

厚生労働科学研究費補助金
健康科学総合研究事業

アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型と脳・心血管病の
関係に関する疫学調査：久山町研究

平成15-17年度 総合研究報告書

主任研究者 清 原 裕

平成18(2006)年4月

目 次

I. まえがき	1
II. 研究組織	3
III. 総合研究報告書	4
アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型と脳・心血管病の関係に関する疫学調査	
: 久山町研究	
清原 裕 (九州大学大学院医学研究院環境医学・教授)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	18
V. 研究成果の刊行物・別刷	21

まえがき

近年わが国では、高齢者人口が急速に増加し、その健康対策が大きな課題となっている。なかでも脳卒中や虚血性心疾患などの心血管病は、生命を脅かし生活の質（quality of life, QOL）を低下させる大きな要因で、その予防対策の確立が急がれる。従来の疫学研究では、これらの疾患についておもに生活習慣や環境因子の側面から検討がおこなわれてきた。しかし心血管病の発症には遺伝的因子も関与することから、その関与の度合いを明らかにすることは心血管病発症の機序を解明し、予防に大きく貢献すると期待される。

心血管病発症に関連する遺伝子因子の中で、レニン-アンジオテンシン系の遺伝子は高血圧や心筋梗塞など心血管病の成因に深くかかわることが示唆されている。とくにアンジオテンシン変換酵素（ACE）遺伝子の多型は ACE の血中濃度に有意差をもたらし、心筋梗塞や他の心血管病の遺伝的リスクとなる可能性が指摘され注目されている。この遺伝子多型と心血管病との関係を、従来の危険因子を考慮に入れて疫学的に検討することにより、心血管病発生のメカニズムをさらに深く把握することが可能となるであろう。

本研究では、九州大学の病理学部門、生化学部門との共同研究により、1961年から継続中の福岡県久山町の地域住民を対象とした疫学研究において、対象者の連続剖検例（剖検率 80%）のパラフィン包埋組織ブロックから DNA を抽出し、ACE 遺伝子多型を決定する技術を確立した。これに加え健診時に同意を得たのちに採取した血液サンプルからも DNA を採取し、過去 42 年間における久山町住民の大多数にあたる 4,159 名の ACE 遺伝子多型を測定することができた。これをもとに ACE 遺伝子多型と脳卒中など心血管病発症との関係を、既知の危険因子の影響を考慮に入れてコホート研究のスタイルで検討を行った。

本研究では、保存された剖検組織から遺伝子型を決定する技術により、過去

に蓄積した死亡者の遺伝および臨床情報を有効に活用することが可能となった。剖検例のデータを用いて、追跡研究によって遺伝的要因が心血管病発症に与える影響を検討する本研究の手法は、わが国の分子疫学研究の先鞭となりうるであろう。生活習慣・環境要因に遺伝的要因を加味した本研究の成果は、遺伝因子のみならず同時に解析する既知の危険因子の影響力もより正確に評価することにつながり、心血管病の予防に大きく貢献すると期待される。このような分子疫学がわが国に根付くことにより、より効果的な予防手段が開発され医療技術がさらに発達することを切に願っている。

主任研究者 清原 裕

研究組織

主任研究者

清原 裕 九州大学大学院医学研究院環境医学・教授

分担研究者

飯田 三雄 九州大学大学院医学研究院病態内科学・教授

居石 克夫 九州大学大学院医学研究院病理病態学・教授

恒吉 正澄 九州大学大学院医学研究院形態機能病理学・教授

中別府 雄作 九州大学生体防御医学研究所個体機能制御学・教授

研究協力者

土井 康文 九州大学大学病院第二内科

有馬 久富 九州大学大学院医学研究院環境医学

二宮 利治 九州大学大学院医学研究院環境医学

田中 圭一 九州大学大学院医学研究院病態機能内科学

厚生労働科学研究費補助金（がん予防等健康科学総合研究事業）

総合研究報告

アンジオテンシン変換酵素遺伝子多型と脳・心血管病の関係に関する
疫学調査：久山町研究

主任研究者 清原 裕（九州大学大学院医学研究院環境医学・教授）

研究要旨

剖検例のパラフィン固定組織から DNA を抽出し、アンジオテンシン変換酵素(ACE) 遺伝子多型を測定する技術を確立した。これを基に福岡県久山町の連続剖検例について ACE 遺伝子を測定した。また久山町の健診受診者から得られた血液サンプルより、ACE 遺伝子多型を測定した。両者を併せた結果、1988 年に久山町の循環器健診を受診した 40 歳以上の住民のうち、2,125 名(男性 866 名, 女性 1,259 名)について ACE 遺伝子を測定することが可能であった。この集団を 14 年間追跡し、ACE 遺伝子多型と虚血性心疾患、脳卒中の発症との関係を検討した。その結果、ACE 遺伝子の ID および II 型は、DD 型に比べ他の危険因子を調整しても女性の脳卒中発症の有意な危険因子となった [ID 型の相対危険 2.49 ($p < 0.05$)、II 型の相対危険 2.78 ($p < 0.05$)]。男女の虚血性心疾患と男性の脳卒中の発症については、有意な関連を認めなかった。さらに連続剖検例 817 名について、ACE 遺伝子多型と糸球体硬化、腎細小動脈硝子化、腎細動脈硬化との関係を検討した。その結果、ID と II 型は、DD 型に比べ他の危険因子を調整しても糸球体硬化の頻度を有意に上昇させた [ID 型のオッズ比 2.18 ($p < 0.05$)、II 型のオッズ比 2.05 ($p < 0.1$)]。しかし、ACE 遺伝子多型と細小動脈硝子化および細動脈硬化のリスクとの間に明らかな関連は認めなかった。

以上より、ACE 遺伝子の II と ID 型は心血管病の有意な危険因子となることが示唆された。

分担研究者

飯田 三雄（九州大学大学院医学研究院病態機能内科学・教授）

居石 克夫（九州大学大学院医学研究院病理病態学・教授）

恒吉 正澄（九州大学大学院医学研究院形態機能病理学・教授）

中別府雄作（九州大学生体防御医学研究所 個体機能制御学・教授）

A. 研究目的

従来より、レニン-アンジオテンシン系は高血圧を含む心血管病と密接に関連することが指摘されていたが、近年の分子遺伝学の進歩によって、レニン-アンジオテンシン系の遺伝子が高血圧や心筋梗塞など心血管病の成因に深くかかわることが示唆されている。とくにアンジオテンシン変換酵素(ACE) 遺伝子の多型は、心筋梗塞や他の心血管病の遺伝的リスクとなる可能性が指摘

され注目されている。この遺伝子多型と脳・心血管病との関係を、従来の危険因子を考慮に入れて疫学的に検討することにより、脳・心血管病発生のメカニズムをさらに深く把握することが可能となりうる。

本研究では、過去 42 年間にわたる福岡県久山町の連続剖検例（剖検率 80%）のパラフィン包埋組織ブロックと健診で採取した血液から DNA を抽出し、ACE 遺伝子多型を測定した。この多型と脳卒中および虚血性心疾患発症との関係を、環境要因など既知の危険因子の影響を考慮に入れて前向きに検討を行った。また剖検例では、ACE 遺伝子多型と糸球体硬化、腎細動脈硝子化、腎細動脈硬化の間の関連を解析した。

B. 研究方法

1962 年 1 月 1 日から 1994 年 12 月 31 日の間に久山町住民の死亡者 1,742 名のうち 1,394 名に剖検を行った（剖検率 80.0%）。このうち、1961 年、1967 年、1974 年、1978 年、1983 年、1988 年に行った 6 回の循環器健診のうち、受診時の年齢 40 歳以上で、少なくとも 1 回の健診を受診した者は 1,168 名であった。パラフィン固定組織から DNA を採取する技術を確立した。これを基に久山町で剖検時に採取された主要組織標本から ACE 遺伝子型を決定した。ACE 遺伝子多型判定不能例は 22 名、他院で剖検 80 名、その他 33 名を除いた、1,033 名と 1995 年から 1999 年の健診受診者で、遺伝子解析の同意した 3,126 名を合わせた 4,159 名の ACE 遺伝子多型を測定した。

1. ACE 遺伝子多型と心血管病発症の検討

1988 年に久山町の循環器健診を受診した 40 歳以上の住民 2,742 名のうち、心筋梗塞

と脳卒中の既往がなく、前述の ACE 遺伝子多型のタイプを決定できた 2,125 名（男性 866 名、女性 1,259 名）を対象とし、14 年間追跡した。心筋梗塞、発症 1 時間以内の心臓突然死、経皮的冠動脈形成術・冠動脈バイパス術施行を虚血性心疾患発症と定義し、脳梗塞、脳出血、クモ膜下出血を脳卒中とした。Cox 比例ハザードモデルを用いて、ACE 遺伝子多型が脳卒中と虚血性心疾患発症に与える影響の相対危険 (RR) を求めた。

2. ACE 遺伝子多型と腎血管病変の検討

1,033 名の剖検者の中で腎組織の保存がない 98 名と死亡から 7 年以内に健診を受診しなかった 118 名を除いた 817 名（男 445 名、女 372 名）の腎血管病変を検討した。腎組織はパラフィン固定を行った腎組織を 2 μ m で薄切し、periodic acid-Schiff

(PAS) 染色を行った。糸球体硬化の評価は Raji ら (1) の方法、細動脈硝子化の評価は Bader ら (2) の方法、細動脈硬化の程度は Kernohan ら (3) の方法で評価した。各変数のカットオフ値は蛋白尿、腎不全、高血圧、耐糖能異常、原発性腎疾患のない 100 名を選出し、各値の 95 パーセンタイル値より大、または 5 パーセンタイル値より小とした。このカットオフ値を用いて、ロジスティック解析で、ACE 遺伝子多型と腎血管病変の影響のオッズ比 (OR) を算出した。

ACE 遺伝子多型の判定

血液サンプルの DNA 抽出は、Lahiri ら (4) の方法を用い、パラフィン固定組織からの抽出は、Tukada ら (5) の方法で行った。次に Evans ら (6) の報告した PCR 法を実施し、ACE 遺伝子のイントロン 16 の一部を増幅した。3 種類のプライマーを用いて PCR 法を実施すると、I および D アレルからそ

それぞれ 65 および 84bp の PCR 産物が生成される。得られた PCR 産物を 10% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色して、組合せにより遺伝子多型 (II 型, ID 型, DD 型) を判定することが可能であった。

危険因子

血圧 $\geq 140/90$ mmHg または降圧薬内服を高血圧ありと定義した。耐糖能異常は 1961 年、1967 年は尿糖陽性者に糖負荷試験を行い、1974 年、1978 年、1983 年は空腹時と食後血糖値で評価した。1988 年は、75 g 経口糖負荷試験を用いて判定した。糖尿病の病歴を有する者は、耐糖能異常ありとした。心電図異常はミネソタコード 3-1、4-1、2、3 を異常と定義した。週に 3 回以上運動する場合を運動習慣ありとした。糸球体濾過量は MDRD 研究の式を用いて評価した (7)。

倫理面の配慮

本研究は 3 省合同の「ヒトゲノム/遺伝子解析研究に関する倫理指針」および 2 省合同の「疫学研究に関する倫理指針」に準拠し、九州大学ヒトゲノム・遺伝解析倫理審査専門委員会の承認の元で行われた。本研究は、健診受診者を対象とした疫学調査で、対象者が研究によって不利益を被ることはない。研究者は、対象者の個人情報漏洩を防ぐうえで細心の注意を払い、その管理に責任を負っている。

C. 研究結果

1. ACE 遺伝子多型と心血管病発症の検討

ACE 遺伝子多型と心血管病発症の検討では、14 年間の追跡期間内に虚血性心疾患 118 例、脳卒中 196 例の発症をみた。年齢調整後の虚血性心疾患発症率は、男女とも

ACE 遺伝子多型間で有意差はなかった。脳卒中発症率(対 1,000 人年)は、男性では ACE 遺伝子多型間で有意差を示さなかったが、女性では DD 型 (3.3) に比べ、ID 型 (8.9, $p < 0.05$) と II 型 (8.1, $p < 0.05$) で有意に上昇した。女性で認められたこの関係は、多変量解析で他の危険因子を調整しても変わらなかった [ID 型の $RR = 2.49$ ($p < 0.05$)、II 型の $RR = 2.78$ ($p < 0.05$)] (図 1)。脳卒中を病型別にみると、ACE 遺伝子多型と出血性脳卒中(脳出血+クモ膜下出血)の間に有意な関連はなかったが、女性の脳梗塞のリスクは DD 型に比べ、ID 型 ($RR = 6.23$, $p < 0.05$) と II 型 ($RR = 7.29$, $p < 0.01$) で有意に高かった。さらに、女性における脳卒中のリスクは、高血圧あるいは糖尿病に ID または II 型が合併すると増大した。

2. ACE 遺伝子多型と腎血管病変の検討

ACE 遺伝子多型別に糸球体硬化、腎細小動脈硝子化、腎細動脈硬化の頻度(年齢・性調整)をみると、ID と II 型は DD 型に比べ、糸球体硬化の頻度が有意に高かった (DD 型:14.2%、ID 型:23.4%、II 型:23.6%)。細小動脈硝子化の頻度と ACE 遺伝子多型の間は、明らかな関連は見られなかった。細動脈硬化の頻度は、DD 型に比べ ID と II 型で増加する傾向にあったが、有意差はなかった。さらに、糸球体硬化、腎細小動脈硝子化、腎細動脈硬化に対する ACE 遺伝子多型のオッズ比 (OR) をロジスティック回帰モデルで危険因子を調整して調べた (表 1)。調整変数として、死亡時年齢、性、蛋白尿、高血圧、耐糖能異常、心電図異常、心血管病の既往、血清コレステロール、飲酒、喫煙の有無を用いた。その結果、ID および II 型は DD 型に比べ、糸球体硬化に対する OR

が約 2 倍高かった [ID 型の OR = 2.18 (p<0.05)、II 型の RR=2.05 (p<0.1)、II+ID 型の OR=2.11 (p<0.05)]。II 型は DD+ID 型に対して有意なリスクではなかった。同様の傾向は ACE 遺伝子多型と細動脈硬化との間にも認められたが、統計学的に有意差を認めなかった。ACE 遺伝子多型と細小動脈硝子化に関連はなかった。

D. 考 察

ACE 遺伝子多型と脳卒中や虚血性心疾患などの心血管病の発症との関係を検討した報告は多数みられるが、未だに結論は出ていない (8)。ACE D 対立遺伝子が頸動脈の内膜肥厚の有意なリスクであるとしたメタ解析の報告がある (9)。一方、剖検症例による大動脈や冠状動脈の硬化度と ACE 遺伝子多型の関係をみた報告は、動脈硬化の程度と関連はなかったとしている (10)。

本研究では、ACE 遺伝子多型と虚血性心疾患発症の関係は男女とも有意差はなかった。さらに男性の脳卒中発症も、有意差を示さなかった。しかし予想に反し ID または II 型は DD 型に比べ、女性の脳卒中発症の独立した有意な危険因子であった。同様に剖検症例で ACE 遺伝子多型と糸球体硬化の頻度を検討した結果も、ID および II 型は DD 型に比べ有意な危険因子であり、腎動脈硬化も ID と II 型で増加する傾向が見られた。

これまで ACE I 対立遺伝子はアルツハイマー病、高血圧、深部静脈血栓症の発症の危険因子になるという報告がある (11-14)。また、2 型糖尿病患者の尿中アルブミン量や血漿中のプラスミノゲン値の上昇と有意な関連が見られたという報告も見られる

(15)。しかし、ACE 遺伝子の ID および II 型と動脈硬化性疾患の関連についての機序は不明であり、今後の検討課題として残される。

E. 結 論

久山町住民において、ACE 遺伝子多型と心血管病の発症および腎血管病変に与える影響を検討した。II と ID 型は DD 型に比べ、女性の脳卒中と糸球体硬化の独立した有意な危険因子であった。

F. 健康危険情報

ACE 多型の ID と II 型は DD 型に比べ、女性の脳卒中と糸球体硬化の有意な危険因子となる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Wakugawa Y, Kiyohara Y, Tanizaki Y, Kubo M, Ninomiya T, Hata J, Doi Y, Okubo K, Oishi Y, Shikata K, Yonemoto K, Maebuchi D, Ibayashi S, Iida M.: C-reactive protein and risk of first-ever ischemic and hemorrhagic stroke in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Stroke* 37:27-32, 2006
2. Arima H, Kiyohara Y, Tanizaki Y, Nakabeppu Y, Kubo M, Kato I, Sueishi K, Tsuneyoshi M, Fujishima M, Iida M.: Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism modifies the smoking-cancer association: the Hisayama Study. *Eur J Cancer Prev* 15: 2006 in press
3. Yamagata H, Kiyohara Y, Nakamura S, Kubo M, Tanizaki Y, Matsumoto T, Tanaka K,

- Kato I, Shirota T, Iida M.: Impact of fasting plasma glucose levels on gastric cancer incidence in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Diabetes Care* 28 : 789-794, 2005
4. Doi Y, Kiyohara Y, Kubo M, Tanizaki Y, Okubo K, Ninomiya T, Iwase M, Iida M.: Relationship between C-reactive protein and glucose levels in Community-dwelling subjects without diabetes: the Hisayama Study. *Diabetes Care* 28:1211-1213, 2005
 5. Doi Y, Kiyohara Y, Kubo M, Ninomiya T, Wakugawa Y, Yonemoto K, Iwase M, Iida M.: Elevated C-reactive protein is a predictor of the development of diabetes in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Diabetes Care* 28:2497-2500, 2005
 6. Miyazaki M, Kiyohara Y, Yoshida A, Iida M, Nose Y, Ishibashi T.: The 5-year incidence and risk factors for age-related maculopathy in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Investigative ophthalmology & visual science* 46:1907-1910, 2005
 7. Miyazaki M, Kubota T, Kubo M, Kiyohara Y, Iida M, Nose Y, Ishibashi T.: The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in a Japanese population: the Hisayama Study. *J Glaucoma* 14:482-484, 2005
 8. Tanaka K, Kiyohara Y, Kubo M, Matsumoto T, Tanizaki Y, Okubo K, Ninomiya T, Oishi Y, Shikata K, Iida M.: Secular trends in the incidence, mortality, and survival rate of gastric cancer in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Cancer Causes Control* 16:573-578, 2005
 9. Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Yamashita Y.: Relationship between obesity, glucose tolerance, and periodontal disease in Japanese Women: the Hisayama Study. *J Periodontal Res* 40:346-353, 2005
 10. Ninomiya T, Kiyohara Y, Kubo M, Tanizaki Y, Doi Y, Okubo K, Wakugawa Y, Hata J, Oishi Y, Shikata K, Yonemoto K, Hirakata H, Iida M.: Chronic kidney disease and cardiovascular disease in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Kidney Int* 68:228-236, 2005
 11. Hata J, Tanizaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Tanaka K, Okubo K, Nakamura H, Oishi Y, Ibayashi S, Iida M.: Ten year recurrence after first ever stroke in a Japanese community: the Hisayama Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:368-372, 2005
 12. Shimazaki Y, Saito T, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Yamashita Y.: Relationship between drinking and periodontitis: the Hisayama Study. *J Periodontal Res* 76:1534-1541, 2005
 13. Tanaka K, Kiyohara Y, Kato I, Matsumoto T, Yamagata H, Kubo M, Tanizaki Y, Okubo K, Nakamura H, Iwamoto H, Nakayama K, Iida M.: Incidence and prognosis of gastric cancer in a population-based cohort survey: the Hisayama Study.

- Scand J Gastroenterol 5:459-463, 2004
14. Miyazaki M, Kubo M, Kiyohara Y, Okubo K, Nakamura H, Fujisawa K, Hata Y, Tokunaga S, Iida M, Nose Y, Ishibashi T: Comparison of diagnostic methods for diabetes mellitus based on prevalence of retinopathy in a Japanese population: the Hisayama Study. *Diabetologia* 47:1411-1415, 2004
 15. Shimizu H, Kiyohara Y, Kato I, Kitazono T, Tanizaki Y, Kubo M, Ueno H, Ibayashi S, Fujishima M, Iida M.: Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama Study. *Stroke* 35:2072-2077, 2004
 16. Ninomiya T, Kiyohara Y, Kubo M, Tanizaki Y, Tanaka K, Okubo K, Nakamura H, Hata J, Oishi Y, Kato I, Hirakata H, Iida M.: Hyperhomocysteinemia and the development of chronic kidney disease in a general population: the Hisayama Study. *Am J Kidney Dis* 44:437-445, 2004
 17. Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Koga T.: The severity of periodontal disease is associated with the development of glucose intolerance in non-diabetics: the Hisayama Study. *J Dent Res* 83:485-490, 2004
 18. Shimazaki Y, Saito T, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Koga T.: Relationship between electrocardiographic abnormalities and periodontal disease: the Hisayama Study. *J Periodntol* 75:791-797, 2004
 19. Kubo M, Kiyohara Y, Kato I, Tanizaki Y, Arima H, Tanaka K, Nakamura H, Okubo K, Iida M.: Trends in the incidence, mortality, and survival rate of cardio-vascular disease in a Japanese community: the Hisayama Study. *Stroke* 34:2349-2354, 2003
 20. Kiyohara Y, Shinohara A, Kato I, Shirota T, Kubo M, Tanizaki Y, Fujishima M, Iida M.: Dietary factors and development of impaired glucose tolerance and diabetes in a general Japanese population: the Hisayama Study. *J Epidemiol* 13:251-258, 2003
 21. Kiyohara Y, Kubo M, Kato I, Tanizaki Y, Tanaka K, Okubo K, Nakamura H, Iida M.: Ten-year prognosis of stroke and risk factors for death in a Japanese community: the Hisayama Study. *Stroke* 34:2343-2347, 2003
 22. Kato I, Kiyohara Y, Kubo M, Tanizaki Y, Arima H, Iwamoto H, Shinohara N, Nakayama K, Fujishima M.: Insulin-mediated effects of alcohol intake on serum lipid levels in a general population: the Hisayama Study. *J Clin Epidemiol* 56:196-204, 2003
 23. Miyazaki M, Nakamura H, Kubo M, Kiyohara Y, Oshima Y, Ishibashi T, Nose Y.: Risk factors for age related maculopathy in a Japanese population: the Hisayama Study. *Br J Ophthalmol* 87:469-472, 2003
 24. Tu F, Anan M, Kiyohara Y, Okada Y, Nobutomo K.: Analysis of hospital

- charges for ischemic stroke in Fukuoka, Japan. *Health Policy* 66:239-246, 2003
25. Kubo M, Kiyohara Y, Kato I, Tanizaki Y, Katafuchi R, Hirakata H, Okuda S, Tsuneyoshi M, Sueishi K, Fujishima M, Iida M.: Risk factors for renal glomerular and vascular changes in an autopsy-based population survey: the Hisayama Study. *Kidney Int* 63:1508-1515, 2003
 26. Arima H, Tanizaki Y, Kiyohara Y, Tsuchihashi T, Kato I, Kubo M, Tanaka K, Ohkubo K, Nakamura H, Abe I, Fujishima M, Iida M.: Validity of the JNC recommendations for the management of hypertension in a general population of Japanese elderly: the Hisayama Study. *Arch Intern Med* 163:361-366, 2003
 27. Wakisaka Y, Furuta A, Tanizaki Y, Kiyohara Y, Iida M, Iwaki T.: Age-associated prevalence and risk factors of Lewy body pathology in a general population: the Hisayama Study. *Acta Neuropath* 106:374-382, 2003
 28. Miyazaki M, Nakamura H, Kubo M, Kiyohara Y, Iida M, Ishibashi T, Nose Y.: Prevalence and risk factors for epiretinal membranes in a Japanese population : the Hisayama Study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 241:642-646, 2003
1. 清原 裕：久山町研究. EBM から見た糖尿病における心血管疾患予防の重要性, 第 39 回糖尿病学の進歩, レクチャー, 仙台, 2005
 2. 清原 裕：老年期痴呆の危険因子としての糖尿病：久山町研究. 第48回日本糖尿病学会年次学術集会, シンポジウム, 神戸, 2005
 3. 清原 裕：一般住民における糖尿病と悪性腫瘍の関係：久山町研究. 第20回日本糖尿病合併症学会, シンポジウム, 東京, 2005
 4. 清原 裕：糖尿病の予防と管理の課題：久山町研究. 第43回日本糖尿病学会九州地方会, シンポジウム, 熊本, 2005
 5. 湧川佳幸, 清原 裕：久山町の一般住民における高感度CRP値と脳卒中発症の関連：久山町研究. 第15回 日本疫学会学術総会, 滋賀, 2005
 6. Sato A, Tanizaki Y, Kiyohara Y: Prediction of the risk of coronary heart disease occurrence Based on the individual risk profile: the Hisayama study. 第69回日本循環器学会総会, 横浜, 2005
 7. 久保充明, 清原 裕：脳卒中の分子遺伝学的アプローチ：脳梗塞のゲノムワイド研究. 第30回日本脳卒中学会総会, シンポジウム, 岩手, 2005
 8. 湧川佳幸, 清原 裕：一般住民における定期的な運動が脳卒中発症に及ぼす影響：久山町研究. 第30回日本脳卒中学会総会, 岩手, 2005
 9. 土井康文, 清原 裕：地域住民における γ -glutamyltransferase レベルと糖尿病発症の関係：久山町研究. 第48回日本

2. 学会発表

- 糖尿病学会年次学術集会, 神戸, 2005
10. 大久保 賢, 清原 裕: 地域住民におけるメタボリックシンドロームと虚血性心疾患の関連: 久山町研究. 第48回日本糖尿病学会年次学術集会, 神戸, 2005
 11. 志方健太郎, 清原 裕: 地域住民における食塩摂取量と胃癌発症の関係: 久山町研究. 第47回日本老年医学会学術集会, 東京, 2005
 12. 前淵大輔, 二宮利治, 清原 裕: 高齢者における心電図上のQT間隔と脈波伝播速度(baPWV)の関係: 久山町研究. 第47回日本老年医学会学術集会, 東京, 2005
 13. 二宮利治, 清原 裕: 慢性腎不全と心血管系合併症—疫学・病態と進展阻止に向けて—一般住民における慢性腎機能障害と心血管病発症の関係: 久山町研究. 第48回日本腎臓学会学術総会, ワークショップ, 横浜, 2005
 14. 二宮利治, 清原 裕: 腎疾患と心血管系合併症—一般住民における慢性腎機能障害と心血管病発症の関係: 久山町研究. 第35回日本腎臓学会西部学術大会, ワークショップ, 長崎, 2005
 15. Doi Y, Kiyohara Y: Liver enzymes as a predictor for incident diabetes mellitus in a general Japanese population: the Hisayama Study. The 6th international diabetes federation Western Pacific Region Congress Bangkok, Thailand, 2005
 16. Ninomiya T, Kiyohara Y: Impact of metabolic syndrome on the development of chronic kidney in a general Japanese population: the Hisayama Study. The 6th international diabetes federation

Western Pacific Region Congress Bangkok, Thailand, 2005

17. 清原 裕: 急増する代謝性異常と心血管病: 久山町研究. アテローム診療の最前線 2005, 京都, 2005

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

I. 参考文献

1. Raij L, et al: Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats. *Kidney Int* 26: 137-143, 1984
2. Bader H, et al: The size of the juxtaglomerular apparatus in diabetic glomerulosclerosis and its correlation with arteriolosclerosis and arterial hypertension: a morphometric light microscopic study on human renal biopsies. *Clin Nephrol* 8: 308-311, 1977
3. Kernohan JW, et al: The arterioles in cases of hypertension. *Arch Intern Med* 44: 395-423, 1929
4. Lahiri DK, et al: Rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 19:5444, 1991
5. Tsukada T, et al: Rapid and simple method for preparation of DNA by SDS-Percoll-Chloroform-GuSCN. *Rinsho-Kagaku* 24: 65c, 1995 (in Japanese)
6. Evans AE, et al: Polymorphisms of the

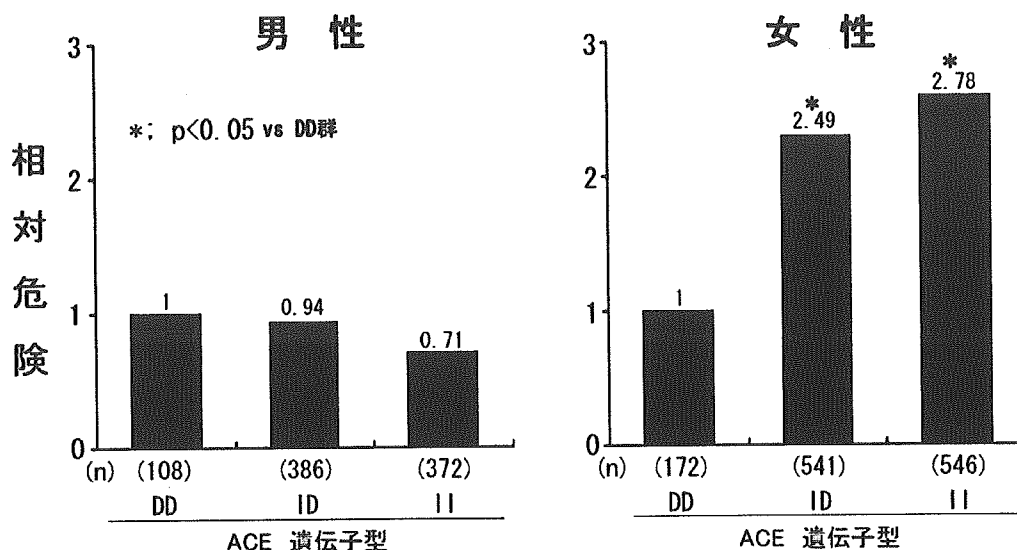
- angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med* 87: 211-214, 1994
7. Levey AS, et al: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 130: 461-470, 1999
8. Agerholm-Larsen B, et al: ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:484-492, 2000
9. Sayed-Tabatabaei FA, et al: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and carotid artery wall thickness: a meta-analysis. *Stroke* 34: 1634-1639, 2003.
10. Scheer WD, et al: ACE insert/delete polymorphism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 178: 241-247, 2005
11. Elkins JS, et al: Alzheimer disease risk and genetic variation in ACE: a meta-analysis. *Neurology* 62: 363-368, 2004
12. Kolsch H, et al: ACE I/D polymorphism is a risk factor of Alzheimer's disease but not of vascular dementia. *Neurosci Lett* 377: 37-39, 2005
13. Ismail M, et al: Association between the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and essential hypertension in young Pakistani patients. *J Biochem Mol Biol* 37: 552-555, 2004
14. Wells PS, et al: The ACE D/D genotype is protective against the development of idiopathic deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 90: 829-834, 2003
15. Tkac I, et al: Angiotensin-converting enzyme genotype, albuminuria and plasma fibrinogen in type 2 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr* 115: 835-839, 2003

J. 研究協力者

土井康文 (九州大学大学病院第二内科)

図1 ACE遺伝子型別の脳卒中発症に対する相対危険

久山町住民 男性866名, 女性1,259名, 40歳以上, 1988-2002年, 多変量調整†



†: 年齢, 高血圧, 心電図異常, HbA1c, BMI, 血清総コレステロール, HDLコレステロール, 中性脂肪, 喫煙, 飲酒, 運動

表1 ACE遺伝子型と腎硬化性疾患の関係

久山町住民 男性445名, 女性372名, 40歳以上

	糸球体硬化		細動脈硝子化		細動脈硬化	
	OR	95%CI	OR	95%CI	OR	95%CI
性・死亡時年齢調整						
II (vs DD)	2.04	(1.05-3.97)*	1.16	(0.57-2.35)	1.57	(0.86-2.88)
ID (vs DD)	2.12	(1.10-4.10)*	0.96	(0.47-1.94)	1.42	(0.78-2.59)
II+ID (vs DD)	2.09	(1.10-3.94)*	1.05	(0.54-2.05)	1.49	(0.84-2.65)
II (vs DD)	1.09	(0.77-1.55)	1.20	(0.78-1.84)	1.18	(0.84-1.66)
多変量調整†						
II (vs DD)	2.05	(0.99-4.25)	0.97	(0.45-2.08)	1.95	(0.99-3.85)
ID (vs DD)	2.18	(1.05-4.52)*	0.93	(0.44-1.97)	1.83	(0.93-3.59)
II+ID (vs DD)	2.11	(1.12-2.92)*	0.95	(0.47-1.94)	1.89	(0.99-3.60)
II (vs DD)	1.08	(0.73-1.59)	1.03	(0.64-1.66)	1.20	(0.82-1.77)

OR: オッズ比 *; p<0.05

†: 死亡時年齢, 性, 蛋白尿, 高血圧, 耐糖能異常, 心電図異常, 心血管病の既往, 血清総コレステロール, 飲酒, 喫煙

II. 個別研究：

1. 久山町の地域住民における胃癌発症率と生命予後（飯田）

A. 研究目的

わが国では、胃癌死亡率（年齢調整）の低下は検診の普及と治療の進歩によると考えられているが、この間に発症率が実際に減少したかどうかは明らかではない。そこで福岡県久山町の地域住民を対象に時代の異なる 3 集団の追跡結果を比べ、発症率を比較した。

B. 研究方法

1961 年、1974 年、1988 年の久山町の住民健診を受診した 40 歳以上の住民から胃癌・胃切除の既往のある者を除いて、第 1 集団（1,637 名）、第 2 集団（2,054 名）、第 3 集団（2,602 名）を設定した。各集団をそれぞれ 10 年間追跡した成績より胃癌の発症率を比較し、その時代的变化を検討した。

（倫理面の配慮）本研究は 2 省合同の「疫学研究に関する倫理指針」に準拠し、九州大学医学部倫理委員会の承認の元で行われた。

C. 研究結果

男性の年齢調整後の胃癌発症率（対 1,000 人年）は、第 1 集団の 4.3 から第 3 集団の 4.9 にかけて有意な変化はなかった。対照的に、女性の発症率は第 1 集団の 2.0 から第 2 集団の 1.8 に 10%低下し、さらに第 3 集団では 1.2 と第 2 集団の 33%に低下した（トレンド検定、 $p=0.029$ ）。

D. 考 察

本研究では、胃癌発症率の時代的推移が男女で異なることから、胃癌の危険因子に男女差があると考えられる。ヘリコバクターピロリ感染は胃癌の主な危険因子の 1 つであるが、我々は以前にこの菌の感染と胃

癌発症の関係は男性で認められるものの、女性では認められないことを報告した。第 1 集団から第 3 集団を通じてこの菌の感染率が久山町で依然として高いことが、男性の胃癌発症率が高い原因の一つであると推定される。また男性の喫煙率が高く推移することも一因であると考えられる。一方、女性の胃癌発症率の減少傾向は、ヘリコバクターピロリ感染の影響よりも発癌に関連する環境要因の変化を反映している可能性がある。

E. 結 論

久山町の地域住民では、1960 年代から 1990 年代にかけて、男性の胃癌発症率は変化なかった。胃癌の予防法を確立するために、ヘリコバクターピロリの除菌に加えて胃癌に関連する環境・生活習慣要因についてさらなる研究が必要である。

2. 久山町剖検例におけるアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型の測定（中別府）

A. 研究目的

喫煙とアンジオテンシン変換酵素は、細胞の癌化に異なる役割を果たすとされている。本報告では、久山町の地域住民を対象にした疫学調査の成績を用いて、喫煙およびアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型が腫瘍死に与える影響を検討した。

B. 研究方法

アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 遺伝子型の判定には、血液標本あるいは剖検時に採取した新鮮凍結標本あるいはパラフィン標本を用いた。血液標本、新鮮凍結標本およびパラフィン標本から DNA を抽出し、ACE 遺伝子多型を判定した。最終的に血液標本 77 検体および剖検標本 860 検体から ACE 遺

伝子型を判定することができた。この集団を、1961年11月から1993年10月までの32年間追跡した。

(倫理面への配慮)

本研究は3省合同の「倫理指針」に準拠し、九州大学医学部倫理委員会の承認の元で行われた。

C. 研究結果

32年間の追跡期間中に176名が悪性腫瘍で死亡した。多変量解析を行ったところ、喫煙とACE遺伝子多型との相互作用(ハザード比3.31)が有意な危険因子となった。さらに喫煙の腫瘍死に対する影響をACE遺伝子型別に検討したところ、DD型における喫煙の影響(ハザード比4.51)は、II型(ハザード比2.00)やID型(ハザード比2.24)よりも約2倍大きかった。

D. 考察

ACE遺伝子多型と腫瘍の関連を検討した報告では、一定の見解が得られていない。本研究は喫煙とACE遺伝子多型との間に相互作用があることが示した。過去の研究における見解の違いには、対象者の喫煙頻度の差が関与している可能性がある。

E. 結論

喫煙の腫瘍死に対する影響は、ACE遺伝子多型により異なっていた。ハイリスク者を早期発見し、禁煙を働きかけることで、腫瘍死を効率的に予防することが可能かもしれない。

3. 「機能的」脈管リモデリングにおける血管・リンパ管内皮細胞の機能制御機構(居石)

A. 研究目的

平成16年度は、「階層的血管新生発現制

御機構」における血小板由来増殖因子(PDGF)の機能について検討し、H17年度は、剖検症例から得たヒト冠状動脈について、内膜の新生脈管数とVEGF-C、VEGF-D発現との関係を免疫組織化学的に検討した。これらにより動脈硬化巣での新生血管とサイトカインの役割を検討した。

B. 研究方法

H16年度は、雄性C57BL/6マウスに重症下肢虚血モデルを作成しFGF2の投与と遺伝子導入を行った。各種リガンド、受容体に対する中和活性を持つ特異抗体にて活性を遮断し、遺伝子発現量、治療効果をモニターした。H17年度は、剖検症例の冠状動脈の169ブロックを連続切片に薄切し、免疫組織化学的にVEGF-C、VEGF-Dを染色した。(倫理面への配慮)

本研究は九州大学組み換えDNA実験委員会の承認のもと、P2動物実験室で施行した。動物実験は、九州大学動物実験委員会の審議・許可を得た。

C. 研究結果

H16年度でのマウスの下肢虚血モデルにFGF-2を投与するとVEGF、HGF、PDGF-Aの発現を誘導した。さらにPDGF-A、p70S6Kを投与すると活性遮断によりVEGF、HGFの発現増強効果は消失した。またFGF-2の遺伝子導入により、内因性のVEGF-C、PDGF-Bの発現が増強した。VEGF-Cの受容体中和抗体投与により、FGF-2の治療効果が消失、PDGF-Bの発現も低下した。さらに多数の微小血管瘤が形成されるとともに、リンパ管の数が減少した。一方、PDGF-Bの発現を特異的活性中和抗体で遮断すると、VEGF-Cの発現は低下した。

17年度の検討では、冠状動脈硬化巣にお

いて、VEGF-C 陽性細胞は、早期病変より進行病変により多く観察され($p < 0.0001$)、主に内膜の泡沫化マクロファージと内膜と中膜のいくつかの紡錘形平滑筋細胞に認められた。また VEGF-C 陽性細胞の出現程度は、内膜の新生血管数と正の相関を認めた($p < 0.0001$)。VEGF-D は、内膜と中膜の多くの平滑筋細胞と泡沫化したマクロファージに豊富に発現を認めたが、VEGF-D 陽性細胞数と動脈硬化の進行度、新生血管数の間に有意な相関を認めなかった(n. s.)。

D. 考察, E. 結論

FGF-2 により、階層的に内因性血管新生因子群が誘導され、その制御に PDGF が重要であることが明らかとなった。ヒト冠状動脈粥状硬化において、VEGF-C の発現の程度は動脈硬化の進展と相関し、また内膜の新生血管数と相関することを示したが、VEGF-D の発現は、動脈硬化病変や脈管新生と相関を認めなかった。

4. ヒト悪性腫瘍の細胞学的特性および悪性度と遺伝子異常に関係する検討 (恒吉)

A. 研究目的

様々な腫瘍で、細胞増殖関連因子や遺伝子異常と腫瘍の発生・発育との関連について解析し、腫瘍の悪性度評価に応用する。

B. 研究方法

消化管の腫瘍は、胃癌(若年者胃癌、Hepatoid 胃癌)と肝転移を来した大腸癌を用い、軟部腫瘍は平滑筋肉腫や明細胞肉腫、脂肪肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍を用いた。

C. 研究結果

1. 胃癌の形質変化

粘膜下浸潤胃癌の分化型腺癌の解析で、リンパ節へ転移する場合、分化型の形態を

保持しながら形質発現は減弱または消失するものがあることが判明した。

2. 若年者胃癌と H. pylori 感染

30 歳以下の若年者に発生した胃癌(粘膜内癌)では、H. pylori 感染が発癌において重要な意義があり、慢性萎縮性胃炎-腸上皮化生-癌化という経路を経ない発癌機序が想定された。

3. Hepatoid 胃癌

Hepatoid 胃癌は腸型形質の分化型腺癌として発生した後 Hepatoid 胃癌へ進展していくことが示唆された。

4. 軟部腫瘍の細胞増殖関連因子と遺伝異常

軟部平滑筋肉腫では p53 遺伝子異常が、明細胞肉腫では、p53 遺伝子あるいは p16/p14 遺伝子異常が予後に悪影響を与える因子であった。脂肪肉腫の垂型である粘液型/円形細胞型では、円形細胞成分の出現が予後不良因子であり、p14/p53 経路の異常が関与していることが示唆された。悪性末梢神経鞘腫瘍では、CHFR の発現減弱は増殖活性亢進に関連があり、予後不良因子であった。

種々の軟部肉腫において PTEN 遺伝子異常や蛋白消失のあるものは低頻度であったが、その異常のあるものは高い増殖活性を有していた。また DNA ミスマッチ修復遺伝子の不活性化はマイクロサテライト不安定性の原因と考えられた。

5. 軟部腫瘍の薬剤耐性関連遺伝子

悪性末梢神経腫瘍において MDR1 および MRP3 発現レベルが他の腫瘍に比較して有意に高値であり、化学療法抵抗性に関与している可能性が示唆された。

D. 考察, E. 結論

様々な悪性腫瘍において遺伝子異常と腫

瘍の発育との関連が見いだされ、細胞分化（発現形質）や遺伝子異常の解析が腫瘍の悪性度評価や組織発生の解明に有用であると考えられた。また、薬剤耐性関連遺伝子の解析結果は新しい化学療法への応用が期待される。

研究成果の刊行の一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kubo M, et al	Trends in the incidence, mortality, and survival rate of cardio-vascular disease in a Japanese community: the Hisayama study.	Stroke	34	2349-54	2003
Kiyohara Y, et al	Dietary factors and development of impaired glucose tolerance and diabetes in a general Japanese population: the Hisayama study.	J Epidemiol	13	251-58	2003
Kiyohara Y, et al	Ten-year prognosis of stroke and risk factors for death in a Japanese community: the Hisayama study.	Stroke	34	2343-47	2003
Kato I, et al	Insulin-mediated effects of alcohol intake on serum lipid levels in a general population: the Hisayama study.	J Clin Epidemiol	56	196-204	2003
Miyazaki M, et al	Risk factors for age related maculopathy in a Japanese population: the Hisayama study.	Br J Ophthalmol	87	469-72	2003
Tu F, et al	Analysis of hospital charges for ischemic stroke in Fukuoka, Japan.	Health Policy	66	239-46	2003
Kubo M, et al	Risk factors for renal glomerular and vascular changes in an autopsy-based population survey: the Hisayama study.	Kidney Int	63	1508-15	2003
Arima H, et al	Validity of the JNC recommendations for the management of hypertension in a general population of Japanese elderly: the Hisayama study.	Arch Intern Med	163	361-66	2003
Wakisaka Y, et al	Age-associated prevalence and risk factors of Lewy body pathology in a general population: the Hisayama study.	Acta Neuropath	106	374-82	2003
Miyazaki M, et al	Prevalence and risk factors for epiretinal membranes in a Japanese population : the Hisayama study.	Arch Clin Exp Ophthalmol	241	642-46	2003
Miyazaki M, et al	Simian lentiviral vector-mediated retinal gene transfer of pigment epithelium-derived factor protects retinal degeneration and electrical defect in Royal College of Surgeon's rats.	Gene Therapy	10	1503-11	2003
Kawaguchi K, et al	Mechanisms of inactivation of the p16INK4a gene in leiomyosarcoma of soft tissue: decreased p16 expression correlates with promoter methylation and poor prognosis.	J Pathol	201	487-95	2003
Miyazaki M, et al	Comparison of diagnostic methods for diabetes mellitus based on prevalence of retinopathy in a Japanese population: the Hisayama study.	Diabetologia	47	1411-15	2004
Shimizu H, et al	Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study.	Stroke	35	2072-77	2004