

## 9. 遺伝子多型と心血管疾患罹患リスクの大規模追跡調査

諏訪園 靖

千葉大学 大学院医学研究院 環境労働衛生学

Key words : 遺伝子多型, 高血圧, 糖尿病, 高脂血症, コホート調査

### 緒言

分子生物学の医学への応用が急速に進歩し、近年は後天性の慢性疾患でも関連遺伝子が報告されている。脳卒中、心筋梗塞などの心血管疾患の遺伝は多因子遺伝と考えられており、高血圧症、肥満なども含め、複数の遺伝子が相互作用しつつ、あるいは環境因子や宿主側の要因（生活習慣等）から影響を受けつつその相互作用によって発症すると考えられる。したがって大規模な一般人の集団に対しこれらの遺伝子の影響とその組み合わせによる効果の検討、および遺伝子と宿主側の要因（生活習慣等）との組み合わせによる効果の検討を行う必要があるとの考えに至った。同時に、長期にわたる縦断研究においては、飲酒や喫煙などの生活習慣の経時的な変動とともに、血圧や血糖値などの健康診断結果が結果に影響することが考えられ、適切な統計学的手法を導入することも重要である。

アディポネクチン受容体2 (*AdipoR2*) 遺伝子については、心筋梗塞<sup>1,2)</sup>や脳梗塞<sup>3)</sup>との関連が報告され、近年ではメタボリック症候群、脂質代謝異常、耐糖能異常<sup>1)</sup>にも関連が報告されている。また、BRCA1-関連蛋白 (BRAP) は、心筋梗塞患者での疫学調査により見出され、冠動脈の炎症が、その機序として指摘されている<sup>4)</sup>。しかしながら、日本人における調査はほとんどなく、縦断的な検討もなされていない。本調査ではこれらの遺伝子多型に加え、他の可能性のある多型も将来的に新規に検索し、多因子遺伝の疾患の本態を明らかにするため、さらに大規模かつ長期間にわたる縦断調査を行い、すでに分析した多型が疾病（脳卒中、心筋梗塞、高血圧、糖尿病、高脂血症）と関連するかの縦断調査、これらの新規多型の健診結果（HbA<sub>1c</sub>、コレステロール、血圧など）と疾病発症の関連についての横断調査と縦断調査、さらに測定終了した遺伝子多型の組み合わせの影響について、毎年の健診結果を考慮しつつ、予防医学的に評価することを目的とした。

### 方法

対象者は、男性 1,458 人、女性 1,191 人である。対象者に関し健康診断時の年齢、既往歴、家族歴、生活習慣、身体計測値、血圧測定値、および血液生化学の測定結果を関連する因子として用いた。

*AdipoR2* (rs9805042, rs34903315, rs9805049)、*BRAP* (rs11066001) 多型についてはプライマー、アンプダイレクターバッファーによる直接 PCR 法を行い、シーケンサーで多型を決定した。

分析した遺伝子多型と健康診断データを結合し、追跡開始時の基礎データとして、高血圧（140/90 mmHg 以上または内服）、高脂血症（総コレステロール値 240 mg/dl 以上）、糖尿病（HbA<sub>1c</sub> 6.4% 超あるいは内服）との関連について、単変量解析として t 検定、 $\chi^2$  検定を行い、さらに、年齢、BMI、生活習慣、家族歴、血液生化学検査結果をモデルに組み込み補正したオッズ比と 95% 信頼区間を logistic 回帰分析により算出した。

### 結果および考察

表 1 に高血圧者群と非高血圧者群で年齢、健診結果、生活習慣を男女別に比較した結果を示す。

表 1. 高血圧と各関連因子の平均値と標準偏差、分布について

	Men			Women		
	Normotensive	Hypertensive	P	Normotensive	Hypertensive	P
	Mean (SD)	Mean (SD)		Mean (SD)	Mean (SD)	
Age (yrs)	38.2 (9.6)	40.6 (10.5)	0.001	38.5 (9.3)	45.0 (7.4)	<0.001
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.8 (2.8)	23.8 (3.2)	<0.001	21.9 (3.1)	24.2 (4.0)	<0.001
Systolic blood pressure (mmHg)	118.6 (10.4)	141.1 (12.1)	<0.001	113.2 (11.3)	142.3 (14.9)	<0.001
Diastolic blood pressure (mmHg)	71.8 (8.6)	86.5 (10.6)	<0.001	68.5 (8.7)	87.9 (10.3)	<0.001
Mean blood pressure (mmHg)	87.4 (7.9)	104.7 (8.8)	<0.001	83.4 (8.6)	106.1 (10.2)	<0.001
Creatinine (mg/dL)	1.02 (0.14)	1.01 (0.12)	0.530	0.80 (0.11)	0.80 (0.10)	0.652
Total cholesterol (mg/dL)	192.3 (34.0)	199.3 (36.1)	0.003	193.2 (34.6)	204.6 (28.2)	0.005
Uric acid (mg/dL)	5.6 (1.1)	6.0 (1.2)	<0.001	3.9 (0.8)	4.2 (0.9)	0.001
HbA <sub>1c</sub> (%)	5.04 (0.45)	5.07 (0.48)	0.492	4.97 (0.42)	5.15 (0.37)	<0.001
	N (%)	N (%)	P	N (%)	N (%)	P
Drinking alcohol (everyday)	466 (38.8%)	108 (41.9%)	0.399	19 (1.7%)	2 (2.6%)	0.392
Smoking habit (smoker)	708 (59.0%)	144 (55.8%)	0.366	50 (4.5%)	3 (3.9%)	1.000
Habitual exercise (regularly)	776 (64.9%)	156 (60.9%)	0.251	870 (78.2%)	63 (82.9%)	0.388
Familial history of hypertension (+)	148 (12.3%)	67 (26.0%)	<0.001	154 (13.8%)	19 (25.0%)	0.011

高血圧者群では、収縮期および拡張期血圧、平均血圧が高値であったが、そのほか、男女の高血圧群で、年齢、BMI、総コレステロール、尿酸が有意に高値であり、女性のみ HbA<sub>1c</sub> が有意に高値を示した。表 2a-2c に高血圧、高脂血症、糖尿病有無群と、各遺伝子多型の分布を示す。

表 2a. *AdipoR2* および *BRAP* の多型と高血圧との関連

Polymorphism	Men		Women	
	-[N(%)]	+ [N(%)]	-[N(%)]	+ [N(%)]
<i>AdipoR2</i> (rs9805042)				
CC	1033 (87.1%)	225 (87.2%)	980 (88.0%)	67 (88.2%)
CT	147 (12.4%)	32 (12.4%)	130 (11.7%)	9 (11.8%)
TT	6 (0.5%)	1 (0.4%)	4 (0.4%)	0 (0.0%)
P-value	0.970		0.872	
<i>AdipoR2</i> (rs34903315)				
GG	1045 (88.2%)	227 (88.0%)	993 (89.1%)	67 (88.2%)
GA	134 (11.3%)	30 (11.6%)	118 (10.6%)	9 (11.8%)
AA	6 (0.5%)	1 (0.4%)	3 (0.3%)	0 (0.0%)
P-value	0.960		0.854	
<i>AdipoR2</i> (rs9805049)				
AA	421 (35.5%)	87 (33.7%)	371 (33.3%)	28 (36.8%)
CA	561 (47.3%)	127 (49.2%)	540 (48.5%)	35 (46.1%)
CC	203 (17.1%)	44 (17.1%)	203 (18.2%)	13 (17.1%)
P-value	0.837		0.818	
<i>BRAP</i> (rs11066001)				
TT	728 (60.7%)	184 (71.3%)	709 (63.6%)	44 (57.9%)
TC	397 (33.1%)	62 (24.0%)	360 (32.3%)	25 (32.9%)
CC	75 (6.3%)	12 (4.7%)	46 (4.1%)	7 (9.2%)
P-value	0.006		0.105	

表 2b. *AdipoR2* および *BRAP* の多型と高脂血症の関連

Polymorphism	Men		Women	
	-[N(%)]	+ [N(%)]	-[N(%)]	+ [N(%)]
<i>AdipoR2</i> (rs9805042)				
CC	1133 (86.6%)	126 (92.0%)	933 (87.7%)	114 (90.5%)
CT	168 (12.8%)	11 (8.0%)	127 (11.9%)	12 (9.5%)
TT	7 (0.5%)	0 (0.0%)	4 (0.4%)	0 (0.0%)
P-value	0.177		0.567	
<i>AdipoR2</i> (rs34903315)				
GG	1145 (87.6%)	128 (93.4%)	944 (88.7%)	116 (92.1%)
GA	155 (11.9%)	9 (6.6%)	117 (11.0%)	10 (7.9%)
AA	7 (0.5%)	0 (0.0%)	3 (0.3%)	0 (0.0%)
P-value	0.118		0.476	
<i>AdipoR2</i> (rs9805049)				
AA	469 (35.9%)	39 (28.5%)	355 (33.4%)	44 (34.9%)
CA	611 (46.7%)	78 (56.9%)	513 (48.2%)	63 (50.0%)
CC	227 (17.4%)	20 (14.6%)	196 (18.4%)	19 (15.1%)
P-value	0.075		0.653	
<i>BRAP</i> (rs11066001)				
TT	822 (62.2%)	90 (65.2%)	679 (63.8%)	75 (59.1%)
TC	418 (31.6%)	41 (29.7%)	335 (31.5%)	49 (38.6%)
CC	81 (6.1%)	7 (5.1%)	50 (4.7%)	3 (2.4%)
P-value	0.756		0.168	

表 2c. *AdipoR2* および *BRAP* の多型と糖尿病との関連

Polymorphism	Men		Women	
	-[N(%)]	+ [N(%)]	-[N(%)]	+ [N(%)]
<i>AdipoR2</i> (rs9805042)				
CC	1229 (87.0%)	30 (90.9%)	1035 (87.9%)	11 (100.0%)
CT	176 (12.5%)	3 (9.1%)	139 (11.8%)	0 (0.0%)
TT	7 (0.5%)	0 (0.0%)	4 (0.3%)	0 (0.0%)
P-value	0.773		0.468	
<i>AdipoR2</i> (rs34903315)				
GG	1242 (88.0%)	31 (93.9%)	1048 (89.0%)	11 (100.0%)
GA	162 (11.5%)	2 (6.1%)	127 (10.8%)	0 (0.0%)
AA	7 (0.5%)	0 (0.0%)	3 (0.3%)	0 (0.0%)
P-value	0.569		0.506	
<i>AdipoR2</i> (rs9805049)				
AA	495 (35.1%)	13 (39.4%)	397 (33.7%)	2 (18.2%)
CA	676 (47.9%)	13 (39.4%)	568 (48.2%)	7 (63.6%)
CC	240 (17.0%)	7 (21.2%)	213 (18.1%)	2 (18.2%)
P-value	0.609		0.517	
<i>BRAP</i> (rs11066001)				
TT	896 (62.8%)	16 (48.5%)	745 (63.2%)	8 (72.7%)
TC	442 (31.0%)	17 (51.5%)	381 (32.3%)	3 (27.3%)
CC	88 (6.2%)	0 (0.0%)	53 (4.5%)	0 (0.0%)
P-value	0.025		0.692	

男性の高血圧、糖尿病で *BRAP* 遺伝子多型分布が有意に異なっており、高血圧群で TC、CC 型が少なく、糖尿病群で TC 型が多かった。表 3a–3c に各疾患と遺伝子多型の関連について、表 1 に示された因子について補正した logistic 回帰分析の結果を示す。

表 3a. 遺伝子多型の高血圧に関するオッズ比と 95%信頼区間

Polymorphism	Men		Women	
	Odds ratio	P-value	Odds ratio	P-value
<i>AdipoR2</i> (rs9805042) (/CC)				
CT+TT	1.07 (0.70, 1.63)	0.768	1.08 (0.51, 2.32)	0.839
<i>AdipoR2</i> (rs34903315) (/GG)				
GA+AA	1.08 (0.70, 1.68)	0.714	1.17 (0.54, 2.51)	0.690
<i>AdipoR2</i> (rs9805049) (/AA)				
CA	1.05 (0.77, 1.44)	0.758	0.76 (0.44, 1.31)	0.316
CC	0.98 (0.64, 1.49)	0.913	0.77 (0.37, 1.62)	0.495
<i>BRAP</i> (rs11066001) (/TT)				
TC	0.65 (0.46, 0.92)	0.014	1.17 (0.68, 2.02)	0.563
CC	0.57 (0.29, 1.12)	0.103	2.62 (1.05, 6.54)	0.039

表 3b. 遺伝子多型の高脂血症に関するオッズ比と 95%信頼区間

Polymorphism	Men		Women	
	Odds ratio	P-value	Odds ratio	P-value
<i>AdipoR2</i> (rs9805042) (/CC)				
CT+TT	0.62 (0.32, 1.22)	0.169	0.68 (0.33, 1.40)	0.294
<i>AdipoR2</i> (rs34903315) (/GG)				
GA+AA	0.54 (0.26, 1.12)	0.099	0.65 (0.30, 1.39)	0.269
<i>AdipoR2</i> (rs9805049) (/AA)				
CA	1.58 (1.02, 2.43)	0.039	1.04 (0.66, 1.66)	0.852
CC	0.95 (0.51, 1.75)	0.864	0.86 (0.45, 1.65)	0.656
<i>BRAP</i> (rs11066001) (/TT)				
TC	0.87 (0.56, 1.35)	0.521	1.37 (0.89, 2.11)	0.158
CC	0.64 (0.26, 1.60)	0.339	0.66 (0.19, 2.30)	0.515

表 3c. 遺伝子多型の糖尿病に関するオッズ比と 95%信頼区間

Polymorphism	Men		Women	
	Odds ratio	P-value	Odds ratio	P-value
<i>AdipoR2</i> (rs9805042) (/CC)				
CT+TT	NA	NA	NA	NA
<i>AdipoR2</i> (rs34903315) (/GG)				
GA+AA	0.45 (0.10, 2.06)	0.304	NA	NA
<i>AdipoR2</i> (rs9805049) (/AA)				
CA	0.53 (0.22, 1.25)	0.148	4.01 (0.42, 38.57)	0.229
CC	0.97 (0.34, 2.73)	0.951	5.88 (0.39, 89.28)	0.202
<i>BRAP</i> (rs11066001) (/TT)				
TC+CC	1.73 (0.72, 4.15)	0.221	0.69 (0.15, 3.09)	0.623

NA：疾患群に対象多型が少なく推算できず。

表 2 で示されたように、各疾患群で遺伝子多型の変異が少なかった *AdipoR2* の、rs9805042、rs34903315 の全疾患、*BRAP* と糖尿病では、多型を結合してオッズ比とその 95% 信頼区間を算出した。結果として、男性では *BRAP* 遺伝子の TC 型で高血圧のオッズ比 (95% 信頼区間) が 0.65 (0.46, 0.92) と低く、高血圧のリスクが低下していた。一方女性では CC 型で高血圧のオッズ比 (95% 信頼区間) が 2.62 (1.05, 6.54) と有意に高かった。女性の高血圧は男性より少なく、また単変量解析では有意ではなかったため、女性の結果は今後も検討が必要と思われる。さらに、男性で *AdipoR2* 遺伝子多型 (rs9805049) の CA 型で、高脂血症のオッズ比 (95% 信頼区間) が 1.58 (1.02, 2.43) と有意に増加していた。

以上の横断的な検討では、*BRAP* 遺伝子の rs11066001 多型が、高血圧について、有意に関連していることが示され、また、*AdipoR2* 遺伝子多型 (rs9805049) が高脂血症に関連していることが示された。今後は、さらに追跡調査を継続するとともに、これまで測定した遺伝子多型の結果を組み合わせ、生活習慣との交互作用を含めて、高血圧、糖尿病、肥満、高脂血症、高尿酸血症、高  $\gamma$  GTP 血症などについて横断的、縦断的にも関連性の検討を進めたい。

これまで、生活習慣病に関して、遺伝子多型を予防医学的に十分な科学的根拠の元に応用、活用するには至っていないと考えられる。その一因として、単一遺伝子による疾患とは異なり、大規模集団を用い、生活習慣等の他の要因を考慮した追跡研究により、そのリスクを明確にし、有用性を評価することが必須であるにもかかわらず、良好な対象集団の確保が非常に困難なことがある。

本研究では約 2,600 人の労働者において調査を行った。また、今後縦断的な追跡をもとに、心血管疾患罹患について、pooled logistic regression analysis、混合線形モデルを用いることで、追跡期間中にも変化する生活習慣について補正を考慮した上で、遺伝子多型のリスクを明確にし、健康診断等の予防衛生活動に活用しうるか検証しようという点に特色と意義があると考えられる。さらに複数の遺伝子多型を組み合わせる際、その変異型の組み合わせを同時に持つ対象者の人数がある程度確保されていることが必須であり、集団の対象数が多いことも重要である。この点もこの調査研究の特徴である。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は千葉大学大学院医学研究院の能川和浩および高見美幸である。

## 文 献

- 1) Siitonen N, Pulkkinen L, Lindstrom J, Kolehmainen M, Schwab U, Eriksson JG, et al. Association of ADIPOR2 gene variants with cardiovascular disease and type 2 diabetes risk in individuals with impaired glucose tolerance: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Cardiovascular diabetology* 2011; 10: 83. doi: 10.1186/1475-2840-10-83. PubMed PMID: 21943112.
- 2) Halvatsiotis I, Tsiotra PC, Ikonomidis I, Kollias A, Mitrou P, Maratou E, et al. Genetic variation in the adiponectin receptor 2 (ADIPOR2) gene is associated with coronary artery disease and increased

- ADIPOR2 expression in peripheral monocytes. *Cardiovascular diabetology* 2010; 9: 10. doi: 10.1186/1475-2840-9-10. PubMed PMID: 20178558.
- 3) Yuan B, Teng JF. Association between adiponectin receptor 2 gene polymorphisms and cerebral infarction. *Genetics and molecular research : GMR* 2014; 13(3): 7808-14. doi: 10.4238/2014.September.26.19. PubMed PMID: 25299095.
  - 4) Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, et al. SNPs in BRAP associated with risk of myocardial infarction in Asian populations. *Nat Genet* 2009; 41(3): 329-33. doi: ng.326 [pii] 10.1038/ng.326. PubMed PMID: 19198608.