

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：30122

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23617022

研究課題名(和文) CD36欠損者の高糖質・低脂質食による代謝変化に関する研究

研究課題名(英文) High-carbohydrate, low-fat diet and metabolism in CD36-deficient individual

研究代表者

鈴木 純子 (Suzuki, Junko)

天使大学・看護栄養学部・准教授

研究者番号：20326614

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：生活習慣病患者205名を対象としCD36遺伝子型をPCR/RFLPにて解析し、exon4領域における変異(Pro90Ser)についてスクリーニングを行った。CD36欠損者は23名(男性9名、女性14名)であった。

CD36欠損者と非欠損者を対象とし、行動変容支援プログラムを応用した3か月間の高複合糖質・低脂質食介入による検討を行った。CD36欠損群(男性4名、女性3名)、非欠損群(男性13名、女性8名)の2群に分けて解析した結果、検査値と体組成データにおける有意差は見られなかった。この理由としては対象人数が少なく、統計解析上有意な結果とならなかった可能性も考えられた。

研究成果の概要(英文)：CD36 genetic mutation screening was conducted in 205 lifestyle-related diseases patients. The genetic analysis of CD36 was conducted using the previously-reported PCR-RFLP method targeting exon 4 (Pro 90 Ser). From the participants, 23 heterozygotes were identified (9 men and 14 women).

We investigated seven individuals with heterozygous deficiency for CD36 ("CD36-deficient group;" 4 men and 3 women) and twenty-one normal individuals ("normal group;" 13 men and 8 women). Both groups received dietary counseling throughout the 3-month low-fat diet program. There was no significant difference in the various parameters and body composition data. Why the statistical analysis does not become significant, were considered for target number is small.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：脂質代謝 脂肪酸トランスポーター 食事療法 インスリン抵抗性 低脂質食

1. 研究開始当初の背景

CD36 欠損マウスは投与栄養素の影響でインスリン感受性が変化することが明らかにされ、ヒトでの検討では、日本人若年健常者と CD36 欠損者の間で、安静時の血中の代謝学的パラメータに有意差はなかった。しかし、壮年期以降の者を対象とした検討で、CD36 欠損はインスリン抵抗性を生じ、高 TG 血症、高遊離脂肪酸血症、低 HDL-コレステロール血症を惹起すると報告されている。CD36 が食事と食後高脂血症やインスリン抵抗性との関係を決定する要因として重要であることは明らかである。しかし、ヒトの CD36 欠損とインスリン抵抗性については結果の異なる報告があり、その関連は不明である。これらの背反する結果は、加齢や異なる生活習慣の影響を反映している可能性があり、その関連を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

背景で述べたように、CD36 欠損は食事性因子の影響で代謝学的異常を惹起する可能性が示唆されている。しかし、生活習慣病に対する食事療法の研究において、遺伝的背景を踏まえての検討は報告がほとんどない。本研究では、特に高複合糖質・低脂質食の減量効果とインスリン感受性亢進の効果に着目し、これを継続的に摂取した場合の CD36 欠損者のインスリン感受性をはじめとする代謝変化と筋肉等の関係を検討する。これらの研究成果は、ヒトの CD36 欠損とインスリン抵抗性の関係を明らかにし、「個人差」を考慮した生活習慣病の予防と治療に役立つと考える。

3. 研究の方法

(1) CD36 の遺伝子変異スクリーニングと血中代謝パラメータ測定・身体計測・ライフスタイル調査

2 型糖尿病、耐糖能異常、脂質異常症、肥満症を有する患者で、かつ高複合糖質・低脂質食介入を行う上での健康上の問題を有しない研究協力者を診療所・病院と連携し募集する。約 200 名を対象に、CD36 の遺伝子スクリーニングを行なうと約 20 名のヘテロ欠損が抽出可能である。

<測定項目>

CD36 遺伝子の解析：CD36 の遺伝子多型 (Pro90Ser) を PCR-RFLP 法にて解析するカルテからの転記および測定項目

血液検査：血糖、IRI、TC、TG、HDL-C、LDL-C、総脂肪酸、EPA/AA 比など

身体計測：血圧、身長、体重、腹囲

実験参加者の食生活調査：BDHQ (簡易型自記式食事歴法質問票)

(2) 行動変容支援プログラムを応用した 3 ヶ月間の高複合糖質低脂質食介入

CD36 欠損群 20 名と正常対照群 20 名の 2 群を構成する。CD36 欠損者と正常対照に、高複合糖質・低脂質の食事を、各被験者が 3 ヶ月間継続できるように、栄養教育を行う。また、4 週間に 1 度食事摂取と健康行動変容の支援を行う。また、1 週間に 1 度電話を活用した健康行動支援も行う。介入前・後で食事調査を行い、その結果の評価も行う。

<被験者の介入前・後の検査及び調査項目>
体組成の評価：身長、体重、腹囲、インピーダンス法による体組成分析。

ライフスタイル調査：3 日間の食事記録調査、BDHQ (簡易型自記式食事歴法質問票)、身体活動量調査。

血液検査等

・血糖、IRI、HbA1c

・血清脂質：TC、TG、HDL-C、LDL-C、総脂肪酸、EPA/AA 比

・アディポカイン：レプチン、アディポネクチン

・血圧

4. 研究成果

(1) CD36 の遺伝子変異スクリーニングと血中代謝パラメータ測定・身体計測・ライフスタイル調査

スクリーニングの結果、対象者 205 名のうち CD36 欠損者はヘテロ欠損者 (欠損群) 22 名、ホモ欠損者 1 名の合計 23 名 (男性/女性 = 9/14、68.5 ± 7.9 歳)、非欠損者 (対照群) は 182 名 (男性/女性 = 78/104、65.8 ± 8.9 歳) であった。遺伝子頻度は 5.9% であり、健常ボランティアを対象とした先行研究の遺伝子頻度 4.7% と比較して、有意ではないが高率であった。このことから、CD36 欠損は生活習慣病のリスクファクターである可能性は否定できないと考えられた。

血液検査の結果では、有意ではないが HOMA-R は欠損群で 5.2 ± 6.2、対照群で 2.7 ± 2.1 であり、HbA1c は欠損群で 6.6 ± 1.4%、対照群で 6.6 ± 4.4% であった。eGFR は有意な差があり (p < 0.024) 欠損群で 62.6 ± 19.0 ml/min/1.73m²、対照群で 72.9 ± 21.0 ml/min/1.73m² であった。今回の結果では CD36 欠損とインスリン抵抗性の関連性は無いという結果であった。

食習慣調査から得られた結果からは、CD36 欠損群と対照群の間に栄養素における有意差はみられず、両群ともエネルギー摂取量は適正であったのに対し、脂質エネルギー比が高い傾向がみられた。

以上のように検査結果や食習慣調査に差がみられなかったという結果は、投薬と療養指導の効果により、疾患コントロールが両群ともに比較的良好に保たれていたことによる

という点も考慮する必要があると考えられた。

(2) 行動変容支援プログラムを応用した3ヵ月間の高複合糖質低脂質食介入

CD36 欠損のスクリーニングを終了した生活習慣病患者の CD36 ヘテロ欠損者と非欠損者を対象とし、行動変容支援プログラムを応用した3ヵ月間の高複合糖質・低脂質食介入による検討を行った。CD36 ヘテロ欠損者(欠損群)(男性4名、女性3名/平均年齢 \pm SD:67.5 \pm 7.1)、非欠損者(対照群)(男性13名、女性8名/平均年齢 \pm SD:69.6 \pm 9.7)の2群に分けて解析を行った。

摂取栄養量の結果はBDHQの値を用い、表1に示した。両群ともに介入前と比べ介入後にエネルギー摂取量と脂質エネルギー比が減少傾向を示したが、群間比較の結果有意な項目は無かった。また、各群の介入前後の変化についても有意な差は無かった。

表1. 摂取栄養量の介入前後比較

| 平均値 \pm 標準偏差 | 欠損群(n=7) | 対照群(n=21) |
|-----------------|--|----------------------------------|
| エネルギー摂取量 (kcal) | 介入前 1722 \pm 370 介入後 1629 \pm 503 | 1686 \pm 462 1654 \pm 501 |
| たんぱく質エネルギー比 (%) | 介入前 16.1 \pm 3.5 介入後 15.4 \pm 3.5 | 17.1 \pm 2.5 18.7 \pm 4.8 |
| 脂質エネルギー比 (%) | 介入前 26.1 \pm 7.8 介入後 22.8 \pm 6.1 | 25.7 \pm 5.5 22.7 \pm 8.4 |
| 炭水化物エネルギー比 (%) | 介入前 51.9 \pm 13.1 介入後 56.7 \pm 10.6 | 51.7 \pm 7.5 54.0 \pm 9.8 |
| 飽和脂肪酸エネルギー比 (%) | 介入前 6.9 \pm 2.1 介入後 6.0 \pm 1.6 | 7.2 \pm 2.6 6.7 \pm 2.1 |

体組成の結果を表2に示した。2群間の比較を介入前後の変化量で解析した結果、有意な差は無かった。介入前後の各群の変化としてはBMIが有意に低下し、欠損群では体脂肪量と体脂肪率が有意に低下した。

表2. 体組成の介入前後比較

| 平均値 \pm 標準偏差 | 欠損群(n=7) | 対照群(n=21) |
|--------------------------|--|----------------------------------|
| 体重 (kg) | 介入前 62.6 \pm 6.2 介入後 61.2 \pm 6.1 | 67.2 \pm 9.3 65.6 \pm 9.9 |
| BMI (kg/m ²) | 介入前 24.6 \pm 3.0 介入後 23.9 \pm 2.9 | 26.8 \pm 3.3 25.9 \pm 3.2 |
| 体脂肪量 (kg) | 介入前 19.8 \pm 6.3 介入後 18.7 \pm 6.3 | 24.5 \pm 6.5 23.0 \pm 6.5 |
| 体脂肪率 (%) | 介入前 31.1 \pm 7.4 介入後 30.1 \pm 7.6 | 36.3 \pm 7.3 34.8 \pm 6.7 |
| 筋肉量 (kg) | 介入前 40.4 \pm 2.6 介入後 40.1 \pm 2.3 | 40.3 \pm 6.4 40.2 \pm 6.0 |
| ミネラル量 (kg) | 介入前 2.9 \pm 0.2 介入後 2.9 \pm 0.2 | 2.9 \pm 0.4 2.9 \pm 0.4 |

* p < 0.05

血圧・生化学検査の結果を表3に示した。2群間の比較を介入前後の変化量で解析した結果、有意な差は無かった。介入前後の各群の変化としては両群ともにHbA1cが有意に低下した。その他、脂質パラメータは改善傾

向を示し、欠損群ではnonHDL-Cが有意に低下した。変化があまりなかったのは、血圧、IRI、HOMA-IR、遊離脂肪酸であった。

表3. 血圧・生化学検査の介入前後比較

| 平均値 \pm 標準偏差 | 欠損群(n=7) | 対照群(n=21) |
|---------------------|--|--|
| 収縮期血圧 (mmHg) | 介入前 147.9 \pm 26.2 介入後 149.6 \pm 15.2 | 149.9 \pm 13.8 153.6 \pm 25.2 |
| 拡張期血圧 (mmHg) | 介入前 83.0 \pm 10.2 介入後 77.1 \pm 6.9 | 77.0 \pm 10.5 76.8 \pm 11.0 |
| HbA1c (%) | 介入前 6.5 \pm 0.8 介入後 6.1 \pm 0.9 | 6.2 \pm 0.5 5.9 \pm 0.5 |
| IRI (μ U/ml) | 介入前 5.9 \pm 3.0 介入後 7.0 \pm 3.4 | 9.1 \pm 6.4 7.8 \pm 5.9 |
| HOMA-IR | 介入前 1.7 \pm 0.9 介入後 2.2 \pm 1.1 | 3.3 \pm 3.3 2.3 \pm 2.0 |
| 中性脂肪 (mg/dl) | 介入前 141.1 \pm 74.0 介入後 89.5 \pm 35.6 | 106.3 \pm 48.8 111.1 \pm 104.2 |
| 遊離脂肪酸 (μ Eq/l) | 介入前 452.8 \pm 192.2 介入後 413.6 \pm 318.7 | 453.6 \pm 227.4 564.4 \pm 280.6 |
| HDL-C (mg/dl) | 介入前 52.6 \pm 5.8 介入後 53.8 \pm 4.6 | 50.1 \pm 9.7 53.1 \pm 11.4 |
| LDL-C (mg/dl) | 介入前 129.1 \pm 34.8 介入後 103.5 \pm 30.8 | 110.2 \pm 19.8 105.7 \pm 19.6 |
| nonHDL-C (mg/dl) | 介入前 155.0 \pm 37.6 介入後 121.6 \pm 30.9 | 132.7 \pm 20.4 125.2 \pm 19.3 |

* p < 0.05

両群ともに介入の結果、摂取栄養量が減少傾向を示し、骨格筋の減少を伴わない、体脂肪の減少によるBMIの低下がみられた。これに伴い両群で糖質代謝の改善と欠損者で脂質代謝の改善がみられた。CD36欠損の表現型として、インスリン抵抗性、血中脂質高値というような特徴¹⁾が考えられたが、介入結果としてはCD36欠損者も非欠損者とほぼ同様の結果が得られ、このような傾向は見られなかった。ヒトのCD36遺伝子多型(Pro90Ser)における脂肪酸の取り込みについての詳細な検討において、ヘテロ欠損者は非欠損者と比べCD36の発現量は少ないが、脂肪酸の取り込み速度に差は無かったと報告されている²⁾。本研究では、CD36欠損の参加者は全員ヘテロ欠損者であったことから、代謝に与える影響が少なく、有意差として現れなかったことが考えられた。また、対象人数が少なかつたため統計解析上有意な結果とならなかつた可能性も考えられた。

(3) まとめ

CD36欠損と代謝の関連については不明な点が多く、今後更なる検討が必要であると考えられる。また、動脈硬化性疾患発症との関連を考慮すると長期的な観察も重要であると考えられる。今後、対象者を増やして研究を続ける予定である。また、脂質代謝に関連するパラメータを追加し、より詳細な検討を行う計画である。

<参考文献>

- 1) Masuda D et al, Chylomicron remnants are increased in the postprandial state in CD36 deficiency. J Lipid Res,

- 50:999-1011, 2009
2) Hames KC et al, Free fatty acid uptake in humans with CD36 deficiency. Diabetes, 63:3606-14, 2014

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

加倉彩音、CD36 欠損者の代謝に関する研究、第 9 回日本栄養改善学会北海道支部学術総会、2011 年 月 日、天使大学(北海道・札幌市)

方波見茉莉、CD36 欠損者の代謝に関する研究、第 10 回日本栄養改善学会北海道支部学術総会 2012 年 月 日、藤女子大学(北海道・札幌市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 純子(SUZUKI, Junko)
天使大学・看護栄養学部栄養学科・准教授
研究者番号：20326614

(2)研究分担者

斉藤 昌之(SAITO, Masayuki)
北海道大学・名誉教授
研究者番号：80036441

森谷 繁(MORIYA, Kiyoshi)
天使大学・看護栄養学部・その他
研究者番号：40000939

(3)連携研究者

千葉 仁志(CHIBA, Hitoshi)
北海道大学・大学院保健科学研究院・教授
研究者番号：70197600