

機関番号：82613

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20300231

研究課題名（和文）習慣的身体活動はホモシステイン分解酵素遺伝子変異に伴う動脈硬化を予防するか？

研究課題名（英文）Does the habitual physical activity prevent arteriosclerosis related with MTHFR gene variation?

研究代表者 宮地 元彦 (MIYACHI MOTOHIKO)

(独立行政法人国立健康・栄養研究所・運動が「ライフ」プロジェクト)

研究者番号：60229870

研究成果の概要（和文）：

ホモシステイン分解酵素遺伝子（MTHFR）多型の一つである 677C→T の変異が、血中のホモシステインや動脈硬化のサロゲート指標である動脈のスティフネスに及ぼす影響を横断的に検討した。

(1) MTHFR677TT 型の者はホモシステイン濃度ならびに動脈スティフネスが高値を示した。

(2) MTHFR677TT 型の者のうち、3 メッツ未満の低強度身体活動量が少ない者では、血中ホモシステイン濃度が有意に高い値を示した。

(3) MTHFR677TT 型の者のホモシステイン濃度は、食事による葉酸摂取量が食事摂取基準で定められた推定平均必要量を満たす者では少ない者より有意に低値を示した。

(4) 全身持久力の指標である最大酸素摂取量が高い者と低い者と比較したところ、ホモシステイン濃度は体力の違いによる差は見られなかったが、動脈スティフネスは体力の高い者では TT 型の遺伝子多型の者でも CC 型や CT 型の者と有意差がなかった。すなわち、持久的体力の高い者では MTHFR677 遺伝子の変異による動脈スティフネス増加が抑制されていることが示唆された。

これらの結果は、循環器疾患のリスクは遺伝の影響を強く受ける一方で、環境要因の改善により修飾されることを示唆している。これらの研究成果は、今後縦断的な介入研究により検討される必要がある。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of the cross-sectional study was to examine the associations among MTHFR 677C→T polymorphism, plasma homocysteine (Hcy) concentration, arterial stiffness, and lifestyle (eating habit, fitness, and physical activity).

(1) Arterial stiffness and plasma homocysteine in participants with MTHFR677TT genotype were significantly higher than those with CC and TT genotypes.

(2) However, there were significant interactions between time spent in light PA ($p=0.003$), vigorous PA ($p=0.001$), or inactivity ($p=0.004$) and MTHFR genotype. In only the TT genotype, shorter time spent in light PA was associated with higher plasma Hcy than a longer time spent in light PA (11.5 ± 3.3 nmol/mL vs. 8.5 ± 3.3 nmol/mL, $p<0.001$), and longer time spent in vigorous PA and inactivity were associated with higher plasma Hcy (11.8 ± 3.3 nmol/mL vs 8.4 ± 3.2 nmol/mL, 11.6 ± 3.3 nmol/mL vs. 8.4 ± 3.3 nmol/mL, respectively, $p<0.001$).

(3) Plasma Hcy was significantly different between ≥ 200 (7.6 ± 0.2 nmol/mL) and < 200 μ g/day (8.3 ± 0.3 nmol/mL) folate intake groups ($p=0.003$).

(4) The plasma homocysteine level was higher in the TT genotype of MTHFR C677T polymorphism compared with CC and CT genotype individuals. MTHFR C677T polymorphism showed no effect on carotid beta-stiffness, but there was a significant interaction effect between fitness and MTHFR C677T polymorphism on carotid beta-stiffness ($P = 0.0017$). In the Low-Fit subjects, carotid beta-stiffness was significantly higher in individuals with the TT genotype than the CC and CT genotypes. However, there were no such differences in High-Fit subjects.

These results imply that CVD risk factors are affected by both genetic and environmental factors. However, further investigations using the larger sample size or longitudinal design will be needed to confirm these findings.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
2009年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：総合領域

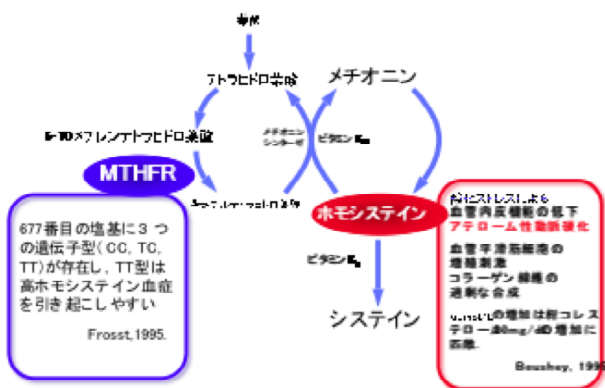
科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：(1)習慣的身体活動 (2)ホモシステイン (3)動脈硬化 (4)遺伝子多型 (5)MTHFR

1. 研究開始当初の背景

メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) 遺伝子の 677 番目の塩基の変異 (C⇒T) により誘発される高ホモシステイン血症は循環器疾患の独立した危険因子であることが知られているが、習慣的な運動が高ホモシステイン血症改善や動脈硬化の改善に効果的か否かに関しては全く明らかにされていない。

ホモシステインはメチオニン=システイン代謝の過程で精製される酸化物質で、高ホモシステイン血症は動脈硬化を促進し、循環器疾患の独立した危険因子であることが知られている (下図)。高ホモシステイン血症の多くは、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) 遺伝子の 677 番目の塩基の変異 (C⇒T) により誘発される。この MTHFR 遺伝子変異は循環器疾患による死亡リスクを 1.2 倍増加させる。



ホモシステインの 5mg/dl の増加は、総コレステロール 20mg/dl の増加に匹敵するといわれ、動脈硬化促進作用や循環器疾患発症リ

スクを著しく高めることが知られている。したがって、ホモシステイン濃度を低下させることは古典的なリスクファクターであるコレステロール濃度の減少と同等あるいはそれ以上の循環器疾患発症予防効果が期待できる。

習慣的な運動・身体活動は循環器病予防に効果的であることは良く知られている。この予防効果の生理学的要因として、習慣的な有酸素性運動が加齢による動脈スティフネス低下と内皮機能の低下を抑制することが我々をはじめ多くの研究者らの先行研究で明らかとなってきた。また、有酸素性運動は抗酸化機能を高めるので、高ホモシステインによる酸化ストレス対抗策として有用であると推測できる。しかし、習慣的な有酸素性運動が高ホモシステイン血症改善や高ホモシステイン者の動脈スティフネスや内皮機能の改善に寄与するか否かは明らかではない。特に、MTHFR 遺伝子多型変異に伴う高ホモシステイン血症による動脈スティフネスや内皮機能低下にどのような影響を及ぼすかについては全く明らかにされていない。

2. 研究の目的

ホモシステインをリスクとする循環器疾患発症の背景に、循環器疾患発症やそれによる死亡の独立した危険因子である動脈スティフネスの増加が関与することが明らかとなってきた。すなわち、MTHFR 遺伝子の 677 番変異→高ホモシステイン血症→動脈スティフネス増加→循環器疾患発症・死亡という道筋が示唆される。そこで、本研究では、「身体活動は MTHFR 遺伝子多型変異に伴う高ホモシステイン血症による中心動脈スティフネス増加を予防する」という仮説の検証を目的として実施する。

本仮説を実証するために2つの研究を実施した。

- 1) 血中ホモシステイン濃度と MTHFR 遺伝子多型の関連性に、身体活動量や葉酸摂取量が影響を及ぼしているかを横断的に検討すること (実験 1)。
- 2) 血中ホモシステイン濃度や動脈ステイフネスと MTHFR 遺伝子多型との関連に全身持久力や筋力などの体力指標がどのように影響を及ぼしているかを横断的に検討すること (実験 2)。

本研究により運動によるホモシステイン濃度減少の可否や程度や個人差について明らかにすることで、循環器疾患発症予防の新しい手だてを検討する端緒が得られるものと期待される。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

本研究は、国立健康・栄養研究所で実施している大規模な疫学的調査フィールド：Nutrition and EXercise Intervention Study (NEXIS) に登録されている18歳から70歳までの男女763名(男性239名、女性524名)を対象とした。すべての被験者は慢性疾患を有さない、非喫煙者であり、被験者の中には座職者および活動的な被験者が含まれているが、スポーツ競技者は含まれていない。本研究は、独立行政法人国立健康・栄養研究所の倫理審査委員会の承諾を受け、被験者には研究の目的および測定方法の説明をした後に実験参加の承諾を得て、測定を実施した。本研究の測定項目は以下のとおり。

- 病歴ほか問診票
- 身長・体重ほか形態
- 採血(ホモシステイン、MTHFR 遺伝子多型)
- 頸動脈ステイフネス、血圧
- 最高酸素摂取量ほか体力
- 食事頻度調査(BDHQ)

採血により得られた血液から、血漿ホモシステイン濃度、MTHFR677 遺伝子多型の測定を行った。MTHFR677 の遺伝子多型分析により、参加者を TT 群、CT 群、CC 群の3群に分類した。

すべての被験者は、動脈硬化の指標として、頸動脈βステイフネスの測定を行った。頸動脈コンプライアンスやステイフネスは、頸動脈の超音波画像と頸動脈の血圧によって評価した。頸動脈の直径は、超音波診断装置を用いて測定された。右頸動脈にプローブをあて、頸動脈の分岐から中枢へ1-2cmの位置の総頸動脈の縦断画像を描写した。安定した10心周期にあたる連続画像を直接パーソナルコンピューターに取り込み、後に画像解析ソフトを用いて解析した。取り込まれた画像をスクロールし、1心周期における最大直径お

よび最小直径(それぞれ心臓の収縮期および拡張期にあたる)を算出し、同様に算出された5拍分の平均値を求め、頸動脈最大収縮期直径および最小拡張期直径とした。また、頸動脈最大収縮期直径と最小拡張期直径との差分を頸動脈直径の較差とし算出した。頸動脈血圧の圧波形は右頸動脈から平圧脈圧法で測定した。このようにして得られた頸動脈最大収縮期直径、最小拡張期直径と頸動脈径較差、頸動脈収縮期血圧と頸動脈脈圧および拡張期血圧から、以下の式により頸動脈βステイフネスを算出した。

頸動脈βステイフネス = $\ln(\text{頸動脈収縮期血圧}/\text{拡張期血圧})/(\text{頸動脈径較差}/\text{頸動脈拡張期径})$

全ての被験者は漸増負荷自転車エルゴメーター試験により、最高酸素摂取量を測定した。被験者は、男女の各年代の最高酸素摂取量(VO₂peak)の中央値よりも高値の場合、高体力(High-Fit)群、低値の場合低体力(Low-Fit)群の2群に分けた。

本研究結果は、すべて平均値±標準誤差で表した。MTHFR 677C→Tのアレル頻度とHardy-Weinberg平衡は、χ²検定を用いて確認した。High-Fit群およびLow-Fit群の2群間の比較は、対応のないt検定を用いた。また、多型間およびHigh-Fit群およびLow-Fit群間の多型の比較は、年齢を共変量とした一元配置分散分析を用いた。危険率は5%未満を有意水準とした。

(2) 実験 2

434人の健康な男女が研究に参加した。すべての参加者は本研究の目的と手順について十分に理解し、同意書に署名した上で参加した。本研究は独立行政法人国立健康・栄養研究所の倫理委員会にて審査・承認されており、全ての研究手順はヘルシンキ宣言に準じて行われた。

研究参加に同意した参加者は10時間以上の絶食後、午前9時から採血をされた。同時に、問診ならびに食事頻度調査(BDHQ)に回答した。参加者のうち、服薬など生活習慣病の治療を受けている者、ならびに医師から生活習慣病と診断を受けている者は除外した。BDHQの回答から、ホモシステイン濃度に関連することが知られている葉酸の摂取量を推定し、その食事摂取基準2010で定められた平均推定摂取量の200μg/日を基準に2群に分類した。

受診前の3週間にわたり3次元活動量計を腰部前面に装着し、客観的な身体活動量を測定した。活動量計のデータから、歩数(歩/日)と3メッツ以上の強度の身体活動量(メッツ・時/日)を算出した。また、身体活動を強度別に低強度(3メッツ未満)、中強度(3-5.9メッツ)、高強度(6メッツ以上)の

3つに分類し、活動時間(分/日)を算出した。それぞれの身体活動の指標の中央値で2分位し、指標の活動群と非活動群とに分類した。

採血により得られた血液から、実験1と同様に、血漿ホモシステイン濃度、MTHFR677遺伝子多型の測定を行った。MTHFR677の遺伝子多型分析により、参加者をTT群、CT群、CC群の3群に分類した。

本研究結果は、すべて平均値±標準誤差で表した。MTHFR 677C→Tのアレル頻度とHardy-Weinberg平衡は、 χ^2 検定を用いて確認した。活動群および非活動群の2群間のホモシステイン濃度の比較は、対応のないt検定もしくはANOVAを用いた。また、多型間および活動群および非活動群間の多型の比較は、性別、年齢、葉酸摂取量を共変量とした共分散分析を用いた。危険率は5%未満を有意水準とした。

4. 研究成果

(1) 実験1

High-Fit群およびLow-Fit群に分けて、MTHFR 677C→T遺伝子多型間の比較をした結果、年齢、体重、身長、体脂肪率、SBP、DBP、総コレステロール値、HDLコレステロール値、中性脂肪、血糖値、葉酸濃度は多型間において有意な差が認められなかった。しかしながら、血中ホモシステイン濃度は、High-Fit群およびLow-Fit群ともに、CC型およびCT型よりもTT型で有意に高値を示した(図1)。

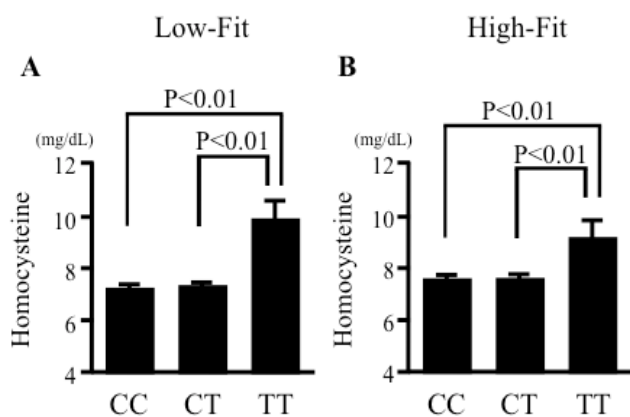


図1. 低体力者(A)と高体力者(B)におけるMTHFR677遺伝子多型とホモシステイン濃度との関連。

また、頸動脈 β スティフネスは、Low-Fit群においてCC型およびCT型よりもTT型で有意に高値を示したが、High-Fit群においては多型間に有意な差は認められなかった(図2)。

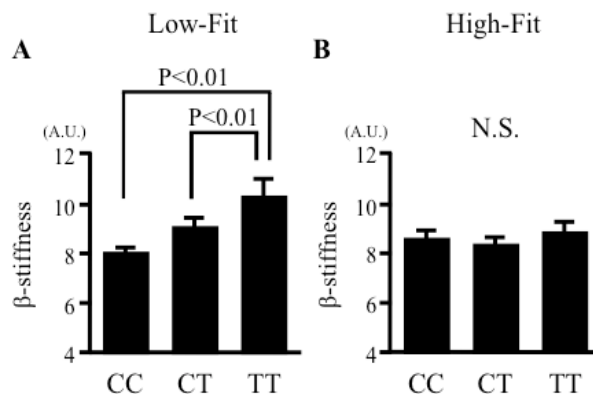


図2. 低体力者(A)と高体力者(B)におけるMTHFR677遺伝子多型と頸動脈スティフネスとの関連。

本実験1の結果から、MTHFR遺伝子のTT型を保有する者は、体力レベルが低い場合、動脈硬化を増大させるが、体力レベルが高い場合、動脈硬化に対する遺伝的な影響を消失させることが示唆された。

(2) 実験2

男女で血中ホモシステイン濃度を比較すると、男性のほうが血中ホモシステインは高値であったが、年齢は関連しなかった。食事による葉酸摂取量が1日あたり200 μ g以上の者はそれ未満の者と比較して、有意に血中ホモシステイン濃度が低値を示した。

身体活動とホモシステインとの関係については、歩数や3メッツ以上の強度の身体活動量、強度別の身体活動時間とも、全てで有意な関連は見られなかった。これらの知見は従来の研究成果と同様である。

しかし、MTHFR688の3つの遺伝子多型別で両者の関連を見た場合、TT型の者だけを対象とした場合、低強度身体活動が多い者は少ないものよりも有意に低く、高強度身体活動が多い者は少ない者よりも有意に高い値を示した(図3)。また、睡眠時間と座ったままのような不活動時間が多い者は少ない者よりも有意に高値を示した。これらの強度別身体活動の違いによる、血中ホモシステイン濃度の差は、共分散分析により性別や葉酸摂取量で補正しても有意であった。なお、このような身体活動とホモシステイン濃度の関連は、CT型ならびにCC型の者では見られなかった。

以上の実験2の結果は、循環器疾患の新しい危険因子として知られている血中ホモシステインの濃度はホモシステイン代謝に関連するMTHFR遺伝子677番塩基の一塩基多型による遺伝的影響を強く受けるが、それに加えて、特にTT型の高ホモシステイン血症を呈しやすい集団に限定すると、食事による葉酸摂取や身体活動の多寡といった、環境的要因の影響も受けることが、はじめて示唆され

た。

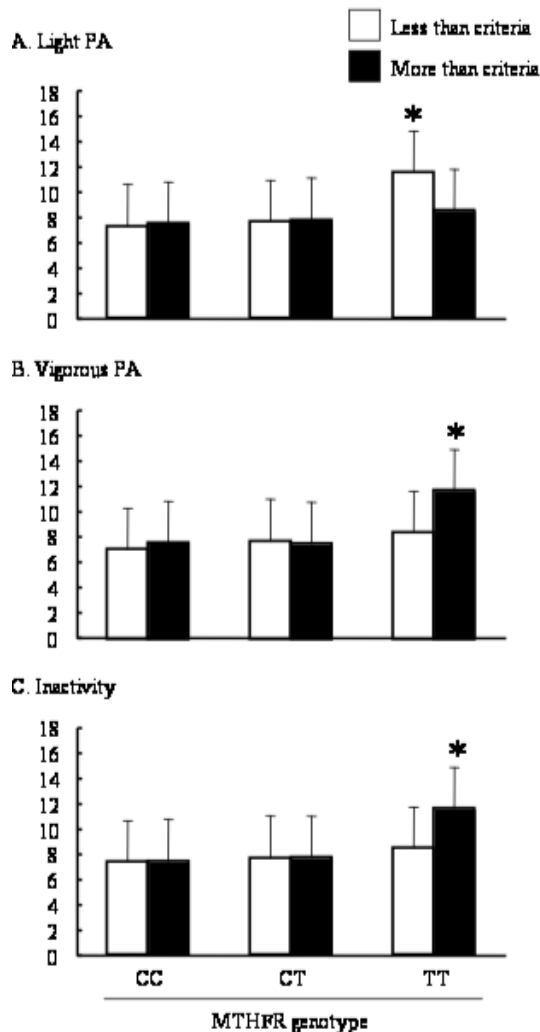


図 3. 低強度 (A)、高強度 (B)、中強度 (C) の身体活動量が多い者 (黒棒) と少ない者 (白棒) の血中ホモシステイン濃度

結論

本研究の二つの実験は、MTHFR の遺伝子多型というケースに焦点を絞った研究であったが、動脈硬化を誘発する要因であるホモシステインの代謝や動脈硬化の代替指標である動脈スティフネスに、一塩基置換のような遺伝的要因と、食事や身体活動のような環境要因が相互作用を及ぼすことを示唆した。本研究の結果は、より多くのサンプルサイズでの検討、あるいは前向き研究や介入研究などでの検討で、確認される必要がある。

この成果は、生活習慣病の予防に関する研究を行う際には、伝統的なリスクファクターや生活習慣だけでなく、遺伝的要因も考慮に入れた研究の必要性を指し示していると同時に、従来は個人差やバイアスと理解されていたものが多様な遺伝的要因の影響をうけている可能性を暗示するものである。

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 2 件)

1. Murakami H, Iemitsu M, Sanada K, Gando Y, Ohmori Y, Kawakami R, Sasaki S, Tabata I, Miyachi M Associations among objectively measured physical activity, fasting plasma homocysteine concentration, and MTHFR C677T genotype. *Eur J Appl Physiol*. 2011 Mar 31. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21451940.
2. Iemitsu M, Murakami H, Sanada K, Yamamoto K, Kawano H, Gando Y, Miyachi M. Lack of carotid stiffening associated with MTHFR 677TT genotype in cardiorespiratory fit adults. *Physiol Genomics*. 2010 Jul 7;42(2):259-65.

[学会発表] (計 2 件)

1. 村上晴香, 家光素行, 真田樹義, 丸藤祐子, 川上諒子, 福典之, 林真一郎, 宮地元彦: 身体活動・運動行動に関連する遺伝的要因:ゲノムワイド解析. 第 65 回日本体力医学会. 2010.09.18, 千葉
2. 家光素行, 村上晴香, 真田樹義, 山元健太, 河野寛, 丸藤祐子, 谷本道哉, 田畑泉, 宮地元彦: 体力レベルの違いが動脈 stiffness と MTHFR 遺伝子多型の関係に及ぼす影響. 第 64 回日本体力医学会大会. 2009.09.19, 新潟

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮地 元彦 (MIYACHI MOTOHIKO)

独立行政法人国立健康・栄養研究所

研究者番号: 60229870