科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　２６　年　　６　月　　９　日現在

機関番号：１２１０２
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2011～2013
課題番号：２３５９０７７６

研究課題名（和文）アポトーシス並びに細胞増殖因子と出血性脳血管疾患に関する前向き疫学研究

研究課題名（英文）Epidemiological study on soluble Fas as a apoptotic factor and IGF-1 as a cellular growth factor in relation to hemorragic cerebrovascular diseases

研究代表者
山海　知子（Sankai, Tomoko）

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：１０２４１８２９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　4,000,000円、（間接経費）　　1,200,000円

研究成果の概要（和文）：日本人の動脈硬化を伴わない出血性脳卒中の発症とアポトーシス（細胞死）との関連をみるため、長期継続的に脳卒中の発生の観察をしている秋田・茨城・高知の地域集団(対象者数約9千人)における1984年以降の出血性脳卒中発症群に対して、コホート内症例対照研究の手法を用い、地域・性・年齢を1:2マッチさせた対照群とで、発症前に採取され凍結保存された血清中のsFas、IGF-1を測定し比較した。発症年齢69歳以下の症例と対照の検討では、sFas（アポトーシス関連因子）は関連を認めず、くも膜下出血の発症機序として、IGF-1(細胞増殖因子)の欠乏が動脈瘤壁の脆弱性を高めている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To investigate the relation between apoptpsis, 'cell death', and hemorrhagic stroke without arteriosclerosis among Japanese, a nested case-control study was conducted on approximately nine thousand persons lived in three communities which were long-term follow-up cohorts existed in Akita, Ibaraki, Kochi, respectively. During follow-up from1984, 54 incident cases whose onset age was 69 and below occurred. In this study, 54 cases and 108 controls matched with cases for living area, sex, age, and follow-up periods were selected, and sFas as an apoptosis-related factor and IGF-1 as a cellular growth factor were measured in sera prepared from blood collection before onset of stroke and stored in deep freezers. In conclusion, the present study suggests that sFas did not accept relation, but a possibility that lack of IGF-1 was improving the brittleness of the aneurysm wall of cerebral arteries as a pathogenic mechanism of subarachnoid hemorrhage.

研究分野：保健統計学・疫学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：疫学　出血性脳血管疾患　アポトーシス関連因子　細胞増殖因子　脳内出血　くも膜下出血　リスクファクター

１．研究開始当初の背景

(1)日本人の脳血管疾患は欧米人のそれと比較して、動脈硬化に関わる因子の影響が認められない場合が多いことが指摘されている。特に、欧米人と比較して日本人における発症割合の高い脳内出血には、病理学的検索成績から、脳内の大脳基底核や脳幹部における微小動脈の中膜平滑筋の壊死に特徴づけられる細動脈硬化が脳内出血の発生原因であることが示されている（Konishi M, et al Stroke;1993）。

(2)くも膜下出血の発症原因の多くは、中膜平滑筋欠損を伴う脳動脈瘤の破裂によるものである。いずれも中膜平滑筋層の脆弱・欠損を基盤とする病態であり、中膜平滑筋細胞のアポトーシスが関与している可能性が大きい。

(3)先行する横断研究や小数例の前向き研究において、細胞増殖作用を持つインスリン様成長因子１（以下、IGF-Ⅰと略す）の高値が頸動脈の粥状動脈硬化度や虚血性心疾患の発症と関連するという報告があるが、アポトーシス関連因子として注目されている可溶性 Fas（以下、sFas と略す）は、これらの粥状動脈硬化病変という病態・疾患との関連は認められず、むしろ出血性脳血管疾患の死亡リスクとの関連が示唆されている。

(4)研究申請者は、20 年以上にわたり、地域集団並びに職域集団において脳血管疾患の発症登録に携わり、日本人の脳血管疾患は、脳内出血、穿通枝系脳梗塞が多く、皮質枝系脳梗塞（血栓型）が少ないことを示した。また、病型別のリスクファクターの分析を行い、血圧、血清総コレステロール、心電図所見等の病型別のリスクファクターの違いを明らかにしてきた。さらに、喫煙、大量飲酒、高血圧のくも膜下出血の発症への関与を示した（山海ら,日本公衛誌;1991、日衛誌;1999、Alcoholism: Clin Experiment Res;2000）。これらの成果は、脳血管疾患の予防対策としての生活習慣改善指導といった実践活動に組み込まれてきた。

(5)近年の脳卒中の動向をみると、高血圧対策を中心としたこれまでの予防対策により、全脳血管疾患の死亡率が著しく減少したのに対し、高齢者のくも膜下出血や脳内出血の死亡率はそれほど減少しておらず、くも膜下出血はむしろ死亡率が増加傾向にある。そのため、脳血管疾患予防対策を今後さらに進めるためには、既に実施されている高血圧、喫煙等の生活習慣に係るリスクファクター以外の新たなリスクファクターやバイオマーカーの探求とその対策が必要と考えられた。

２．研究の目的

本研究では、くも膜下出血及び脳内出血といった出血性脳血管疾患の発症とアポトーシス関連因子、細胞増殖因子との関連をコホート内症例対照研究の手法を用いて分析し、脳血管疾患予防のための新たなバイオマーカーを探求する。

３．研究の方法

(1)研究対象地域の選出

研究対象地域は、秋田県南秋田郡井川町、高知県香美郡野市町（現：香南市野市地区）、茨城県真壁郡協和町（現：筑西市協和地区）の３農村集団である。この３地域は、井川町は 1963 年以降、野市町は 1969 年以降、協和町は 1981 年以降、何れも 30 年以上の長期間にわたり、筑波大学社会医学系、大阪大学公衆衛生学教室、大阪府立成人病センター集団検診第１部（現：大阪府立がん循環器病予防センター）が共同で、循環器疾患の疫学研究を継続している地域である。研究遂行に当たっては、厳密に標準化された方法を用いて疫学調査を実施している。

(2)研究対象者の選出

1984 年以降の脳血管疾患発症者の中、出血性脳血管疾患（くも膜下出血、脳内出血）発症者と、居住地域・性・年齢を 1:2 マッチさせた非発症者を選出した。

(3)分析手法

分析には、コホート内症例対照研究の手法を

用いる。すなわち、出血性脳血管疾患発症者を「症例」とし、居住地域、性、年齢を 1:2 マッチさせた非発症者を「対照」とした。「症例」群と「対照」群について、「症例」群における発症前に採取された血清と同じ採取時期の「対照」群の血清を用いて、アポトーシス関連因子（sFas)、細胞増殖因子(IGF-1)を測定し比較分析した。すなわち、症例と対照は居住地域、性、年齢に加えて血清採取時期も一致させている。測定に使用した血清は、−80℃の凍結保存されているものを用いた。

(4)研究仮説
仮説としては、くも膜下出血、脳内出血は、対照に比較して、アポトーシス関連因子は高値、細胞増殖因子は低値を示すとした。これは即ち、両病態の根本にアポトーシスと細胞増殖能低下による血管平滑筋層の脆弱化、欠損が左右することを裏付けることになる。

(5)統計学的分析
分析は、症例と対照における各マーカーの測定値群の正規性の検定の後、正規性が認められる場合は等分散の検定を行い、Student の t 検定または Welch の検定を実施し、正規性が認められない場合は、Mann-Whitney の U 検定を実施した。

４．研究成果
(1)研究対象の属性
1984 年以降、発症年齢 69 歳以下の出血性脳卒中症例群 54 例（脳内出血 30 例、くも膜下出血 24 例）とその対照群 108 例の凍結保存血清を得た。出血性脳血管疾患全体では、平均発症年齢（標準偏差）は 58.2(7.4)歳、最小値 36 歳、最大値 69 歳であった。血清を採取した時期から発症までの平均経過年数（標準偏差）は 5.7(4.4)年で、最小値 0 年、最大値 19.9 年であった。脳内出血においては、平均発症年齢（標準偏差）は 59.4(7.4)歳、最小値 37 歳、最大値 69 歳であった。血清を採取した時期から発症までの平均経過年数（標準偏差）は、6.2(4.7)年、最小値 0 年、最大値 18.9 年であった。くも膜下出血においては、平均発症年齢（標準偏差）は 56.7(7.3)歳、最小値 42 歳、最大値 69 歳であった。血清を採取した時期から発症までの平均経過年数（標準偏差）は、5.0(4.1)年、最小値 0.1 年、最大値 19.9 年であった。

(2)症例群と対照群との発症前の保存血清中 sFas, IGF-1 の値の比較
sFas(平均値(標準偏差))の測定値は、全出血性脳卒中で症例群 8.8(1.9)、対照群 8.7(2.1)、脳内出血で症例群 8.8(2.2)、対照群 8.8(2.5)、くも膜下出血で症例群 8.5(1.5)、対照群 8.9(1.6)であった。IGF-1(平均値(標準偏差))の測定値は、全出血性脳卒中で症例群 106.5(39.6)、対照群 123.9(41.5)、脳内出血で症例群 107.7(43.5)、対照群 119.7(45.5)、くも膜下出血で症例群 105.0(35.8)、対照群 131.1(35.9)であった。(単位:ng/ml)
以上の結果から、症例群と対照群における sFas と IGF-1 の測定値を比較すると、sFas は全出血性脳卒中、脳内出血、くも膜下出血何れにおいても統計学的な有意差を認めなかったのに対して、IGF-1 は全出血性脳卒中とくも膜下出血において、症例群は対照群より統計学的な有意差をもって低い傾向が認められた($p<0.01$)。

(3)まとめ
以上の結果から、比較的若年発症の出血性脳血管疾患のうち、くも膜下出血の発症機序として、細胞増殖因子の欠乏が動脈瘤壁の脆弱性を高め、そのことが発症に繋がっている可能性が示唆された。

(4)今後の展開
次の段階として、①他のリスクファクターとの関連性の検討：従来、指摘されているリスクファクターを調整して、sFas, IGF-1 の発症との関連を検討する。方法としては、条件付きロジスティックモデルを用い、各マーカーの測定値の三分位毎に、発症前に有するリスクファクターの多変量調整オッズ比と信頼区間を求める。②70 歳以上の発症例を含めた検討を行う予定である。

５．主な発表論文等

［雑誌論文］
なし

［学会発表］（計６件）
①山海　知子、山岸　良匡、北村　明彦、磯　博康、出血性脳卒中発症への可溶性 Fas,IGF-1 の影響：CIRCS 研究、第 39 回日本脳卒中学会総会、2014 年 3 月 14 日、大阪府大阪市

②堀　幸、山岸　良匡、北村　明彦、今野弘規、山海　知子、磯　博康、地域住民における血圧値と肥満の集積状況の長期的推移：CIRCS 研究、第 39 回日本脳卒中学会総会、2014 年 3 月 14 日、大阪府大阪市

③山海　知子、山岸　良匡、北村　明彦、磯　博康、出血性脳卒中発症におけるアポトーシス関連因子、細胞増殖因子の影響：CIRCS 研究、第 72 回日本公衆衛生学会総会、2013 年 10 月 24 日、三重県津市

④山岸　良匡、若林　洋子、稲川　三枝子、鳥海　佐和子、廣瀬　久美子、山海　知子、梅澤　光政、丸山　智子、堀　幸、久保　佐智美、緒方　剛、大久保　一郎、磯　博康、長期間の重点的な脳卒中予防対策は、脳卒中以外の生活習慣病医療費の上昇をも抑制する、第 72 回日本公衆衛生学会総会、2013 年 10 月 24 日、三重県津市

⑤大平　哲也、今野　弘規、崔　仁哲、丸山　智子、久保　佐智美、北村　明彦、木山　昌彦、梶浦　貢、岡田　武夫、山岸　良匡、梅澤　光政、長尾　匡則、山海　知子、谷川　武、磯　博康、地域住民における隠れ高血圧の頻度とその関連因子、第 72 回日本公衆衛生学会総会、2013 年 10 月 23 日、三重県津市

⑥山海　知子、本多　めぐみ、竜ヶ崎地方事業所健康づくり対策連絡会 15 年の活動報告と今後の展開、第 85 回日本産業衛生学会総会、2012 年 6 月 2 日、愛知県名古屋市

［図書］
なし

［産業財産権］
なし

［その他］
なし

６．研究組織
(1)研究代表者
山海　知子（SANKAI, Tomoko）
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：１０２４１８２９

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
磯　博康（ISO, Hiroyasu）
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：５０２２３０５３

北村　明彦（KITAMURA, Akihiko）
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：８０４５０９２２

山岸　良匡（YAMAGISHI, Kazumasa）
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：２０３７５５０４