

なし	(研究協力者)
2.実用新案登録	北村伊都子
なし	今井具子
3.その他	大塚礼
なし	下方浩史
	(国立長寿医療センター疫学研究部)

新しい動物モデルを用いる内臓肥満および動脈硬化発症メカニズムの解明

分担研究者 山下 均

中部大学生命健康科学部 生命医科学科 教授

研究要旨 脂肪酸結合蛋白質 (Fatty acid-binding protein, FABP) は脂肪酸の細胞内輸送と利用に係わる分子であり、組織分布の異なる9種類のホモログが存在する。我々は、心臓において高レベルで発現するFABP3が食餌誘導性肥満となったマウスの骨格筋で有意に増加することを見出してきた。今回、遺伝性肥満ob/obマウスと糖尿病db/dbマウスにおけるFABP3の発現レベルを検討した結果、心臓におけるFABP3の発現レベルは野生型コントロールマウスと差がみられなかったが、骨格筋ではFABP3発現レベルの著明な上昇が確認された。FABP3の血中レベルを測定した結果、ob/obマウスとdb/dbマウスではコントロールマウスの180~210倍に上昇していることが明らかとなった。これらの結果は、動脈硬化の重要な危険因子である内臓肥満や糖尿病の進行に伴い骨格筋におけるFABP3レベルが上昇すると共に、FABP3が血中に漏出していることを示唆するものと思われた。また、アデノウイルスベクターを用いて培養骨格筋細胞にヒトFABP3を導入しインスリン感受性に対する効果を調べた結果、FABP3誘導細胞ではインスリンシグナル経路の鍵分子の一つであるAktのリン酸化が促進されていることが観察された。以上のことから、肥満や糖尿病マウスの骨格筋におけるFABP3量の増加は骨格筋での脂肪酸利用を促進して血中における遊離脂肪酸レベルの上昇を抑制し、インスリン抵抗性を改善するための防御的な細胞応答である可能性が示唆される。FABP3は内臓肥満や糖尿病から動脈硬化へ移行するリスクをより早期に評価するバイオマーカーとして利用できる可能性が考えられる。

A. 研究目的

内臓肥満に伴う脂質代謝の異常は、肝臓や骨格筋への脂肪蓄積を助長しインスリン抵抗性などの病態を介して糖尿病や動脈硬化の発症に深く係ると考えられることから、脂質代謝とこれらの病態発症の分子機構の理解が極めて重要である。我々は昨年度の研究において、新しいヒト内臓肥満のモデルマウスであるミトコンドリア脱共役タンパク質1 (UCP1) を欠損する UCP1-KO マウス

を用いて内臓肥満と動脈硬化につながる病態の解析を進め、心臓や骨格筋における脂肪酸輸送にはたらく脂肪酸結合蛋白質3 (FABP3) の mRNA と蛋白レベルが共に肥満マウスの骨格筋において大きく上昇していることを見出した。また、種々のパラメーターとの関連をさらに検討したところ、骨格筋における FABP3 の発現が体重や内臓脂肪量の増加、心肥大、血清インスリン値の上昇などと高い正の相関を示すことが明ら

かとなり、骨格筋における FABP3 の役割が内臓肥満とそれに付随する病態進行に関連する可能性が示唆された。本年度は、遺伝性肥満 ob/ob マウスと糖尿病 db/db マウスにおける FABP3 の動態を明らかにすることを目的に検討を行なった。また、骨格筋培養細胞系を用いて FABP3 発現のインスリンシグナル経路に対する影響についても検討を加えた。さらに、動脈硬化を発症するアポロタンパク E 欠損 (ApoE-KO) マウスを導入し、UCP1-KO マウスとの交配により内臓肥満と動脈硬化を発症する新しいモデル動物 (ダブルノックアウトマウス) を作製することを目標とした。

## B. 研究方法

### (1) 動物実験

① 遺伝性肥満及び糖尿病マウスを用いる実験。

雄性 ob/ob マウスと C57BL/6J 野生型マウスを標準食 (CE-2, 日本クレア) で 6 ヶ月齢まで飼育した後、血液及び各種組織を採取した。また、雄性 db/db マウスと C57BL/6J 野生型マウスを標準食で 3 ヶ月齢まで飼育した後、血液及び各種組織を採取した。心臓と骨格筋の組織抽出液を調製し、ウエスタンブロット解析に供した。血清中のインスリンと FABP3 レベルは市販の ELISA キット (Ultrasensitive Insulin ELISA, Merckodia 社 ; MOUSE CARDIAC FATTY ACID-BINDING PROTEIN ELISA TEST KIT, Life Diagnostics 社) を用いて測定した。

② 内臓肥満/動脈硬化発症モデルマウスの作製。

ApoE-KO マウスの breeding pair を米国ジ

ャクソン研究所から購入し、中部大学実験動物教育研究センターに導入して ApoE-KO マウスの繁殖コロニーを形成した。次に、ApoE-KO マウスと UCP1-KO マウスとの交配により ApoE ヘテロ/UCP1 ヘテロマウスを作製した。さらに、ApoE ヘテロ/UCP1 ヘテロマウスの雌雄を交配することにより ApoE-KO/UCP1-KO ダブルノックアウト (DKO) マウスを作製した。

### (2) ウエスタンブロット解析

マウスの心臓と骨格筋から調製した組織抽出液のタンパク量は BCA プロテインアッセイ (Pierce 社) により行なった。各抽出液を 12.5% の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分画した後、ウエスタンブロット法により FABP3 蛋白を検出し発現レベルを調べた。FABP3 に対する抗体は、大腸菌を用いて作製した組換え FABP3 をウサギに免疫して得られた血清から精製し用いた。コントロールとして  $\beta$ -tubulin についても市販の抗体を用いて同様に検出し  $\beta$ -tubulin の発現レベルを調べた。

(3) 培養細胞を用いる FABP3 の役割の解析。

アデノウイルスベクターを用いる FABP3 遺伝子発現系とショートヘアピン shRNA により内在性の FABP3 をノックダウンする発現抑制系を構築した。C2C12 マウス骨格筋筋芽細胞を培養して分化誘導することにより筋管を有する骨格筋細胞を得た。上記のアデノウイルスベクターを分化した骨格筋細胞に感染させて FABP3 の発現を誘導又は抑制した後、インスリンやパルミチン酸を培養系に加えて細胞を刺激した。細胞を回収して細胞抽出液を調製し、インスリンシグ

ナル経路に対する FABP3 の寄与についてウエスタンブロット法により検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、中部大学実験動物教育研究センターに設置される実験動物委員会の承認を得、動物使用の倫理規定に従って実験を行った。

C. 研究結果

(1) 実験終了時の体重は表 1 に示したように、野生型コントロールマウスに比べて ob/ob マウス、db/db マウスで共に著明に増加した。血清インスリンレベルは、コントロールマウスの ~1 ng/ml に対して、ob/ob マウスでは ~186 ng/ml、db/db マウスでは ~2 ng/ml であった。ウエスタンブロット解析において、心臓における FABP3 蛋白レベルはコントロールの野生型マウスと ob/ob マウス、又は db/db マウスとの間に有意な差は認められなかったが、骨格筋における FABP3 蛋白レベルはコントロールマウスに比べて ob/ob マウスでは 2.5 倍、db/db マウスでは 2.7 倍に上昇していることが明らかとなった。また、ELISA 法により FABP3 血清レベルを測定した結果、コントロールマウスに比べて ob/ob マウスでは 212 倍、db/db

マウスでは 182 倍に上昇していることが判明した (表 1)。

(2) 内臓肥満から動脈硬化を発症するユニークなモデルマウスを作製するために、ApoE-KO マウスと UCP1-KO マウスを交配し、最終的に ApoE-KO/UCP1-KO ダブルノックアウト (DKO) マウスの作製に成功した。DKO マウスは見かけ上は正常に生まれ発育しているように見える。また、DKO マウス間の繁殖も可能であることを確認した。

(3) 肥満や糖尿病においては血中脂肪酸レベルが上昇しインスリン抵抗性を高めることが知られている。そこで、骨格筋において FABP3 が脂肪酸の取込み利用を促進してインスリン感受性に影響を与えるかどうかを C2C12 培養骨格筋細胞系を用いて検討した。その結果、インスリンシグナル経路の下流に位置するプロテインキナーゼ Akt のリン酸化がヒト FABP3 を発現誘導した骨格筋細胞において増加していることが検出された。また、ヒト FABP3 を発現しないコントロール細胞では Akt のリン酸化はパルミチン酸存在下で大きく減弱するが、ヒト FABP3 を発現誘導した骨格筋細胞においては Akt のリン酸化の減弱は小さかった。現在、内因性 FABP3 の発現を抑制したノックダウン系についても検討を進めている。

表 1 肥満マウスと糖尿病マウスにおける血清 FABP3 レベル

マウス (n)	月 齢	体 重 (g)	FABP3 (ng/ml)
野生型 (5)	6	32.8 ± 0.5	3.3 ± 0.4
ob/ob (6)	6	68.3 ± 3.8 p<0.0001	704.8 ± 282.4 p=0.0193
野生型 (8)	3	29.2 ± 0.4	8.8 ± 3.3
db/db (5)	3	43.4 ± 1.7 p<0.0001	1604.1 ± 295.8 p<0.0001

P 値は野生型コントロールマウスとの間の有意差を示す。

#### D. 考察

FABP3 は心臓での脂肪酸利用における役割が知られ、心筋梗塞発症の際に壊死した心筋から血液中に漏出することから、心筋梗塞発症の診断マーカーとして利用されつつある。最近米国では、急性冠症候群 (ACS) 発症時の予後リスク評価における血中 FABP3 の意義について臨床試験が行なわれバイオマーカーとして有用であることが報告された (Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine, 4: 8, 2007)。

一方、本研究の知見は、動脈硬化性疾患が発症する以前の内臓肥満やインスリン抵抗性が進行する過程において、FABP3 の発現量が心臓ではなく骨格筋において上昇していくことを示すと同時に、おそらく骨格筋から血中への逸脱が徐々に進んでいることを伺わせるものであった。これらの結果は、動物実験での成績ではあるが、FABP3 が心筋梗塞や急性冠症候群などの予後の診断だけではなく、内臓肥満から動脈硬化へ移行するリスクをより早期に評価するバイオマーカーとなり得ることを示唆する。

FABP3 の骨格筋における役割については未だ不明な点が多いが、培養骨格筋細胞を用いた検討から FABP3 発現レベルの上昇は脂肪酸の取込み利用を促進しインスリン感受性を高める (インスリン抵抗性を改善する) ように働いている可能性が考えられる。しかし、過度の内臓肥満や糖尿病が進行すると、FABP3 発現レベルの増加だけでは上昇した脂肪酸の消費は不十分であり、骨格筋への脂肪蓄積とインスリン抵抗性の上昇を招くことになるのかもしれない。さらには、脂肪が蓄積した骨格筋細胞は機能が低下して脆弱

となり、細胞死に至ることにより FABP3 の逸脱が進むと予想される。インスリン抵抗性が動脈硬化の促進因子であるとの報告もあり、db/db マウスにおいて骨格筋と血中に高い FABP3 レベルが検出されたことと関連して興味深い。この点については、現在、細胞レベルでの解析をさらに進めている。また、骨格筋 FABP3 レベルと内臓肥満や動脈硬化の発症との関連については、ApoE/UCP1-DKO マウスを用いて詳細に検討し、その分子基盤を明らかにしていきたい。

#### E. 結論

遺伝性肥満及び糖尿病マウスにおいて骨格筋の FABP3 発現レベルの有意な増加に加えて、血中 FABP3 レベルの著しい上昇が見出された。また、FABP3 による脂肪酸の取込み利用の促進はインスリンシグナル伝達において重要な役割を果たす Akt の活性化に影響を与えることが示唆された。今後、インスリン抵抗性と動脈硬化進展における FABP3 の役割の解明に興味を持たれる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Wang, T., Wang, Y., Kontani, Y., Kobayashi, Y., Sato, Y., Mori, N., and Yamashita, H. Evodiamine improves diet-induced obesity in a UCP1-independent manner: Involvement of anti-adipogenic mechanism and ERK/MAPK signaling. *Endocrinol.*, 149: 358-366, 2008.

2) Yamashita, H., Wang, Z., Wang, Y.,

Furuyama, T., Kontani, Y., Sato, Y., and Mori, N. Impaired basal thermal homeostasis in rats lacking capsaicin-sensitive peripheral small sensory neurons. *J. Biochem.* 2008. in press.

- 3) 山下 均: 脂肪組織の代謝-7. ミトコンドリア: UCP1, PGC1 ファミリーなど. In: 糖尿病カレントライブラリー⑦「脂肪細胞と脂肪組織」, pp. 117-122, 文光堂, 東京. 2007,
- 4) 山下 均: エネルギー代謝モデル動物実験ガイド. In: 老化・老年病研究のための動物実験ガイドブック, アドスリー, 東京. 2008. in press.

## 2. 学会発表

- 1) 王 挺、王忠華、楠堂達也、紺谷靖英、森 望、山下 均: エポジアミンは ERK/MAPK シグナル経路を介して脂肪細胞の分化を阻害する. 第80回日本生化学会第30回日本分子生物学会合同大会、2007年12月12日、横浜.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

山下 均: 「メタボリックシンドロームの予知検査方法」(特願 2007-080718)

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

研究協力者

楠堂達也(中部大学生命健康科学部生命医科学科助手)

### Ⅲ. 研究成果の刊行に 関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻数	ページ	出版年
下方浩史	老化および老年病の疫学的研究	Geriatric Medicine	45(1)	13-17	2007
下方浩史	長寿科学総合研究の代表的な研究の紹介. "老化とその要因に関する長期縦断的疫学研究"の概要について. シリーズ最前線. 厚生労働科学研究37.	週間社会保障	2423	61	2007
Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H	Age-specific change of prevalence of metabolic syndrome: Longitudinal observation of large Japanese cohort.	Atherosclerosis	191	305-313	2007
下方浩史、安藤富士子、北村伊都子、甲田道子、大藏倫博	加齢とメタボリックシンドローム—年齢別にみたメタボリックシンドロームのウエスト基準値の妥当性—	日本未病システム学会雑誌	13(1)	136-138	2007
安藤富士子、北村伊都子、甲田道子、大藏倫博、下方浩史	一般地域住民における腹部肥満感受性因子の網羅的検討	日本未病システム学会雑誌	13(1)	144-147	2007
下方浩史	食生活と長寿	日本老年医学会雑誌	44(2)	209-211	2007
Yamada Y, Ando F, Shimokata H	Association of gene polymorphisms with blood pressure and the prevalence of hypertension in community-dwelling Japanese individuals.	Int J Mol Med	19(4)	675-683	2007
Kitamura I, Ando F, Koda M, Okura T, Shimokata H	Effects of the interaction between lean tissue mass and estrogen receptor a gene polymorphism on bone mineral density in middle-aged and elderly Japanese.	Bone	40	1623-1629	2007
Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H	No association between rs7566605 variant and obesity in Japanese.	Obesity	15(11)	2531-2534	2007
Wang, T., Wang, Y., Kontani, Y., Kobayashi, Y., Sato, Y., Mori, N., and Yamashita, H.	Evodiamine improves diet-induced obesity in a UCP1-independent manner: Involvement of anti-adipogenic mechanism and ERK/MAPK signaling.	Endocrinol	149	358-366	2008
下方浩史、安藤富士子	高齢者の肥満と動脈硬化	Geriatric Medicine			印刷中

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻数	ページ	出版年
下方浩史	縦断研究の意義	子どもと発育発達			印刷中
安藤富士子、今井具子、北村伊都子、大塚礼、下方浩史	地域在住中高年者の耐糖能と果物摂取量に関する横断的検討	日本未病システム学会雑誌			印刷中
Yamada Y, Ando F, Shimokata H	Association of genetic variants of APOA5 and PRKCH with hypertension in community-dwelling Japanese individuals.	Mol Med Rep			印刷中
Yamashita, H., Wang, Z., Wang, Y., Furuyama, T., Kontani, Y., Sato, Y., and Mori, N.	Impaired basal thermal homeostasis in rats lacking capsaicin-sensitive peripheral small sensory neurons.	J. Biochem.			印刷中

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山下 均	脂肪組織の代謝—7.ミトコンドリア:UCP1, PGC1ファミリーなど		糖尿病カレントライブラリー⑦「脂肪細胞と脂肪組織」	文光堂	東京	2007	117-122
下方浩史	高齢者における臨床検査	並木昭義	日常診療に役立つ高齢者の周術期管理	真興交易医書出版部	東京	2007	218-226
下方浩史	栄養疫学	沖増 哲	ウエルネス栄養疫学改訂第7版	医歯薬出版	東京	2007	57-79
下方浩史	老化度の判定	日本老年医学会	老年医学テキスト改訂第3版	メジカルビュー社	東京		印刷中
下方浩史	老年者の基準値	日本老年医学会	老年医学テキスト改訂第3版	メジカルビュー社	東京		印刷中
下方浩史	異常値の評価	日本老年医学会	老年医学テキスト改訂第3版	メジカルビュー社	東京		印刷中
安藤富士子、今井具子、下方浩史	食事・栄養と中高年男性の健康 —栄養疫学の立場から—	熊本悦明、堀江重郎	更年期から熟年期までの男性医学—中高年のMen's Healthを支えるために—	ライフサイエンス社	東京		印刷中

# IV. 研究成果の 刊行物・別刷

特集：老年医学の展望

## 老化および老年病の疫学的研究

下方 浩史

株式会社 ライフ・サイエンス

# 老化および老年病の疫学的研究

下方 浩史\*

## KEY WORD

老化  
老年病  
疫学  
メタ分析  
長期縦断疫学研究

## POINT

- 老化を観察し老年病の成因を明らかにするために長期縦断疫学研究が必要である。
- 老化を目標にした長期縦断疫学研究は膨大な費用と時間を要するため、世界的にみても今までほとんど行われていなかった。
- これからの長期縦断疫学研究には、分子疫学の手法も取り入れた新しい方法論が必要となる。

0387-1088/07/¥500/論文/JCLS

## はじめに

老化および老年病の疫学的研究には、老化に関連する健康問題の検討と、正常な老化による変化を観察するという2つの大きな目的がある<sup>1-3)</sup>。老年病や運動機能障害などの発症のリスクファクターについての検討を目的とした調査、老年病の予防とその判定、健康を守り、長寿を全うするための生活指針を探る健康医学的研究、寿命を規定する要因の検討などが、老化に関連した健康問題の研究として特に重要である。

加齢とともに様々な生体機能は低下していく。正常な老化の過程を明らかにし、また老化の研究での共通する基礎資料として加齢による身体機能や精神活動の変化についての詳細なデータを集積していくことも極めて重要である。例えば加齢による検査値の変化についての基準値作成は、高齢者の診療に当たって欠くことができ

ないものである。こうした疫学研究の方法論は老年学、老年医学の最も基本をなすものであるといつてよい。

研究の実際の方法としては、大きく分けて横断的方法と縦断的方法の2つがある<sup>4)</sup>。前述のように若年者から高齢者まで、なるべく多数の集団で種々の検査を一度に実施し、検討を行う方法が横断的研究である。一方、縦断的研究は同一の個人を継続して観察し、加齢による実際の変化、加齢に関連する要因、寿命などをとらえようとするものである。縦断的研究は長期にわたっての継続が必要で、一度の調査で終了してしまう横断的研究に比べて実施が困難であることが多い。

## 老化の縦断的研究

経時的な追跡を行う縦断的研究は横断的方法に比べて、結論が出るまでに一般に10年以上もの期間を要し、調査を継続するための費用や人材の確保も必要である。しかし、老化の観察を行うためには、後述するように横断的観察の

\*しもかた ひろし：国立長寿医療センター研究所疫学研究部

表1 コホート研究と老化の縦断研究の比較

	コホート研究	老化の縦断研究
目的	曝露要因とエンドポイントの因果関係を証明	検査値の縦断的変動を観察
対象者数	曝露要因に関する有意差を得るのに十分な数のエンドポイント発症者が生ずる数。比較的稀な疾患をエンドポイントにすれば、膨大な対象者数が必要	検査値の縦断的変動が有意となる数で、通常数千人の範囲
開始時検査項目	曝露要因に限って実施	加齢に関連する詳細な項目
追跡検査項目	エンドポイントを追跡	詳細な検査項目を繰り返し実施
追跡期間	曝露要因に関する有意差を得るのに十分な数のエンドポイント発症者が生ずる期間	世代が交代する30年間をめぐり
多施設協同研究	限られた共通の検査を実施しエンドポイントに関する追跡を多数の対象者に行うことは多施設協同研究に適している	多くの詳細な検査項目を多数の施設で、全く同じ方法、精度で行うのは事実上不可能
実施方法	調査項目を絞り、できるだけ多数の対象を調査	対象者数を絞り、できるだけ詳細な検査項目を実施

みでは、多くのバイアスを生じることがあり、加齢による変化を正確にとらえることができない。このため、加齢研究には縦断的方法が欠かせない。同一対象者に同じ検査項目を一定期間ごとに繰り返し行い、加齢による検査値の縦断的変動を観察する老化の縦断的研究は、正常な老化過程の評価の基礎データとして極めて重要である<sup>3)</sup>。

縦断的方法を用いて、疾患や死亡などのリスクファクターを検討する研究方法にコホート研究がある。正常な老化の過程を観察するための縦断的研究と疾病のリスクファクターを探ることを目的としたコホート研究は、その方法や対象が大きく異なることに注意せねばならない。老化の縦断的研究は繰り返し検査を行い、検査値の縦断的変動を観察することが重要であり、コホート研究は曝露要因と疾病の罹患や死亡などのエンドポイントとの因果関係を求めるものである。このため老化の縦断的研究では、対象者数は検査値の縦断的変動が有意となる数で、通常数千人の範囲となるが、コホート研究では

曝露要因に関する有意差を得るのに十分な数のエンドポイントの発症者が生ずる数の対象者が必要であり、比較的稀な疾患をエンドポイントにすれば、数十万人の対象者数が必要となることもある。コホート研究では調査項目を絞り、できるだけ多数の対象を調査することが望ましく、一方、老化の縦断的研究では対象者数を絞り、できるだけ詳細な老化に関連する検査を実施することが望ましい。多施設共同研究は限られた共通の検査を実施し、エンドポイントに関する追跡を多数の対象者に行うコホート研究には適しているが、老化の縦断的研究の場合、多くの詳細な検査項目を多数の施設で、全く同じ方法、同じ精度で行うのは事実上不可能であり、多施設共同研究として実施するのは極めて困難である(表1)。

### 縦断的方法がなぜ必要か

高齢者は長期間、数々の致命的な疾患に罹らずにきたエリートである。死亡に結びつく様々

表2 国内外の代表的な老化の縦断的研究<sup>6)</sup>

名称	開始年	調査機関	対象	人数	追跡サイクル	対象年齢	特徴
Duke Study	1955	Duke大学	地域在住男女	267	2～4年	60～90歳	歴史的縦断研究
BLSA	1958	NIA(米国国立老化研究所)	米国内ボランティア	1,200	2年	20歳～	包括的老化縦断研究の象徴的存在
Normal Aging Study	1963	Boston 退役軍人病院	ボストン近郊の退役軍人	2,032	5年	25～75歳	対象者は健常人
Rotterdam Study	1990	Erasmus 大学	ロッテルダムの地域住民	11,854	2年	55～98歳	神経老年病, 心疾患, 運動器疾患, 眼科疾患を対象
小金井 Study	1976	東京都老人総合研究所	東京都小金井市住民	477	5年	69～71歳	日本の縦断研究の草分け的存在, 社会・心理面も考慮
NILS-LSA	1997	国立長寿医療センター	愛知県大府市・東浦町住民	2,267	2年	40～79歳	日本で最初の施設型の包括的な老化の縦断研究

な危険因子をもつ人たちは早期に死亡し、健康で疾病罹患の危険因子をもたない人たちが選択的に生き残り高齢者となる。この選択効果のため、横断的研究では加齢による変化を実際よりも過小評価してしまう危険性がある。

出生年代による測定値への影響をコホート効果という。例えば、身長は60歳を超える頃から年齢とともに少しずつ低くなっていく。これは、脊椎の彎曲の増強や骨量の減少などによるものである。現在の若者は高齢者に比べて身長が高いが、横断的にみた身長の年齢による差は、身長の加齢変化よりもむしろ、成長期の栄養改善の影響によるものと推測される。

このように、老化の観察を行うためには、そのときの集団の平均のみを観察する横断的研究のみでは、観察結果に偏りを生じることがあり、老化による変化を正確にとらえることができない。

縦断的疫学調査の中でも保健所をベースとして、あるいは地域の公民館などに住民を集めて、数日間、医師や研究者が泊まり込んで、聞き取り調査や、栄養調査、血液検査、心電図などの簡単な臨床検査を行い、これを何年間かにわたって毎年繰り返すという形での地域における調査は、日本でもいくつか行われ、優れた成果も出ている。特に離島や山村など限られた地域

の特色を描き出すためには、こうした地域での調査は極めて重要である。しかし、老化に伴う数多くの変化をできるだけ広範囲にとらえ観察するには、最新の機器を利用した医学検査と詳細な生活調査に加え、食事調査、運動機能調査、心理検査など、学際的な精度の高い調査・検査を繰り返し同一の参加者に行うことが必要である。加齢・老化による変化を多くの設備の整った施設での検査、調査によって詳細に観察し、疾患や障害の発症をとらえて、その病因を探す長期縦断疫学研究を実施することが必要である。

フラミンガム・スタディのような世界各地で行われている大規模疫学研究の多くは、癌や循環器疾患などの特定の疾患をエンドポイントとしたコホート研究であり、老化の研究を目指したものではない。国内外での代表的な老化の縦断的研究を表2に示した<sup>6)</sup>。施設での設備を利用した総合的な老化に関する縦断的研究は、国際的にみても米国国立老化研究所(NIA)における Baltimore Longitudinal Study of Aging(BLSA)など少数に限られている。

## 縦断疫学研究の新たな課題

老化の疫学研究の目的は、積極的介入による寿命の延長を目指した老化制御だけでなく、む

しる高齢者の日常生活に関与する機能(ADL)および生活の質(QOL)の維持を目指している。老年症候群、特に高齢者の自立に影響を与えるような軽度の認知機能障害(Mild Cognitive Impairment: MCI)や、軽度の身体機能障害(frailty)は最近の老年医学の重要な課題にもなっている。

高齢化社会への対応には医学ばかりでなく、高齢者の経済、人権、介護、ソーシャルサポート、家族関係、死別体験、ストレス、自尊心、自立などの研究も重要である。高齢者と若年者、健常者と障害者、すべてが共存できる共生社会を目指す社会学的研究が重要な意味をもってくるだろう。これからの長期縦断疫学研究も、こうした社会学的側面を包括した学際的研究でなければならない。

環境要因や文化、生活習慣などの老化・老年病への影響を観察するためには、世界で行われている老化の疫学的調査研究と国際比較研究を行っていく必要もある。

分子生物学から社会学まで学際的展開、さらには研究の国際的展開が、老化の疫学的研究の中心となる縦断研究にも、今求められている。

## ■ 老化・老年病の分子疫学と縦断研究

最近の急速なゲノム科学の進歩は、老化や老年病罹患の素因としての遺伝子多型の探索を可能にした。小児期に起こってくる稀な遺伝性疾患は単一の原因遺伝子をはっきりしており、その遺伝子の変異があれば必ず疾患が発症する。しかし老化や老年病に関連する遺伝子の多型は、単一ではなく数多くの遺伝子が関わっており、それぞれの遺伝子多型間の相互作用や、さらには加齢や環境要因の影響もあり解析が難しい。老年病に関連する遺伝子多型は疾患の発症への寄与率が一般に低く、多くの生活環境因子との交絡があるため、解析を行うのに十分な対象者数が必要である。例えば高脂血症でも食事や体格、年齢、運動量などを一定に調整した上での遺伝子多型の寄与の推定が求められる。こうした検討を行うためには、多変量解析や多くの検査結果の時間的変化を重視した縦断的解析が必

要である<sup>7)</sup>。

このようなことを考慮すると、老化や老年病の分子疫学的研究には少なくとも数千人規模の基礎集団を設定することが望ましい。できれば無作為抽出された中高年の一般住民を対象とし、老化や老年病に関連する多数の遺伝子多型の検査を行うと同時に、様々な環境因子、医学的所見、疾患マーカーの検査や臨床検査を実施する。さらに環境因子の経時的な影響をみるために、継続的に繰り返して調査を行う包括的な縦断研究を実施していく。一般の調査では、多くの遺伝子多型について検査を行おうとすると、検体が枯渇してしまう危険性があるが、縦断研究では同一の人が繰り返し参加するため、遺伝子検体の繰り返しの採取が可能であり、検体量を心配することなく研究を行うことができるという利点もある<sup>8, 9)</sup>。

## ■ 国立長寿医療センター長期縦断疫学研究

平成8年度に、国立長寿医療センター研究所(NILS)に長期縦断疫学研究室が設置され、平成9年度の11月より「老化に関する長期縦断疫学研究(NILS-LSA)」を開始した<sup>10-12)</sup>。対象者は、観察開始時年齢が40~79歳までの男女である。1日の検査人数は7名で、毎日年間を通して詳細な老化に関連する検査を行っている。平成12年4月に2,267名の基礎集団が完成し、以後は2年ごとに検査を繰り返し実施している。対象者は国立長寿医療センター周辺の地域住民とし、地方自治体(大府市および東浦町)の協力を得て、地域住民から年齢・性別に層化した無作為抽出を行っている。抽出によって選定された者を説明会に招いて、検査の目的や方法などを十分に説明し、インフォームドコンセントを得た上で検査を実施している。

検査および調査は、ほとんどすべて施設内に設けた専用の検査センターで行っている。朝9時から夕方4時までの間に分刻みでスケジュールを組み、頭部MRI検査や心臓および頸動脈超音波断層検査、骨密度測定、腹部CT検査などの最新の機器を利用した医学検査のみならず、

詳細な生活調査, 栄養調査, 運動機能調査, 心理検査など広汎で学際的な, しかも精度の高い調査・検査を実施している。

調査開始当初より調査参加者のほぼ全員からの血液サンプルを用いて, DNA を自動抽出装置で抽出し蓄積している。これほど背景因子が詳細に検討されている一般住民の DNA 検体の蓄積は, 国内外でも他にはないと思われる。現在, 老化・老年病に関連する 172 の遺伝子多型について検討を行っており, 様々な老化関連疾患への罹患, 疾患や老化のマーカーなどとの関連について数多くの背景因子を考慮した検討を行っており<sup>13, 14)</sup>, その成果が期待される。

## おわりに

高齢化が急速に進む日本の社会において, 高齢になってもできる限り元気に過ごしたいという国民の共通の願いを実現することは急務である。高齢者の健康を増進させ, 疾病を予防し, 医療費を低減させることが求められている。さらに今後は医学だけでなく, 心理学や社会システムまでも含む学際的な研究の展開も必要であろう。特に最近のゲノム科学の進歩を取り入れた分子疫学の分野は, 老化の進行や疾患罹患のリスク予測と効果的な予防法の開発には欠かせない。分子生物学の手法を老化の疫学的研究の中に取り入れていくことで, 今後の老化および老年病に関わる遺伝子多型の探索, 環境因子, 生活習慣との相互作用など, 今後の老年医学における新たな展開が期待できよう。

## 文 献

- 1) 下方浩史: 高齢者の疫学。これからの老年学—サイエンスから介護まで(井口昭久編), pp41-

- 45, 名古屋大学出版会, 名古屋, 2000.
- 2) 安藤富士子, 下方浩史: 老化の疫学研究. 現代医療 34(2): 382-388, 2002.
- 3) 下方浩史, 安藤富士子: 健康科学における縦断加齢研究. 健康支援 1: 11-19, 1999.
- 4) 下方浩史: 加齢研究の方法—横断的研究と縦断的研究. 新老年学(折茂 肇編), pp281-290, 東京大学出版会, 東京, 1999.
- 5) Shock NW et al: Normal Human Aging: The Baltimore Longitudinal Study of Aging, NIH Publication No. 84-2450, 1984.
- 6) 安藤富士子: 縦断的研究. 長寿科学事典(祖父江逸朗監修), pp287-288, 医学書院, 東京, 2003.
- 7) 下方浩史ほか: 老化・老年病の分子疫学. Molecular Medicine 39(5): 576-581, 2002.
- 8) 下方浩史: 老化に対する遺伝的要因と生活習慣の関わり. Advances in Aging and Health Research 2005 のばそう健康寿命—老化と老年病を防ぎ, 介護状態を予防する, pp19-28, 長寿科学健康財団, 愛知, 2005.
- 9) 下方浩史, 安藤富士子: 日本の老化・老年病疫学への新たなストラテジー. 日老医学会誌 40(6): 569-572, 2003.
- 10) Shimokata H et al: A new comprehensive study on aging—the National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging(NILS-LSA). J Epidemiol 10: S1-S9, 2000.
- 11) 下方浩史: 長期縦断研究の目指すもの. Geriatr Med 36: 21-26, 1998.
- 12) 下方浩史ほか: 老化に関する長期縦断疫学研究. Advances in Aging and Health Research 1998, pp59-69, 長寿科学振興財団, 東京, 1999.
- 13) Yamada Y et al: Transforming Growth Factor-beta1 Gene Polymorphism and Bone Mineral Density. JAMA 285: 167-168, 2001.
- 14) Suzuki Y et al: Alcohol Dehydrogenase 2 Variant is Associated with Cerebral Infarction, Lacunae, LDL-Cholesterol and Hypertension in Community-dwelling Japanese Men. Neurology 63(9): 1711-1713, 2004.

(執筆連絡先) 下方浩史 〒474-8522 愛知県大府市森岡町源吾 36-3 国立長寿医療センター研究所疫学研究部

# 週刊社会保障

March 2007 Volume61

No.2423

# 3.12



自民党厚生労働部会(記事6頁)

**特報** (社会保険庁改革)

## 「日本年金機構」で事業運営

**特集** (後期高齢者診療報酬)

## 「家庭医」への登録制導入等を検討

**論壇**

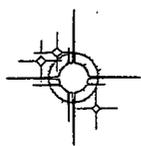
## 日本の福祉国家化と韓国の福祉国家化

田多 英範

**時事評論**

## 医療安全の新局面

大道 久



<長寿科学総合研究の代表的な研究の紹介②>

## “老化とその要因に関する長期縦断的疫学研究”の概要について

老化とその要因に関する長期縦断的疫学研究は、日本人の老化および老年病に関する詳細な縦断的基礎データを収集蓄積し日本人の老化像を明らかにするとともに、老化および老年病に関する危険因子を解明して、高齢者の心身の健康を守り、老年病を予防する方法を見いだすことを目的としている。

調査の対象者は長寿医療センター周辺の住民であり、地方自治体の協力を得て地域住民から年齢・性別に層化した無作為抽出を行っている。平成12年4月に2267名の基礎集団（観察開始時年齢が40歳～79歳）が完成し、以後は2年ごとに検査を繰り返し実施しており、現在は第5次調査を実施中である。追跡中のドロップアウトは同じ人数の新たな補充を行い、定常状態として約2400人のダイナミックコホートとしている。

調査は長寿医療センター内に設けられた検査センターで年間を通して1日7名ずつに実施している。朝9時から夕方4時までの間、分刻みでスケジュールを組み、頭部MRI検査や心臓および頸動脈超音波断層検査等の医学検査のみならず、詳細な生活調査、写真撮影を併用した栄養調査、運動機能調査、心理検査などを含む数千項目以上にも及ぶ調査・検査を行っている。

第1次調査から第4次調査までの結果をまとめインターネットにて英文で公開した (<http://www.nils.go.jp/department/ep/index-j.html>)。このように包括的かつ詳細な老化基礎データの公開は世界的にも他にほとんど例のないものである。

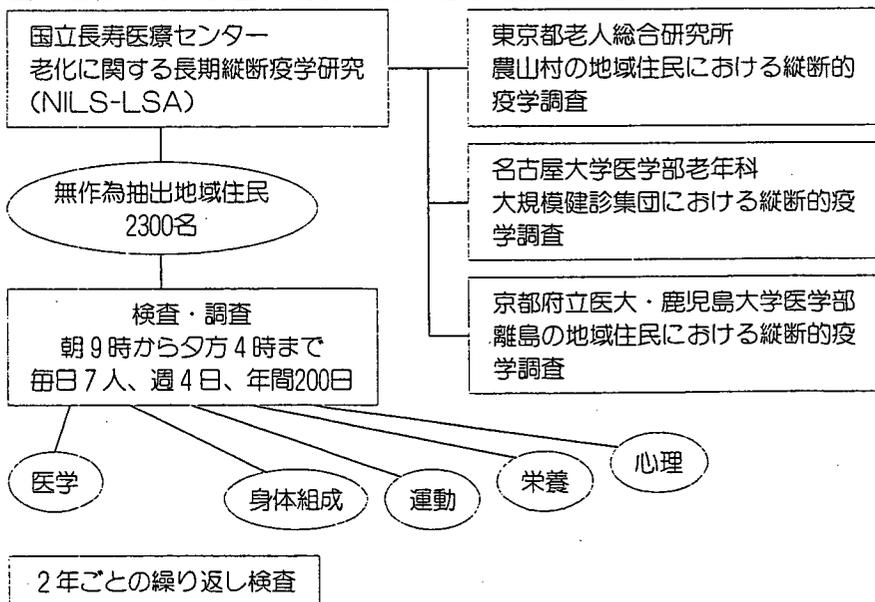
これらの蓄積されたデータを利

用して、医学、栄養、心理、身体組成、運動の各分野での解析を行い、老化による変化、老年病に関連する因子等を検討している。研究成果として、歩行が特に高年期の抑うつ症状の低減に効果を持つこと、加齢による聴覚へ喫煙と騒音の相互作用があること、加齢により眼圧が下がること、コントラストを見分ける能力の加齢変化、中高年者のサプリメントの摂取率が50%以上あること等を明らかにしている。

これらを含め、NILS-LSA では研究開始以来、500以上の論文、学会発表による成果発表を行っている。

本研究では、さらに分担研究者の協力を得て、都市と農村や離島、地域・文化による老化の進行の比較研究、集団の質による差の縦断的検討、重要ではあるが特殊な診断技術や方法論を必要とする神経学的検査所見の縦断的研究などNILS-LSA だけでは実施が困難な研究も行い、日本人の老化について総合的な研究を目指している。

図 老化とその要因に関する長期縦断的疫学研究



## Age-specific change of prevalence of metabolic syndrome: Longitudinal observation of large Japanese cohort

Masafumi Kuzuya<sup>a,\*</sup>, Fujiko Ando<sup>b</sup>, Akihisa Iguchi<sup>a</sup>, Hiroshi Shimokata<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsuruma-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

<sup>b</sup> Department of Epidemiology, National Institute for Longevity Sciences, Japan

Received 31 January 2006; received in revised form 28 April 2006; accepted 19 May 2006

Available online 7 July 2006

### Abstract

To examine real age-related changes in the prevalence of metabolic syndrome, we studied longitudinal changes in the prevalence of metabolic syndrome in a single cohort of individuals. The participants included 112,960 Japanese (70,996 men, 14–94 years and 41,946 women, 17–85 years), who had received annual examinations between 1989 and 2004. Metabolic syndrome was defined according to the Japan Metabolic Syndrome Criteria Study Group and the US National Cholesterol Education Program (NCEP) guidelines. Overweight was defined as BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>. Longitudinal changes indicated a birth cohort effect in the prevalence rate of metabolic syndrome with a lower or higher prevalence in the younger birth cohort than in the older for females or males, respectively. The estimation of the age-specific prevalence of metabolic syndrome demonstrated that in males, the prevalence of metabolic syndrome increased up to 50 decades of life for the Japanese and 60 decades of life for the NCEP criteria. In females, the prevalence increased with age up to 80 years old for both criteria. The estimated secular trends suggested that the prevalence rate of metabolic syndrome decreased in females and increased in males during study periods. © 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Metabolic syndrome; Aging; Secular trends; Longitudinal study

Metabolic syndrome has become one of the major public-health challenges worldwide [1,2]. The most important dimension of metabolic syndrome is its association with the risk of developing type 2 diabetes mellitus and atherosclerotic cardiovascular disease [3–9]. A number of metabolic syndrome definitions have been proposed, including the World Health Organization (WHO) Consultation for diabetes and its complications [10], the European Group for the Study of Insulin Resistance [11], the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel [12], and, more recently, the International Diabetes Federation (IDF) [13] have formulated definitions for metabolic syndrome. In addition, the American Heart Association in conjunction with the National Heart, Lung, and Blood Institute have proposed a revised version of the NCEP-ATPIII definition [14]. In Japan,

the National Metabolic Syndrome Criteria Study Group has proposed new criteria for metabolic syndrome in the Japanese [15].

Since several definitions of the syndrome are in use, it is difficult to compare the prevalence and impact between countries. However, a very consistent finding is that the prevalence of metabolic syndrome is highly age-dependent [16–18]. These previous findings were based on the cross-sectional observations, which may represent cohort, period, and/or survivorship effects rather than a true aging effect. Although longitudinal studies are required to examine real age-related changes in the prevalence of metabolic syndrome, to our knowledge, no studies have examined the longitudinal changes in the prevalence of metabolic syndrome in individuals over time.

We therefore studied longitudinal changes in the prevalence of metabolic syndrome in a single cohort of individuals to observe the effect of the natural aging process on the prevalence of metabolic syndrome as well as on obesity,

\* Corresponding author. Tel.: +81 52 744 2364; fax: +81 52 744 2371.

E-mail address: kuzuya@med.nagoya-u.ac.jp (M. Kuzuya).