

令和元年度厚生労働科学研究費補助金  
循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

「生涯にわたる循環器疾患の個人リスクおよび集団のリスク評価ツールの開発を目的とした大規模コホート統合研究（H29-循環器等-一般-003）」2019年度分担研究報告書

6. 北海道端野・壮瞥地区の住民健診を用いたコホートデータ分析—リスク因子の経年変化と予防介入開始時期の検討

研究分担者 斎藤 重幸 所属 札幌医科大学保健医療学部・教授  
研究協力者 大西 浩文 所属 札幌医科大学医学部公衆衛生学・教授  
研究協力者 赤坂 憲 所属 大阪大学医学部総合内科・講師

令和元年度には該当地区における住民健診を実施し、壮瞥町での夏季・冬季での住民健康調査を行い約 700 名の新たなデータを収集、既存のデータベースに統合した。また端野地区、壮瞥町での過去健診受診者の予後調査を実施した。これらは統合データベースに追加する。個別研究では既存データベースの解析から、地域住民（Tanno-Sobetsu Study）における動脈硬化性疾患、インスリン抵抗性の新たな関連因子（代謝マーカー）の検討を行った。今年度は脂肪酸結合タンパク質 4（FABP4）と動脈硬化進展の関連を検討した。薬物治療を受けていない男女で、頸動脈内中膜厚（CIMT）を評価した。CIMT と年齢、脂肪過多、血圧、腎機能障害、およびコレステロール、トリグリセリド、空腹時グルコース、HbA1c および FABP4 の関連を検討、CIMT と FABP4 血中濃度には有意の相関を認めた。3 年間の CIMT の毎年の変化率は 2010 年の高感度 C 反応性タンパク質（および FABP4 ( $r = 0.267$ ,  $P = 0.018$ )) の基礎レベルと正の相関あった。また、年齢、性別、および hsCRP レベルの調整後、基礎 FABP4 レベルは、毎年 CIMT の変化と独立して関連していた。FABP4 レベルは動脈硬化進展の予測因子である可能性が示唆された。

A.目的

端野・壮瞥町研究は、北海道の 2 地域において 1977 年より継続されている循環器疾患の病態解明を目的とした地域疫学研究である。対象は一般住民で毎年の健康診査と疾患発症登録により研究を継続している。

令和元年度は 2019 年 8 月、12 月に計 2 週間の健診を実施し約 700 名の健康診査

を行った。また追跡対象の約 2000 名について、予後調査を実施し死亡（死因）、疾病発症状況、ADL 状況などを登録した。以上の成績を研究班データベースに統合することにより分担研究の一部に寄与する。また本データベースを用いて循環器病リスク保有者の効果的な抽出することも可能であり、北海道北見市端野地区・同有珠郡壮瞥町の地域住民を対象に循環

器病・代謝疾患の病態解明を目的として前向き疫学調査を継続している。令和元年度の壮瞥町での夏季・冬季での住民健康調査を行い約700名の新たなデータを収集、既存のデータベースに統合した。また端野地区、壮瞥町での過去健診受診者の予後調査を実施した。これらは岡村班の統合データベースに追加する予定であり、これを持って統合研究に参画する。個別研究では既存データベースの解析から、地域住民における動脈硬化性疾患、インスリン抵抗性の新たな関連因子（代謝マーカー）の検討を行った。今年度は脂肪酸結合タンパク質4（FABP4）と動脈硬化進展の関連を検討した。

脂肪細胞とマクロファージに発現する脂肪酸結合タンパク質4（FABP4）は、細胞から分泌され、アディポカインとして機能する。循環中のFABP4レベルの上昇は、インスリン抵抗性とアテローム性動脈硬化症に関連していることが報告されている。またFABP4は心筋細胞収縮の抑制、炎症反応の誘導、内皮細胞の内皮一酸化窒素シンターゼ活性の阻害、および血管平滑筋細胞の増殖と遊走を介する機序が示唆されている。今回、地域住民における動脈硬化性疾患、インスリン抵抗性の新たな関連因子（代謝マーカー）としてのFABP4の検討を地域住民研究より行った。

## B.研究方法

北海道農村部で実施されている循環器疾患の病態解明を目標とした前向き疫学（Tanno-Sobetsu Study）の一般住民を対象に、FABP4レベルとアテローム性動脈硬化の進行との因果関係を検討した。

2010年と2013年の両年に健診を受診し、計818人（男性/女性：353/465、平均年齢：64±15歳）を対象とした。対象は、頸動脈超音波検査を実施し、動脈アテローム性動脈硬化のマーカーであるCIMTを評価した。解析対象は薬物治療を受けていない合計281人の被験者（男性/女性：109/172；平均年齢：61±14年）。2010年および2013年の両年にCIMTを評価した者は125人であった（男性/女性：57/68、平均年齢：63±17歳）。FABP4の濃度は、市販の酵素結合免疫吸着アッセイキット（Biovendor R&D, Modrice, Czech Republic）を使用して測定された。キットの精度、精度、および再現性は以前に説明されている。キットのアッセイ内およびアッセイ間の変動係数は5%未満。メーカーのプロトコルによると、FABP4と他のFABPタイプとの交差反応はない。高感度C反応性タンパク質（hsCRP）は、比濁法によって測定されました。IRの指標であるIR（HOMA-R）は： $HOMA-R = \text{インスリン} (\mu U/ml) \times \text{グルコース} (mg/dL) / 405$ によって算出、腎機能は推定糸球体濾過率（eGFR）の日本人の方程式によって計算された： $eGFR (mL/min/1.73m^2) = 194 \times \text{クレアチニン} (-1.094) \times \text{年齢} (-0.287) \times 0.739$ （女性）。

各諸量との単相関を検討したのち、階的および後続の多変量回帰分析を実行して、FABP4、CIMT、およびCIMTの変化の独立した決定要因を特定し、多重共線性を考慮した後、独立した予測因子として有意な相関を持つ変数を使用して、

標準化されていない回帰係数と標準の比率として計算された t 比を示した。選択された独立予測子が説明したオブジェクト変数 (R<sup>2</sup>) および赤池の情報量基準 (AIC)。候補モデルの中から、各従属変数に対して AIC を使用した最適なモデルを選択した。P < 0.05 を統計的に有意とみなし、すべてのデータは、JMP 9 for Macintosh (SAS Institute, Cary, NC, USA) を使用して分析した。

### C. 研究結果

薬物療法を受けていない 281 人の募集対象者 (男性/女性 : 109/ 172) の特性を表 1 に示した。対象の平均年齢、BMI およびウエスト円周(WC)は、それぞれ 62±15 歳、22.8±3.2 kg / m<sup>2</sup> および 82.2±10.6 cm。男性で、BMI と WC が著しく大きく、習慣喫煙の頻度が高く、収縮期および拡張期血圧、トリグリセリド、空腹時グルコース、HOMA-R、HbA1c、BUN、クレアチニン、尿酸、AST、ALT、 $\gamma$ GTP および CIMT が女性より大である。総コレステロール、HDL-C、BNP および FABP4 のレベルは女性で高値であった。

CIMT と年齢、脂肪過多、血圧、腎機能障害、およびコレステロール、トリグリセリド、空腹時グルコース、HbA1c および FABP4 の関連を検討、CIMT と FABP4 血中濃度には有意の相関 (r = 0.331、P < 0.001) を認めた (図 1)。

対数変換された血中 FABP4 レベルは、年齢、BMI、WC、収縮期血圧、および空腹時グルコース、インスリン、HOMA-R、HbA1c、BUN、クレアチニン、AST、ALT、

BNP および hsCRP のレベルと正の相関があり、レベルと負の相関があった HDL-C および eGFR の。さらに、FABP4 レベルと CIMT の間に有意な正の相関 (r = 0.331、P < 0.001) が認められた (図 1)。重回帰分析により、FABP4 レベルは性別、WC、eGFR、AST、CIMT のレベルと独立して関連していることが示され、この測定値の分散の合計が 47.8% であることが説明されました (R<sup>2</sup> = 0.478) 重回帰分析により、年齢、性別、FABP4 濃度が CIMT の独立した予測因子であることが示された。

2010 年の 156 人の被験者のうち合計 78 人 (男性/女性 : 29/49) が 2013 年に頸動脈超音波検査を再検した。3 年間の CIMT の毎年の変化率 (平均値±SD : 3.8±22.3  $\mu$  m/年) は 2010 年の高感度 C 反応性タンパク質 (hsCRP) (r = 0.231、P = 0.046) および FABP4 (r = 0.267、P = 0.018) の基礎レベルと正の相関がありました (図 2)。年齢、性別、および hsCRP レベルの調整後、基礎 FABP4 レベルは、CIMT の変化と独立して関連していた (表 1)。

78 人の CIMT が 3 年後に再測定された。この平均年齢、BMI および WC は、それぞれ 62±11 歳、22.7±3.2 kg / m<sup>2</sup> および 80.9±10.1 cm であった。2010 年と同様に、男性は女性よりも WC が有意に大きく、拡張期血圧、トリグリセリド、空腹時グルコース、クレアチニン、eGFR、尿酸および  $\gamma$ GTP のレベルが高く、総コレステロールおよび HDL-C レベルが低かった。

3 年の期間中の 1 年あたりの CIMT の変化の分布を図 2A に示した。平均値の変化率は 3.8±22.3 (中央値 : 1.7)  $\mu$  m/年だった。CIMT の進行と退行は、それぞれ 43

人 (55.1%) と 35 人 (44.9%) で認められた。男性と女性間に、CIMT の 1 年あたりの有意差なく ( $3.8 \pm 25.5$  対  $3.7 \pm 20.5 \mu\text{m}/\text{年}$ 、 $P = 0.992$ )、喫煙習慣の有無により CIMT の変化間にも有意差は認められなかった ( $9.5 \pm 16.5$  対  $2.8 \pm 23.1 \mu\text{m}/\text{年}$ 、 $P = 0.251$ )。1 年あたりの CIMT の変化は、hsCRP ( $r = 0.299$ 、 $P = 0.009$ ) および PFABP4 ( $r = 0.267$ 、 $P = 0.018$ ) の対数変換レベルと正の相関が認められた (表 2)。1 年あたりの CIMT の変化と他の基礎パラメーターとの間に有意な相関関係はなかった。

#### D. 考察

本研究は、血中 FABP4 濃度が、薬物療法を受けていない一般住民における 3 年間の CIMT の年間変化によって評価される頸動脈アテローム性動脈硬化の進行の独立した予測因子であることを示している。FABP の DNA の配列に分泌シグナルペプチドがないため、血中の FABP4 は、脂肪細胞とマクロファージから分泌されたものになる。In vitro および in vivo の実験から、FABP4 は、肝臓のグルコース産生の増加、肝細胞の収縮の抑制、および炎症反応の誘導、内皮細胞の酸化窒素合成酵素の阻害を介してアテローム性動脈硬化の発生を惹起することと、肝臓のインスリン抵抗性発生のためのアディポカインとして作用することが想定されている。これらのメカニズムによりモノクローナル抗体を用いるなど、代謝性疾患を治療する新しい戦略の可能性が FABP4 制御により期待されている。今回示されたように血中 FABP4 の循環

は、ヒトのアテローム性動脈硬化の進行を直接促進する可能性がある。

脂質異常症、高血圧症、および DM のいくつかの薬物による治療は、CIMT の退縮によって示されるアテローム性動脈硬化の進行を防ぐことが示されています。逆に、CIMT の 1 年あたりの平均増加は、T2DM 患者では  $30 \sim 40 \mu\text{m}$  であると報告されています。しかし、薬物治療を受けていない一般集団における CIMT の平均的な変化についてはほとんど知られていない。健康な被験者での 1 年あたりの CIMT の予測的増加は、年齢と CIMT の間に強い正の相関があり、断面分析の年齢に伴う回帰係数に従って約  $8 \sim 9 \mu\text{m}$  と報告されている。本研究では、3 年間の CIMT の変化の分布は比較的大きく、CIMT の進行と退縮は、それぞれ 43 人 (55.1%) と 35 人 (44.9%) に見られた。(図 2A)。CIMT の変化の平均値は  $3.8 \pm 22.3$  (中央値: 1.7)  $\mu\text{m}/\text{年}$  であり、予測値よりも小さく、ライフスタイル、食品、塩の摂取、喫煙習慣の変更を含むいくつかの要因によって引き起こされる CIMT のさまざまな変化を示唆している。薬物を投与していない一般住民では、一定期間にわたってその他の要因が関与している。今回の研究は、hsCRP と FABP4 の基礎レベルや、3 年間の hsCRP または FABP4 の変化ではなく、年齢と性別の調整後の 3 年間の頸動脈内膜中膜厚の変化の独立した予測因子であることを明らかにした。

血中 FABP4 濃度は、頸動脈内膜中膜厚および頸動脈アテローム性動脈硬化の進行によって評価されるアテローム性動脈硬化の独立した予測因子である。血中

FABP4 とアテローム性動脈硬化の進行との関連の根底にあるメカニズムをさらに理解することにより、心血管疾患および代謝疾患の新しい治療戦略の開発が可能になる可能性示された。

#### E. 参考文献

1. Seko T, Akasaka H, Koyama M, Himuro N, Saitoh S, Miura T, Mori M, Ohnishi H. Lower limb muscle mass is associated with insulin resistance more than lower limb muscle strength in non-diabetic older adults. *Geriatr Gerontol Int.* 2019; 19: 1254-1259.
2. Seko T, Akasaka H, Koyama M, Himuro N, Saitoh S, Miura T, Mori M, Ohnishi H. Lower limb muscle mass is associated with insulin resistance more than lower limb muscle strength in non-diabetic older adults. *Geriatr Gerontol Int.* 2019; 19: 1254-1259.

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的所有権の取得状況

なし

表 1. 非薬物療法者の男女別の比較

	Total	Male	Female	P value
<b>n</b>	281	109	172	
<b>Age (years)</b>	62±15	63±16	61±15	0.399
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22.8±3.2	23.9±2.9	22.1±3.2	<0.001
<b>WC (cm)</b>	82.2±10.6	86.3±8.9	79.6±10.8	<0.001
<b>Systolic BP (mmHg)</b>	129±20	135±18	126±21	0.015
<b>Diastolic BP (mmHg)</b>	74±12	79±11	72±11	0.001
<b>Pulse rate (beats/min)</b>	71±11	70±13	72±10	0.512
<b>Habitual smoking</b>	49 (17.4)	26 (23.9)	23 (13.4)	0.024
<b>Biochemical data</b>				
TC (mg/dL)	204±34	196±32	209±34	0.002
LDL-C (mg/dL)	122±29	120±27	123±30	0.291
HDL-C (mg/dL)	66±18	58±17	70±16	<0.001
Triglycerides (mg/dL)	92 (65–125)	103 (74–145)	85 (61–116)	<0.001
Fasting glucose (mg/dL)	95 (90–103)	97 (90–105)	91 (86–98)	<0.001
Insulin (μU/mL)	5.3 (4.4–5.9)	5.4 (4.9–5.9)	5.2 (4.2–5.9)	0.189
HOMA-R	1.22 (0.97–1.48)	1.26 (1.07–1.58)	1.16 (0.92–1.41)	0.024
HbA1c (%)	5.2±0.4	5.3±0.5	5.2±0.4	0.002
BUN (mg/dL)	15±5	16±6	14±5	0.003
Creatinine (mg/dL)	0.8±0.2	0.9±0.3	0.7±0.1	<0.001
eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	72.6±15.8	73.3±16.6	72.1±15.3	0.524
Uric acid (mg/dL)	5.1±1.3	6.0±1.2	4.6±1.0	<0.001
AST (IU/L)	22 (19–26)	23 (20–27)	21 (18–25)	0.049
ALT (IU/L)	18 (14–23)	21 (16–30)	16 (13–21)	<0.001
γGTP (IU/L)	20 (15–31)	27 (19–44)	18 (14–24)	<0.001
BNP (pg/mL)	17 (11–31)	15 (9–30)	19 (12–31)	0.024
hsCRP (mg/dL)	0.03 (0.01–0.06)	0.03 (0.02–0.06)	0.03 (0.01–0.06)	0.435
FABP4 (ng/ml)	10.8 (7.8–14.3)	9.3 (7.3–13.0)	11.5 (8.4–15.4)	0.001
<b>Carotid ultrasonographic data</b>				
CIMT (mm)	0.69±0.13	0.71±0.14	0.67±0.13	0.011

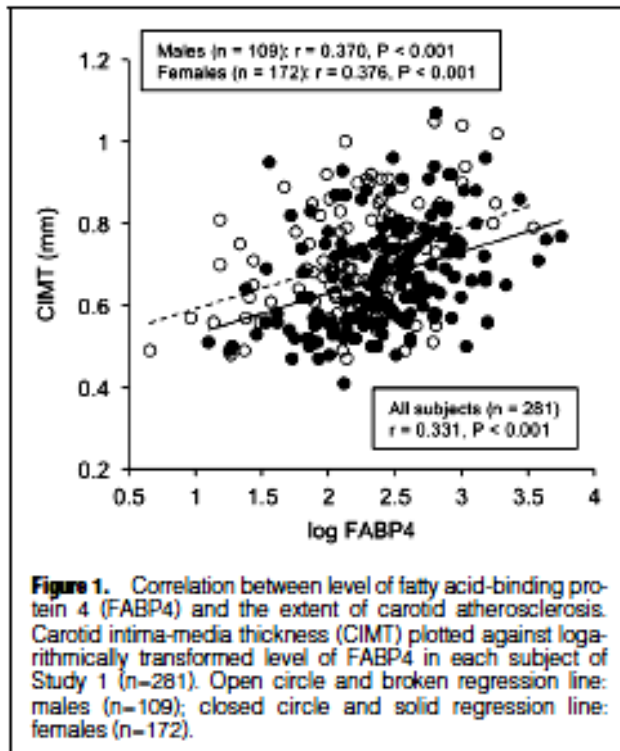


図1 血中 FABP4 と CIMT との相関

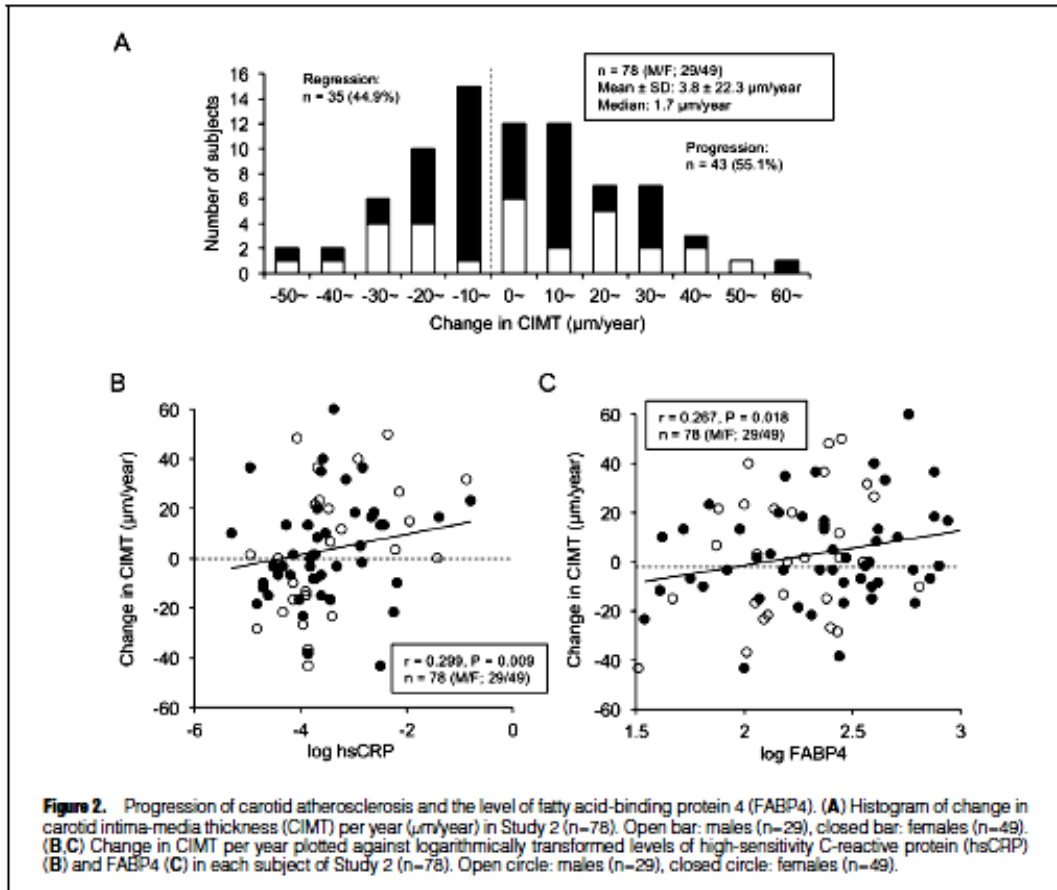


図 2. 3年間 CIMT の変化 (A) と hsCRP、FABP4 の変化率 (B,C) との関連

表 2 重回帰分析による頸動脈内膜中膜厚と各種指標との関連

Table 6. Multiple Regression Analysis for Change In CIMT (µm/year) (Study 2: n=78)					
	Regression coefficient	SE	Standardized regression coefficient (β)	t	P value
Age	-0.308	0.242	-0.691	-0.20	0.208
Sex (male)	2.095	5.166	0.046	0.41	0.686
Log hsCRP	6.242	2.743	0.261	2.28	0.028
Log FABP4	15.713	7.508	0.250	2.09	0.040

R<sup>2</sup>=0.147. Abbreviations as in Table 1.



【別刷り論文要約①】

Seko T, Akasaka H, Koyama M, Himuro N, Saitoh S, Miura T, Mori M, Ohnishi H.  
Lower limb muscle mass is associated with insulin resistance more than lower  
limb muscle strength in non-diabetic older adults. *Geriatr Gerontol Int.* 2019; 19:  
1254-1259.

【目的】高齢者のフレイルはその後の廃用症候群、寝たきり、早期死亡につながり、健康寿命延伸のためにその病態は重要である。フレイルには種々の診断基準があるが、基本は筋肉量と筋力を評価するものである。インスリン抵抗性は動脈硬化性疾患発症を介して健康寿命の劣化に関連すると考えられ、下肢の筋肉に焦点を合わせて、筋肉量および筋力とインスリン抵抗性との関連を検討した横断的を実施した。

【研究方法】参加者は2017年に人口ベースのコホート研究である端野・壮警研究から登録した。64歳未満または糖尿病の既往歴のある個人を除外した後、272人の非糖尿病の高齢者（男性116人、女性156人）を対象とした。インスリン抵抗性の恒常性モデル評価によると、参加者は2つのグループに分けられました。つまり、インスリン抵抗性グループ（インスリン抵抗性の恒常性モデル評価 $\geq 1.73$ ）および非インスリン抵抗性グループ（インスリン抵抗性の恒常性モデル評価 $< 1.73$ ）。筋肉量（下肢、上肢、虫垂、体幹）と筋力（グリップ力と膝伸展トルク）を測定し、体重で割った後、100を掛けて体重比（%）を計算しました。インスリン抵抗性のリスクに対する各筋肉指数の調整済みオッズ比（OR）は、男性と女性の両方について個別に計算されました。

【結果】下肢の筋肉量（OR 0.72、男性では95%CI 0.55-0.92; OR 0.69、女性では95%CI 0.51-0.96）および虫垂筋量（OR 0.75、95%CI 0.61-0.94は男性; OR 0.72、女性ではそれぞれ95%CI 0.54-0.95）、年齢、肥満度指数、高感度のC反応性タンパク質および喫煙習慣を調整した後、他の筋肉指数ではなくインスリン抵抗性のリスクと関連していました。

【考察】非糖尿病の高齢者の下肢の筋肉量は、インスリン抵抗性と独立して関係しており、フレイルの予防にはインスリン抵抗性の改善が寄与する可能性が示唆された。

【別刷り論文要約②】

Furuhashi M, Koyama M, Matsumoto M, Murase T, Nakamura T, Higashiura Y, Tanaka M, Norihito Moniwa, Ohnishi H, Saitoh S, Shimamoto K, Miura T. Annual change in plasma xanthine oxidoreductase activity is associated with changes in liver enzymes and body weight. *Endocrine Journal*. 2019; 66 : 777-786.

【目的】

キサンチン酸化還元酵素 (XOR)、ヒポキサンチンおよびキサンチンからの尿酸形成の酵素が認識されている。酸化ストレスの源として XOR の血漿活性は、関連する代謝障害のバイオマーカーであるが報告されている。今回、地域住民を対象として肥満、肝機能障害、インスリン抵抗性、高尿酸血症、アディポカインの関連の縦断的变化を検討した

【研究方法】対象は端野・壮瞥町住民の 511 人 (男性/女性 : 244/267) であり、質量分析と液体クロマトグラフィーを使用し血漿 XOR 活性を [13C2, 15N2]-キサンチンを基質として測定した。

【結果】2016 年および 2017 年の血漿 XOR 活性は、女性よりも男性で有意に高く、血漿 XOR 活性の 2 年間で有意に増加した。血漿 XOR 活性は体重 ( $r = 0.203, p < 0.001$ )、肥満度指数、拡張期血液を含む各パラメーターの変化と相関した。また、血圧、AST ( $r = 0.772, p < 0.001$ )、ALT ( $r = 0.647, p < 0.001$ )、 $\gamma$ -GT、総コレステロール、トリグリセリド、尿酸、空腹時グルコースおよび HbA1c とも関連した。多変量回帰分析では AST の変化と体重の変化が、血漿 XOR 活性の変化の独立した予測因子であった。

【考察】血漿 XOR 活性の年間変化は、肝臓酵素および体重の変化と独立して関連している。肝機能の改善と体重の減少により、関連する酸化ストレスの関与が考えられ血漿 XOR 活性の変化が生じると考えられる。