

中高年女性の自己健康管理を目的とした遺伝因子と環境因子の統合的解析およびICTシステムの構築

(研究助成金 90万円)

代表研究者 慶應義塾大学医学部産婦人科 平 沢 晃
共同研究者 慶應義塾大学医学部産婦人科 牧 田 和 也
慶應義塾大学医学部産婦人科 赤 羽 智 子
株式会社ライフイズ 喜 田 裕 一 郎

I はじめに

卵巣機能低下は閉経を契機に全女性が経験するものである。エストロゲンが急激に減少することにより、短期的にはホットフラッシュ（ほてり・のぼせ）、多汗、頭痛、めまい、耳鳴り、肩こり、不眠、不安感、疲労感、口の渇き、のどのつかえ、肩こり、動悸、息切れ、腰痛、関節痛、筋肉痛、性交痛、しびれ、知覚過敏などの自覚症状を惹起する。また中・長期的には膣炎、尿失禁、皮膚萎縮、骨粗鬆症、脂質異常症等を引き起こす。とくに脂質異常症に起因する動脈硬化は脳血管障害や心血管障害の原因となり、骨粗鬆症は骨折の原因となる。そのため更年期に脂質異常症や骨粗鬆症の適切な評価を行うことは、高齢期における脳血管障害、心血管障害、骨折等のリスク低減に寄与し、寝たきり防止に直結することから非常に重要である。しかしながら更年期を「我慢」するものだと認識していることで受診の機会を逸して、結果的に高齢になってからQOL低下（Quality of life: 生活の質）を認めるケースも少なくない。

さらに本邦では閉経前に婦人科がん罹患する例が増加している¹⁾。婦人科がん治療では両側卵巣卵管摘出術（bilateral salpingo-oophorectomy：BSO）が標準治療に含まれることが多く、これらの例では血中エストロゲンが若年から欠乏することにより、脂質異常症や骨粗鬆症およびそれらに起因する寝たきりの高危険群になる^{2,3)}。しかしながらがん治療ではsurvivalというエンドポイントを重要視するあまり、BSOと将来的な生活の質の関連について十分に認識されているとは言い難い。婦人科がん罹患数の増加と集学的治療法の進歩は、将来におけるBSO施行後の婦人科がんサバイバーの漸増を意味しており、このような例に対して系統的に早期介入する体勢を確立することは喫緊の課題であると

いえる。

ところでがんや生活習慣病は多因子遺伝疾患であり、環境因子と遺伝因子の双方がその発症に関与していることが判明している。ゲノム研究の急速な進展は脂質代謝あるいは骨粗鬆症関連遺伝子の存在を同定してきた。一方でBSOは急速な血中卵巣由来女性ホルモンの低下をきたす環境因子として位置づけられる。しかしながら遺伝因子にBSOという重要な環境因子が付加されたおりの相互作用については明らかでない。

このような背景のもと本研究では中高年女性やBSO施行例を対象に生活習慣病発症に関わる遺伝因子と環境因子を統合的に解釈し、最終的に中高年時におけるQOL維持をはかることを目的とした。さらに中高年女性の自己健康管理の手段として、自覚症状や、食事や運動等の生活習慣、臨床検査などの自己管理を行うための情報通信技術 (Information and Communication Technology: ICT) を用いたシステム構築を目指した。

II 方法

慶應義塾大学医学部産婦人科女性健康維持外来に2007年から2013年に受診した女性974名を対象とした。

初診時の総合的な自覚症状評価として卵巣ホルモン低下に関連する症状の自己チェックリスト (慶應式女性健康維持外来調査票)⁴⁾に記載してもらい、基礎疾患・卵巣摘出年齢・閉経後期間・身長・体重・BMI・骨折歴・骨粗鬆症や骨折の家族歴、喫煙の有無・ステロイド投与の有無・飲酒歴およびビタミンK摂取頻度等の問診を行った。

臨床検査として全血算 (CBC), 総コレステロール (TC), LDLコレステロール (LDL-C), HDLコレステロール (HDL-C), 中性脂肪 (TG), LDL-C/ HDL-C比などの各種血清脂質, 甲状腺機能, ヘモグロビンA1c (HB-A1c), Body Mass Index (BMI), 骨代謝マーカー, および骨密度の測定を行った。脂質異常症の診断は動脈硬化性疾患予防ガイドライン2012年版 (日本動脈硬化学会)⁵⁾, 骨粗鬆症の診断は原発性骨粗鬆症の診断基準 (2012年度改訂版) (日本骨代謝学会)⁶⁾を用いた。

遺伝因子はエストロゲン代謝に関連していることが知られている遺伝子の多型を検討した。検討した多型は*ESR1* (estrogen receptor 1) と*UGT2B17* (UDP-glucuronosyltransferase 2B17) のコピー数多型 (copy number variation: CNV) および*UGT1A1* (UDP-glucuronosyltransferase 2B17) 遺伝子の多型 (*6,*27,*28,*60) とした (表1)。*ESR*および*UGT2B17*の2遺伝子のCNVはTaqMan® Copy Number Assays (Applied Biosystems社) を用いた定量PCRにて, *UGT1A1* *6,*27,*28はインベーター法⁷⁾, *UGT1A1* *60はダイレクトシーケンス法で検出した⁸⁾。

これらの脂質異常症や骨粗鬆症等の臨床情報と、エストロゲン代謝関連遺伝子等のデータを統合的に解釈して、BSOやがんサーバイバーにおける特性に関して検討を行った。なおヒト試料を用いた本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得た。

表1 エストロゲン代謝関連遺伝子と遺伝子多型

遺伝子多型		多型の種類
<i>ESR1</i>	exon 5	Copy number variation
<i>UGT2B17</i>	intron 2	Copy number variation
<i>UGT1A1*6</i>	211G>A	Single nucleotide polymorphism
<i>UGT1A1*27</i>	686C>A	Single nucleotide polymorphism
<i>UGT1A1*28</i>	A(TA) _n TAA	TA repeat
<i>UGT1A1*60</i>	-3263T>A	Single nucleotide polymorphism

さらに慶應義塾大学医学部産婦人科女性健康維持外来で使用している卵巣ホルモン低下に関連する症状の問診票（慶應式女性健康維持外来調査票）に準拠した自己チェック型の更年期症状の問診票のICT化を施行した。

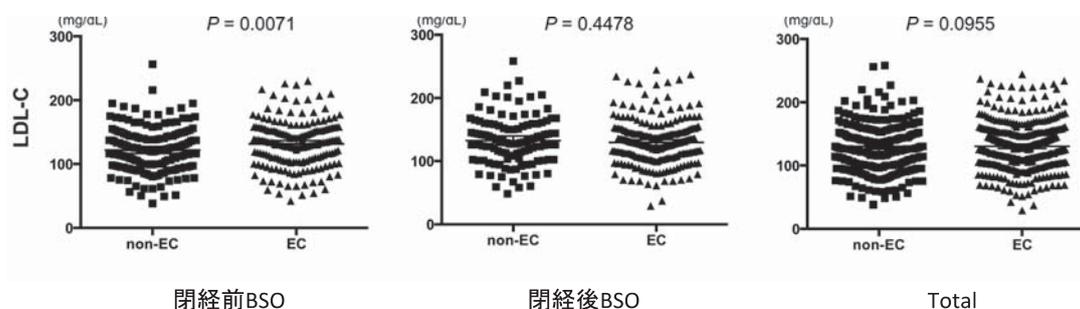
III 成 果

① BSO施行女性における血清脂質値の特性に関する検討

BSO施行女性693名を対象として基礎疾患・閉経前BSO例ではBSOからの時期・閉経後BSO例では閉経からの時期・BMIと血清脂質値を比較した。基礎疾患の内訳は子宮体癌412例、卵巣癌146例、子宮頸癌39例、子宮筋腫または子宮内膜症51例、その他15例であった。BSO施行時期は閉経前350例、閉経後343例であった。

子宮体癌例では非子宮体癌例と比較して、BSO施行時期が閉経前後のいかんにかかわらず、TG値が有意に高く（図1：Mann-Whitney *U*検定、 $P < 0.0001$ ）、高TG血症（ $TG \geq 150 \text{mg/dl}$ ）と診断された例が有意に高頻度であった（表2：カイ2乗検定、 $P < 0.05$ ）⁹⁾。その他の因子では閉経前BSO例・閉経後BSO例共に子宮体癌例では非子宮体癌例と比較して、BMI高値例が有意に多かった（Mann-Whitney *U*検定、 $P < 0.05$ ）。

図1 子宮体癌例と非子宮体癌例のTG値の比較



子宮体癌例ではBSO施行時期が閉経前後のいかんにかかわらずTGが有意に高値であった（ $P < 0.0001$, Mann-Whitney *U*検定）。

表2 子宮体癌例と非子宮体癌例の高TGの頻度

	全例				閉経前BSO				閉経後BSO				
	非子宮体癌 (n = 281)	子宮体癌 (n = 412)	オッズ比 (95% confidence interval)	P	非子宮体癌 (n = 169)	子宮体癌 (n = 181)	オッズ比 (95% confidence interval)	P	非子宮体癌 (n = 112)	子宮体癌 (n = 231)	オッズ比 (95% confidence interval)	P	
LDL-C (mg/dL)	<140	186	262	1.121 (0.8152-1.541)	0.4821	120	108	1.655 (1.060-2.585)	0.0261	66	154	0.7174 (0.4504-1.143)	0.1611
	≥140 †	95	150			49	73			46	77		
TG (mg/dL)	<150	204	225	2.202 (1.589-3.051)	<0.0001	128	100	2.529 (1.600-3.997)	<0.0001	76	125	1.790 (1.115-2.875)	0.0154
	≥150 ‡	77	187			41	81			36	106		
LDL-C/HDL-C ratio	<2	150	193	1.299 (0.9587-1.761)	0.0911	102	85	1.719 (1.125-2.629)	0.0121	48	108	0.8542 (0.5420-1.346)	0.4958
	≥2	131	219			67	96			64	123		

† 高LDL-cholesterolemia

‡ 高TG血症

子宮体癌例ではBSO施行時期が閉経前後のいかんにかかわらず高TG血症と診断された例が有意に高頻度であった (P<0.05; カイ 2 乗検定)。

② 中高年女性における脂質異常症と骨粗鬆症の相関に関する検討

閉経後女性179名を対象に、血清脂質値と骨粗鬆症の関連につき検討した。さらに子宮体癌例 (114例) と非子宮体癌例 (62例) に分けてサブ解析を行った。その結果、非子宮体癌高TG血症例では骨粗鬆症例が有意に高頻度であった (P<0.05) のに対して、子宮体癌高TG血症例では骨粗鬆症例が有意に少ないことが判明した (P<0.05) (論文投稿中)。LDL-C, LDL-C/HDL-C比と骨粗鬆症の有無の間に相関を認めなかった。

③ 卵巣摘出女性におけるエストロゲン代謝関連遺伝子の骨粗鬆症の関与に関する検討

BSOを施行した203例 (閉経前BSO施行126例, 閉経後BSO施行77例) を対象に、エストロゲン代謝関連遺伝子多型と骨粗鬆症との関連を検討したところ、検討したすべての遺伝子多型と骨粗鬆症の有無に相関を認めなかった (投稿準備中)。

④ 卵巣ホルモン低下に関連する症状の自己チェックリストのICT化

診療で使用している問診票 (慶應式健康維持外来調査表)⁴⁾のICT化を行った (図2)。

データ保存はクラウド上のスプレッドシートとし、エクセル等によるデータ解析を容易にした。本入力システムを導入することで更年期症状や薬の奏効等のデータを時系列で解析することや、入力項目の追加・変更が容易で継続的にデータを蓄積可能なデータベースを策定した。またマルチプラットフォームで利用できるようWebブラウザで入力する仕組みとし、主な対応OSはiOS, Android, Windows, MacOSとして、デスクトップパソコンやノートパソコンのみならず、タブレット端末やスマートフォンでの入力も容易とした (図3)。

図2 入力システム画面

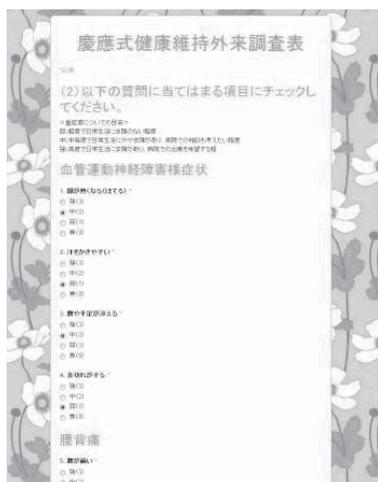
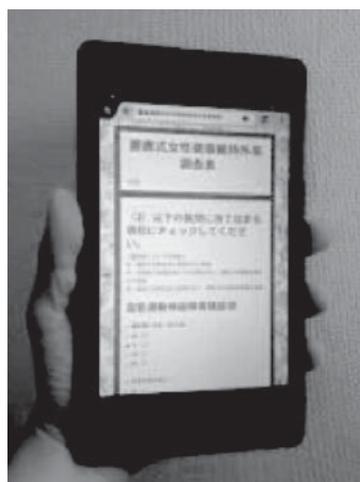


図3 タブレット端末に導入した場合の外観



IV 考察

近年はがんの発症に生活習慣病が寄与しているという説が有力である。またがんサーバーバー女性のQOL低下防止のためには、遺伝因子である遺伝子多型と環境因子であるBSOが脂質代謝や骨粗鬆症に与える影響双方の影響を鑑みた複合視的アプローチが重要である。

子宮体癌例では非子宮体癌例と比較して閉経前後に関わらず高TG血症が高頻度であるという結果より、がんと脂質異常症発症に共通する代謝異常が寄与していることが示唆された⁹⁾。

脂質異常症は閉経後女性例において骨粗鬆症の独立した危険因子であると報告されている^{10,11)}。我々の検討では非子宮体癌例で同様の結果が得られたが、子宮体癌例では相反する結果となった。今後はメタボローム解析とパスウェイ解析を用いて子宮体癌、脂質代謝および骨代謝に潜在するメカニズムを明らかにし、予防・治療に有用な標的分子の同定を目指している。

現在までにエストロゲン代謝関連遺伝子の遺伝子多型と骨粗鬆症が関連することは、複数のメタアナリシスで報告されている¹²⁻¹⁶⁾。しかしながら我々のBSO施行例を対象とした検討では閉経前BSO施行例だけでなく閉経後BSO施行例においても遺伝子多型と骨粗鬆症に相関を認めなかった（投稿準備中）。閉経後の卵巣であっても10年はステロイドホルモン産生能を有するという報告があることから¹⁷⁾、閉経後のBSO施行も脂質異常症や骨粗鬆症発症に影響を及ぼすことがある。すなわちBSO施行例では環境因子である卵巣欠落のほうが遺伝因子より大きな影響を及ぼすため、エストロゲン代謝関連遺伝子の遺伝子多型は発症予測には有効でない可能性が高く、骨密度そのものを監視していく必要があることがあるという結論に至った。

卵巣ホルモン低下に関連する症状の自己チェックリストの電子化は、総合的な中高年女性のQOL向上を目指した生活密着型の継続的調査研究の端緒である。現在少数例のボランティアに検証をしてもらっており、次年度以降は、研究参加の同意が得られた更年期女性のボランティアに病院内での使用だけで

なく、自宅での入力も施行してもらいフィードバックをはかる計画である。

本研究では引き続き更年期症状の認知から日々の自己管理までを行う下記のイ)～ハ)のシステムを構築する。更年期以降に引き起こされる様々な罹患リスクの低減を目指す。

イ) 個別の更年期症状の詳細な評価システム

今回ICT化を行った慶應式健康維持外来調査表は総括的な拾い上げを目指したものである。更年期障害の個別の症状については、頭痛日記、過活動膀胱症状質問票、うつ病チェック等の詳細なチェックリストを今後システムに組み入れる必要がある。

ロ) 栄養摂取や運動の自己管理するシステム

生活習慣病とそれに起因するイベントに関する予防法としては食事と運動が重要である。これらの栄養摂取や運動に関する自己管理システムを作成する。これらの結果は栄養士や他のメディカルスタッフが確認する。

ハ) 臨床検査データ自己管理システム

生活習慣病健診や婦人科がん検診の受診歴記録および自身の検査値を管理するシステムを構築し、健診受診の動機付けおよび健康管理のために役立てる。生活習慣病健診や婦人科がん検診に関するチェックリストは自治体や健康保険組合によっては経時的に管理されているが、いったん転居や退職してしまうと継続使用が困難になる。本システムではそのラグを補完することを可能にする。

V まとめ

米国では公衆衛生局長官が「私の家族の健康ポートレート」というサイトを公開している¹⁸⁾。これは生活習慣病やがんなど家族歴を入力すると自分が環境因子と遺伝因子を鑑みてどのようなリスクを有するかを簡単に確認することが可能となる健康維持の自己管理システムである。今後は本邦においても疾患の罹患確立の推定のみならず、我々の開発したシステムの導入により女性の卵巣機能低下にともなう諸症状を多角的に検証して意識の向上と高齢時における疾患発症リスク低減につなげることが期待される。

VI 文 献 (研究代表者と共同研究者を下線で示した)

- 1) がんの統計' 13; 公益財団法人がん研究振興財団
http://ganjoho.jp/professional/statistics/backnumber/2013_jp.html
- 2) Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Tsuruta T, Banno K, Makita K, Susumu N, Sugano K, Kosaki K, Aoki D. Establishment of a system for performing risk-reducing salpingo-oophorectomy for *BRCA1* or *BRCA2* mutation carriers in Japan: Our challenges for the future. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43 (5) : 515-519.
- 3) Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Ueki A, Yokota M, Tsuruta T, Nomura H, Kataoka F, Tominaga E, Banno K, Makita K, Susumu N, Sugano K, Kosaki K, Kameyama K, Aoki D. Family history and *BRCA1/BRCA2* status among Japanese ovarian cancer patients and occult cancer in a *BRCA1* mutant case. *Jpn J Clin Oncol* 2014 ; 44 (1) 49-56.
- 4) Kasuga M, Makita K, Ishitani K, Takamatsu K, Watanabe K, Plotnikoff GA, Horiguchi F, Nozawa S. Relation between climacteric symptoms and ovarian hypofunction in middle-aged and older Japanese women. *Menopause* 2004 ;11: 631-638.
- 5) Teramoto T, Sasaki J, Ishibashi S, Birou S, Daida H, Dohi S, Egusa G, Hiro T, Hirobe K, Iida M, Kihara S, Kinoshita M, Maruyama C, Ohta T, Okamura T, Yamashita S, Yokode M, and Yokote K: Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan - 2012 version. *J Atheroscler Thromb* 2013; 20: 517-523.
- 6) Soen S, Fukunaga M, Sugimoto T, Sone T, Fujiwara S, Endo N, Gorai I, Shiraki M, Hagino H, Hosoi T, Ohta H, Yoneda T, and Tomomitsu T; Japanese Society for Bone and Mineral Research and Japan Osteoporosis Society Joint Review Committee for the Revision of the Diagnostic Criteria for Primary Osteoporosis: Diagnostic criteria for primary osteoporosis: year 2012 revision. *J Bone Miner Metab* 2013; 31: 247-257.
- 7) Hirasawa A, Zama T, Akahane T, Nomura H, Kataoka F, Saito K, Okubo K, Tominaga E, Makita K, Susumu N, Kosaki K, Tanigawara Y, Aoki D. Polymorphisms of *UGT1A1* gene predict adverse effects of irinotecan treatment for gynecologic cancer in Japanese. *J Hum Genet* 2013; 58 (12) : 794-798.
- 8) Hirasawa A, Akahane T, Tanigawara Y, Aoki D. Blood-direct InvaderPlus as a new method for genetic testing. *Pers Med* 2012; 9 (6) : 657-663.
- 9) Hirasawa A, Makita K, Akahane T, Yokota M, Yamagami W, Banno K, Susumu N, Aoki D. Hypertriglyceridemia is frequent in endometrial cancer survivors. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43 (11) : 1087-1092.

- 10) Orozco P: Atherogenic lipid profile and elevated lipoprotein (a) are associated with lower bone mineral density in early postmenopausal overweight women. *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 1105-1112.
- 11) Tankó LB, Bagger YZ, Nielsen SB, and Christiansen C: Does serum cholesterol contribute to vertebral bone loss in postmenopausal women? *Bone* 2003; 32: 8-14.
- 12) Richards JB, Kavvoura FK, Rivadeneira F, Styrkársdóttir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu YH, Zillikens MC, Wilson SG, Mullin BH, Amin N, Aulchenko YS, Cupples LA, Deloukas P, Demissie S, Hofman A, Kong A, Karasik D, van Meurs JB, Oostra BA, Pols HA, Sigurdsson G, Thorsteinsdóttir U, Soranzo N, Williams FM, Zhou Y, Ralston SH, Thorleifsson G, van Duijn CM, Kiel DP, Stefansson K, Uitterlinden AG, Ioannidis JP, Spector TD. Genetic Factors for Osteoporosis Consortium. Collaborative meta-analysis: associations of 150 candidate genes with osteoporosis and osteoporotic fracture. *Ann Intern Med* 2009; 151 (8) : 528-537.
- 13) Cheng BH, Wang TH, Kang HY, Lin YC, Huang CC, Hsu TY, Kung FT, Huang KE. Association between single nucleotide polymorphisms of the estrogen receptor 1 and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand genes and bone mineral density in postmenopausal Taiwanese. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2013; 52: 197-203.
- 14) Wang C, Zhang Z, Zhang H, He JW, Gu JM, Hu WW, Hu YQ, Li M, Liu YJ, Fu WZ, Yue H, Ke YH, Zhang ZL. Susceptibility genes for osteoporotic fracture in postmenopausal Chinese women. *J Bone Miner Res* 2012; 27 (12) : 2582-2591.
- 15) Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST, Brandi ML, Grinberg D, Karassa FB, Langdahl B, van Meurs JB, Mosekilde L, Scollen S, Albagha OM, Bustamante M, Carey AH, Dunning AM, Enjuanes A, van Leeuwen JP, Mavilia C, Masi L, McGuigan FE, Noguez X, Pols HA, Reid DM, Schuit SC, Sherlock RE, Uitterlinden AG; GENOMOS Study. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 2004; 292 (17) : 2105-2114.
- 16) Yang TL, Chen XD, Guo Y, Lei SF, Wang JT, Zhou Q, Pan F, Chen Y, Zhang ZX, Dong SS, Xu XH, Yan H, Liu X, Qiu C, Zhu XZ, Chen T, Li M, Zhang H, Zhang L, Drees BM, Hamilton JJ, Papasian CJ, Recker RR, Song XP, Cheng J, Deng HW. Genome-wide copy-number-variation study identified a susceptibility gene, UGT2B17, for osteoporosis. *Am J Hum Genet* 2008; 83 (6) : 663-674.
- 17) Fogle RH, Stanczyk FZ, Zhang X, Paulson RJ. Ovarian androgen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (8) : 3040-3043.
- 18) U.S. Department of Health & Human Services; My Family Health Portrait Tool.
<http://www.hhs.gov/familyhistory/>