

厚生労働科学研究費補助金

健康科学総合研究事業

離島農村地域における長寿の要因

および健康寿命に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉田 浩己

平成 17 (2005) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告	
離島農村地域における長寿の要因および健康寿命に関する研究	----- 1
吉田 浩己	
II. 分担研究報告	
1. 奄美住民アンケート及び血液採取総括	----- 5
嶽崎 俊郎	
納 光弘	
秋葉 澄伯	
郡山 千早	
2. 奄美住民遺伝子発現中間報告	----- 9
馬嶋 秀行	
嶽崎 俊郎	
竹内 亨	
秋葉 澄伯	
吉田 浩己	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 19
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 21

総括研究報告

離島農村地域における長寿の要因および健康寿命に関する研究

主任研究者 吉田 浩己 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科長

研究要旨

我国は世界一の長寿大国である。特に鹿児島県の奄美離島以南には、約3千人の90歳以上の高齢者が居住し、健康高齢者も多い。中でも与論離島地区における90歳以上高齢者の割合は65歳以上の8.3%と鹿児島県全体（約4%）に比べ際だって高い（平成14年度10月）。奄美離島以南地区には健康・長寿をもたらす特徴的な自然・社会環境、文化・生態、および遺伝的な背景が存在している可能性が考えられる。本研究は同地区の特異的な面に着目し、鹿児島県と連携して、離島農村地区と鹿児島県本土の高齢者を対象に環境要因と宿主要因、および医学的所見と健康・長寿との関連を検索し、健やかな加齢に関わる要因を明らかにする。本年度では、アンケートによる疫学調査を終了し、質問票は1461名から回収され、血液は146名から採取された。DNAアレイ法による2万個の遺伝子発現解析では、その中間結果より、ミトコンドリア関連遺伝子の発現にその特徴がある予備的結果が得られた。平成17年度では、得られた健康・長寿に関わる環境・宿主要因、および医学的所見とを比較検討を行い、予防医学的アプローチを開発する基盤と位置づけ、また、ヒト長寿研究における調査・研究モデルとして、マニュアルやガイドラインの作成も試みる。また、これらの研究で得られた結果を地域に還元し、地域における健康作りの支援を行う予定である。

分担研究者

納 光弘・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授
秋葉 澄伯・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授
竹内 亨・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授
馬嶋 秀行・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授
嶽崎 俊郎・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授
郡山 千早・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科助教授

A. 研究目的

我国は世界一の長寿大国である。特に鹿児島県の奄美離島以南には、約3千人の90歳以上の高齢者が居住し、健康高齢者も多い。中でも与論離島地区における90歳以上高齢者の割合は65歳以上の8.3%と鹿児島県全体（約4%）に比べ際だって高い（平成14年度10月）。奄美離島以南地区には健康・長寿をもたらす特徴的な自然・社会環境、文化・生態、および遺伝的な背景が存在している可能性が考えられる。本研究は同地区の特異的な面に着目し、鹿児島県と連携して、離島農村地区と鹿児島県本土の高齢者を対象に環境要因と宿主要因、および医学的所見と健康・長寿との関連を検索し、健やかな加齢に関わる要因を明らかに

する。本研究により与論離島および鹿児島県本土の農村地区における長寿健康科学に関する様々な情報を収集し、データベースを構築する。さらに、健康・長寿に関わる生理的、臨床的特徴、環境、宿主要因、およびその相互作用を明らかにして、オーダーメイドな予防医学的アプローチを開発する基盤を得ることを目的とする。本研究で得られた知見は、高齢化が進む他の地域に住む者にとっても重要な情報となり、また、人類の健康・長寿社会の実現に資するもので、国際的にも貴重な情報を発信する場ともなる。

B. 研究方法

(1) 予備的検討

まず、これまでに行われた奄美大島の笠利町、鹿児島県本土部の出水市に隣接する熊本県津奈木町などのデータを用いて解析を行い、本研究に必要な調査内容の予備的検討を行った。

(2) 疫学調査

奄美地域内の14市町村（長寿者率の高い7町村と長寿者率の低い7市町村）及び出水市の計15市町村各対象地域から無作為に抽出された20歳～100歳以上の男女1400名を対象に調査を行った。調査では、質問票による生活習慣などの調査、栄養調査のほか、採血を行った。血液は血清と血球に分離し、血清をバッフィーコートで冷凍保存した。また、リンパ球の液体窒素による保存も検討する。予備研究で得られた種々の検査のデータ

を用い、本研究に必要な調査内容の検討を行った。
(倫理面への配慮)

本研究を開始するにあたり、アンケート調査及びその解析に関し疫学研究等に関する倫理委員会にて承認を得た(鹿児島大学医歯学総合研究科受付番号6、承認日平成15年11月18日)。また、本研究で行う採血と遺伝子解析に関しては、生命倫理・遺伝子解析研究倫理委員会においてアンケート調査を行うことも含めて承認を得た(鹿児島大学医歯学総合研究科受付番号3、承認日平成15年10月1日)。その上で、対象者に対しては、研究の趣旨及び方法、個人情報に関する秘密保持等について十分な説明を行うとともに、同意に基づいた調査ならびに医学的検査を開始した。また、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守している。

C. 研究結果

質問票は1461名から回収され、血液は146名から採取された。血液採取者と質問票回答者の分布は以下のとおりである。

表1 対象者の地域分布

	血液採取者	質問票回答者
合計	146 例	1461 名
地域		
奄美大島	57 名	491 名
喜界島	13 名	97 名
与論島	21 名	167 名
沖永良部島	13 名	93 名
徳之島	31 名	215 名
出水市	11 名	398 名
性		
男	60 名	592 名
女	86 名	869 名
年齢		
65 歳未満	7 名	390 名
65-68 歳	40 名	299 名
75-76 歳	43 名	276 名
85-108 歳	56 名	496 名

本年度は、昨年にも得られた結果に引き続き、奄美長寿圏住民の血液サンプルを得て、医学的遺伝子解析を中心におこなった。採血、遺伝子解析等は、本研究主任研究者、分担研究者が協力して行った。

平成15年度にあまみ地域において生活習慣、栄養調査および生活活動度の調査が行われ、同年

度に採血が行えなかった65歳、75歳、90歳以上の対象者に対して採血を行った。対象地域は奄美大島(名瀬市、笠利町、龍郷町、瀬戸内町、大和村、住用村、宇検村)、喜界島(喜界町)、徳之島(徳之島町、伊仙町、天城町)、沖永良部島(和泊町、知名町)、与論島(与論町)の14市町村である。

事前に手紙で説明を行い、手紙や電話で研究協力の了解を得た上で、各市町村の保健センターもしくは自宅で承諾書にサインをしていただいた後に、採血を行った。全候補者184例中、採血が行えたのは83例(45%)であった。内訳は66-67歳21例(男12例、女9例)、76歳24例(男11例、女13例)、91-108歳38例(男10例、女28例)であった。採取した血液は、RNAおよびDNA採取用の保存液入りチューブ内で冷蔵したものと現地で単核球を分離して凍結したものとに分けて、6回のフィールド調査ごとに鹿児島大学に持ち帰った。血液サンプルを用いた遺伝子発現解析の中間結果より、ミトコンドリア関連遺伝子の発現にその特徴がある予備的結果が得られた。

D. 考察

鹿児島県民の粗百寿率(平成10~14年の5年間平均の人口10万人当たり100歳以上者数)は、21.52と国の10.7に比べ高いが、なかでも奄美群島民においては56.57と大変高い。高齢者人口10万人当たり(年齢調整百寿率)でも、本県は95.4と国平均の61.66と比べ高く、さらに、奄美は219.1と有意の差で高いため、奄美は長寿者の多い地域であると言える。この地域を対象とし、長寿健康の多因子、すなわち栄養因子、健康因子、社会環境因子等の解析とともに、遺伝子発現解析、ミトコンドリア障害解析、DNA損傷修復酵素多型解析、酸化的DNA損傷の定量的解析等医学的因子解析を行なう研究は他に類を見ない研究であり、この成果が奄美から世界に発信し、高齢化社会における長寿健康対策に役に立つものとする。来年度は、疫学的調査から得られた結果と比較検討し、長寿環境因子、生活習慣病等長寿因子について詳細に解析するとともに、長寿者から得られた血液を用いた遺伝子発現解析の結果との関連を調べ、得られた健康・長寿に関わる環境・宿主要因、および医学的所見との比較検討を行い、予防医学的アプローチを開発する基盤と位置づけ、また、ヒト長寿研究における調査・研究モデルとして、マニュアルやガイドラインの作成も試みる。また、これらの研究で得られた結果を地域に還元し、地域における健康作りの支援を行う予定である。

E. 結論

本調査研究は鹿児島県と連携して、離島農村地区と鹿児島県本土の高齢者を対象に環境要因と宿主要因、および医学的所見と健康・長寿との関連を検索し、健やかな加齢に関わる要因を明らか

にすることを目的として開始された。本年度は、長寿の環境因子、生活習慣病等のアンケート調査を終了し、医学的調査研究である血液採取を終了した。血液サンプルを用いた遺伝子発現解析の中間結果より、ミトコンドリア関連遺伝子の発現にその特徴がある予備的結果が得られた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tomemori Y, Ichiba M, Kusumoto A, Mizuno E, Sato D, Muroya S, Nakamura M, Kawaguchi H, Yoshida H, Ueno S, Nakao K, Nakamura K, Aiba A, Katsuki M, Sano A. A gene-targeted mouse model for chorea-acanthocytosis. *J Neurochem.* 92(4):759-766, 2005.
- 2) 濱口哲也、松岡洋一郎、川口博明、高須賀信夫、深町勝巳、吉田浩己、津田洋幸、ヒト正

常型c-Ha-ras遺伝子トランスジェニックラットの乳腺発がん高感受性の機序解析—化学発がんと自然発がんの比較—、*乳癌基礎研究*、13: 21-27, 2004.

2. 学会発表

- 1) 吉田浩己、奄美長寿とアイランド・セラピー、公開シンポジウム ”奄美長寿とアイランド・セラピー”，鹿児島県与論町、平成17年2月5日.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

無し。

2. 実用新案登録

無し。

3. その他

無し。

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

離島農村地域における長寿の要因および健康寿命に関する研究
—奄美住民アンケート及び血液採取総括—

分担研究者 嶽崎 俊郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
国際島嶼医療学講座国際離島医療学分野教授

分担研究者 納 光弘 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
神経病学講座神経内科・老年病学分野教授

分担研究者 秋葉 澄伯・鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
人間環境学講座疫学・予防医学分野教授

分担研究者 郡山 千早 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
人間環境学講座疫学・予防医学分野助教授

研究要旨

奄美地域内の14市町村（長寿者率の高い7町村と長寿者率の低い7市町村）及び出水市の計15市町村各対象地域から無作為に抽出された20歳～100歳以上の男女2000名を対象に健康長寿・生態環境調査を行った。現在まで、1461名から回答を得た。本研究班では、そのうち146名から血液を採取することができた。アンケート調査回答者と血液調査参加者の人口学的特徴、生活習慣などを現在解析中である。

A. 研究目的

我国は世界一の長寿大国である。特に鹿児島県の奄美離島以南には、約3千人の90歳以上の高齢者が居住し、健康高齢者も多い。中でも与論離島地区における90歳以上高齢者の割合は65歳以上の8.3%と鹿児島県全体（約4%）に比べ際だって高い（平成14年度10月）。奄美及び南西諸島の地域の中には、このように健康長寿や高い合計特殊出生率が知られている地域があるが、当地域における研究は緒についたばかりである。奄美離島以南地区には健康・長寿をもたらす特徴的な自然・社会環境、文化・生態、および遺伝的な背景が存在している可能性が考えられる。本研究は同地区の特異的な面に着目し、鹿児島県と連携して、離島農村地区と鹿児島県本土の高齢者を対象に環境要因と宿主要因、および医学的所見と健康・長寿との関連を検索し、健やかな加齢に関わる要因を明らかにする。

本研究では、奄美地域における将来の少子・高齢化に対応した「21世紀の長寿社会モデル地域」の構築を促進するために、奄美の健康長寿及び環境生態の要因を科学的に分析・検証する。

本研究の柱は大きく2つ存在する。一つは、奄美地域住人に対する環境因子、生活習慣を調べる疫学的研究であり、これは鹿児島県と鹿児島大学の本研究班の研究分担者が行っている。その成果の一部は昨年度の報告書において報告してきた。もう一つの柱は、長寿・健康の医学的因子の解析、

特に遺伝子発現解析である。

本年度では、昨年に引き続き、奄美長寿者を中心に血液採取し、遺伝子発現解析を試みた。

B. 研究方法

対象

対象地域は、奄美地域内の14市町村及び出水市の計15市町村である。対象者は平成15年10月に各市町村にて20歳台、30歳台、40歳台、50-64歳、65-74歳、75-89歳、90歳以上の7つの年齢群から100人ずつを無作為に抽出した。対象地域別には、与論町、喜界町、天城町、宇檢村、伊仙町、笠利町（長寿者の全人口に占める割合が高い地域）から男女各々350人、合計700人、住用村、瀬戸内町、大和村、名瀬市、龍郷町、徳之島町、知名町、和泊町（長寿者の全人口に占める割合が低い地域）から男女各々350人、合計700人、本土部の海浜部地域の出水市から男女各々350人、合計700人を選出した。

アンケート調査対象者

「一般住民を対象とするアンケート調査」：各対象地域から無作為に抽出された20歳～100歳以上の男女2000名である。本年度の調査で1461名から回答が得られた。

血液調査対象者

「一般住民を対象とするアンケート調査」と「栄養調査及び生活活動調査」の対象者で遺伝子等の

解析目的のために血液を提供された方で総計 146 名である。

アンケート調査

郵送または調査員によって質問票の配布を行った。自記式質問票の外、説明文書を同封した。質問票は回答者から鹿児島県保健福祉部健康増進課または児童福祉課あてに送付された。回収された質問票は鹿児島県保健福祉部で約 1 年間保管・管理される。データの解析には匿名電子化ファイルを用い、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科で行われた。

(倫理面への配慮)

倫理的配慮

個人情報の保護に配慮して、以下の手続きを取った。

1) 調査票および電子化されたデータ(調査データファイル。全て匿名化されたデータ)は鹿児島県保健福祉部(管理責任者:千村浩)にて管理保管される。なお、記名された調査票は鍵つきキャビネットで施錠の上、保管される。

2) 血液等の解析結果と連結されたファイル(個人情報ファイルと調査データファイル)は個人情報管理者、医歯学総合研究科社会・行動医学:小片守教授(分担管理者 医歯学総合研究科人間環境学:青山公治講師)が管理し、改めて連結可能匿名化を行うとともに個人情報ファイルを作成しなおし、個人情報ファイルを個人情報管理者が保管する。

3) 調査員は原則として調査地域以外のものから選定され、調査時には共同研究責任者(吉田浩己と千村浩)が作成した身分証明を携行するものとする。

本研究に用いる情報はすべて匿名化された上でデータ解析が行われること、個人情報については匿名化担当の分担研究者以外の者がアクセスできないように厳重に管理すること、また調査結果の報告や研究成果の公表においては、集計された結果のみを公表し、個人が特定されないように細心の注意を払うことにより、個人のプライバシーは保護されるものと考えられる。また同意書を得ている対象者へは、参加に同意した後でもそれを自由に取り消すことができることや調査への協力を断ることで個人的な不利益を被ることは無いことも十分に説明する。なお、調査データを本研究の目的以外に使用する場合は改めて倫理審査を受けるものとする。

本研究を開始するにあたり、アンケート調査及びその解析に関し疫学研究等に関する倫理委員会にて承認を得た(鹿児島大学医歯学総合研究科受付番号 6、承認日平成 15 年 11 月 18 日)。また、本研究で行う採血と遺伝子解析に関しては、生命倫理・遺伝子解析研究倫理委員会においてアンケート調査を行うことも含めて承認を得た(鹿児島大学医歯学総合研究科受付番号 3、承認日平成 15 年 10 月 1 日)。

研究期間・調査票の保管方法及び破棄の方法

研究期間は本研究の承認日から約 1 年間とし、アンケートに用いた質問票および調査票は研究期間の終了時まで鹿児島県保健福祉部で保管される。すべての集計・解析が終了し調査結果を公表後、調査票は破棄する。

C. 研究結果

質問票は 1461 名から回収され、血液は 146 名から採取された。血液採取者と質問票回答者の分布は以下のとおりである。

表 1 対象者の地域分布

	血液採取者	質問票回答者
合計	146 例	1461 名
地域		
奄美大島	57 名	491 名
喜界島	13 名	97 名
与論島	21 名	167 名
沖永良部島	13 名	93 名
徳之島	31 名	215 名
出水市	11 名	398 名
性		
男	60 名	592 名
女	86 名	869 名
年齢		
65 歳未満	7 名	390 名
65-68 歳	40 名	299 名
75-76 歳	43 名	276 名
85-108 歳	56 名	496 名

来年度、詳細に解析するとともに、長寿者から得られた血液を用いた遺伝子発現解析の結果との関連を調べ、得られた健康・長寿に関わる環境・宿主要因、および医学的所見の比較検討を行い、予防医学的アプローチを開発する基盤と位置づけ、また、ヒト長寿研究における調査・研究モデルとして、マニュアルやガイドラインの作成も試みる。また、これらの研究で得られた結果を地域に還元し、地域における健康作りの支援を行う予定である。

D. 考察

鹿児島県民の粗百寿率(平成 10~14 年の 5 年間平均の人口 10 万人当たり 100 歳以上者数)は、21.52 と国の 10.7 に比べ高いが、なかでも奄美群島民においては 56.57 と大変高い。高齢者人口 10 万人当たり(年齢調整百寿率)でも、本県は 95.4 と国平均の 61.66 と比べ高く、さらに、奄美

は 219.1 と有意の差で高いため、奄美は百寿者の多い地域であると言える。この地域を対象とし、健康長寿・生態環境調査を行うことは、高齢化を控える我が国の将来に価値のある成果をもたらすものとする。

E. 結論

奄美地域内の14市町村（長寿者率の高い7町村と長寿者率の低い7市町村）及び出水市の計15市町村各対象地域で調査を行い、一部の者から血液を採取した。今後の解析で奄美地域で長寿者の多い理由について重要な示唆が得られることが予測される。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Marugame T, Sobue T, Satoh H, Komatsu S, Nishino Y, Nakatsuka H, Nakayama T, Suzuki T, Takezaki T, Tajima K, Tominaga S. Lung cancer death rates by smoking status: Comparison of the Three-Prefecture Cohort study in Japan to the Cancer Prevention Study II in the USA. *Cancer Sci* 96(2):120-126,2005.
- 2) Sabouri AH, Saito M, Usuku K, Bajestan SN, Mahmoudi M, Forughipour M, Sabouri Z, Abbaspour Z, Goharjoo ME, Khayami E, Hasani A, Izumo S, Arimura K, Farid R, Osame M. Differences in viral and host genetic risk factors for development of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis between Iranian and Japanese HTLV-1-infected individuals. *J Gen Virol*. 86(Pt 3):773-781, 2005.
- 3) Shinmura K, Tao H, Goto M, Igarashi H, Taniguchi T, Maekawa M, Takezaki T, Sugimura H. Inactivating mutations of the human base excision repair gene NEIL1 in gastric cancer. *Carcinogenesis*. 25(12):2311-2317, 2004.
- 4) Sonoda J, Koriyama C, Yamamoto S, Kozako T, Li HC, Lema C, Yashiki S, Fujiyoshi T, Yoshinaga M, Nagata Y, Akiba S, Takezaki T, Yamada K, Sonoda S. HTLV-1 provirus load in peripheral blood lymphocytes of HTLV-1 carriers is diminished by green tea drinking. *Cancer Sci*. 95(7):596-601, 2004.
- 5) Wakai K, Hirose K, Takezaki T, Hamajima N, Ogura Y, Nakamura S, Hayashi N, Tajima K. Foods and beverages in relation to urothelial cancer: Case-control study in Japan. *Int J Urol* 11(1):11-19,2004
- 6) Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, Vine AM, Witkover AW, Furukawa Y, Izumo S, Arimura K, Marshall SE, Usuku K, Bangham CR, Osame M. Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect*

Dis. 190(7):1279-1285. Epub Aug 31, 2004 .

- 7) Saito M, Usuku K, Nobuhara Y, Matsumoto W, Kodama D, Sabouri AH, Izumo S, Arimura K, Osame M. Serum concentration and genetic polymorphism in the 5'-untranslated region of VEGF is not associated with susceptibility to HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in HTLV-I infected individuals. *J Neurol Sci*. 219(1-2):157-61, 2004.
- 8) Kihara T, Biro S, Ikeda Y, Fukudome T, Shinsato T, Masuda A, Miyata M, Hamasaki S, Otsuji Y, Minagoe S, Akiba S, Tei C. Effects of repeated sauna treatment on ventricular arrhythmias in patients with chronic heart failure. *Circ J*. 68(12):1146-1151, 2004.
- 9) Morewaya J, Koriyama C, Akiba S, Shan D, Itoh T, Eizuru Y. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Papua New Guinea. *Oncol Rep*. 12(5):1093-1098, 2004.
- 10) Koriyama C, Kitajima S, Nomoto M, Sueyoshi K, Itoh T, Eizuru Y, Yonezawa S, Akiba S. Loss of p16/CDKN2A protein in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Oncology*. 67(1):81-87, 2004.
- 11) Koriyama C, Akiba S, Corvalan A, Carrascal E, Itoh T, Herrera-Goepfert R, Eizuru Y, Tokunaga M. Histology-specific gender, age and tumor-location distributions of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Japan. *Oncol Rep*. 12(3):543-547, 2004.
- 12) Yoshinaga M, Shimago A, Koriyama C, Nomura Y, Miyata K, Hashiguchi J, Arima K. Rapid increase in the prevalence of obesity in elementary school children. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 28(4):494-499, 2004.

学会発表

- 1) 齊藤峰輝、宇宿功市郎、久保田龍二、出雲周二、有村公良、納光弘。HAM/TSPのIFN- α 治療に伴う末梢血T細胞サブセット・HTLV-Iウイルス量の変動と臨床症状。第45回日本神経学会総会、東京、平成16年5月。
- 2) 児玉大介、齊藤峰輝、池上眞由美、梅原藤雄、出雲周二、宇宿功市郎、納光弘。HAM患者におけるMMP-9(Matrix metalloproteinase-9) promoter領域 d(CA)nrepeat長とCD4+T細胞遊走能。第45回日本神経学会総会、東京、平成16年5月。
- 3) 延原康幸、齊藤峰輝、Amir H. Sabouri、出雲周二、有村公良、宇宿功市郎、納光弘。HAMにおけるVEGF promoter 634C/G多型の検討。第45回日本神経学会総会、東京、平成16年5月。
- 4) 嶽崎俊郎、広瀬かおる、田島和雄。中国江蘇省における大腸がんの環境要因に関する症例・対照研究。第63回日本癌学会。福岡。2004年10月1日。
- 5) Takezaki T, Gao CM, Tajima K. Alcohol consumption and colorectal cancer risk in

Chinese: with special reference to folate intake.
The 2nd APOCP General Assembly Conference,
Seoul, Nov 1, 2004.

- 6) 嶽崎俊郎. タラソテラピーの効果—与論町における介入試験より—、公開シンポジウム ”奄美長寿とアイランド・セラピー”, 鹿児島県与論町、平成17年2月5日.

2. 知的所有権の出願・取得状況
無し。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
無し。
2. 実用新案登録
無し。
3. その他
無し。

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

離島農村地域における長寿の要因および健康寿命に関する研究
－奄美住民遺伝子発現中間報告－

分担研究者 馬嶋 秀行 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
腫瘍学講座顎顔面放射線学研究分野教授

分担研究者 嶽崎 俊郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
国際島嶼医療学講座国際離島医療学分野教授

分担研究者 竹内 亨 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
人間環境学講座環境医学分野教授

分担研究者 秋葉 澄伯 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
人間環境学講座疫学・予防医学分野教授

主任研究者 吉田 浩己 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科長

研究要旨

世界一の長寿圏である奄美地域を対象として、長寿の医学的因子（遺伝子要因解析）を開始した。本年度では、奄美地域の住民83名から血液を採取し、2万個の遺伝子発現をDNAアレイ解析及びミトコンドリアDNA障害解析を開始し、現在解析中である。予備的な結果からは、2万個の遺伝子のうち、特にミトコンドリア関連遺伝子の発現が奄美地域住民で増大している結果が得られた。来年度、発現遺伝子について詳細に検討するとともに、疫学調査から得られた長寿をもたらす環境因子、生活習慣病との関連について検討を行う予定である。

A. 研究目的

長寿要因を探ろうとする研究は世界各国で行われており、わが国でも沖縄県などを中心に行われている。奄美及び南西諸島の地域の中には、特に健康長寿や高い合計特殊出生率が知られている地域があるが、当地域における研究は緒についたばかりである。本研究では、奄美地域における将来の少子・高齢化に対応した「21世紀の長寿社会モデル地域」の構築を促進するために、奄美の長寿成因における遺伝子及びミトコンドリアDNA障害要因を科学的に分析・検証する。

B. 研究方法

対象

対象地域は、奄美地域内の14市町村（長寿者率の高い7町村と長寿者率の低い7市町村）及び出水市の計15市町村である。

対象者は平成15年10月に各市町村にて無作為に抽出された者である。

「一般住民を対象とするアンケート調査」と「栄養調査及び生活活動調査」の対象者で、且つ同意を得た上で血液等を提供された方で各対象地域から無作為に抽出された20歳～100歳以上の男女900名の中で、遺伝子等の解析目的のために血液を提供された方である。

調査方法

各対象者には、以下の要領で調査研究の説明を行い、調査用紙への記入を依頼する。

一般住民を対象とするアンケート調査と栄養調査及び生活活動調査の対象者全員に対して、各市町村の現地説明会の案内・依頼文を郵送することとなっている。その中で、現地説明会参加者で同意を得た上で血液等の提供をされた方に対しても、担当調査員（各市町村の食生活改善推進員等）が戸別訪問を行い、調査研究に関する説明を文書で行う。

調査票は担当調査員が直接訪問して回収するが、その際に同意を得た上で記入漏れ等の確認を行う。確認後の調査票は調査員が回収する。また、記入漏れの確認について同意が得られなかった場合には、確認をせずに調査票を封筒に入れ、封をして調査員が回収する。

各市町村で回収された調査票は管轄保健所に集められ、鹿児島県保健福祉部にて保管・管理される（約1年間）。鹿児島県保健福祉部では各調査票に個人を特定できない番号が振られ、県内のシンクタンクにて電子化ファイル（調査データファイル）を作成する。

またこれらの対象者については、すべての調査票の回答内容と血液等の解析結果を連結するこ

とについても説明を行う。同意が得られた場合には、1) 個人情報と任意の番号(調査票に任意に振り当てられた番号。以下、「調査票番号」という)が電子化されたファイル(個人情報ファイル)と、2) 調査票番号と調査票の回答内容が入力されたファイル(調査データファイル)の、2つのファイルが鹿児島県保健福祉部より総合研究科に渡される。渡された2つのファイルは個人情報管理者、医歯学総合研究科社会・行動医学：小片守教授(分担管理者 医歯学総合研究科人間環境学：青山公治講師)が管理し、改めて連結可能匿名化を行うとともに個人情報ファイルを作成しなおし、個人情報ファイルを個人情報管理者が保管する。

但し、調査票の回答内容と血液等の解析結果を連結することについて同意が得られなかった場合には、調査票の回答内容と血液等の解析結果の連結は行わない。

血液等の解析データと連結した電子化調査データファイル(調査データファイル)は総合研究科における統計学的解析に用いられる。

調査データファイル(匿名電子化ファイル)は他の調査データファイル(いずれも匿名電子化ファイル)と一緒に、保管・管理され、鹿児島県の依頼のもとに総合研究科で統計学的解析が行われる。

(倫理面への配慮)

倫理的配慮

以上述べたように個人情報の保護に配慮して、以下の手続きを取る。

1) 調査票および電子化されたデータ(調査データファイル。全て匿名化されたデータ)は鹿児島県保健福祉部(管理責任者：千村浩)にて管理保管される。なお、記名された調査票は鍵つきキャビネットで施錠の上、保管される。これらのデータのみを用いた統計解析に当たっては、医歯学総合研究科の解析担当者に鹿児島県が調査データファイルを使用させるものとする。

2) 血液等の解析結果と連結されたファイル(個人情報ファイルと調査データファイル)は個人情報管理者、医歯学総合研究科社会・行動医学：小片守教授(分担管理者 医歯学総合研究科人間環境学：青山公治講師)が管理し、改めて連結可能匿名化を行うとともに個人情報ファイルを作成しなおし、個人情報ファイルを個人情報管理者が保管する。

3) 調査員は原則として調査地域以外のものから選定され、調査時には共同研究責任者(吉田浩己と千村浩)が作成した身分証明を携行するものとする。

本研究に用いる情報はすべて匿名化された上でデータ解析が行われること、個人情報については匿名化担当の分担研究者以外の者がアクセスできないように厳重に管理すること、また調査結果の報告や研究成果の公表においては、集計され

た結果のみを発表し、個人が特定されないように細心の注意を払うことにより、個人のプライバシーは保護されるものと考えられる。また同意書を得ている対象者へは、参加に同意した後でもそれを自由に取り消すことができることや調査への協力を断ることで個人的な不利益を被ることは無いことも十分に説明する。

また本研究で行う採血と遺伝子解析に関しては、すでに生命倫理・遺伝子解析研究倫理委員会においてアンケート調査を行うことも含めて承認を得ている(鹿児島大学医歯学総合研究科受付番号3、承認日平成15年10月1日)。

なお、調査データを本研究の目的以外に使用する場合は改めて倫理審査を受けるものとする。

研究期間・調査票の保管方法及び破棄の方法

研究期間は本研究の承認日から約1年間とし、アンケートに用いた質問票および調査票は研究期間の終了時まで鹿児島県保健福祉部で保管される。すべての集計・解析が終了し調査結果を公表後、調査票は破棄する。

C. 研究結果

奄美住民135名から血液を採取し、

1) その白血球からRNAを抽出し、2万個の遺伝子についてDNAアレイ法を用いて遺伝子発現を調べる。

2) 同じく血液中の白血球からDNAを採取し、ミトコンドリアDNAを抽出し、ミトコンドリアDNAの障害を検討する。

これらを現在解析中である。

DNAアレイ法による解析については、現在までに、奄美地域における住民76例を69歳以下、70~89歳、90歳以上の3グループに分け、分散分析(ANOVA)によりグループ比較を行い、フィルタリング基準は有意水準0.5%でチップ間で有意に異なる遺伝子を抽出した(Table 1~9, Fig. 1~8)。

予備的な結果から、奄美地域における住民の遺伝子発現では、ミトコンドリアに関連する遺伝子発現増強が認められた。今後、発現遺伝子個々について詳細に検討する予定である。

Table 1 年齢グループ間で異なっている遺伝子数

Cat. No.	Acegene category	Total
1	Mitochondria related genes	8 / 509
2	Apoptosis	4 / 523
3	Cancer	2 / 614
4	Cell Cycle	1 / 346
5	DNA Replication Repair	1 / 271
6	Protein Synthesis	3 / 126
7	Signal Transduction	1 / 165
8	Transcription	5 / 1292

Table 2 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-1 mitochondria)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsB210813	1.60±0.68	1.71±0.91	1.24±0.54	-	nc_001807 mitochondrion complete genome
AGhsB020218	1.90±0.57	1.98±0.67	1.58±0.42	NDUFA8	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 8 (19kD, PGIV)
AGhsA210520	0.71±0.49	0.56±0.46	0.12±0.35	MTCH1	mitochondrial carrier homolog 1
AGhsA091515	3.33±0.72	3.70±1.03	3.68±0.70	HSPD1	heat shock 60kD protein 1 (chaperonin)
AGhsA160705	2.71±0.62	2.65±0.50	2.38±0.66	ETFA	electron-transfer-flavoprotein, alpha polypeptide (glutaric aciduria II)
AGhsA010510	3.57±1.33	3.72±0.82	3.53±0.85	HCS	cytochrome c
AGhsA190121	2.68±0.57	2.77±0.74	2.29±0.59	ATP5C1	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1
AGhsA041018	2.16±0.69	2.29±0.39	2.11±0.34	VDAC2	voltage-dependent anion channel 2

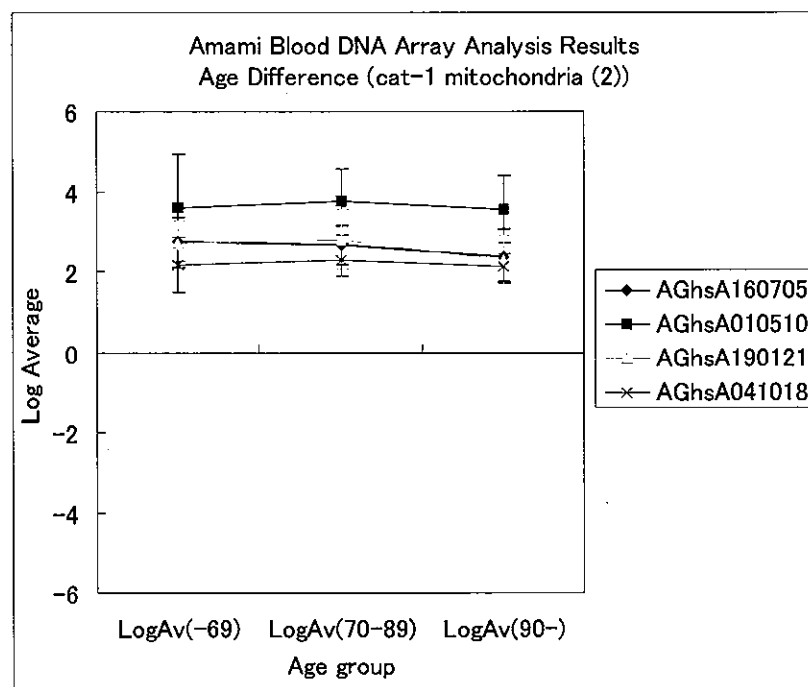
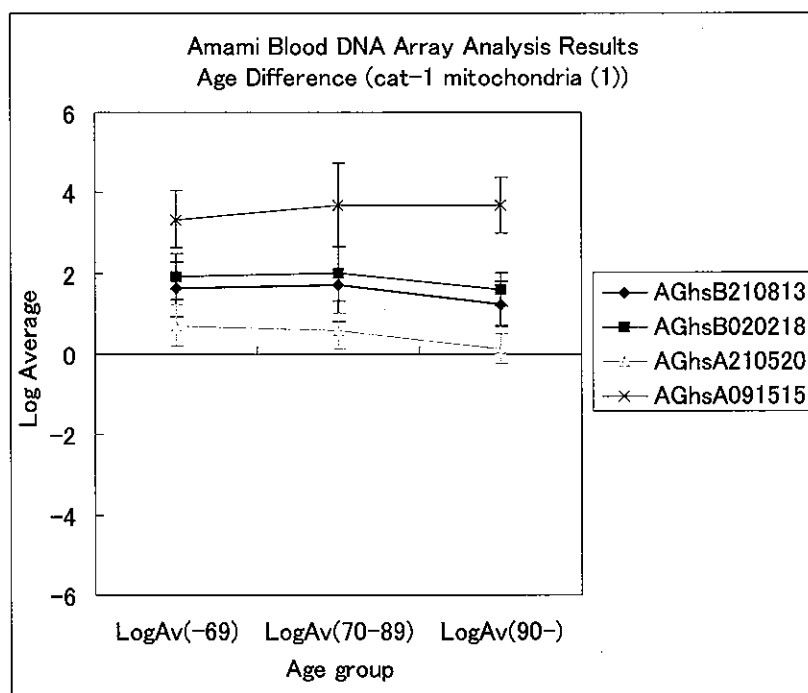


Fig. 1 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-1 mitochondria)

Table 3 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-2 Apoptosis)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsA031614	-2.54±0.65	-2.80±0.73	-2.55±0.70	DAZAP1	DAZ associated protein 1
AGhsA110623	-0.74±0.50	-0.78±0.91	-0.03±0.75	BAIAP1	BAI1-associated protein 1
AGhsA010510	3.57±1.33	3.72±0.82	3.53±0.85	HCS	cytochrome c
AGhsA041018	2.16±0.69	2.29±0.39	2.11±0.34	VDAC2	voltage-dependent anion channel 2

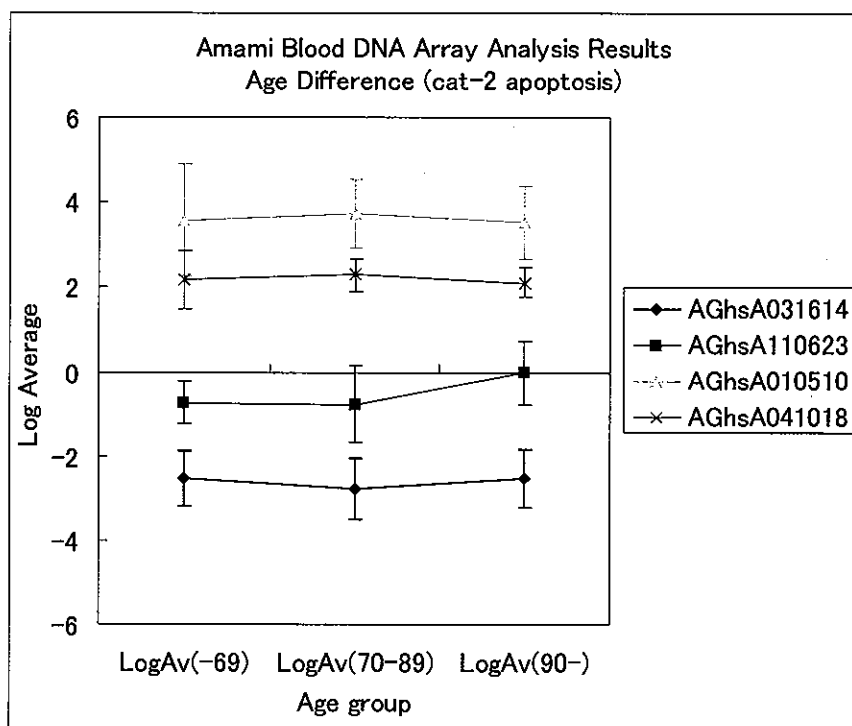


Fig. 2 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-2 Apoptosis)

Table 4 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-3 Cancer)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsA230801	2.33±0.57	2.45±0.55	1.71±0.64	ARME1	arginine-rich, mutated in early stage tumors
AGhsA111113	-3.01±0.79	-2.81±0.59	-2.55±0.86	ERBB4	v-erb-a erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4 (avian)

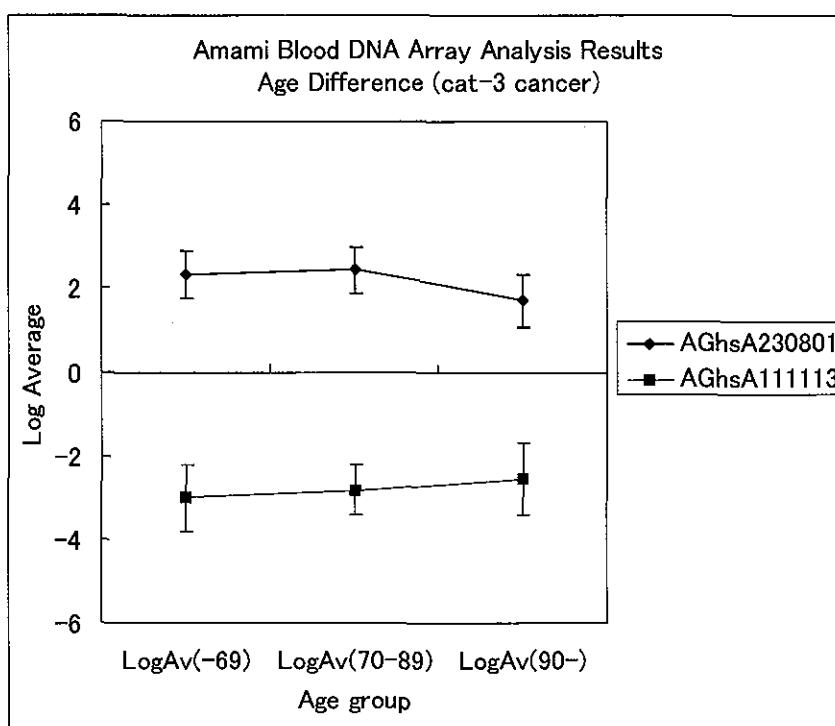


Fig. 3 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-3 Cancer)

Table 5 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-4 Cell Cycle)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsB140315	-1.44±0.96	-1.72±0.75	-0.98±1.12	LCK	lymphocyte-specific protein tyrosine kinase

Table 6 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-5 DNA Replication repair)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsA191201	-2.89±0.62	-3.20±0.66	-2.84±0.64	GADD45G	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma

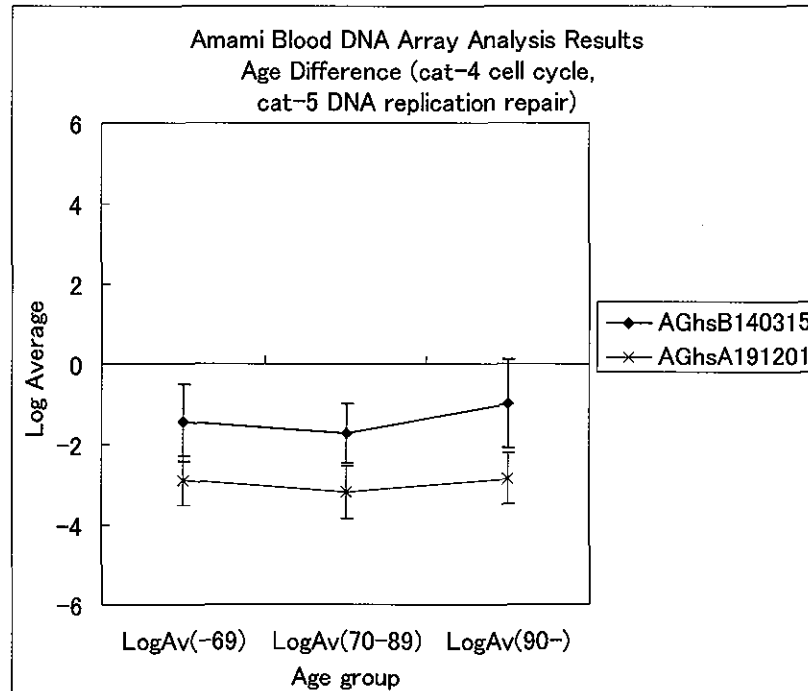


Fig. 4 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-4, 5)

Table 7 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-6 Protein synthesis)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsA041411	-2.03±0.65	-2.15±0.86	-1.49±0.85	HSPC049	HSPC049 protein
AGhsA091515	3.33±0.72	3.70±1.03	3.68±0.70	HSPD1	heat shock 60kD protein 1 (chaperonin)
AGhsA140617	1.44±0.54	1.49±0.51	1.22±0.77	HSPC023	HSPC023 protein

Table 8 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-7 Signal transduction)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsA110623	-0.74±0.50	-0.78±0.91	-0.03±0.75	BAIAP1	BAI1-associated protein 1

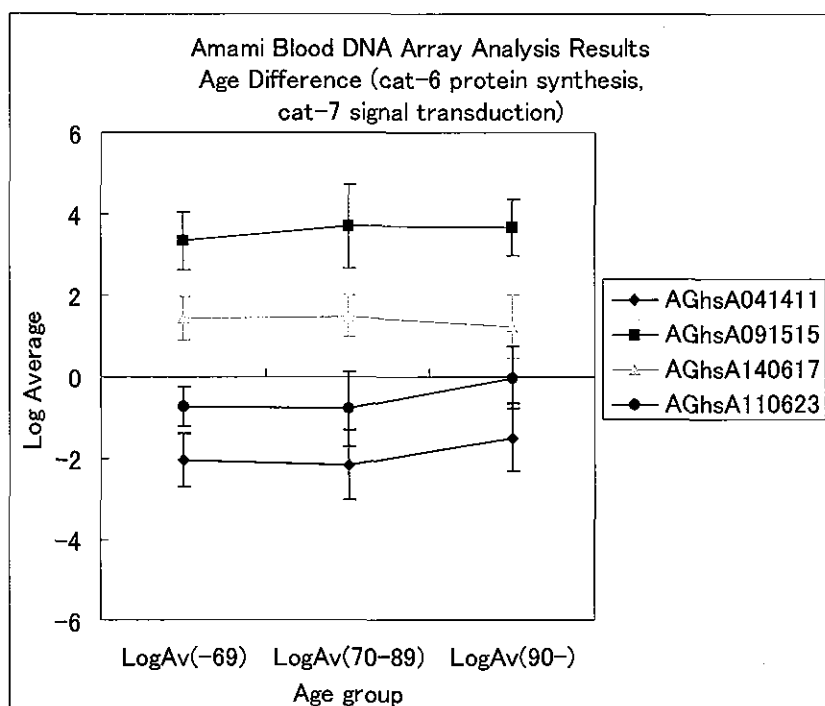


Fig. 5 年齢グループ間で異なっている遺伝子
(Category-6, 7)

Table 9 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-8 Transduction)

OligoID	Log ₂ Av(-69)	Log ₂ Av(70-89)	Log ₂ Av(90-)	Symbol	Gene Name
AGhsA130617	-1.81±0.71	-1.77±0.67	-1.48±0.61	SOX12	SRY (sex determining region Y)-box 12
AGhsA100223	-1.48±0.54	-1.69±0.56	-1.31±0.66	LTBP3	latent transforming growth factor beta binding protein 3
AGhsA150422	-1.56±0.59	-1.43±0.47	-1.34±0.44	DLX4	distal-less homeobox 4
AGhsA051512	-1.05±0.74	-0.83±0.74	-0.66±0.68	ABT1	activator of basal transcription 1
AGhsA180217	-1.89±0.42	-2.00±0.56	-2.08±0.31	NAALADASEL	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase-like; ILEAL DIPEPTIDYLPEPTIDASE

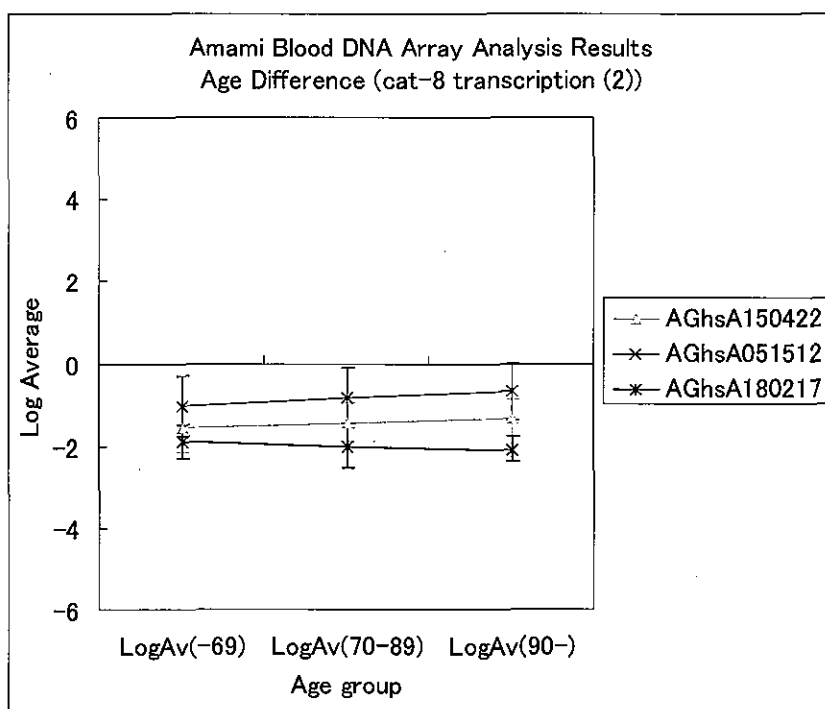
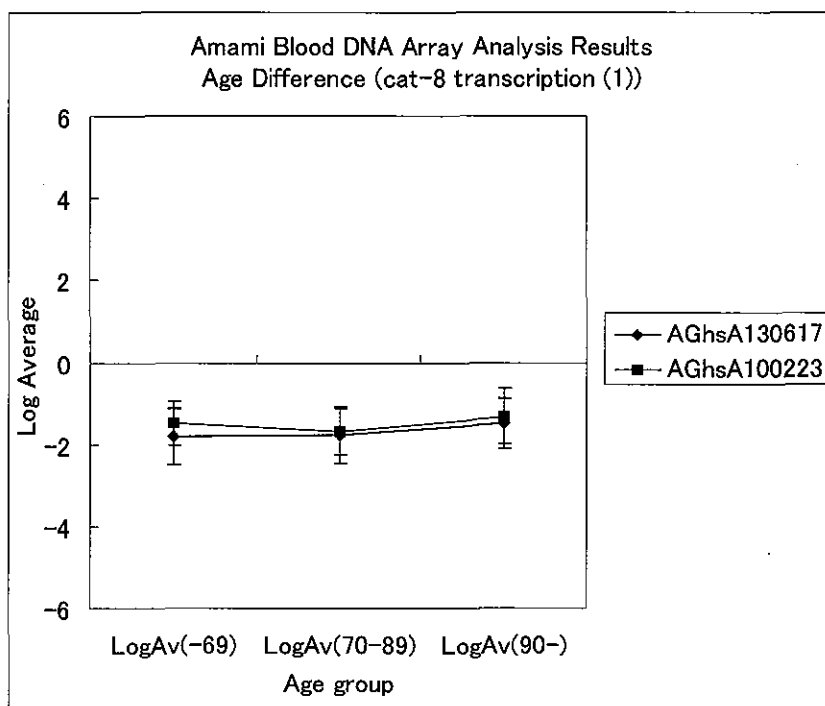


Fig. 6 年齢グループ間で異なっている遺伝子 (Category-8)

D. 考察

老化及び長寿の研究には、テロメア研究、ある特異的な遺伝子研究 (Klotho, Sir 2等) の研究が行われてきた。最近では、酸化ストレスによりミトコンドリアDNA に突然変異を多く発生し、老化、および、アルツハイマー、パーキンソン、ALS等、多くの神経疾患でやはりミトコンドリアの障害がみついている。すなわち、酸化ストレスとミトコンドリア障害の関連が浮きぼりにされている。このほか、ミトコンドリアには、アポトーシスの前駆体であるチトクロームcをはじめ、apoptosis-inducing factor (AIF)、また、caspase 前駆体が存在し自らの細胞の致死に機能している。

一方、今までの老化及び長寿健康に関する研究の多くは実験動物、線虫をモデルとして行われてきた。奄美地域は、世界に誇れる長寿地域であり、また、コーホート研究が可能な地域である。

本研究の予備的な結果から、奄美地域住民の遺伝子発現を調べた結果、ミトコンドリア遺伝子の発現増強が認められた。今後詳細に調べて行く予定である。奄美長寿圏から遺伝子、及びミトコンドリアDNA障害の差が認められるならば、今後の健康長寿研究に貴重な貢献をなすものと考えられる。

E. 結論

世界一の長寿圏である奄美地域を対象として、長寿の医学的因子 (遺伝子要因解析) を開始した。本年度では、奄美地域の住民83名から血液を採取し、2万個の遺伝子発現をDNAアレイ解析及びミトコンドリアDNA障害解析を開始し、現在解析中である。予備的な結果からは、2万個の遺伝子のうち、特にミトコンドリア関連遺伝子の発現が奄美地域住民で増大している結果が得られた。

来年度、詳細に解析するとともに、長寿者から得られた血液を用いた遺伝子発現解析の結果との関連を調べ、得られた健康・長寿に関わる環境・宿主要因、および医学的所見の比較検討を行い、予防医学的アプローチを開発する基盤と位置づけ、また、ヒト長寿研究における調査・研究モデルとして、マニュアルやガイドラインの作成も試みる。また、これらの研究で得られた結果を地域に還元し、地域における健康作りの支援を行う予定である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

【原著】

英文

- 1) Kakinuma S, Nishimura M, Kubo A, Nagai J, Amasaki Y, Majima HJ, Sado T, Shimada Y: Frequent retention of heterozygosity for point mutations in p53 and Ikaros in N-ethyl-N-

nitrosourea-induced mouse thymic lymphomas, *Mutation Research*. 572(1-2):132-141, 2005.

- 2) Shi M, Xu B, Azakami K, Morikawa T, Watanabe K, Morimoto K, Komatsu M, Aoyama K, Takeuchi T. Dual role of vitamin C in an oxygen-sensitive system: Discrepancy between DNA damage and cell death. *Free Radic Res*. 39(2):213-220, 2005.
- 3) Shi M, Takeshita H, Komatsu M, Xu B, Aoyama K, Takeuchi T. Generation of 8-hydroxydeoxyguanosine from DNA using rat liver homogenates. *Cancer Sci*. 96(1):13-18, 2005.
- 4) Hirai F, Motoori S, Kakinuma S, Tomita K, Indo HP, Kato H, Yamaguchi T, Yen H-C, St.Clair DK, Nagano T, Ozawa T, Saisho H and Majima HJ: Mitochondrial Signal Lacking Manganese Superoxide Dismutase Failed to Prevent Cell Death by Reoxygenation following Hypoxia in a Human Pancreatic Cancer Cell Line, KP4. *Antioxidant & Redox Signaling*, 6(3): 523-535, 2004.
- 5) Kariyazono H, Nakamura K, Arima J, Ayukawa O, Onimaru S, Masuda H, Iguro Y, Majima HJ, Sakata R, Yamada K: Evaluation of anti-platelet aggregatory effects of aspirin, cilostazol and ramatroban on platelet-rich plasma and whole blood. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 15(2): 157-167, 2004.
- 6) Ijiri K, Tsuruga H, Sakakima H, Tomita K, Taniguchi N, Shimo-Onoda K, Komiya S, Goldring MB, Majima HJ, Matsuyama T: Increased expression of humanin peptide in diffuse type pigmented villonodular synovitis: implication of its mitochondrial abnormality. *Ann Rheum Dis*. 2004 (Nov 26 on line).
- 7) Shi M, Xu B, Wang X, Aoyama K, Michie SA, Takeuchi T. Oxidative damages in chronic inflammation of a mouse autoimmune disease model. *Immunol Lett*. 95(2):233-236, 2004.

8)

2. 学会発表

【国内】

- 1) 犬童寛子、富田和男、小澤俊彦、長野哲雄、馬嶋秀行: MnSOD が放射線抵抗性を引き起こす、第8回がん分子標的治療研究会総会、鹿児島、平成16年5月13-14日。
- 2) 犬童寛子、富田和男、岩下洋一朗、浦野泰照、長野哲雄、小澤俊彦、馬嶋秀行: ミトコンドリア移行シグナル欠損 MnSOD は放射線誘導細胞死を抑制しない、第26回日本フリーラジカル学会学術集会、山形、平成16年6月24-25日。
- 3) 末永重明、馬嶋秀行: リウマチ性関節炎におけるエストロゲンによるNO産生とアポトーシスの抑制、第17回日本顎関節学会総会、新潟、平成16年7月4、5日。
- 4) 犬童寛子、富田和男、末永重明、佐藤強志、岡田淳徳、馬嶋秀行、X線照射によるアポトーシスには照射後にミトコンドリアから生

ずる活性酸素が重要な役割を果たす、第 45 回日本歯科放射線学会総会、広島、平成 16 年 9 月 16-18 日。

- 5) 竹内亨、小松正治。酸化ストレスに注目した、運動による健康影響評価III。習慣的運動による発がんイニシエーションの抑制。第63回日本癌学会学術総会、福岡、平成16年9月29日。
- 6) 小松正治、竹内亨。尿中8OHdGの由来に関する解析。第63回日本癌学会学術総会、福岡、2004年9月29日。
- 7) 馬嶋秀行。あまみにおける長寿者の遺伝子発現解析、公開シンポジウム ”奄美長寿とアイランド・セラピー”，鹿児島県与論町、平成17年2月5日。
- 8) 加藤豊広、小松正治、青山公治、竹内亨。Non RI, Quantitative 8-hydroxyguanine修復活性測定法の開発。第75回日本衛生学会、新潟、平成17年3月29日。
- 9) 竹内亨、中谷浩司、小松正治、加藤豊広、山中隆夫、竹倉宏明、我妻玲、胥宝会、青山公治。習慣的運動によるがん予防の可能性。第75回日本衛生学会、新潟、平成17年3月29日。

【国外】

- 1) Majima HJ: Mitochondria are the major source to produce intracellular ROS. 12th Biennial Meeting of SFRR-International, Buenos Aires, Argentina, May 5-9, 2004.
- 2) Suenaga S, Kawatoko S, Tomita K, Indo H, Nagano T, Ozawa T, Matsuyama T, Majima HJ: Prevention of nitric oxide formation and cell deaths by estrogen in estrogen receptor expressed rheumatoid arthritis fibroblasts, 3rd International Conference on Nitric Oxide Society, Nara, Japan, May 24-28, 2004.
- 3) Majima HJ, Iwashita Y, Komiya S, Maruyama I, Higashibata A, Ishioka N, Ohira Y: Recovery of Bone Mineral and Morphology in Growing Rat Leg Bone after Hindlimb Unloading, 24th International Symposium on Space Technology

and Science (ISTS), Miyazaki, Japan, May 30-June 6, 2004.

- 4) Ohira Y, Kawano F, Wang XD, Lan YB, Ishihara A, Iwashita Y, Majima HJ, Nonaka I: Load-dependent growth of rat tibia, 35th Committee on Space Research (COSPAR), Paris, France, July 18-25, 2004.
- 5) Majima HJ: New Types of Fluorescent Probes for Intracellular ROS Detection. What do They Tell Us ? The Conference of “Oxidative Damage Marker and Antioxidant Intervention in Health and Diseases”, Chang Gung University, Tao-Yuan, Taiwan, October 29th and 30th, 2004.
- 6) Indo H, Tomita K, Yen H-C, Ozawa T, Majima HJ: Mitochondrial Signal Lacking Manganese Superoxide Dismutase Failed to Prevent Cell Death by X-irradiation in a Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line, HLE SFRBM'S 11th Annual Meeting, St. Thomas, US Virgin Islands, November 17-21, 2004.
- 7) Majima HJ, Indo HP, Tomita K and Ozawa T: Vitamin E protects against intracellular oxidative stress induced by X-irradiation. International Conference on “Antioxidants & Free Radicals in Health –Nutrition & radioprotectors” and IV Annual Conference of Society for Free Radical Research in India (SFRR), Bangalore-India. January 10-12, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
 - 1) 馬嶋秀行、ミトコンドリアから発生する活性酸素の検出方法、特願2004-124869、出願中。
 - 2) 馬嶋秀行、突然変異率計測方法及び装置、特願2004-268440、出願中。
2. 実用新案登録
無し。
3. その他
無し。