

機関番号：24403
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2010
 課題番号：19500605
 研究課題名(和文) 高齢糖尿病患者における遺伝子診断を応用した外来での食事介入の効果
 研究課題名(英文) Effect of dietary intervention using analysis of SNPs on glyceimic control in elederly patients with diabetes
 研究代表者 今井 佐恵子 (IMAI SAEKO)
 大阪府立大学・総合リハビリテーション学部・准教授
 研究者番号：00438235

研究成果の概要(和文)：糖尿病患者を対象に、節約遺伝子、血圧が上がりやすい食塩感受性遺伝子および動脈硬化に関連する遺伝子多型を解析し、遺伝子診断を応用したテーラーメイド栄養指導を行い臨床データの変化を調べた。介入後血糖コントロールの改善、血圧、血清脂質の低下がみとめられた。実施した指導内容は、野菜の摂取量を増やし、塩分、炭水化物、コレステロールの摂取量を減らすもので、糖尿病、高血圧、脂質異常症の食事療法と共通するものであった。対象者のほとんどが節約遺伝子および食塩感受性遺伝子多型を保有していたことから、2型糖尿病患者の栄養指導においては、これら遺伝子の存在を考慮しつつ、食生活や喫煙などに対する指導が重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated to determine the effects of tailor-made dietary intervention by using single nucleotide polymorphisms (SNPs) of β 3AR (Trp64Arg), UCPI (-3826 A/G), AGT (M235T), and MTHFR (C677T) on clinical data in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). The glyceimic control, blood pressure and serum lipids levels were improved after the intervention. Since the majority of the patients had the SNPs of β 3AR (Trp64Arg) and/or UCPI (-3826A/G) and/or AGT (M235T), the tailor-made dietary intervention should be considered thrifty genes and salt sensitive genes in Japanese patients with T2DM. However, these results suggest that important factors are not only SNPs but also smoking and dietary habits for dietary education in patients with T2DM.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：糖尿病、栄養指導、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

(1) 2型糖尿病と遺伝子多型

糖尿病の中で 95%以上を占める 2型糖尿

病は、インスリン分泌低下やインスリン抵抗性をきたす素因を含む複数の遺伝因子に、肥満、過食(特に高脂肪食)、運動不足、スト

レス、加齢などの環境因子が加わり発症する。したがって、個人に対応した効果的な栄養指導を行うためには、環境因子である生活習慣への介入に加えて、遺伝因子である遺伝子多型を考慮する必要があると思われる。2型糖尿病のように発症頻度の高い疾患には遺伝子多型の中で最も多くみられる一塩基多型が複数関連していることが解明されてきた。一塩基多型は単独での影響力は小さいが、複数組み合わせることによって相乗的に作用することが報告されており、日本人2型糖尿病とその合併症に関連する多くの遺伝子が解析されつつある。すでに機能や発現機序が解明されている遺伝子多型の利用は、早期からの介入や介入方法の選択に役立つと考えられる。

また、糖尿病患者では動脈硬化の進行がはやく、動脈硬化による脳血管障害や心筋梗塞などを発症すると、患者のQOLは著しく低下する。動脈硬化の増悪因子であるホモシステインは、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR) C677Tの多型保有者で上昇しやすく、葉酸、ビタミンB₆、ビタミンB₁₂(VB₁₂)の増加によって上昇が抑制されることが知られている。また、動脈硬化を進展させる活性酸素は血糖値の急な変動によっても発生し、血管内皮機能を障害して動脈硬化を悪化させる。頸動脈エコー検査により頸動脈内膜中膜複合体肥厚度(IMT)は、動脈硬化進展の重要な指標であり、IMTを調べることは脳梗塞、心筋梗塞を未然に防ぐために有効である。

(2) 研究計画の概要

本研究では、肥満に関連するβ3AR遺伝子多型 Trp64Arg と UCP1 遺伝子多型 A-3826G、動脈硬化に関連する MTHFR 遺伝子多型 C677T、高血圧に関連する AGT 遺伝子多型 Met235Thr の4種類を解析した。外来糖尿病

患者 165名の血液からDNAを抽出し、PCR-RFLP法にて上記4種類の遺伝子多型を解析し、血糖、ヘモグロビンA1c(HbA1c, JDS値)、血清脂質、血圧、BMI、IMTおよび臨床検査データとの関連を調べた。

次に、2型糖尿病患者にそれぞれの遺伝子多型に応じたテーラーメイド栄養指導を行なった告知群と、6ヶ月後に各遺伝子多型を告知しテーラーメイド栄養指導を行った対照群に分け、介入前後の血圧、BMI、HbA1c、臨床検査データ、IMTを調べ、遺伝子多型検査を応用したテーラーメイド栄養指導の効果を検証した。

(3) 研究の進捗状況

外来糖尿病患者 165名の血液からDNAを抽出し、PCR-RFLP法にてβ3AR(Trp64Arg)とUCP1(A-3826G)、MTHFR(C677T)、AGT(Met235Thr)の4種類の遺伝子多型を解析し、血糖、HbA1c、血清脂質、血圧、BMI、IMTおよび臨床検査データとの関連を調べた。

β3AR(Trp64Arg)とUCP1(A-3826G)の解析結果では、対象者の79%がβ3-ARまたはUCP1の変異多型を保有し、これら節約遺伝子の保有者はBMIが非保有者に比べ有意に高値であった。男性では節約遺伝子の保有者は非保有者と比べ、収縮期血圧が高かった。MTHFR(C677T)の解析結果では、動脈硬化のリスクを高めるTT多型は、対象者の10%が保有していたが、血糖、HbA1c、血清脂質、血圧、BMI、IMTにおいて、TT多型が及ぼす影響はみられなかった。AGT(Met235Thr)の解析結果では、対象者の62%が食塩感受性遺伝子であるTT多型を保有していた。血圧においてTT多型の保有者と非保有者に差はみられなかったが、女性のHbA1cにおいて、TT多型の保有者は $8.7 \pm 1.8\%$ と、非保有者の $7.5 \pm 1.3\%$ に比べ有意に高値を示した。

これらの研究結果については、雑誌論文を発表しており、現在、介入研究報告を投稿準備中である。

備中である。

2. 研究の目的

2 型糖尿病患者にそれぞれの遺伝子多型に応じたテーラーメイド栄養指導を行なった告知群と、6 ヶ月後に各遺伝子多型を告知しテーラーメイド栄養指導を行った対照群に分け、介入前後の血圧、BMI、IMT、HbA1c、血清脂質、肝機能検査、血清葉酸値、血清 VB12、血清ホモシステイン値および IMT を調べ、遺伝子多型検査を応用したテーラーメイド栄養指導の効果を検証した。

3. 研究の方法

(1) 対象と介入方法

京都市内の K クリニックに通院中の 2 型糖尿病患者のうち、腎不全、肝不全、精神疾患をもつものを除外し、介入研究に同意の得られた患者を対象とし、血液から DNA を抽出し、PCR-RFLP 法にて $\beta 3AR$ (Trp64Arg)、UCP1 (A-3826G)、MTHFR (C677T) および AGT (Met235Thr) の 4 種類の遺伝子多型を解析した。対象者を性別、年齢、治療方法、遺伝子多型の結果より層別に告知群と対照群の 2 群に分けた。全対象者は 4 週間ごとに糖尿病専門医の診察、血液、尿検査を受け、管理栄養士が個別に毎回「野菜を先に炭水化物を最後に摂取する食べる順番を守ること」などの食事療法を継続して指導した。告知群にはさらに遺伝子多型保有に応じたテーラーメイド栄養指導を介入直後から実施した。ベースラインと介入 6 ヶ月後のそれぞれ 3 日間の食事記録を依頼した。対照群には介入 6 ヶ月後に遺伝子多型の結果を告知し、それぞれの遺伝子多型に応じたテーラーメイド栄養指導を実施した。全対象者に遺伝子多型と食生活に関する自記式のアンケート調査を実施した。

対象者のベースラインと介入 6 カ月後の血圧、BMI、HbA1c、血清総コレステロール (T-C)、HDL コレステロール (HDL-C)、LDL

コレステロール (LDL-C)、中性脂肪 (TG)、AST、肝機能検査、尿素窒素(BUN)、クレアチニン (Cre)を比較検討した。さらに、ベースラインと介入 6 か月後の血清葉酸値、VB12、およびホモシステインを測定し、介入前後の値を比較した。IMT はベースラインと介入 1 年後の値を比較した。

本研究は「ヘルシンキ宣言」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の倫理規範を踏まえ、大阪府立大学総合リハビリテーション学部研究倫理委員会の承認を受け、糖尿病専門医の責任のもとに実施した。対象者には、研究主旨を事前に十分説明し文書による同意を得た。

(2) 検査方法

対象者の血液から DNA を抽出し(DNA Extractor® WB Kit, 和光純薬工業株式会社、大阪)、 $\beta 3AR$ (Trp64Arg)、UCP1 (A-3826G)、MTHFR (C677T)、AGT (Met235Thr) を PCR-RFLP 法 (ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型解析法) にて遺伝子多型を解析した。

IMT は頸動脈のデジタル超音波診断装置 (SDU-2200, Shimadzu Co., 京都) を用いて測定した。

(3) 統計処理

告知群と対照群の比較には Mann-Whitney U-test を用いた。ベースラインと介入後の比較では、Wilcoxon signed-rank test を行った。性別、喫煙、飲酒習慣、薬物療法、遺伝子多型は χ^2 検定を行った。統計処理は SPSS for Windows ver. 18.0 (SPSS Japan Inc., 東京) を使用し、有意水準は $p < 0.05$ とした。

4. 研究成果

(1) 介入後の臨床データ

対象者は性別、年齢、糖尿病歴、治療方法、遺伝子多型の結果より、両群間に差がないように振り分けたが、MTHFR 多型 (C677T)

の TT 型保有者は 10 名と少数であったため、全員告知群に振り分けた。介入後、両群とも収縮期、拡張期血圧、HbA1c が低下した。告知群は介入 6 ヶ月後に BMI が減少し、LDL-C、TC が 6 カ月、1 年後に減少した。対照群も介入 6 ヶ月後に LDL、TC、TG、ALP が低下し、介入 6 カ月、1 年度に γ -GTP が減少した。血清ビタミン、酸化ストレスマーカーをみると、告知群は介入後葉酸が有意に増加したが、対照群は変化がみられず、介入後の葉酸値は告知群より有意に低値だった。血清 VB12、血清ホモシステインに群間の差は認められず、介入後も変化はみられなかった。IMT は告知群対照群に差はみられず、介入後も変化が認められなかった。

(2) 喫煙の影響

喫煙の影響をみると、喫煙者は非喫煙者と比較して HDL-C が低く、TG、 γ -GTP、Cre、BUN/Cre が有意に高かった。介入 1 年後、両群とも収縮期、拡張期血圧、TC、HbA1c は減少し、非喫煙者においては、LDL-C、 γ -GTP も減少した。介入後喫煙者の BMI、TG、 γ -GTP、Cre、BUN/Cre は非喫煙者より高値を示し、HDL-C は低値を示した。喫煙者の血清葉酸値は非喫煙者より低く、介入後も変化がなく非喫煙者より低かったのに対し、非喫煙者は介入後有意に増加した。血清 VB12、ホモシステインは両群に差はなかった。

IMT における喫煙の影響はみられなかった。

(3) 摂取栄養量とアンケート調査

介入後、摂取栄養量のうち、エネルギー、脂質、コレステロール、塩分が減少した。食品群別の摂取量では穀類、果物類が減り、緑黄色野菜が 2 倍に増えた。アンケート調査より、遺伝子多型結果を知り、自分の体質について意識するようになったと答えた者 41%、以前から意識していた者 19%、変わらないと

答えた者 39%であった。

(4) 考察

本研究では、遺伝子多型解析を用いたテーラーメイド栄養指導を介入直後に開始した告知群と、6 ヶ月後に遺伝子多型解析を用いたテーラーメイド栄養指導を開始した対照群を比較したが、介入後両群とも血糖コントロールの改善、血圧、血清脂質の低下がみとめられ、2 群間の臨床データに明らかな差はみとめられなかった。要因として今回調べた節約遺伝子や食塩感受性遺伝子多型は日本人に高頻度で見られ、野菜の摂取量を増やし、塩分、炭水化物、コレステロールの摂取量を減らす指導は、糖尿病、高血圧、脂質異常症の食事療法と共通するものであり、結果両群とも介入後血糖コントロール、血圧、血清脂質が改善されたことにつながったと考える。また、喫煙者の HDL-C、血清葉酸値は低く、 γ -GTP、TG、Cre は高値を示した。IMT には群間、介入前後、および喫煙の有無による差はみとめられなかった。

(5) 結論

以上のことから、日本人の 2 型糖尿病患者の栄養指導においては、節約遺伝子や食塩感受性遺伝子の存在を考慮しつつ、食生活や喫煙など環境因子に対する指導が重要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

① Saeko IMAI, Mikuko MATSUDA, Michiaki FUKUI, Goji HASEGAWA, Neiko OZASA, Motoko MIYAKE, Tatsushi KOMATSU, Shizuo KAJIYAMA Gender-Dependent Effect of AGT M235T Polymorphisms on Glycated Hemoglobin in Japanese Females with Type 2 Diabetes. Journal of Life Science Research, 査読有, 9;1-5,2011

② 今井佐恵子, 香西はな, 渡辺完児, 松田美久子, 脇田裕子, 梶山静夫 遺伝子多型診断を用いた外来栄養指導により減量できたメ

タボリックシンドロームをともなう肥満2型糖尿病の2症例 日本病態栄養学会誌, 査読有, 11(2): 151-157, 2008

③ Saeko Imai, Chikako Togawa, Toyomi Yamamura, Kayoko Oyabu, Saori Fujimoto, Hana Kozai, Kanji Watanabe, Shuji Miyatani, Shizuo Kajiyama Effect of tailor-made diet on weight loss in obese Japanese type 2 diabetes with single nucleotide polymorphisms in β 3-adrenergic receptor, uncoupling protein 1 or β 2-adrenergic receptor genes. Journal of Rehabilitation and Health Science, 査読有, 6: 31-35, 2008

〔学会発表〕(計9件)

① Saeko Imai, Effects of Tailor Made Diet on Serum Folate and Urinary 8-Isoprostanes Concentrations in Japanese Patients with Type 2 Diabetes. 11th Asia Congress of Nutrition in Singapore 2011.7

② 今井佐恵子 遺伝子多型解析を応用した糖尿病のテーラーメイド栄養指導の効果—血漿ホモシステイン値, 血清葉酸値の変化—第54回日本糖尿病学会年次学術集会 2011.5. 札幌

③ 今井佐恵子 遺伝子多型解析を応用した糖尿病患者におけるテーラーメイド栄養指導 第14回日本病態栄養学会 2011.1.横浜

④ 今井 佐恵子 糖尿病患者における遺伝子多型解析— β 3AR,UCP1,AGT および MTHFR 第32回日本臨床栄養学会総会・第31回日本臨床栄養協会総会 2010.8. 名古屋

⑤ Saeko Imai, Gender-dependent effect of AGT M235T, β 3AR Trp64Arg, and UCP1 -3826 A/G polymorphisms on glycated hemoglobin or blood pressure in Japanese patients with type 2 diabetes. 5th Asia Congress of Dietetic 2010 Bangkok, Thailand 2010.11

⑥ 藤本さおり, 今井佐恵子 糖尿病患者に対する遺伝子解析を利用した栄養指導への検討(第二報) 第46回 日本糖尿病学会近畿地方会 2009.11. 京都

⑦ 藤本さおり, 今井 佐恵子 メタボリックシンドロームおよび糖尿病患者に対する遺伝子解析を利用した栄養指導への検討(第一報) 第56回日本栄養改善学会学術総会 2009.9. 札幌

⑧ 藤本さおり, 今井 佐恵子 遺伝子多型診断を用いた肥満2型糖尿病の外来栄養指導 第7回日本栄養改善学会近畿支部学術総会 2009.3. 京都

⑨ 今井佐恵子 遺伝子多型診断を用いた外来栄養指導により減量したメタボリックシンドロームを伴う肥満2型糖尿病の2症例 第11回日本病態栄養学会年次学術集会 2008.1. 京都

〔その他〕

ホームページ等

http://jglobal.jst.go.jp/detail.php?JGLOBAL_ID=200901061824470712&t=1&d=1&q=%28205%29%3D6000008900

6. 研究組織

(1)研究代表者

今井 佐恵子 (IMAI SAEKO)

大阪府立大学・総合リハビリテーション学部・准教授

研究者番号: 00438235

(2)研究分担者

福井 道明 (FUKUI MICHIAKI)

京都府立医科大学大学院医学研究科・内分泌・代謝内科学・講師

研究者番号: 30247829

2010年

長谷川 剛二 (HASEGAWA GOJI)

京都府立医科大学大学院医学研究科・内分泌・代謝内科学・講師

研究者番号: 295643

2007年 (2008年連携研究者)

香西 はな (KOZAI HANA)

大阪府立大学・総合リハビリテーション学部・講師

研究者番号: 382242

2007年~2008年まで

宮谷 秀一 (MIYATANI SYUICHI)

大阪府立大学・総合リハビリテーション学部・教授

研究者番号: 50137311

2009年

(3)連携研究者

梶山 静夫 (KAJIYAMA SHIZUO)

梶山内科クリニック院長

京都府立医科大学大学院医学研究科・内分泌・代謝内科学・客員講師

2007年~2010年

(4)研究協力者

松田 美久子 (MSTSUDA MIKUKO)

梶山内科クリニック・管理栄養士

2007年~2010年