

高血圧・循環器病関連遺伝子の解析に基づく未知の有用蛋白質の臨床応用

分担研究者 檜垣 實男 愛媛大学医学部内科学第二講座教授

研究要旨

レニン-アンジオテンシン系因子および転写因子を中心とした遺伝子解析と分子機能の解析を進めた。アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型が肥大型心筋症の予後と関連することを見出した。また動脈硬化に関与すると考えられる転写因子 C/EBP δ の血管壁における新しい役割を証明した。

研究協力者

大蔵 隆文

愛媛大学医学部

内科学第二講座・講師

A. 研究目的

遺伝子多型マーカーを用いたジーンスクリーニングによって高血圧・循環器病の発症、増悪、あるいは罹患抵抗性などに関与する遺伝子、さらには各種治療におけるレスポナー/ノンレスポナーを決定する未知の遺伝子を特定し、無細胞蛋白合成系による蛋白質の大量合成を行い、その構造解析による新規薬物の創薬や、蛋白質工学による機能改変蛋白を用いた治療を開発する。また循環器病の体質に関与する蛋白質の機能解析も行い、テーラーメイド医療に有意義な素因診断法も開発する。

B. 研究方法

遺伝子解析研究：愛媛大学第二内科関連医療機関 19 施設に受診中の循環器病患者、および大迫町一般住民検診受診者において遺伝子解析に関するインフォームドコンセントを得た方を対象に、本態性高血圧症（1,000 例）、高コレステロール血症（1,000 例）、冠動脈疾患（1,000 例）、心筋症（300 例）、脳卒中（1,000 例）、動脈硬化症（非侵襲的動脈硬化

検査 500 例）の患者の DNA 収集と詳細な調査票の作製を行い、遺伝子型と予後、治療効果、薬剤の有害事象との関連に対する介入試験を行う。またわれわれが研究を進めている転写調節蛋白 C/EBP δ の解析を中心に、有用な遺伝子（未知・既知共に）の検索を進める。

（ヒト由来試料を用いた遺伝子解析研究と疫学研究に対する倫理面の配慮）

ヒトの遺伝子解析研究については、ヒト由来試料等の提供者、その家族・血縁者その他関係者の人権及び利益の保護の取扱いについては十分な配慮を行うことと、検体の保存と将来にわたって検体を使用することを盛り込んだ研究計画書を、愛媛大学医学部倫理委員会および倫理委員会の存在する関連病院で承認得た上で、文書による同意を得た方のみから DNA 検体を頂き実施している。また検体と個人情報、鍵を有する関係者以外の出入りが不可能な DNA 組替え実験専用室において、個人情報を匿名化した状態で行っており、個人情報との連結を可能とするキーは管理者（愛媛大学医学部医療情報部 石原 謙 教授）のみが教授室金庫内に保管している。現在、共同研究機関である東北大学医学系研究科は倫理委員会の承認済みである。

蛋白質工学的研究：以上の遺伝子解析研究によって発見した有用蛋白質を無細胞蛋白

合成系によって大量に作製し、構造解析によって分子標的療法をめざした創薬を行う。また特異的ヒト型モノクローナル抗体の作製による抗体療法や、蛋白質の構造改変による有用な蛋白質療法を開発する。さらにさまざまな蛋白質の多型を区別する検査法を開発して、将来の個別化医療におけるエビデンスを確立する。

C. 研究結果

愛媛大学において151例の肥大型心筋症患者からDNA検体を採取した。このうち一回以上の心血管イベントの既往がある者は65名(43%)、心血管イベントの既往のない者は86名(57%)であった。アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型の頻度はDD, ID, II型おのおの14%, 46%, 40%であった。心血管イベントの発症はDD型の36%, ID型の32%, II型の58%に認められた。心血管イベントの発症はII型において有意(3.1倍, $P < 0.01$)に高値であった。

一方、我々は動脈硬化に深く関わっているPDGF受容体(PDGF-R)遺伝子(*PDGF-R*)の発現調節に関する研究を*in vitro*の系で進めているが、その結果、*PDGF-R*プロモータ領域に関する研究では、その基本的な転写活性にCCAAT/enhancer-binding proteins (C/EBPs)ファミリーのメンバー、C/EBPが重要な役割を演じていることを明らかにしている。そこで血管平滑筋特異的C/EBP過剰発現ラットを作出し、血管平滑筋組織より単離・培養したVSMCsにおける*PDGF-R*発現とPDGFに対する細胞増殖能を検討した。血管平滑筋に特異的な遺伝子発現を誘導するために、SM-アクチン遺伝子プロモータにC/EBP-cDNAを連結した遺伝子を作製し、この融合遺伝子をマイクロインジェクション法によりラット受精卵に導入してC/EBP δ 過剰発現トランスジェニックラット(Tg)を作出した。このラットは血管平滑筋に特異的なC/EBP過剰発現を認め、大動脈平滑筋

より単離・培養したVSMCsにおいてもC/EBPおよびPDGF-Rの過剰発現を認めた。PDGFs (PDGF-AA およびBB) に対する細胞増殖能をBrdU取り込み率で比較した結果、non-Tg由来の細胞に比べTg由来細胞では基礎レベルならびにPDGFs刺激下における細胞増殖能はともに有意に増加していた。

D. 考察

肥大型心筋症の予後には個人差があるが、今回の遺伝子解析結果から、アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型が心血管イベントの発症に関与している可能性が示唆された。また、我々は高血圧・循環器病の原因候補遺伝子を転写因子に絞り、特にC/EBPの研究を進めているが、今回の成績から、VSMCsにおけるPDGF-Rを介する細胞増殖能は外因性C/EBP δ の過剰発現によって*in vivo*でも促進することが明らかになり、C/EBP δ の血管壁における新しい役割が証明された。

E. 結論

高血圧・循環器病関連遺伝子の解析によって、アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型と肥大型心筋症の予後に関する関連が明らかになった。また転写因子C/EBP δ の血管壁における新しい役割が証明された。これらの知見をさらに分子疫学的に裏付けることで、プロテオ科学に基づく未知の有用蛋白質の臨床応用の可能性も高まったと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表

(1) Ogimoto A, et al. Relationship between Angiotensin-Converting Enzyme II Genotype and Cardiovascular Events in Patients with Hypertrophic

Cardiomyopathy. American College of Cardiology 52nd Annual Scientific Session, March 30-April 2, 2003, Chicago, Illinois, USA. [Journal of American College of Cardiology 41 (suppleA): 146A, 2003]

- (2) 檜垣實男. 循環器薬の標的分子とクリニカルファーマコジェネティクス. 千里ライフサイエンスセミナー「ファーマコジェノミクスと臨床的エビデンス」(2003年2月27日:大阪)
- (3) 大蔵隆文, 檜垣實男. 高血圧性臓器障害の臨床的評価. 第51回日本心臓病学会シンポジウム(2003年9月10日:東京)
- (4) Ogimoto A, et al. Relation Between Angiotensin-Converting Enzyme II Genotype and Cardiovascular Events in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. 第67回日本循環器学会総会(2003年3月28-30:福岡) [Jpn Circ J 67(suppl.I): 227, 2003]
- (5) 三好賢一, 福岡富和, 渡邊早苗, 大蔵隆文, 檜垣實男. メサンギウム細胞増殖における転写因子 C/EBP β の役割. 第10回日本遺伝子診療学会大会(2003年7月24-25日:大阪)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 健康危険情報

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん予防等健康科学総合）
分担研究報告書

大迫町における同胞相対危険度算出の試み

分担研究者 今井 潤 東北大学大学院薬学（併）医学系研究科臨床薬学分野 教授

研究要旨

これまで我が国において、罹患同胞対法を用いた高血圧発症遺伝子同定のための研究はほとんど行われていなかった。罹患同胞対法を用いた解析を行うに当たっては、「同胞相対危険度 (λ_s)」を用いる必要があるが、本邦のみならず諸外国においても、正確な同胞相対危険度の報告は稀であった。我々は大迫町において長期にわたり 24 時間自由行動下血圧・家庭血圧に基づき正確に高血圧者を同定している。また同時にアンケート調査に基づき同胞の高血圧罹患情報を捉えている。これらの情報に基づき同胞相対危険度を算出したところ、大迫町住民における同胞相対危険度は 2.311 であった。また、これに加え罹患同胞対法や症例対照研究における必要対象数の算出も行った。今回はアンケート調査により高血圧同胞を同定したが、今後 24 時間自由行動下血圧・家庭血圧等の詳細な血圧測定値に基づいた情報を加味する事により、さらに正確な同胞相対危険度算出が可能となると考えられた。

研究協力者

目時 弘仁

東北大学大学院医学系研究科
臨床薬学分野・大学院生

A. 研究目的

欧米においては、罹患同胞対法に基づき、これまで多くの高血圧発症遺伝子に関する研究報告が行われている。本邦においても糖尿病や精神神経疾患等について罹患同胞対法を用いた原因遺伝子同定が行われてきたが、高血圧症に関する報告は少ない。

罹患同胞対法は互いに罹患している同胞を集め、これらを対象として遺伝子研究を行っていく手法である。浸透率の設定や疾患遺伝子頻度の設定が不要である反面、同胞相対危険度を用いる必要がある。

同胞相対危険度とは、疾患をもつ個体の同胞が、それと全く無関係の個体に比べどの程度当該疾患発症率が高くなるかを見る指標である。

罹患同胞対法は遅発性の疾患に対して遺伝子解析を効率的に施行しうることが利点である一

方、正確な同胞相対危険度が算出されていない場合は解析上問題となる。

我々は高血圧・関連する生活習慣病領域の遺伝子研究を行う目的で、岩手県大迫町における対象者より文章による同意を得た上で DNA 抽出のための採血を行い、遺伝疫学研究を行ってきた（詳細は前項参照）。

これまで、本研究は、欧米で報告された候補遺伝子とその近傍領域の遺伝子解析により、日本人の高血圧候補遺伝子を明らかにしてきた。しかしながら、今後は日本人独自の高血圧候補遺伝子研究発展のため、罹患同胞対法を含めた解析方法を再検討する必要がある。これまで、罹患同胞対法に必要な同胞罹患率を我が国において正確に算出する試みは行われていなかったことから、本研究では同胞罹患率の算出を行い、また、一般住民において罹患同胞対法を行った場合には必要な対象者数について検討を行った。

B. 研究方法

大迫町一般地域住民で 24 時間自由行動下血圧測定に参加した 40 歳以上の住民を代表する男女

1542 人を対象とした。

24 時間自由行動下血圧にて測定した血圧の平均値を用い、収縮期血圧 135mmHg 以上、拡張期血圧 80mmHg 以上、降圧薬による治療を受けている、のいずれかを満たしているものを、高血圧者と定義した。

1998 年 2 月に 35 歳以上の全町民を対象として行った生活習慣全般についての詳細なアンケート調査である「生活と健康に関する調査票」内の家族の高血圧症罹患の有無についての項目を利用し、同胞の高血圧症罹患の有無を判定した。

同胞の高血圧症罹患の有無で高血圧症罹患の有無に対する多重ロジスティック回帰分析を行い、年齢、性別、喫煙、高脂血症、糖尿病、脳心血管疾患の既往にて補正を行ってオッズ比を計算し、計算されたオッズ比を同胞相対危険度(λ_s)の推定値とした。

推定された同胞相対危険度をもとに、必要サンプル数を推定した。

罹患同胞対が同じ親を元とする遺伝子(同祖遺伝子)を共有していないとするとその確率 Z_0 は $Z_0=0.25/\lambda_s$ となる。

このような集団が N 組集まったとして、そのうち同祖遺伝子がない同胞対の数は 2 項分布を利用して $n_0=N C_{n_0} Z_0^{n_0} (1-Z_0)^{(N-n_0)}$ で求められる。

一方、罹患同胞対法における LOD スコアは Riche の理論により先述の n_0 と N で表され、以

下の式の通りとなる。

$$L = n \log_{10} \left(\frac{n_0/N}{0.25} \right) + (N-n_0) \log_{10} \left(\frac{1-n_0/N}{0.75} \right)$$

今回は連鎖があると認める LOD スコアの閾値を 3 と設定し、このために必要な n_0 の最大値を求め、これを W とした。

実際に N 組の罹患同胞対が集まったとき、 n_0 が W 以下となる確率が検出力である。検出力が 0.9 以上となるために必要な同胞対数を求めた。

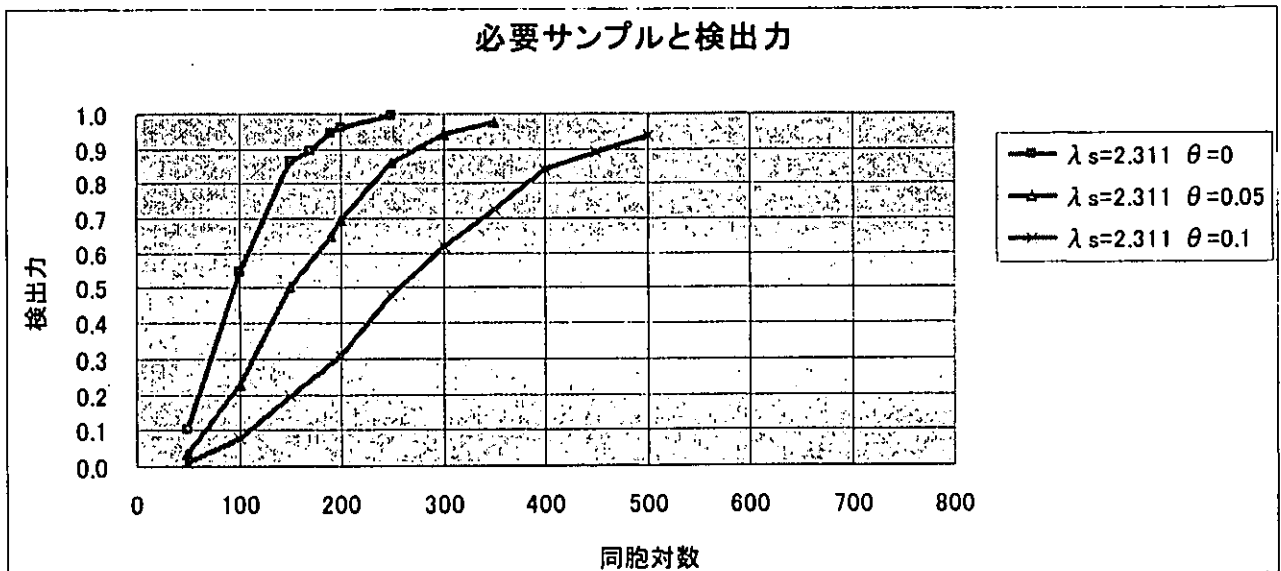
解析は、統計パッケージ SAS, Version 8.2 (SAS Inc, Cary NC) を用いた。

(倫理面への配慮)

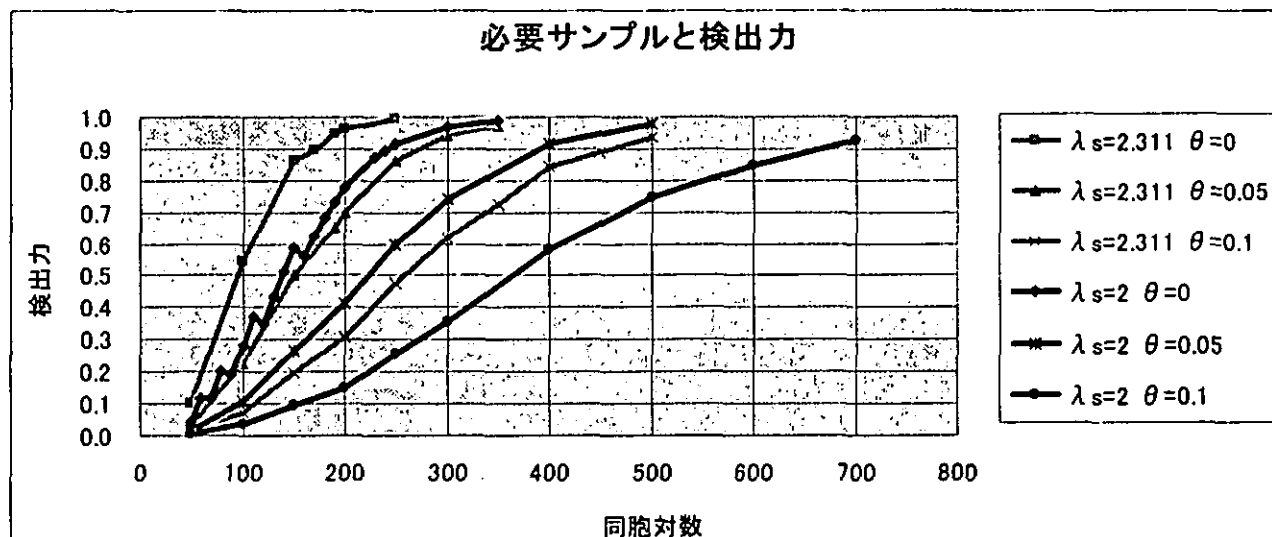
ヒトの遺伝子解析研究については、ヒト由来試料等の提供者、その家族・血縁者その他関係者の人権及び利益の保護の取扱いについては十分な配慮を行うことと、検体の保存と将来にわたって検体を使用することを盛り込んだ 2001 年 3 月 29 日に交付された 3 省庁合同ガイドライン「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、ヒトゲノム研究審査申請書「高血圧および関連合併症における疾患感受性遺伝子の解析」に、共同研究先も明記した上で、東北大学、大阪大学および愛媛大学倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

大迫地区における同胞相対危険度 (λ_s) の推定値は 2.311(1.490-3.585)であった。



必要サンプルと検出力



この結果を基に、マーカーと候補遺伝子との距離が 10.14cM で、検出力を 0.9 としたときに必要となる罹患同胞対数は 460 対となった (図 1)。

同胞相対危険度の正確な算出により、同胞相対危険度が低下した場合のシミュレーションも行った。同胞相対危険度が 2 であった場合には必要同胞対数が 680 対と増大した (図 2)。

D. 考察

これまで我々は大迫町地域住民を対象とした遺伝子研究を行ってきたが、これまで実施してきた方法は罹患同胞対法と異なり、将来発症するであろう未発症者を遺伝要因なしとして解析しているという欠点がある。この問題点は症例対照研究においても同様であるが、罹患同胞対法による解析では認められず、これが罹患同胞対法が有用である点である。

我々が求めた同胞相対危険度の推定値以前にも、いくつかの同胞相対危険度の推定値が求められているが、そのほとんどは再現性が乏しい随時血圧に基づくものであり、また血圧基準値自体が現在の判定基準と異なっているということもあり、罹患同胞対法を行うに当たり、またサンプル数の妥当性を検討するに当たっての精度に欠けるものであった。

今回の報告は、血圧値の詳細な評価が可能である 24 時間自由行動下血圧測定により高血圧の診断を行っていることから、今回求めた同胞相対危険度の推定値はより正確なものであると考えら

れる。

一方、今回の研究において、対象者の申告に基づいて高血圧同胞を同定している点は、診断精度を低下させる要因であると考えられる。今後血圧値の追跡を継続することにより、より正確な同胞相対危険度算出が可能となると考えられる。

罹患同胞対法による解析は遺伝子全般にわたる領域の絞り込みには有用であるが、これまで我々が行ってきた、一般地域住民を対象とした分析や症例対照研究と異なり、どの候補遺伝子が疾患と関連しているかを見ることはできない、という研究手法上の限界が存在する。

このため、我々は大迫地区においては、罹患同胞対法の基礎となる同胞相対危険度のようなデータを蓄積していくと共に、地域住民を対象とした横断研究・縦断研究を行うことにより、候補遺伝子を特定していく必要があると考える。

E. 結論

日本人一般地域住民における λ_s の推定値は 2.3 であり、これによって想定される罹患同胞対法のサンプル数は 460 対であった。この結果はアンケートに基づく横断的研究によるものであり、今後は同胞調査に基づく前向き研究を行い、精度を高めていく必要があると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2.学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 健康危険情報

なし

生活習慣・危険因子と高血圧発症リスクとの関連

分担研究者 大久保 孝義 東北大学大学院薬学研究科医薬開発構想寄附講座 講師

研究要旨

現在日本において年間約14万人が脳卒中を発症している。脳卒中は要介護・痴呆の最大の危険因子であり、その最大の予防可能な危険因子は高血圧である。よって高血圧の発症予防・合併症進展の予防は厚生労働行政上の極めて重要な課題である。

大多数の高血圧は、個々の遺伝子異常・多型の効果は決定的ではなく、複数の遺伝子効果が合算され、さらに生活習慣の効果が加わることで発症するという多因子病である。

本研究の目的は、家庭血圧に基づき正確な高血圧発症評価が可能である大迫コホートにおいて、高血圧発症に関する生活習慣を解明し、さらに遺伝子型との相互作用を解明することである。本年度は高血圧発症に関する生活習慣についての分析を実施した。

生活習慣アンケート調査に参加し、家庭血圧を測定した520名中、約4年間に148名（28%）が高血圧に進展した。高血圧発症リスクの有意な独立した予測因子は、高齢・肥満・男性・脳卒中の既往・ウイスキーの飲酒、であった。今後さらに遺伝要因との相互作用に関する検討を行うことにより、各個人のライフスタイル・遺伝的要因に応じたよりきめ細かく、かつ無駄のない高血圧の予防対策が可能となることが期待される。

研究協力者

浅山 敬

東北大学大学院医学系研究科

臨床薬学分野・大学院生

菊谷 昌浩

東北大学大学院薬学研究科

医薬開発構想寄附講座・助手

定されることに加えて、1か月のような長期間での平均値を指標とすれば、非常に高い再現性が期待される。実際、家庭血圧と随時血圧を比較したところ、家庭血圧で臓器障害や予後予測能に優れていることが報告されている。したがって、地域における高血圧者の頻度や高血圧患者の推移を評価するには、家庭血圧を用いることでより精度の高い情報が得られるものと考えられる。

本研究の目的は、地域住民における家庭血圧測定値の推移を長期追跡し、高血圧の発生と進展に係る生活習慣および遺伝子型との相互作用を解明することである。本年度は特に高血圧発症に関する生活習慣についての分析を実施した。

A. 研究目的

わが国高齢者における要介護発生の最大の原因は脳血管疾患であり、その最大の危険因子が高血圧である。したがって高血圧の発生と進展に関わる要因を明らかにすることには重要な意義がある。その要因を解明するために多くの調査が行われてきたが、これらの研究は外来・住民検診時の随時血圧を評価指標としていた。随時血圧測定値は、その日の体調や精神緊張などの影響を受けるため、再現性に乏しいことが指摘されてきた。

一方、家庭血圧は起床直後の一定の状況下で測

B. 研究方法

①研究デザイン

本研究の対象地域は岩手県稗貫郡大迫町である。大迫町は盛岡市の南東20km、仙台市の北100kmに位置し、北上山地に囲まれた農村であり、

内川目・外川目・危が森・大迫の4地区から構成されている。

平成12年国勢調査報告により、大迫町の人口は、男性3318名、女性3619名の計6937名であり、65歳以上の高齢者人口割合は、29.8%である。

われわれは、1988年以来、この大迫町の住民を対象に家庭血圧測定を中心とした保健事業を実施している。

家庭血圧は、各地区の公民館で医師・保健婦による家庭血圧測定の意義と実際の測定のための講習会を開催したのちに、各世帯に1台ずつ家庭用自動血圧計を配布して、導入を行った。各世帯から必ず1人以上の参加を求め、未参加世帯には、保健婦の個別訪問による説明と指導を行った。以上の過程を通じ、1988年より現在にいたるまで同町民に家庭血圧測定を普及させてきた。

家庭血圧は朝、起床後、1日1回、排尿後、朝食前に、座位で2分間の安静後に測定した。一定の条件下で測定するよう指導を行い、毎年1ヶ月間の血圧値の記録及び提出を求めた。1ヶ月間の血圧値の平均が135/80mmHgの者に対しては保健婦が個別に生活・栄養指導を行い、必要に応じて医療機関受診を推奨した。

大迫町では、1988-1995年(第1期)、1997-2000年(第2期)、2001-2004年(第3期)の3期にわたり、家庭血圧測定を中心とした保健事業を実施している。

また、1998年2月に35歳以上の全町民を対象に、生活習慣についての広範なアンケート調査を実施した。

②本研究における解析対象者

1998年3月から2000年12月の間に第2期家庭血圧測定に参加し、家庭血圧を3回以上測定し

た者2143人のうち、降圧薬服用者または家庭血圧平均が135/85mmHg以上のもの670人を除外した。さらに1998年の生活習慣アンケート調査に有効回答のなかった430人を除外した。このうちさらに第3期家庭血圧測定に不参加または家庭血圧を3回以上測定していないもの523人を除外した、520人(男性199人、女性321人)を分析対象とした。

③分析項目

第2期家庭血圧測定時における正常血圧者(家庭血圧正常血圧かつ降圧薬非服用者)のうち、第3期家庭血圧測定時の正常血圧者(家庭血圧正常血圧かつ降圧薬非服用者)と高血圧者(家庭血圧高血圧または降圧薬服用者)間で、第2期家庭血圧測定以前の1998年2月に実施されたアンケート調査より得られた生活習慣との関連を分析した。家庭血圧による高血圧の定義は、家庭血圧平均値135/85mmHg以上、とした。

④分析方法

高血圧発症の有無と生活習慣との関連は、分散分析、またはカイ2乗検定を用いて分析を行った。各パーセント(%)有効回答者における割合として表示した。

$P < 0.05$ を統計学的に有意とした。有意な関連が見られた項目を従属変数とした多重ロジスティック回帰分析を実施し、高血圧発症のオッズ比を求めた。解析は、統計パッケージSAS, Version 8.2 (SAS Inc, Cary NC)を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、東北大学倫理委員会の承認を受けて実施しており、情報提供者のプライバシーの保護には厳重な注意を払っている。

C. 研究結果

第3期家庭血圧測定の結果、第2期家庭正常血圧であった研究対象者520名中、148名(28%)が高血圧に進展し、372名(72%)が正常血圧を維持していた。

生活習慣調査から第3期家庭血圧測定までの平均期間は3.9年であった。

①基本特性(表1)

高血圧発症者は正常血圧者と比べ、男性の割合が高く、平均約6歳高齢であり、生活習慣調査時のbody mass index(BMI)が高値であった。高血圧発症者は正常血圧者と比べ、生活習慣調査時に脳卒中・心臓病の既往を有するものの割合が高かった。その他の既往歴および喫煙者割合に差は無かった。

表1 対象者の基本特性

	正常血圧者	高血圧発症者	P-value
N(総計 520)	372	148	
男性, n (%)	129 , 34.7%	70 , 47.3%	0.008
生活習慣調査時年齢(歳)	55.6	61.1	<.0001
生活習慣調査時体重(kg)	55.9	57.4	0.1
生活習慣調査時 BMI(kg/m ²)	23.0	23.9	0.005
生活習慣調査時 BMI25kg/m ² 以上の n (%)	77 , 21.9%	44 , 33.1%	0.01
既往歴あり, n (%)			
脳卒中	2 , 0.5%	9 , 6.1%	<.0001
心臓病	13 , 3.5%	11 , 7.4%	0.05
腎臓病	13 , 3.5%	8 , 5.4%	0.3
高脂血症	36 , 9.7%	9 , 6.1%	0.2
肝臓病	12 , 3.2%	8 , 5.4%	0.2
喫煙, n (%)			
吸う	74 , 19.9%	29 , 19.6%	0.1
やめた	23 , 6.2%	17 , 11.5%	

BMI : body mass index

②飲酒との関連 (表 2)

高血圧発症者と正常血圧者間で生活習慣調査

高血圧発症者において、週当たり飲酒回数が多いもの、および日本酒・ウイスキーを飲むものの割合が有意に高頻度であった。

時の飲酒者の割合、および1回あたりの飲酒量に差はなかった。

表 2 飲酒習慣と高血圧リスク

	正常血圧者	高血圧発症者	P-value
飲酒, n (%)			
飲む	149 , 40.1%	56 , 37.8%	0.4
やめた	17 , 4.6%	11 , 7.4%	
飲まない	206 , 55.4%	81 , 54.7%	
週あたり飲酒回数, n (%)			
5-回以上	52 , 31.0%	32 , 52.5%	0.02
3-4 回	28 , 16.7%	8 , 13.1%	
1-2 回	34 , 20.2%	11 , 18.0%	
たまに	54 , 32.1%	10 , 16.4%	
酒種類, n (%)			
日本酒	74 , 19.9%	43 , 29.1%	0.02
焼酎	35 , 9.4%	17 , 11.5%	0.5
ビール	121 , 32.5%	44 , 29.7%	0.5
ウイスキー	14 , 3.8%	13 , 8.8%	0.02
ワイン	49 , 13.2%	17 , 11.5%	0.6
その他	5 , 1.3%	2 , 1%	1.0
1 回あたり飲酒量, n (%)			
1 合未満	70 , 42.9%	22 , 34.4%	0.7
1 合	40 , 24.5%	19 , 29.7%	
2 合	37 , 22.7%	13 , 20.3%	
3 合	12 , 7.4%	8 , 12.5%	
4 合	3 , 1.8%	1 , 1.6%	
5 合以上	1 , 0.6%	1 , 1.6%	
週当たり飲酒量 (合)	4.9	6.5	0.08

③食生活習慣との関連 (表 3)

外食の習慣と高血圧発症との間に一定の関連は

食事の規則性、朝食の有無、夕食の量、夜食・認められなかった。

表 3 食習慣と高血圧リスク

	正常血圧者	高血圧発症者	P-value
食生活, n (%)			
規則正しい食事	331 , 90.7%	130 , 92.2%	0.6
朝食を毎日とる	360 , 98.9%	138 , 97.9%	0.4
夕食			
少な目に食べる	30 , 8.2%	19 , 13.2%	0.2
八分目に食べる	246 , 66.9%	94 , 65.3%	
腹一杯に食べる	92 , 25.0%	31 , 21.5%	
夜食			
たべない	281 , 77.6%	110 , 80.9%	0.5
週 1-3 回食べる	34 , 9.4%	15 , 11.0%	
週 4-5 回食べる	14 , 3.9%	3 , 2.2%	
ほぼ毎日食べる	33 , 9.1%	8 , 5.9%	
外食			
たべない	292 , 81.8%	121 , 86.4%	0.4
週 1-3 回食べる	53 , 14.9%	15 , 10.7%	
週 4-5 回食べる	7 , 2.0%	1 , 0.7%	
ほぼ毎日	5 , 1.4%	3 , 2.1%	

④運動習慣との関連 (表 4)

との間に一定の関連は認められなかった。

歩行時間、スポーツを行う時間と、高血圧発症

表 4 運動習慣と高血圧リスク

	正常血圧者	高血圧発症者	P-value
週当たりスポーツ時間			
5 時間以上	7 , 1.9%	4 , 3.0%	0.4
3-4 時間	9 , 2.5%	7 , 5.2%	
1-2 時間	60 , 16.7%	23 , 17.2%	
ほとんどしない	284 , 78.9%	100 , 74.6%	
1 日当たり歩行時間			
5 時間以上	135 , 38.0%	48 , 35.6%	0.4
3-4 時間	64 , 18.0%	17 , 12.6%	
1-2 時間	89 , 25.1%	41 , 30.4%	
ほとんどしない	67 , 18.9%	29 , 21.5%	

⑤多変量解析（表 5-7）

上記において有意な関連が見られた、性別、年齢、生活習慣調査時 BMI、脳卒中・心臓病既往の有無、飲酒習慣（飲酒経験無し、過去飲酒歴あり、現在週 1-4 回飲酒、現在週 5 回以上飲酒）、歩行時間、を従属変数とした多重ロジスティック回帰分析により、高血圧発症のオッズ比を求めた。

高齢者（60 歳以上）、過体重・肥満者（BMI 25kg/m² 以上）、および脳卒中既往者において、高血圧発症のオッズ比は有意に高値であった（表 5）。また、有意ではなかったが、女性において高血圧発症のオッズ比は低値となる傾向があった（表 5）。飲酒習慣・歩行時間と高血圧発症との間に一定の有意な関連は認められなかった（表 5）。

表 5 高血圧発症のオッズ比（多重ロジスティック回帰分析）

	オッズ比	95%信頼区間	p-value
性別（女性）	0.634	0.372 - 1.080	0.09
年齢（60 歳以上）	2.284	1.471 - 3.545	0.0002
BMI (25kg/m ² 以上)	1.760	1.103 - 2.808	0.02
脳卒中の既往（あり）	6.234	1.279 - 30.38	0.02
心疾患の既往（あり）	1.662	0.689 - 4.008	0.3
飲酒: 飲まない	1	N/A	N/A
やめた	1.003	0.396 - 2.538	1.0
飲む			
週 1-4 回	0.806	0.451 - 1.440	0.5
週 5 回以上	1.172	0.568 - 2.415	0.7
歩行時間（2 時間以下）	1.364	0.895 - 2.078	0.1

高血圧発症者において日本酒・ウイスキー飲酒者の割合が有意に高頻度であったことから、飲酒習慣以外の上記の項目を同時に従属変数として入れたモデルを用い、それぞれの高血圧発症オッズ比を求めた。先の分析において、「飲酒経験無し群」と「過去飲酒群」でオッズ比に差が認めら

れなかったことから、両群を一群として基準群とし、各アルコール飲酒者のオッズ比を算出した。

日本酒飲酒者は、日本酒以外飲酒者と同様、飲酒経験無し者・過去飲酒者と同程度の高血圧発症リスクを有していた（表 6）。

表 6 日本酒飲酒と高血圧発症のオッズ比

	オッズ比	95%信頼区間	p-value
飲酒: 飲まない・やめた	1	N/A	N/A
飲む			
日本酒を飲む	1.230	0.688 - 2.201	0.5
日本酒以外のお酒を飲む	0.790	0.414 - 1.508	0.5

性別、年齢、脳卒中・心疾患の既往、歩行時間を補正

一方、ウイスキー飲酒者は、飲酒経験無し者・過去飲酒者とくらべ、高血圧発症オッズ比が約3倍、有意に高値であった。ウイスキー以外飲酒者の高血圧発症リスクは飲酒経験無し者・過去飲酒

者と同程度であった（表7）。

上記の結果は、男性のみにおける分析においても同様であった。

表7 ウイスキー飲酒と高血圧発症のオッズ比

	オッズ比	95%信頼区間	p-value
飲酒: 飲まない・やめた	1	N/A	N/A
飲む			
ウイスキーを飲む	3.139	1.294 · 7.614	0.01
ウイスキー以外のお酒を飲む	0.962	0.570 · 1.622	0.9

性別、年齢、脳卒中・心疾患の既往、歩行時間を補正

D. 考察

生活習慣・危険因子と約4年間の高血圧発症リスクとの関連を検討した。その結果、高齢・肥満・男性・脳卒中の既往・ウイスキーの飲酒、が有意な独立した高血圧発症の危険因子であった。

本研究では、約1か月間、同一条件下で測定された早朝の家庭血圧値が、高血圧診断に用いられており、従来の随時血圧を指標とした研究に比べ、より精度の高い高血圧発症情報に基づいた検討が行われており、信頼性が高いと考えられる。

本研究では、高齢・肥満・男性が高血圧発症の危険因子であった。これは多くの先行研究の報告と一致している。また、脳卒中既往者においても高血圧発症リスクが高値であった。脳卒中既往者では夜間降圧の減少に伴い、早朝血圧が上昇してくるとの報告があり、本研究における早朝家庭血圧高値もその影響である可能性がある。また2001年に脳卒中二次予防に関する大規模臨床試験であるPROGRESSの結果が報告され、その中で脳卒中既往者においては血圧が正常域であっても降圧治療が再発・合併症予防に有効であることが示された。また、この結果に基づき、欧米のガイドラインでは脳卒中既往者における降圧治療の重要性が示された。今回脳卒中既往者において高血圧発症リスクが高値であったのは、こうした大規模試験・ガイドライン等の影響により、脳卒中

既往者に対し降圧剤投与がより積極的に行われるようになったことを反映している可能性も考えられる。

今回の結果では、飲酒習慣と高血圧発症リスクとの間に一定の関係は認められなかった。これまでに中程度以上の飲酒は高血圧発症のリスクであることが報告されており、今回の結果と合致しない。観察期間が短かったこと等がこの要因として、考えられる。

しかしながら、ウイスキー飲酒者で有意な高血圧発症リスク上昇が見られ、アルコール度数が高い場合は飲酒の影響が早期に発現した可能性も考えられる。いずれにせよ、飲酒量と種類、飲酒期間の組み合わせなどを含め、他の交絡要因に関するより詳細な分析を行い、また、今後追跡期間を延長することにより、より信頼性の高い結果が得られると考えられる。

E. 結論

高齢・肥満・男性・脳卒中の既往・ウイスキーの飲酒、が高血圧発症の危険因子であった。これらの因子、および他の既知の危険因子と遺伝要因との相互作用を今後検討していくことにより、各個人のライフスタイル・遺伝的要因に応じたよりきめ細かく、かつ無駄のない高血圧の予防対策が可能となることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 健康危険情報

なし

生活習慣・危険因子と糖尿病発症リスクとの関連

分担研究者 大久保 孝義 東北大学大学院薬学研究科医薬開発構想寄附講座 講師

研究要旨

超高齢化社会において、重篤な各種合併症を惹起する糖尿病の発症予防・合併症進展の予防は大きな課題となっている。大多数の糖尿病は、個々の遺伝子異常・多型の効果は決定的ではなく、複数の遺伝子効果が合算され、さらに生活習慣の効果が加わることで糖尿病を発症するという多因子病である。

本研究の目的は、大迫コホート研究のデータに基づき、糖尿病発症に関する生活習慣を解明し、さらに遺伝子型との相互作用を解明することである。

生活習慣アンケート調査に参加し、その平均 2.2 年後に 75g 経口糖負荷試験 (OGTT) を受け、OGTT 以前に糖尿病の診断・治療を受けたことのない 450 人について、生活習慣と OGTT パターンとの関連を分析した。その結果、全体の 1/3 が糖尿病境界型以上、37 名 (8%) が糖尿病型と診断され、無自覚糖尿病の早期発見・治療の必要性が浮き彫りとなった。一方、高齢・肥満・高血圧が糖尿病型の危険因子であった。今後さらにインスリン抵抗性や遺伝要因との相互作用に関する検討を行うことにより、各個人のライフスタイル・遺伝的要因に応じたきめ細かく、かつ無駄のない糖尿病対策が可能となることが期待される。

研究協力者

浅山 敬

東北大学大学院医学系研究科
臨床薬学分野・大学院生

菊谷 昌浩

東北大学大学院薬学研究科
医薬開発構想寄附講座・助手

への進展を未然に防ぐことが最も優れた行政からの介入といえる。

中でも、腎症・網膜症をはじめとする重篤な各種合併症を惹起する糖尿病の発症予防・合併症進展の予防は大きな課題となっている。大多数の糖尿病は、個々の遺伝子異常・多型の効果は決定的ではなく、複数の遺伝子効果が合算され、さらに生活習慣の効果が加わることで糖尿病を発症するという多因子病である。糖尿病発症に関する生活習慣を解明し、さらに遺伝子型との相互作用を解明することにより、オーダーメイド生活指導を含む予防医療が確立されることにより、合併症への進展予防や循環器死亡の減少が図られるのみならず、多剤服用による医療費の高騰や副作用の軽減、QOL を維持することにより高齢者の自立と介護費用の削減にもつながることが期待される。

本研究の目的は、糖尿病発症に関する生活習慣を解明し、さらに遺伝子型との相互作用を解明することである。本年度は糖尿病発症に関する生活習

A. 研究目的

超高齢化社会において、医療・福祉に要する費用の増大は、厚生労働行政はもとより、社会全体の課題である。特に、脳卒中、心筋梗塞、脳血管性痴呆など社会的負担の大きな疾患は、一度発症すると長年にわたり医療や介護等の社会的負担を発生するばかりでなく、本人の QOL や家族や雇用先の心身および経済面の負担を著しく増大させる。これら疾患発症後の医療や介護に対する施策も重要であるが、負担者数の相対的減少が予想される現社会保険制度の中では、まずは発症者を減らし、ついで多額の医療費が発生する合併症

慣についての分析を実施した。

B. 研究方法

①研究デザイン

本研究の対象地域は岩手県稗貫郡大迫町である。大迫町は盛岡市の南東 20km、仙台市の北 100km に位置し、北上山地に囲まれた農村であり、内川目・外川目・亀が森・大迫の 4 地区から構成されている。

平成 12 年国勢調査報告により、大迫町の人口は、男性 3318 名、女性 3619 名の計 6937 名であり、65 歳以上の高齢者人口割合は、30% である。

われわれは、昭和 62 年以來、この大迫町の住民を対象に家庭血圧測定を中心とした保健事業を実施している。また近年の糖尿病増加を考慮に入れ、平成 11 年 8 月より、75g 経口糖負荷試験 (OGTT) による住民検診を実施している。

OGTT は、各年度ごとに大迫町 4 地区のうちの 1 地区において受診希望者を募り実施した。35 歳以上で過去に糖尿病の診断・治療を受けておらず、家庭血圧測定を行っていること、を OGTT 参加必要条件とした。

また、平成 12 年 2 月に 35 歳以上の全町民を対象に、生活習慣についての広範なアンケート調査を実施した。

②本研究における解析対象者

平成 12 年 8 月から平成 15 年 8 月の間に OGTT 検診を受診した 502 人のうち、平成 12 年 2 月の生活習慣アンケート調査に有効回答のあった 450 人 (平均年齢 57.1 歳、男性 144 人、32%) を分析対象とした。

③分析項目

平成 12 年 2 月のアンケート調査より得られた生活習慣と、平成 12 年 8 月から平成 15 年 8 月の間の OGTT パターン (平均 2.2 年後に実施) との関連を分析した。

OGTT により得られた血糖値パターンにより、対象者を以下の 4 つの型に分類した。

1. 正常型 (空腹時 110mg/dl 未満かつ 2 時間値 140mg/dl 未満)
2. 軽症境界型 (正常型にも境界型にも属さず、

2 時間値 160mg/dl 未満)

3. 重症境界型 (正常型にも境界型にも属さず、2 時間値 160mg/dl 以上)

4. 糖尿病型 (空腹時 126mg/dl 以上または 2 時間値 200mg/dl 以上)

正常型・糖尿病型は日本糖尿病学会の基準値に基づいた。また暫定的に境界型を 2 時間値 160mg/dl を用いて軽症と重症に分けた。

④分析方法

OGTT パターンと生活習慣との関連は、分散分析、またはカイ 2 乗検定を用いて分析を行った。P<0.05 を統計学的に有意とした。有意な関連が見られた項目を従属変数とした多重ロジスティック回帰分析を実施し、糖尿病型となるオッズ比を求めた。解析は、統計パッケージ SAS, Version 8.2 (SAS Inc, Cary NC) を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、東北大学倫理委員会の承認を受けて実施しており、情報提供者のプライバシーの保護には厳重な注意を払っている。

C. 研究結果

OGTT の結果、研究対象者 450 名中、294 名 (65%) が正常型に、77 名 (17%)・42 名 (9%) がそれぞれ軽症境界型・重症境界型に、また 37 名 (8%) が糖尿病型に分類された。

生活習慣調査から OGTT までの平均期間は 2.2 年であった。

①OGTT パターンごとの基本特性 (表 1)

境界型・糖尿病型は正常型と比べ平均約 4 歳高齢であり、生活習慣調査時、OGTT 時のいずれにおいても body mass index (BMI) が高値であった。境界型・糖尿病型は正常型と比べ生活習慣調査時に高血圧を有するものの割合が高く、特に糖尿病型では 54% が OGTT の 2.2 年前に高血圧を有していた。4 つのパターン間で性別・身長・体重・喫煙者割合、および生活習慣調査から OGTT までの体重増加率に差は無かった。

表 1 基本特性

	正常型	軽症境界型	重症境界型	糖尿病型	P-value
N (総計 450)	294	77	42	37	
男性 n (%)	93, 31.6%	24, 31.2%	12, 28.6%	15, 40.5%	0.7
年齢 (歳) GTT 時	61.4	64.6	65.4	64.9	0.002
生活習慣調査時	59.1	62.5	63.2	63.0	0.001
身長 (cm)	154.2	152.3	151.8	151.6	0.1
体重 (kg) GTT 時	55.3	56.0	56.1	57.0	0.8
生活習慣調査時	56.1	56.4	56.7	58.3	0.6
BMI (kg/m ²) GTT 時	23.2	24.0	24.1	26.1	0.002
生活習慣調査時	23.4	23.9	24.4	24.2	0.07
BMI25kg/m ² 以上の n (%)					
GTT 時	78, 26.5%	31, 40.3%	18, 42.9%	12, 32.4%	0.03
生活習慣調査時	66, 22.4%	24, 31.2%	17, 40.5%	14, 37.8%	0.02
体重増加率 (生活習慣調査-GTT 間)(%)	1.6 ± 4.7	1.6 ± 5.4	2.0 ± 5.1	1.8 ± 4.7	1.0
既往歴あり, n (%)					
脳卒中	5, 1.7%	3, 3.9%	0, 0%	0, 0%	0.3
心臓病	13, 4.4%	4, 5.2%	1, 2.4%	4, 10.8%	0.3
腎臓病	10, 3.4%	4, 5.2%	1, 2.4%	0, 0%	0.5
高脂血症	33, 11.2%	13, 16.9%	7, 16.7%	7, 18.9%	0.3
肝臓病	7, 2.4%	3, 3.9%	5, 11.9%	1, 2.7%	0.02
高血圧	79, 26.9%	25, 32.5%	17, 40.5%	20, 54.1%	0.004
喫煙, n (%)					
吸う	56, 19.1%	6, 7.8%	6, 14.3%	6, 16.2%	0.4
やめた	22, 7.5%	6, 7.8%	3, 7.1%	4, 10.8%	
吸わない	216, 73.5%	65, 84.4%	33, 78.6%	27, 73.0%	

BMI : body mass index

②飲酒と OGTT パターンとの関連 (表 2)
 糖尿病型において生活習慣調査時の現在飲酒者の割合が 46%と他の型に比べ高い傾向があっ

たが、有意差はなかった。飲酒回数、飲酒量、酒種類と OGTT パターンの間に一定の関連はなかった。

表 2 飲酒習慣と糖尿病リスク

	正常型	軽症境界型	重症境界型	糖尿病型	P-value
飲酒, n (%)					
飲む	119 , 40.5%	22 , 28.6%	14 , 33.3%	17 , 46.0%	0.2
やめた	8 , 2.7%	1 , 1.3%	0 , 0%	0 , 0%	
飲まない	167 , 56.8%	54 , 70.1%	28 , 66.7%	20 , 54.1%	
週あたり飲酒回数, n (%)					
5-回以上	52 , 41.3%	14 , 63.6%	6 , 42.9%	8 , 47.1%	0.3
3-4回	14 , 11.1%	4 , 18.2%	1 , 7.1%	1 , 5.9%	
1-2回	27 , 21.4%	3 , 13.6%	1 , 7.1%	4 , 23.5%	
たまに	33 , 26.2%	1 , 4.6%	6 , 42.9%	4 , 23.5%	
酒種類, n (%)					
日本酒	71 , 24.1%	17 , 22.1%	12 , 28.6%	14 , 37.8%	0.3
焼酎	18 , 6.1%	9 , 11.7%	2 , 4.8%	2 , 5.4%	0.3
ビール	91 , 31.0%	12 , 15.6%	14 , 33.3%	12 , 32.4%	0.05
ウイスキー	16 , 5.4%	3 , 3.9%	2 , 4.8%	2 , 5.4%	1.0
ワイン	35 , 11.9%	3 , 3.9%	7 , 16.7%	4 , 10.8%	0.1
その他	3 , 1.0%	0 , 0%	0 , 0%	1 , 2.7%	0.5
1回あたり飲酒量, n (%)					
1合未満	55 , 44.0%	5 , 21.7%	5 , 33.3%	7 , 41.2%	0.5
1合	41 , 32.8%	7 , 30.4%	4 , 26.7%	6 , 35.3%	
2合	21 , 16.8%	8 , 34.8%	4 , 26.7%	1 , 5.9%	
3合	6 , 4.8%	3 , 13.0%	2 , 13.3%	3 , 17.7%	
4合	1 , 0.8%	0 , 0%	0 , 0%	0 , 0%	
5合以上	1 , 0.8%	0 , 0%	0 , 0%	0 , 0%	
週当たり飲酒量 (合)					
	4.7	6.7	5.2	5.8	0.5

③食生活習慣と OGTT パターンとの関連 (表 3)

食事の規則性、朝食の有無、夕食の量、夜食・外食の習慣と OGTT パターンとの間に一定の関連は認められなかった。

有意差は無かったが、糖尿病型において歩行時間が短い傾向があった。スポーツを行う時間と、OGTT パターンとの間に一定の関連は認められなかった。

④運動習慣と OGTT パターンとの関連 (表 4)

表 3 食習慣と糖尿病リスク

	正常型	軽症境界型	重症境界型	糖尿病型	P-value
食生活, n (%)					
規則正しい食事	262 , 91.3%	68 , 91.9%	39 , 95.1%	33 , 89.2%	0.8
朝食を毎日とる	273 , 96.5%	75 , 100.0%	38 , 100.0%	36 , 97.3%	0.3
夕食					
少な目	26 , 8.9%	8 , 10.4%	1 , 2.5%	4 , 10.8%	0.6
腹八分目	184 , 63.0%	54 , 70.1%	27 , 67.5%	23 , 62.2%	
腹一杯	82 , 28.1%	15 , 19.5%	12 , 30.0%	10 , 27.0%	
夜食					
たべない	207 , 73.9%	50 , 68.5%	30 , 79.0%	27 , 77.1%	0.6
週 1-3 回食べる	26 , 9.3%	11 , 15.1%	5 , 13.2%	3 , 8.6%	
週 4-5 回食べる	9 , 3.2%	4 , 5.5%	1 , 2.6%	0 , 0%	
ほぼ毎日食べる	38 , 13.6%	8 , 11.0%	2 , 5.3%	5 , 14.3%	
外食					
たべない	237 , 83.2%	65 , 87.8%	35 , 85.4%	34 , 91.9%	0.9
週 1-3 回食べる	43 , 15.1%	8 , 10.8%	6 , 14.6%	3 , 8.1%	
週 4-5 回食べる	2 , 0.7%	0 , 0%	0 , 0%	0 , 0%	
ほぼ毎日	3 , 1.1%	1 , 1.4%	0 , 0%	0 , 0%	

表 4 運動習慣と糖尿病リスク

	正常型	軽症境界型	重症境界型	糖尿病型	P-value
運動習慣, n (有効回答者における値)					
週当たりスポーツ時間					
5 時間以上	3 , 1.1%	1 , 1.4%	2 , 4.9%	1 , 2.9%	0.1
3-4 時間	10 , 3.7%	2 , 2.7%	4 , 9.8%	2 , 5.9%	
1-2 時間	51 , 18.8%	17 , 23.3%	1 , 2.4%	5 , 14.7%	
ほとんどしない	208 , 76.5%	53 , 72.6%	34 , 82.9%	26 , 76.5%	
1 日当たり歩行時間					
5 時間以上	89 , 31.9%	29 , 40.3%	15 , 36.6%	9 , 26.5%	0.3
3-4 時間	58 , 20.8%	16 , 22.2%	7 , 17.1%	4 , 11.8%	
1-2 時間	78 , 28.0%	17 , 23.6%	14 , 34.2%	16 , 47.1%	
ほとんどしない	54 , 19.4%	10 , 13.9%	5 , 12.2%	5 , 14.7%	