

原著

地域在住女性高齢者における腎機能と内皮型一酸化窒素合成酵素遺伝子一塩基多型の関連

岡田 董<sup>1)</sup> 横路 三有紀<sup>2)</sup> 矢野 めぐむ<sup>3)</sup> 今村 友美<sup>2, 3)</sup>  
大滝 直人<sup>3, 4)</sup> 谷野 永和<sup>2, 3)</sup> 福尾 恵介<sup>1, 2, 3)</sup>

Key Words : 腎機能、遺伝子多型、環境因子

renal function, gene polymorphism, environmental factor

要 旨

高齢者では慢性腎臓病 (CKD) 患者は増加するが、内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) 遺伝子G894T多型と高齢者の腎機能との関連は明らかではない。本研究は、地域在住女性高齢者109名を対象に、G894T多型と腎機能との関連を検討した。eNOS遺伝子G894T多型 (rs1799983) はTaqMan PCR法で解析した。Tアレル群はGG群に比し、eGFRが有意に低値であり、CKD患者割合が有意に高かった。さらに、Tアレル群においてのみ、eGFRとHDL-Cとの間に有意な正の相関、炎症指標TNF- $\alpha$ との間に負の相関関係を認めた。Tアレル群において清涼飲料水を飲む習慣がある場合、HDL-Cは有意に低値を示したが、この関連はGG群では認められなかった。以上より、eNOS遺伝子G894T多型は、女性高齢者においてeGFRに関連すること、環境因子との相互作用によりeGFRに影響を与える可能性が示唆された。

Abstract

Prevalence of chronic kidney diseases (CKD) is high in elderly. Although nitric oxide (NO) is an important regulator of renal function, relation between G894T polymorphic variant of endothelial NO synthase (eNOS) gene and renal function in the elderly is unclear. We investigated the association between G894T and renal function in 109 of community-dwelling elderly Japanese women. G894T polymorphic variants (rs1799983) are assessed by the TaqMan PCR method. T allele (GT and TT) group showed lower estimated glomerular filtration rate (eGFR) and a higher incidence of CKD (eGFR<60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>) compared to those in GG genotype group. eGFR was associated with HDL-C and inversely associated with TNF- $\alpha$  only in the T allele group. Additionally HDL-C was positively correlated with sweetened soft drink consumption habit in the T allele group, but not in the GG group. In conclusion, G894T polymorphism might be associated with eGFR and might interact with environmental factors to influence eGFR in community-dwelling elderly Japanese women.

<sup>1)</sup>武庫川女子大学大学院生活環境学研究科食物栄養学専攻

<sup>2)</sup>武庫川女子大学生活環境学部食物栄養学科

<sup>3)</sup>武庫川女子大学栄養科学研究所

<sup>4)</sup>武庫川女子大学短期大学部食生活学科

連絡責任者：福尾 恵介

住所：西宮市池開町 6-46 武庫川女子大学食物栄養学科

電話 & Fax : 0798-45-9922

E-mail : fukuo@mukogawa-u.ac.jp

## 緒言

現在、我が国の65歳以上の高齢者人口割合は過去最高の26.7%（前年26.0%）に達し、4人に1人が高齢者となり、超高齢社会を迎えている<sup>1)</sup>。超高齢社会では、要介護者数の増加や医療費の増加が危惧されており、高齢者の健康寿命の延伸が社会的課題となっている。

健康寿命の延伸において、加齢による腎機能低下が問題となる。高齢者では加齢に伴う腎血流量の低下、糸球体硬化、間質の線維化などの進行によって腎機能が低下することに加え、腎機能の増悪因子である高血圧、糖尿病など生活習慣病を高率に発症するため慢性腎臓病（CKD）の発症割合が増加する<sup>2)</sup>。今井らの報告によると、我が国において65歳以上の男性の約3割、女性の約4割がCKD患者であることが示されており<sup>3)</sup>、今後も高齢化の進展により、CKD患者数は増加し続けると予測されている<sup>4)</sup>。CKDは透析導入による医療費増加につながるだけでなく、心筋梗塞など心血管イベントリスクを高めることから<sup>5)</sup>、健康寿命の延伸においてCKDの発症や進展を防ぐ対策が緊要である。

内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）は、血管内皮細胞に発現し、L-アルギニンを基質として一酸化窒素（NO）を生成する。eNOSが産生するNOは血管拡張、抗血栓、抗炎症作用などを有し、血管機能や腎機能の恒常性維持に重要な役割を担う<sup>6)</sup>。NO産生量の低下は血管内皮障害を惹起し、心血管疾患などの動脈硬化性疾患のみならず、CKDの発症や進展に関与する<sup>7)</sup>。加齢はeNOS発現量の減少や活性低下を生じさせる<sup>8,9)</sup>。加齢に伴うNO産生量の減少は、高齢期における腎機能低下の重要な要因である<sup>10)</sup>。

eNOS遺伝子一塩基多型（SNP）の一つであるG894T多型はeNOS遺伝子のコーディング領域に存在し、アミノ酸置換（Glu298Asp）を伴うSNPである。このアスパラギン酸への置換によりeNOSタンパク質が分解を受けやすくなること<sup>11)</sup>、Tアレル保有者はGG保有者に比し、eNOS活性が低下すること<sup>12)</sup>が報告されている。また、糖尿病<sup>13)</sup>、心血管疾患<sup>14)</sup>、糖尿病性末期腎不全<sup>15)</sup>の患者においてTアレル頻度が高く、冠状動脈性心疾患<sup>16)</sup>や末期腎不全<sup>17)</sup>の発症と関連することが報告されている。

さらに、G894T多型は生活習慣や食習慣などの

環境因子との相互作用が報告されている。Tアレル群はGG群に比べ喫煙による内皮機能障害を受けやすいこと<sup>18)</sup>、高齢肥満女性を対象としたレジスタンス運動介入では、Tアレル群はGG群に比べ血中トリグリセリド及びVLDL低下効果が低いこと<sup>19)</sup>が示されている。また、野菜及び果物の低摂取群においてGG保有者に比し、Tアレル保有者は乳がん発症リスクが上昇したが、高摂取群ではジェノタイプによる違いは認められなかったことが報告されている<sup>20)</sup>。

しかし、地域在住女性高齢者における腎機能とG894T多型との関連については明らかになっていない。本研究は、地域在住女性高齢者を対象として、加齢に伴い低下する腎機能とeNOS遺伝子G894T多型との関連及びそれに影響する環境因子について検討した。

## 方法

### 1. 対象者

武庫川女子大学研究倫理委員会で承認後実施された2014年度のN市N地区の身体測定会において、文書で同意が得られた地域在住女性高齢者111名を対象とした。そのうち、大部分の身体計測項目が欠損していた2名を除外し、109名を解析対象とした。

### 2. 調査内容

#### 1) 遺伝子多型解析

対象者の全血からQIAamp DNA Mini Kit（株式会社 キアゲン）を用いてDNAを抽出し、Real-time PCR装置（Applied Biosystems 7500 Real PCR systems、ライフテクノロジージャパン株式会社）を用いて、TaqMan-PCR法によりeNOS遺伝子G894T多型（rs1799983）を解析した。

#### 2) 身体計測および体組成測定

身長、体重、血圧をそれぞれ測定した。InBody430（バイオスペース社）を用いて体組成を測定した。

#### 3) 血液生化学検査

採血は、午前10時から11時の間で朝食未摂取の空腹時に採血を行った。血液生化学検査は全て委託分析（株式会社LSIメディエンス）にて行った。

eGFRはシスタチンCを用いた以下の計算式<sup>21)</sup>より求め、CKDガイドライン2012に基づき、eGFR 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>未満をCKDと判断した<sup>21)</sup>。

$$eGFR_{cysC} \text{ (mL/分/1.73m}^2\text{)} = (104 \times CysC^{-1.019} \times 0.996^{\text{年齢}} \times 0.929) - 8$$

#### 4) 生活習慣調査

喫煙歴、飲酒歴、運動習慣、清涼飲料水を飲む習慣は自記式質問票を用いて調査した。清涼飲料水は、食品衛生法に従い、乳酸菌飲料、乳及び乳製品を除くアルコール分1%未満を含有する飲料とし、本研究では緑茶及び茶系飲料も除いた。

### 3. 統計解析

統計解析はSPSS Statistics version 22.0を用いて行った。すべての解析においてTT型が全体の2%と少数であったことから、GT及びTTを合わせたTアリル群とGG群の二群の解析を行った。二群間比較については、t検定もしくは $X^2$ 検定を行い、相関関係についてはPearsonの相関係数とSpearmanの相関係数を用いて解析した。規定因子の解析にはステップワイズ重回帰分析により解析した。eGFRと臨床指標及び環境因子の関連は年齢を制御因子とした偏相関分析を行った。清涼飲料水を飲む習慣については週に1回以上飲む習慣を有する者を習慣有りとして解析を行った。生活習慣調査は4名が非回答であったため、105名で環境因子の解析（偏相関及びt検定）を行った。各検定における統計学的有意水準は5%未満とした。

## 結果

### 1. 対象者の属性

対象者のeNOS遺伝子G894T多型のジェノタイプ頻度は、それぞれGG型85.3% (n=93)、GT型

12.6% (n=14)、TT型1.8% (n=2)であり、マイナーアリル頻度は0.083であった。遺伝子多型解析結果は、集団遺伝学のハーディ・ワインベルクの法則に従っていた。

対象者の属性を表1に示す。全体の平均年齢は79.9歳であった。ジェノタイプ別では、統計学的に有意ではないが、Tアリル群はGG群に比し、糖尿病罹患率が高く、体脂肪率が高値傾向、骨格筋率が低値傾向を示した。

### 2. G894T多型ジェノタイプと腎機能との関連

表2に示すように、血液検査値ではTアリル群はGG群に比し、ヘモグロビンやHDL-C、eGFRが有意に低値を示し、BUNが有意に高値を示した。また、CKDと判断される $eGFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ の割合は、GG群が19.4%、Tアリル群が56.3%で、GG群に比しTアリル群において有意にCKD罹患率が高値を示した( $p=0.002$ ;  $X^2$ 検定)。さらに、ステップワイズ重回帰分析の結果、Tアリルが年齢、BMIと共に独立したeGFRの規定因子として抽出された(表3)。

### 3. G894T多型別のeGFRと臨床指標との相関関係の相違

次に、G894T多型別のeGFRと臨床指標との関連を表4に示した。GG及びTアリルの両群において、それぞれeGFRは体脂肪率と負の相関、骨格筋率とは正の相関が認められた。これに対して、Tアリル群においてのみ、eGFRはHDL-Cとの間に正の相関、慢性炎症指標であるTNF- $\alpha$ との間に負の相関

表1. ジェノタイプ別の対象者属性や身体計測値の相違

	全体 (n=109)	GG群 (n=93)	Tアリル群 (n=16)	$p^*$
年齢(歳)	79.9±6.4	79.8±6.3	80.4±7.1	0.736
現病歴				
糖尿病	13 (11.9)	9 (9.7)	4 (25.0)	0.081
高血圧	58 (53.2)	50 (53.8)	8 (50.0)	0.780
脂質異常症	20 (18.3)	18 (19.4)	2 (12.5)	0.513
身体測定値				
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.3±3.0	22.1±2.9	23.2±3.5	0.171
SMI (kg/m <sup>2</sup> )	5.6±0.7	5.6±0.7	5.7±1.0	0.640
体脂肪率 (%)	32.0±6.7	31.4±6.8	35.0±5.2	0.053
骨格筋率 (%)	35.4±3.5	35.7±3.6	33.8±2.7	0.051
収縮期血圧 (mmHg)	147.4±23.5	146.7±24.2	152.1±18.7	0.306
拡張期血圧 (mmHg)	85.0±12.1	84.6±12.5	87.1±9.8	0.474

値は、平均値±標準偏差もしくはn (%)を示す。

\* $p$ 値はスチューデントのt検定もしくは $X^2$ 検定を用いて求めた (GG群vs.Tアリル群)。

BMI、体格指数; SMI、四肢骨格筋指数。

表 2. ジェノタイプ別の臨床指標の相違

	全体 n=109	GG群 n=93	Tアリアル群 n=16	p*
ヘモグロビン (g/dL)	13.0±1.1	13.0±1.1	12.4±1.2	0.029
HDL-C (mg/dl)	65.9±14.8	67.4±14.1	57.3±15.7	0.010
LDL-C (mg/dl)	126.7±31.4	125.0±27.9	136.4±46.9	0.361
トリグリセリド (mg/dl)	103.4±44.6	102.1±44.6	111.1±45.2	0.456
BUN (mg/dl)	16.0±4.3	15.6±4.0	18.0±5.7	0.044
シスタチンC (mg/l)	0.9±0.2	0.9±0.2	1.1±0.4	0.054
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	71.4±18.1	73.0±17.0	62.0±21.9	0.024
グルコース (mg/dl)	93.1±19.0	91.8±15.8	100.9±31.3	0.472
HOMA-R	1.5±3.4	1.2±0.9	3.5±8.7	0.382
ヘモグロビンA1c (%)	5.8±0.6	5.8±0.5	6.0±1.0	0.418
TNF-a (pg/ml)	0.9±0.9	0.8±0.8	1.3±1.3	0.173
高感度CRP (mg/dl)	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.178

値は、平均値±標準偏差を示す。

\*p 値はスチューデントのt検定で求めた (GG群vs. Tアリアル群)。

BUN、尿素窒素；CRP、C反応性タンパク質；eGFR、推定糸球体濾過量；HDL-C、高比重リポタンパクコレステロール；HOMA-R、インスリン抵抗性指数；LDL-C、低比重リポタンパクコレステロール；TNF、腫瘍壊死因子

表 3. eGFR規定因子の解析 (n=109)

	β	95%信頼区間		p
		下限	上限	
年齢	-0.600	-2.126	-1.259	<0.001
BMI	-0.246	-2.396	-0.545	0.002
eNOS G894T多型Tアリアル	-0.164	-16.049	-0.630	0.034

重回帰分析 (ステップワイズ法)、調整済みR<sup>2</sup>=0.384

従属変数：eGFR (ml/min/1.73m<sup>2</sup>)

独立変数：年齢、BMI、eNOS G894T多型Tアリアル、糖尿病、高血圧、脂質異常症

BMI、体格指数；eGFR、推定糸球体濾過量

表 4. ジェノタイプ別のeGFRと関連する臨床指標の相違

	GG群 (n=93)		Tアリアル群 (n=16)	
	r	p	r	p
体脂肪率	-0.270	0.009	-0.648	0.009
骨格筋率	0.281	0.007	0.622	0.013
HDL-C	0.053	0.618	0.566	0.028
TNF-a	-0.159	0.129	-0.597	0.019

偏相関分析 (制御因子：年齢)

従属変数：eGFR (ml/min/1.73m<sup>2</sup>)

eGFR、推定糸球体濾過量；HDL-C、高比重リポタンパクコレステロール；

TNF、腫瘍壊死因子

表 5. ジェノタイプ別のHDL-Cと環境因子との相関関係の相違

	GG群 (n=90)		Tアリアル群 (n=15)	
	r	p	r	p
喫煙歴*	0.041	0.701	-	-
飲酒歴*	0.086	0.418	-0.052	0.853
運動習慣*	0.120	0.260	0.136	0.628
清涼飲料水を飲む習慣**	-0.046	0.664	-0.548	0.034

\*Spearmanの相関係数、\*\*Pearsonの相関係数

HDL-C、高比重リポタンパクコレステロール

関係が認められた。

#### 4. G894T多型別のHDL-Cと環境因子との相関関係の相違

次に、Tアリアル群においてeGFRと関連したHDL-Cと環境因子との関係について単回帰分析を行った (表 5)。血清HDL-C値は、両群ともに喫煙、飲酒歴、運動習慣との有意な関連は認められなかったが、Tアリアル群においてのみ、清涼飲料水を飲む習慣との間に有意な負の相関関係が認められた。また、清涼飲料水を飲む習慣の有無によるHDL-C値

の二群間比較において、GG群では二群間の相違は認められなかったが、Tアリアル群では清涼飲料水を飲む習慣無し群に比し、習慣有り群のHDL-C値が有意に低値を示した (習慣無し群；66.7±16.5 mg/dl、習慣有り群；49.6 ± 9.5 mg/dl、p<0.05、図 1)。一方、血清TNF-α値においては、GG群、Tアリアル群共にこれらの環境因子との間に有意な相関関係は認められなかった。

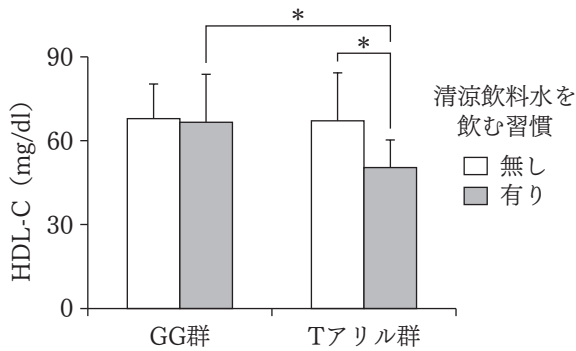


図1. 清涼飲料水を飲む習慣の有無によるHDL-C値の比較  
G894T多型ジェノタイプ別に清涼飲料水を飲む習慣の有無によるHDL-C値の比較を行った。棒グラフは平均±標準偏差を、白、黒のカラムはそれぞれ清涼飲料水を飲む習慣無し (GG群, n=55; Tアレル群, n=7)、有り (GG群, n=35; Tアレル群, n=8) を示す。二群間比較はスチューデントのt検定を用いて統計学的解析を行った。\* $p < 0.05$

## 考察

本研究は、地域在住女性高齢者においてeNOS遺伝子G894T多型がeGFRと関連すること、また、環境因子との相互作用によってeGFRに影響を与える可能性を示した。

腎臓においてeNOSが産生するNOは、①血管拡張因子として傍尿細管間質毛細血管の血流を保持すること、②血管内皮細胞の増殖、アポトーシスの抑制、内皮前駆細胞による内皮修復に関与し、腎微小血管網を維持すること、③ミトコンドリア呼吸鎖を調節し、過剰な酸素消費を抑制することなどの重要な作用を有する<sup>18)</sup>。体内NO産生量及び生物学的活性低下は、腎組織の慢性的虚血状態を引き起こし、腎間質障害の進展に関与するため<sup>18)</sup>、NO低下はCKD発症及び進展の危険因子として知られている。実際に、eNOS活性の低下を伴うeNOS遺伝子一塩基多型であるG894T多型のTアレル保有者は、糖尿病性腎症及び非糖尿病性腎疾患患者において高頻度に存在し<sup>15), 22)</sup>、末期腎不全の疾患感受性遺伝子であると報告されている<sup>17)</sup>。しかし、これらは腎不全患者を対象とした研究であり、本研究の地域在住女性高齢者においてeNOS遺伝子G894T多型がeGFRと関連するという知見は、我々が知る限り初めての報告である。

一般的に腎機能は血圧の影響を強く受けることが知られているが、本研究においてステップワイズ重回帰分析に収縮期血圧を独立変数として加えても、収縮期血圧はeGFRの規定因子として残らなかった。本研究における血圧値は計測会場における1回

の測定値であったため白衣高血圧が生じる可能性があること、降圧薬の服薬状況が不明確であったため、血圧と腎機能の関連が正しく評価できなかったと考える。今後は長期的な血圧状態を評価するため家庭血圧の調査や服薬している降圧薬の種類の間取りを行う必要がある。

本研究において、地域在住女性高齢者のeGFRを規定する因子として年齢と共にBMIが挙げられ、女性高齢者においてBMIが高いほどeGFRが低値となる関連が示された。肥満はCKDのリスク因子として知られている<sup>23)</sup>。一方、一般の高齢者におけるBMIと腎機能の関係について一致した見解は得られていない。Luらは高齢者における腎機能の低下はBMI非依存的に生じることを報告しているが<sup>24)</sup>、Kimらは健康な女性高齢者438名の4年間の追跡においてBMI $25 \text{ kg/m}^2$ 以上の者は $25 \text{ kg/m}^2$ 未満の者に比し、年間GFR低下が有意に大きかったこと<sup>25)</sup>、Königらは1,628名の地域在住高齢者において年齢、心血管疾患の有無などと独立してBMIがCKDの規定因子として挙げられたことを報告している<sup>26)</sup>。このような矛盾した結果の一因として体組成が関与している可能性が考えられる。一般的に加齢とともに体組成は筋肉量が減少し、体脂肪量が増加するが<sup>27)</sup>、本研究においてジェノタイプに関わらず、体脂肪率及び骨格筋率はeGFRとそれぞれ負の相関及び正の相関を示した (表4)。高齢者における体脂肪率と腎機能との関連は他の研究によっても明らかとされており<sup>23), 28)</sup>、CKD予防の観点からも高齢期における体重や体脂肪コントロールが重要であると考えられる。

肥満が誘導する脂質代謝異常、脂肪細胞が産生する炎症性サイトカインは腎機能に影響を及ぼすことが報告されている<sup>29-31)</sup>。注目すべきことに、本研究では、マイナーアレルであるTアレル保有者においてのみeGFRとHDL-C、脂肪細胞由来炎症性サイトカインの一つであり、慢性炎症状態を示すTNF- $\alpha$ との関連が認められ、メジャーアレル (G) ホモ接合体ではこの関連は認められなかった。このことは、腎機能とHDL-C及びTNF- $\alpha$ との関連をつなぐ因子としてeNOSが存在する可能性を示唆するものである。事実、健常人においてHDL-CはeNOSの活性の促進<sup>32)</sup>、TNF- $\alpha$ はeNOSプロモーター活性を低下させる要因であることが報告されてい

る<sup>33)</sup>。eNOS活性が低下する遺伝的背景を有するTアレル保有者は、HDL-C低下や慢性炎症によるeNOSのダウンレギュレーションを介した腎障害の感受性が高いことが推察される。

遺伝子と環境因子の相互作用を明らかにすることは様々な因子に関連する高齢者の病態の解明や遺伝子多型解析を基にしたテーラーメイド医療の確立において重要である。本研究において、eNOS遺伝子G894T多型のTアレル保有者では清涼飲料水を飲む習慣を有する場合、血清HDL-C値がこの習慣がない者に比し低値を示したが、GG群ではこの関係は認められなかった。現在、ジェノタイプの違いによって清涼飲料水とHDL-Cとの関係に違いが生じるメカニズムは明らかでない。そこで、清涼飲料水を飲む習慣によるHDL-Cの低下は肥満と関連している可能性を考え、BMIとHDL-Cの相関について検討したところ、GG群及びTアレル群共にBMIとHDL-Cの有意な負の相関関係を認めた (GG群:  $r = -0.330$ ,  $p = 0.001$ ; Tアレル群:  $r = -0.514$ ,  $p = 0.042$ )。しかし、ジェノタイプ別の清涼飲料水を飲む習慣の有無によるBMIや体脂肪率の違いは、両群共に習慣有り群がそれぞれ高値傾向を示したが、統計学的に有意な差は認められなかった。このことから、Tアレルにおける清涼飲料水を飲む習慣とHDL-Cの関連は一部肥満を介していると考えられるが、それだけでは説明できない部分が存在することが示唆される。例えば、清涼飲料水に含まれている単純糖質や異性化糖の摂取量<sup>34)</sup>や清涼飲料水を飲む習慣を有する人の潜在的な生活習慣上のリスク、すなわち運動不足、高エネルギー食の摂取<sup>35)</sup>とHDL-C低値との関連にNO-eNOS系が関与する可能性が考えられる。この点について明らかにするためには今後、対象者の食事内容、食・生活習慣調査と合わせて検討する必要がある。

本研究の限界は、対象者人数が109名、特にTアレル保有者が16名と少数であったため、統計学的パワーが低いこと、また、横断研究であったため因果関係について言及できないことが挙げられる。そのため、十分な例数の確保及び加齢に伴う腎機能低下を追跡する縦断的な研究が必要である。また環境因子との関連をより明確にするためには介入研究が必要である。

以上、本研究は、地域在住女性高齢者において

eNOS遺伝子G894T多型がeGFRと関連するとともに、環境因子との相互作用によりeGFRに影響を与える可能性があることを明らかにした。今後、例数を増やすことや介入研究などの詳細な研究が必要であるが、本研究は高齢者においてCKD発症予防を目的としたジェノタイプの違いを考慮したテーラーメイド栄養教育法の開発に有用な知見をもたらすと推察される。

#### 謝辞

本研究にご協力頂きましたN市社会福祉協議会の皆様、N市民生委員・児童委員協議会の民生委員の皆様、N市N地区在住の高齢者の皆様に厚く御礼申し上げます。

#### 利益相反

本研究において、開示が必要とされる利益相反関係はない。

#### 文献

- 1) 内閣府: 高齢社会白書 平成28年度版, 日経印刷, 東京, 2016, pp.2
- 2) Bolognani D, Mattace-Raso F, Sijbrands EJ, et al. The aging kidney revisited: a systematic review. *Ageing Res Rev.* 14 : 65-80, 2014
- 3) Imai E, Horio M, Iseki K, et al. Prevalence of chronic kidney disease (CKD) in the Japanese general population predicted by the MDRD equation modified by a Japanese coefficient. *Clin Exp Nephrol.* 11 : 156-163, 2013
- 4) 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団: 厚生労働科学研究費補助金(創薬基盤推進研究事業) 政策創薬マッチング研究事業 平成24年度将来動向調査報告書「慢性腎臓病(CKD)の将来動向」, 2012年, pp.7
- 5) Ninomiya T, Kiyohara Y, Tokuda Y, et al. Impact of kidney disease and blood pressure on the development of cardiovascular disease. *Circulation.* 118 : 2694-2701, 2008
- 6) Cannon RO 3<sup>rd</sup>. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. *Clin Chem.* 44 : 1809-1819, 1998
- 7) Ortiz PA, Garvin JL. Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 284 : R628-R638, 2003

- 8) Hill C, Lateef AM, Engels K, et al. Basal and stimulated nitric oxide in control of kidney function in the aging rat. *Am J Physiol.* 272 : R1747-R1753, 1997
- 9) Xiong Y, Yuan LW, Deng HW, et al. Elevated serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and endothelial dysfunction in aged rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 28 : 842-847, 2001
- 10) Thomas SE, Anderson S, Gordon KL, et al. Tubulointerstitial disease in aging: evidence for underlying peritubular capillary damage, a potential role for renal ischemia. *J Am Soc Nephrol.* 9: 231-242, 1998
- 11) Tesauro M, Thompson W, Rogliani P, et al. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97:2832-2835, 2000
- 12) Joshi MS, Mineo C, Shaul P, et al. Biochemical consequences of the NOS 3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. *FASEB J.* 21 : 2655-2663, 2007
- 13) Angeline T, Krithiga HR, Isabel W, et al Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T) and diabetes mellitus (type II) among South Indians. *Oxid Med Cell Longev.* 2011 : 462607, 2011
- 14) Colombo MG, Andreassi MG, Paradossi U, et al. Evidence for association of a common variant of the endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298-->Asp polymorphism) to the presence, extent, and severity of coronary artery disease. *Heart.* 87 : 525-528, 2002
- 15) Noiri E, Satoh H, Taguchi J, et al. Association of eNOS Glu298Asp polymorphism with end-stage renal disease. *Hypertension.* 40 : 535-540, 2002
- 16) Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation.* 100 : 1515-1520, 1999
- 17) Yun Z, Yu-Ping Y, Zong-Wu T, et al. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with end-stage renal disease: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail.* 36 ( 6 ) : 987-993, 2014
- 18) Leeson CP, Hingorani AD, Mullen MJ, et al. Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism interacts with environmental and dietary factors to influence endothelial function. *Circ Res.* 90 : 1153-1158, 2002
- 19) Teixeira TG, Tibana RA, Nascimento DD, et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism influences body composition and biochemical parameters but not the nitric oxide response to eccentric resistance exercise in elderly obese women. *Clin Physiol Funct Imaging.* 36 : 482-489, 2016
- 20) Li Y, Ambrosone CB, McCullough MJ, et al. Oxidative stress-related genotypes, fruit and vegetable consumption and breast cancer risk. *Carcinogenesis.* 30 : 777-784, 2009
- 21) 日本腎臓学会：CKD診療ガイド2012，東京医学社，東京，2012，pp. viii
- 22) Kerkeni M, Letaief A, Achour A, et al. Endothelial nitric oxide synthetase, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, and cardiovascular complications in Tunisian patients with nondiabetic renal disease. *Clin Biochem.* 42 : 958-964, 2009
- 23) Garofalo C, Borrelli S, Minutolo R, et al. A systematic review and meta-analysis suggests obesity predicts onset of chronic kidney disease in the general population. *Kidney Int.* 91 : 1224-1235, 2017
- 24) Lu JL, Molnar MZ, Naseer A, et al. Association of age and BMI with kidney function and mortality: a cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 3 : 704-714, 2015
- 25) Kim JK, Song YR, Kwon JY, et al. Increased body fat rather than body weight has harmful effects on 4 -year changes of renal function in the general elderly population with a normal or mildly impaired renal function. *Clin Interv Aging.* 9 : 1277-1286, 2014
- 26) König M, Gollasch M, Demuth I, et al. Prevalence of impaired kidney function in the german elderly: Results from the Berlin Aging Study II (BASE-II) . *Gerontology.* 63 : 201-209, 2017
- 27) St-Onge MP, Gallagher D. Body composition changes with aging: the cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? *Nutrition.* 14 : 152-155, 2010
- 28) Oh SW, Ahn SY, Jianwei X, et al. Relationship between changes in body fat and a decline of renal function in the elderly. *PLoS One.* 16 ; 9 : e84052,

- 2014
- 29) Schaeffner ES, Kurth T, Curhan GC, et al. Cholesterol and the risk of renal dysfunction in apparently healthy men. *J Am Soc Nephrol.* 14 : 2084-2091, 2003
- 30) Amdur RL, Feldman HI, Gupta J, et al. Inflammation and Progression of CKD: The CRIC Study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 11 : 1546-1556, 2016
- 31) Hunley TE, Ma LJ, Kon V. Scope and mechanisms of obesity-related renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 19 : 227-234, 2010
- 32) Yuhanna IS, Zhu Y, Cox BE et al. High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med.* 7 : 853-857, 2001
- 33) Neumann P, Gertzberg N, Johnson A. TNF-alpha induces a decrease in eNOS promoter activity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 286 : L452-L459, 2004
- 34) Simopoulos AP. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and high fructose intake in the development of metabolic syndrome, brain metabolic abnormalities, and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients.* 5 : 2901-2923, 2013
- 35) Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation.* 116 : 480-488, 2007