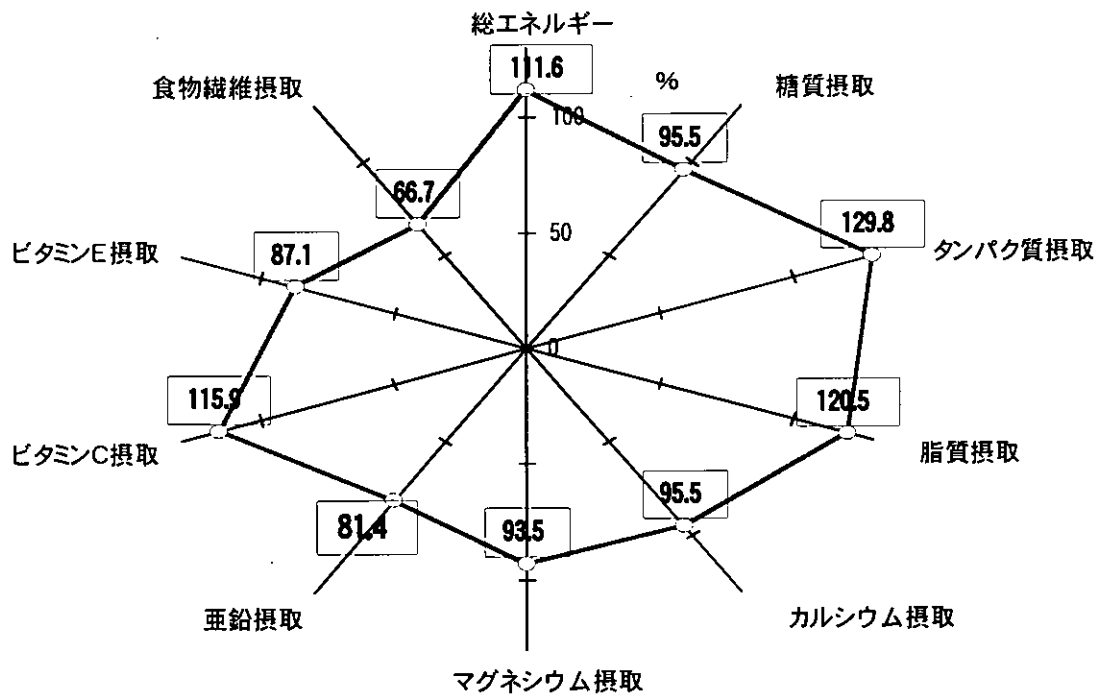
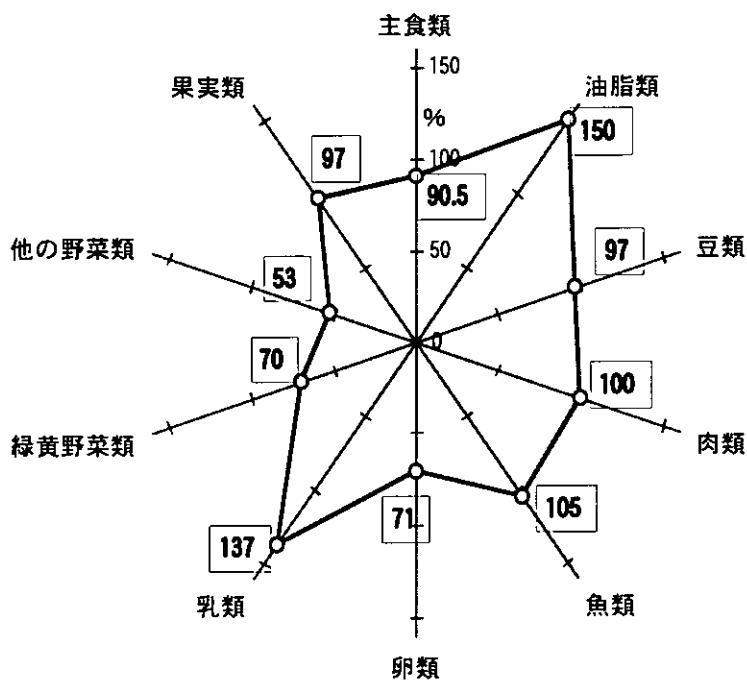


図2 食品群摂取量別充足率の比較



## **A case-control study of lifestyle and dietary nutritional risk factors for amyotrophic lateral sclerosis**

Okamoto Kazushi (Aichi Prefectural College of Nursing & Health, Department of Public Health), Kobashi Gen (Department of Health for Senior Citizens, Hokkaido University Graduate School of Medicine), Washio Masakazu (Department of Public Health, Sapporo Medical University School of Medicine), Sakamoto Naomasa (Department of Hygiene, Hyogo College of Medicine), Sasaki Satoshi ((National Institute of Health and Nutrition), Miyake Yoshihiro (Department of Public Health, Fukuoka University School of Medicine), Yokoyama Tetsuji (Department of Technology Assessment and Biostatistics, National Institute of Public Health), and Inaba Yutaka (Department of Hygiene, Juntendo University School of Medicine)

A case-control study has been carried out since 2002 in order to confirm risk factors in lifestyles and dietary nutritional factors for amyotrophic lateral sclerosis (ALS). We will plan to analyze the self-administered questionnaire obtained from patients with ALS, and two age and sex matched population-based controls. We obtained 98 ALS patients using self-administered questionnaire through the mail. Among these cases, the proportion of subjects with “hate to lose”, “work toward the goal” and “the presence of psychological stress” were be well below 100%. We will intend to verify these hypotheses using population-based controls by the end of next year.

**Key words:** amyotrophic lateral sclerosis, lifestyles, food, case-control study

# サルコイドーシスの症例・対照研究

横山徹爾(国立保健医療科学院・技術評価部)、中島正光(広島大学大学院・分子内科・第二内科)、江石義信(東京医科歯科大学病院・病理部)、三宅吉博(福岡大学医学部・公衆衛生学)、佐々木敏(独立行政法人国立健康・栄養研究所)、岡本和士(愛知県立看護大学・公衆衛生学)、小橋 元(北海道大学大学院医学研究科・老年保健医学)、阪本尚正(兵庫医科大学・衛生学)、鷺尾昌一(札幌医科大学・公衆衛生学)

## 研究要旨

サルコイドーシスは原因不明の疾患であるが、その病理像から何らかの外来抗原に対するIV型アレルギー反応である可能性が高く、その抗原に対して発症しやすい宿主要因が加わって起きると考えられている。近年、サルコイドーシスの病変部に *Propionibacterium acnes* の菌体の集積が認められることから *P. acnes* 原因説が注目されている。しかし、*P. acnes* は皮膚の常在菌であるため、横断的な研究デザインでは、因果関係の判断は困難である。本研究では、症例・対照研究の手法を用いて、*P. acnes* 原因説に対して疫学的な仮説検証を行う。健康な男女ボランティアを対象として生活習慣に関する質問票と皮膚の *P. acnes* 菌量との関係を調査して妥当性検討を行った後、その質問票を用いて多施設共同の症例・対照研究を行い、サルコイドーシス発病前の推定 *P. acnes* 菌量を症例と対照とで比較する。

## はじめに

サルコイドーシスは原因不明の全身性非乾酪性肉芽腫性疾患である。わが国では女性にやや多く(M:F=1:1.4)、年齢分布は20歳代と50歳代にピークを有する明らかな2峰性であり<sup>1)</sup>、また臨床経過は予後良好群と予後不良群に分かれ<sup>2)</sup>、寒い地域に多いなど、記述疫学的に興味深い特徴を有する。サルコイドーシスはその病理像から何らかの外来抗原に対するIV型アレルギー反応である可能性が高く<sup>3)</sup>、何らかの抗原に対して発症しやすい宿主要因が加わって起きると考えられており、この仮説に基づいて抗原となっている外因を調査することで発症機序の解明に繋がる可能性があると思われる。

近年、サルコイドーシスの病変部に *Propionibacterium acnes* の菌体の集積が認められることから *P. acnes* 原因説が注目され<sup>4,5)</sup>、特に日本の研究グループでさかんに研究が行われており今後の発展が期待されている。しかし、*P. acnes* は皮膚の常在菌であるため、横断的な研究デザインを用いてい

る限り、*P. acnes* が原因でサルコイドーシスを発症するのか、それともサルコイドーシスの病変部に *P. acnes* が集積しやすいのか(どちらが原因でどちらが結果か)を区別することは難しい。本研究では、症例・対照研究の手法を用いて、*P. acnes* 原因説に対して疫学的な仮説検証を行う。

## 対象と方法

本研究では、サルコイドーシス発病前の *P. acnes* への暴露量(皮膚の菌量)を、質問票によって推定することを試み、これを症例と対照とで比較する。そのために、研究は以下の2段階で実施する。なお、全ての研究は、厚生労働省／文部科学省の疫学研究に関する倫理指針に準じて研究計画をたて、所属機関の倫理審査委員会の承認と、研究対象者への説明と同意を得たうえで、研究を実施する。

### (1) 質問票の妥当性検討

健康な一般の男女ボランティア(人間ドック受診者)を対象として生活習慣に関するアンケート調査と、

皮膚の *P. acnes* 菌体量との相関を明らかにし、アンケート調査法によって *P. acnes* 菌体量を推定することの妥当性検討を行う。アンケートに含まれる項目は、居住地域、自宅の造り、自宅のほこりの積もりやすさ、換気習慣、在宅時間、寝具の種類と洗濯頻度、掃除の頻度、入浴・洗髪・洗顔・歯磨き・手洗い・うがいの頻度、にきびのできやすさ、髪長さ、ペット飼育歴、睡眠時間、ストレス等である。皮膚の *P. acnes* は小型の吸引装置によって鼻部の皮膚から採取し、速やかに凍結保存し、PCR 法により *P. acnes* の DNA 量を定量する<sup>9)</sup>。アンケート調査項目と、*P. acnes* 菌量との関係を解析し、重回帰分析により *P. acnes* の皮膚菌量の推定式を作成する。

## (2) 症例・対照研究

過去にサルコイドーシスの予後調査を実施した施設<sup>2)</sup>を中心として、研究への参加を呼びかける。サルコイドーシスは診断後3年以内の症例とし、対照は、各地域の検診受診者から選ぶ。症例・対照ともに100名ずつとする。(1)で妥当性を評価した調査票を用いて、発病前の生活習慣を調査し、皮膚の *P. acnes* 菌体量を推定し、症例と対照とで比較を行い、*P. acnes* 原因説の検定を行う。

## 今後の計画

倫理審査を経たのち、2004 年度前半に(1)の健診受診者を対象として質問票の妥当性検討を行う。2004 年度後半には(2)の症例・対照研究を実施する。

## 文献

1. Inaba Y, Minowa M, Osaki Y, et al. ed. Recent Statistical Data Book of Intractable Diseases in Japan. Research Committee on Epidemiology of Intractable Diseases, The Ministry of Health and Welfare of Japan. 1996; 22-23.
2. 横山徹爾, 田中平三, 千田金吾, 佐藤篤彦, 工藤翔二. 難治性サルコイドーシス定義のための予後調査. 厚生省特定疾患調査研究事業特定疾患に関する疫学研究班平成 10 年度研究業績集. pp.185-189. 1999.
3. Hunninghake GW, Costabel U, Ando M, et al. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 1999; 16: 149-73.
4. Abe C, Iwai K, Mikami R, et al. Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from sarcoidosis lymph nodes. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg (A) 1984; 256: 541-7.
5. Ishige I, Usui Y, Takemura T, et al. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. Lancet 1999; 354: 120-3.

# 全身性エリテマトーデスの症例対照研究

鷺尾昌一 (札幌医科大学・公衆衛生学)、清原千香子 (九州大学大学院医学研究院・予防医学)、堀内孝彦、原田実根 (九州大学大学院医学研究院・病態修復内科学)、古庄憲浩、林 純 (九州大学大学院・感染環境医学)、浅見豊子 (佐賀大学医学部附属病院・リハビリテーション部)、佛淵孝夫 (佐賀大学医学部・整形外科)、牛山 理、長澤浩平 (佐賀大学医学部・内科)、児玉寛子、井手三郎 (聖マリア学院短期大学)、岡本和士 (愛知県立看護大学・公衆衛生学)、小橋 元 (北海道大学大学院医学研究科・予防医学)、阪本尚正 (兵庫医科大学・衛生学)、佐々木 敏 (国立健康・栄養研究所)、三宅吉博 (福岡大学医学部・公衆衛生学)、横山徹爾 (国立保健医療科学院・技術評価部)、大浦麻絵、森 満 (札幌医科大学・公衆衛生学)、稲葉 裕 (順天堂大学医学部・衛生学)

## 要 約

全身性エリテマトーデス (SLE) の発症にかかわる遺伝的要因と環境要因の交互作用を求めることを目的に、内科 (膠原病外来) を受診している SLE 患者を症例群とし、整形外科および一般内科の患者と短期大学の学生から対照を募集している。解析予定の遺伝子は、1) SLE 発症のリスクを高めるとされる腫瘍壊死因子 (Tumor necrosis factor, TNF) 受容体遺伝子 (TNFR II) の多型、2) 喫煙は SLE 発症のリスクを高めるので、たばこ煙中の有害物質である芳香族炭化水素の代謝に関与する第 1 相薬物代謝酵素 cytochrome P4501A1(CYP1A1)と第 2 相薬物代謝酵素 glutathione S-transferase M1(GSTM1)の遺伝子多型を予定している。SLE 発症のリスクを遺伝的要因としての TNFR II 遺伝子多型の関与と喫煙と薬物代謝酵素(CYP1A1、GSTM1)の交互作用について検討する予定である。

キーワード：全身性エリテマトーデス、遺伝子多型、環境要因、交互作用、患者対照研究

## はじめに

全身性エリテマトーデス (SLE) の発症は典型的な自己免疫疾患で、膠原病の代表的疾患である。SLE は 15~40 歳の妊娠可能な年齢の女性に多く、発症に性ホルモンの関与が考えられている<sup>1, 2)</sup>。また、家族内発生が高く、遺伝的要因の関与が大きいと考えられる<sup>1, 2)</sup>。しかし、遺伝子だけで、全てがきまるのではなく、遺伝的に感受性の高い者に、環境要因が作用して自己抗体が産生され、SLE が発症すると考えられる<sup>1, 2)</sup>。

SLE 発症の関連要因としては、1) 閉経後のホルモン療法 (エストロゲン)、月経不順などの卵巣ホルモン<sup>1, 2, 3, 5)</sup>、2) 蕁麻疹、薬物アレルギー

の既往歴<sup>2, 5)</sup>、3) 喘息、自己免疫疾患の家族歴<sup>3, 5)</sup>、4) 肉を多く摂取するなどの食習慣<sup>5)</sup>、5) 喫煙<sup>4, 5)</sup>、6) 外科手術、輸血などによるウイルス感染<sup>1, 2, 3, 4)</sup>、7) HLA-DR の HLA 抗原<sup>1)</sup>などが危険因子として、8) ミルクや乳製品<sup>5)</sup>、9) アルファ-トコフェロールなどの抗酸化物質<sup>1, 5)</sup>が予防因子として報告されている。

遺伝子多型としては腫瘍壊死因子 (Tumor necrosis factor, TNF) 受容体遺伝子 (TNFR II) の多型が危険因子として報告されている<sup>6)</sup>。

遺伝子多型と、SLE 発症の関連要因を組み合わせた研究デザインとしては、喫煙などのリスク要因の代謝に関係する遺伝子多型の交互作用をみる

ものであっても良いと考えられる。

## 方法

全身性エリトマトーデス (SLE) の発症にかかわる遺伝要因と環境要因の交互作用を求めることを目的に、九州大学病院および佐賀医科大学とその関連施設を受診している SLE 患者を症例群とし、九州大学病院総合診療部および佐賀医科大学整形外科の外来患者と聖マリア学院短期大学の学生から対照を募集する。解析予定の遺伝子は、1) SLE 発症のリスクを高めるとされる腫瘍壊死因子 (Tumor necrosis factor, TNF) 受容体遺伝子 (TNFR II) の多型、2) SLE 発症のリスクを高める喫煙の際の有害物質とされる芳香族炭化水素の代謝に関与する第 1 相薬物代謝酵素 cytochrome P4501A1(CYP1A1) と第 2 相薬物代謝酵素 glutathione S-transferase M1(GSTM1) の遺伝子多型を予定している。SLE 発症のリスクを遺伝的要因としての TNFR II 遺伝子多型の関与と喫煙と薬物代謝酵素(CYP1A1, GSTM1)の交互作用について検討する。

対象者には、発症関連要因に関する質問票を配布し、同時に遺伝子多型の検査のための採血をする。

質問票の質問項目は 1) 本人の既往歴、2) 親・兄弟の既往歴、3) 月経や出産など生殖に関する項目、4) 喫煙・飲酒習慣、5) 運動・睡眠などの生活習慣、6) ストレス、7) 食事やおやつなど食生活に関する項目からなっている。

倫理的事項としては、1) 各施設の倫理委員会で承認を得る予定である。2) インフォームド・コンセントの際には、対象者からは署名入りの同意を頂く予定である。3) プライバシー保護の方法として連結不可能匿名化を行う。4) 遺伝子解析者への試料提供は匿名化として行い、個人には遺伝子解析の結果は知らせることはできない。結果は集団の結果としてのみ、公表する。5) 匿名化したデータの提供をうけ、疫学者が解析する。

札幌医科大学、九州大学、佐賀大学医学部 (整形外科のみ)、聖マリア学院短期大学の倫理委員会の承認が得られている。佐賀大学医学部の内科は現在申請中である。

## 結果

SLE の症例 81 例の調査が終了している。症例の平均年齢は 40.9 (±13.2) 歳で、SLE 診断時の年齢は平均 27.7 (±10.3) 歳であった。性別は全て女性。症例の一部については遺伝子多型の測定が終了している。現在、症例を増やすとともに、対照を集めているところである。中間報告は表 1 から表 2 に示すとおりである。

## 考察

環境要因と遺伝要因の交互作用は SLE 発症の発症を予防する上で重要である。種々の生活環境要因の調査も行っているため、TNFR II の遺伝子多型に関しても交互作用がある環境要因を見つけることができる可能性がある。また、CYP1A1 や GSTM1 においても遺伝子多型と喫煙の有意な交互作用があることが、予想される。

## 文献

- 1) Rus V, Hochberg MC.: The epidemiology of systemic lupus erythematosus. Wallace DJ, Hahn BH (eds), Dubois' Lupus Erythematosus (6<sup>th</sup> ed). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 2002; 65-83.
- 2) 永井正規: 難病とその他の疾患、SLE (全身性エリトマトーデス). 日本疫学会編、疫学ハンドブック、重要疾患の疫学と予防. 南江堂、東京. 1998; 260-262.
- 3) 永井正規、廣畑富雄、大野良之、他: 全身性エリトマトーデスの患者・対照研究. 厚生省特定疾患難病の疫学調査研究班 平成 2 年度研究業績集. 厚生省特定疾患難病の疫学調査研究班 (班長 柳川 裕)、南河内町. 1991; 145-153.
- 4) Nagai M, Hirohata T, Matsumoto Y, et al. A case control study of female systemic lupus erythematosus in Japan. European J Public Health 1993; 3: 172-176.

- 5) Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, et al:  
Hormonal, environmental, and infectious risk  
factors for developing systemic lupus  
erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 41:  
1714-1724.
- 6) Morita C, Horiuchi T, Tsukamoto H, et al:  
Association of tumor necrosis factor receptor type II  
polymorphism 196R with systemic lupus  
erythematosus in the Japanese. *Arthritis Rheum*  
2001; 44: 2819-282



表 1. 調査施行時の年齢分布

年齢 (歳)	人数	(%)
15 ~ 19	3	(3.7%)
20 ~ 24	5	(6.2%)
25 ~ 29	9	(11.1%)
30 ~ 34	13	(16.0%)
35 ~ 39	11	(13.6%)
40 ~ 44	11	(13.6%)
45 ~ 49	5	(6.2%)
50 ~ 54	12	(14.8%)
55 ~ 59	5	(6.2%)
60 ~ 64	2	(2.5%)
65 ~ 69	4	(4.9%)
70 ~ 74	1	(1.2%)

表 2. S L E 診断時の年齢分布

診断時の年齢 (歳)	人数	(%)
10 ~ 14	4	(4.9%)
15 ~ 19	14	(17.3%)
20 ~ 24	16	(19.8%)
25 ~ 29	20	(24.7%)
30 ~ 34	11	(13.6%)
35 ~ 39	7	(8.6%)
40 ~ 44	3	(3.7%)
45 ~ 49	3	(3.7%)
50 ~ 54	1	(1.2%)
55 ~ 59	0	(0.0%)
60 ~ 64	1	(1.2%)
65 ~ 69	1	(1.2%)

表 3. 最終学歴

最終学歴	人数	(%)
中学	7	(8.6%)
高校	35	(43.2%)
短期大学・専門学校	28	(34.6%)
大学・大学院	11	(13.6%)

表 4. 結婚

婚姻状態	人数	(%)
未婚	28	(34.3%)
既婚	45	(55.6%)
死別・離婚・別居	8	(9.9%)

表 5. SLE 診断前の既往歴

疾病	人数	(%)
がん	1	(1.2%)
脳卒中	0	(0.0%)
心筋梗塞	0	(0.0%)
糖尿病	0	(0.0%)
喘息	1	(1.2%)
関節リュウマチ	3	(3.7%)
アレルギー	6	(7.4%)
じんま疹	8	(9.9%)
アトピー性皮膚炎	4	(4.9%)
膠原病	3	(3.7%)
腎炎	4	(4.9%)
赤痢	1	(1.2%)
外科手術	41	(50.6%)
輸血	10	(12.3%)

表 6. 家族歴

疾病	人数	(%)
がん	16	(19.8%)
脳卒中	8	(9.9%)
心筋梗塞	3	(3.7%)
糖尿病	11	(13.6%)
喘息	4	(4.9%)
関節リュウマチ	4	(4.9%)
アレルギー	4	(4.9%)
じんま疹	5	(6.2%)
アトピー性皮膚炎	3	(3.7%)
SLE	2	(2.5%)
膠原病	5	(6.2%)
自己免疫性疾患	3	(3.7%)
腎炎	3	(3.7%)

表 7. 初潮の年齢 (歳)

年齢 (歳)	人数	(%)
10-11	14	(17.3%)
12-13	37	(45.7%)
14-15	21	(25.9%)
16+	4	(4.9%)
未記入	5	(6.2%)

表 8. SLEになる前の子供の数

子供 (人)	人数	(%)
なし	52	(64.2%)
1	11	(13.6%)
2	15	(18.5%)
3	3	(3.7%)

表 9. SLEの診断前の流産の数

流産 (回)	人数	(%)
なし	66	(81.5%)
1	10	(12.3%)
2	2	(2.5%)
3	1	(1.2%)
4	2	(2.5%)

表 10. SLEの診断前のピルの使用

年齢 (歳)	人数	(%)
あり	13	(16.0%)
なし	62	(76.5%)
未記入	6	(7.4%)

表 11. SLEの診断前の喫煙習慣

分類	人数	(%)
煙草を吸う	19	(23.5%)
煙草を吸っていたが止めた	3	(3.7%)
煙草は吸ったことがない	59	(72.8%)

表 12. SLEの診断前の飲酒習慣

分類	人数	(%)
週に6日以上	2	(2.5%)
週に4-5日	3	(3.7%)
週に1-3日	9	(11.1%)
週に1日未満	34	(42.0%)
全く飲まない	33	(40.7%)