

機関番号：13201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590638

研究課題名（和文）

「多目的コホートでの血液脂肪酸構成から見た心筋梗塞・脳卒中の症例・対照研究」

研究課題名（英文）

「Blood Levels of n-3 Fatty Acids and the Risk of stroke and Coronary Heart Disease Among Japanese The Japan Public Health Center-Based (JPHC) Study」

研究代表者

濱崎智仁 (HAMAZAKI TOMOHITO)

富山大学・和漢医薬学総合研究所・教授

研究者番号：70167592

研究成果の概要（和文）：日本での大型疫学調査では、魚食あるいはn-3系脂肪酸の摂取量と循環器疾患の発症率（あるいは死亡率）はいくつか報告されているが、必ずしも結果は一致していない。そこで、食事調査よりも組織中の脂肪酸をより正確に推定できる血中脂肪酸構成と循環器疾患による死亡率との関係を調べることにした。全国10カ所の保健所管内の住民約14万人のうち、研究開始時に生活習慣質問票への回答および血液の提供のある者の中から、冠動脈疾患死あるいは脳卒中死の症例とそれぞれの対照（計およそ1,500検体）を選び調査対象とした。血清の総リン脂質中の脂肪酸構成はガスクロマトグラフで測定した。冠動脈疾患死群（n=209）と対照群（n=418）を比較すると、脂肪酸構成には差がなかった。男女合わせると脂肪酸は冠動脈疾患死に大きな影響を及ぼす可能性は少ないと思われる。

研究成果の概要（英文）：In Japan there have been a few epidemiological studies in which fish consumption (and n-3 fatty acid intake) and morbidity and/or mortality of coronary disease were studied. The results of those studies are not consistent. Some showed beneficial effects of fish, but others did not. In Japan, no there are no large-scale epidemiological studies on the relationship between blood fatty acid composition and the risk of cardiovascular death. We, therefore, conducted a nested case-control study with 209 coronary deaths and their controls (n=418) from the Japan Public Health Center-Based Study. The fatty acid composition of the total phospholipid fraction was measured by gas-chromatography. We found no significant difference in any fatty acid level. If both men and women are combined, there appears to be little influence of blood fatty acid composition on cardiovascular deaths.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	200,000	60,000	260,000
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：脂質栄養学

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：虚血性心疾患、脳卒中、n-3系多価不飽和脂肪酸、JPHC

### 1. 研究開始当初の背景

多くの疫学調査および臨床試験でn-3系脂肪酸が冠動脈疾患の予防治療に有効であることが示唆されている (De Caterina R. N Engl J Med. 2011;364:2439)。現在までに、6つのコホート内症例対照研究で冠動脈疾患とn-3系脂肪酸の関連が調べられており、そのうち5つでは、血中のn-3系脂肪酸と冠動脈疾患との関連が示されているが、残り一つでは、何ら関連はない。これら6つの報告は米国と北ヨーロッパからのものであり、アジアからのものは含まれていない。Odaらの日本で行った症例対照研究(後ろ向き) (Oda E et al. Int Heart J 2005;46:583) では、冠動脈疾患患者の血中n-3系脂肪酸は対照群より有意に低くなっていた。

魚食頻度あるいはn-3系脂肪酸の摂取量と冠動脈疾患の大型コホート研究は、日本では過去に3度報告されている。30-69歳の日本人男女約9千名を19年追跡したNIPPON Data 80 (Nakamura Y et al, Am J Med 2005;118:239)では、魚食と冠動脈疾患の発症あるいはそれによる死亡とは関連がないとされている。

Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk (JACC Study) (Yamagishi K et al, J Am Coll Cardiol 2008;52:988)では、心疾患、脳卒中、がんの病歴のない40-79歳の日本人男女約5万8千名を12.7年追跡したが、魚食あるいはn-3系脂肪酸摂取と冠動脈疾患の発症には有意な相関が見られなかった。

一方、今回の研究対象のコホートである多目的コホート(JPHC)での研究では、40-59歳の日本人男女41,578名を90-92年から2001年まで追跡し、冠動脈疾患(疑いを含む)は、魚食の最高5分位(毎週魚食が8回以上、中央値で一日180gの魚食)では、最低5分位(魚食が週に1回以下、中央値は一日23g)に比較して、危険率が0.63(95%CI: 0.38 to 1.04)となっており、確実な心筋梗塞だけで比較すると0.44(0.24-0.81)となり、有意な差が出ている (Iso H et al, Circulation. 2006 Jan 17;113:195)。n-3系脂肪酸の摂取量と確実な心筋梗塞で比較すると危険率はさらに低く、0.35(0.18-0.66)となっていた。

上記3つの疫学調査では、魚あるいはn-3系脂肪酸の摂取量で比較しているが、この方法では、まず食事調査自体の誤差と、n-3系脂肪酸が消化管で吸収され、組織へ運搬されるまでの個人差のため、実際に組織中に存在するn-3系脂肪酸の濃度を推定する際、大きな誤差が生じ、n-3系脂肪酸の効果の

検出力が落ちる。そこで血中のn-3系脂肪酸を測定すれば、血管壁あるいは血小板等でのn-3系脂肪酸含量をより正確に推定できるようにになると期待できる。

### 2. 研究の目的

JPHC研究では、保存してある血清が利用できるため、コホート内症例・対照研究の手法により、日本で最初の血中脂肪酸構成と循環器系疾患による死亡率の関連を調査することを目的とする。特にn-3系脂肪酸が豊富なリン脂質分画に注目することとしたため、検出精度をさらに上げることが可能となる。また、欧米と比較し一般的に日本人の魚食は数倍高いため、日本では天井効果が現れn-3系脂肪酸が多くても、冠動脈疾患の予防効果は現れない可能性もある。その点、すでに血液中のn-3系脂肪酸と冠動脈疾患につき報告されている欧米との研究とは違った意味で重要である。

### 3. 研究の方法

対照：岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県石川(以上、平成2年開始のコホートI)、茨城県水戸、新潟県柏崎、高知県中央東、長崎県上五島、沖縄県宮古、大阪府吹田市(以上、平成5年開始のコホートII)の10保健所管内に、研究開始時点で居住していた地域住民約14万人の対象者のうち、研究開始時に生活習慣質問票への回答および血液の提供のある者の中から症例と対照(計およそ1,500検体)を選び、調査対象とした。

対象者の同意を得る方法：血液利用を含めた研究全体についてはパンフレットやニュース・レター、インターネット・ホームページを通じて、具体的方法などについて研究対象者個人および広く社会に広報している。血液検体については対象者に対してすべての地域で説明文書の個別配布、保健所職員による口頭説明、あるいは説明文書の掲示によって説明を行った。一部地域(秋田県横手、沖縄県中部(旧石川)、大阪府吹田)のみ同意書を用いて被験者本人の署名を得た。他の地域でも口頭による同意は受けている。すべての対象者で文書にもとづく同意が得られたわけではない。従って、現在の同意水準においては十分ではないが、富山大学で脂肪酸測定を行うという研究計画においては、分析試料が対応表を有しない連結可能匿名化の状態を提供されることから、疫学研究に関する倫理指針10. 試料の保存及び利用(2)人体から採取された試料の利用(1)当該試料が匿名化されていること、という条件を満たしており、倫理審査委員会の承認が得られれば利

用可能であると考えられる。一方、試料の提供者側の国立がんセンターにおいては、前述のとおり本研究について情報公開をしており、また疫学研究に関する倫理指針 11. 他の機関等の資料の利用(2)既存資料等の提供に当たっての措置(1)当該試料が匿名化されていること、という条件を満たしている。

測定方法：測定方法：被験者から参加時に採血した血漿は-80 度 C にて保存した。血漿リン脂質中脂肪酸組成は、まず、総脂質を Bligh & Dyer 法により血漿より抽出し、総リン脂質分画を薄層クロマトグラフィーより分離した。リン脂質中の脂肪酸を塩酸メタノール法でメチル化後に ガスクロマトグラフ GC-2014 (島津製作所, 京都) にて脂肪酸構成を測定した。分離カラムは DB-225 capillary column (length, 30 m; internal diameter, 0.25 mm; film 0.25  $\mu$ m; J&M Scientific, Folsom, CA, USA) を使用し、全体の管理は GC-solution version 2.3 クロマトソフト (Shimadzu Corporation) で行った。EPA および DHA のイントラアッセーはどちらも 5% 以下であった。データの固定化まで、測定者および集計者はサンプルの帰属についてブラインドの条件で行った。

表1 ベースラインにおける被験者の背景

背景	症例(n=209)	対照(n=418)	P 値
年齢	57.1 $\pm$ 7.7	57.0 $\pm$ 7.6	マッチング因子
男生の割合(%)	63.6	63.6	マッチング因子
Body-mass index	24.6 $\pm$ 3.2	23.8 $\pm$ 3.0	0.002
収縮期血圧	141 $\pm$ 19	134 $\pm$ 17	<0.0001
総コレステロール	211 $\pm$ 40	202 $\pm$ 40	<0.01
高脂血症治療者数	7	7	0.18
高血圧治療者数	70	76	<0.0001
Smoking status (n)			0.007
現在喫煙	85	120	
過去喫煙	29	82	
非喫煙	94	214	
糖尿病患者数	23	14	<0.0001
アルコール飲酒者数			<0.01
機会飲酒	11	33	
現在飲酒者	71	186	
現在非飲酒者	117	179	
C反応性蛋白(mg/dL)	0.224 $\pm$ 0.441	0.132 $\pm$ 0.284	0.002
平均 $\pm$ 標準偏差			

統計方法：

カテゴリーデータに関してはカイ 2 乗検定、連続変数に関しては t-検定で有意差を検討した。なお今回の報告では間に合わなかったが、脂肪酸の 4 分位での検定には、混乱因子

として可能性のある、収縮期血圧、降圧薬の使用の有無、body mass index、飲酒、喫煙、血清コレステロール値、脂質低下薬使用の有無、糖尿病の有無、高感度 CRP 値などで補整した。P<0.05 を有意とし、統計計算は SPSS version 17.0 を使用した。

#### 4. 研究成果

表 1 に心筋梗塞に関する被験者の基礎値を示す。心筋梗塞症例と対照には多くの点で有意差があった。表 2 には、脂肪酸に関する基礎値を示す。どの脂肪酸にも両群間に有意差はなかった。

なお、subgroup 解析として男女別に解析を行ったが、JPHC 研究で得られた詳細なデータ (図・表を含む) を公表する際、JPHC 運営委員会での承認が必要であり、論文発表後に公表できることになっている。そこで、ここではまだ報告できない。現在投稿準備中である。今後、原著論文が受理された後、改めて追加資料として原著を添付することとする。また、脳卒中のデータに関しては現在がんセンターにて解析中である。

表2 ベースラインにおける血中リン脂質脂肪酸組成

	症例 (n=209)	対照 (n=418)	P 値
トータル脂肪酸100とした場合の組成比			
飽和脂肪酸			
パルミチン酸	16:0	33.7 $\pm$ 2.6	33.3 $\pm$ 2.7 0.07
ステアリン酸	18:0	17.5 $\pm$ 1.8	17.7 $\pm$ 2.6 ns
一価不飽和脂肪酸			
パルミトレン酸	16:1n-7	0.41 $\pm$ 0.18	0.42 $\pm$ 0.24 ns
オレイン酸	18:1n-9	7.61 $\pm$ 1.28	7.74 $\pm$ 1.45 ns
n-6 多価不飽和脂肪酸			
リノール酸	18:2n-6	15.3 $\pm$ 3.7	15.4 $\pm$ 3.7 ns
アラキドン酸	20:4n-6(AA)	6.21 $\pm$ 1.37	6.32 $\pm$ 1.41 ns
n-3 多価不飽和脂肪酸			
エイコサペンタエン酸	20:5n-3(EPA)	2.59 $\pm$ 1.42	2.69 $\pm$ 1.48 ns
ドコサヘキサエン酸	22:6n-3(DHA)	6.64 $\pm$ 1.61	6.68 $\pm$ 1.68 ns
ドコサペンタエン酸	22:5n-3	0.80 $\pm$ 0.33	0.82 $\pm$ 0.35 ns
EPA/AA		0.44 $\pm$ 0.26	0.45 $\pm$ 0.27 ns

平均 $\pm$ 標準偏差  
ns: 有意差なし

5. 主な発表論文等 該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱崎智仁 (HAMAZAKI TOMOHITO)

富山大学・和漢医薬学総合研究所・教授

研究者番号： 70167592

(2) 研究分担者

岩崎 基 (IWASAKI MOTOKI)

国立癌センター・がん予防検診研究センター・室長

研究者番号： 60392338

(3) 連携研究者 該当なし