

平成22年 6月 11日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19700606

研究課題名（和文） 爪遺伝子診断を利用する食育

研究課題名（英文） Effect of dietary education utilizing genetic diagnosis using DNA from nail clippings

研究代表者

山本 周美 (YAMAMOTO SHUUMI)

武庫川女子大学短期大学部・食生活学科・講師

研究者番号：60441234

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、爪遺伝子診断を利用することで食育の効果を高めることができるのかを明らかにすることである。今回は特に骨量獲得のための食育を実施するため、最大骨量に関与する因子の探索も同時に行った。結果、LRP5(rs376228)が最大骨量に関与する遺伝子多型の一つであること、運動経験の有無が骨量に影響することを明らかにした。遺伝子診断後に食育を実施したところ、自身の健康に対する意識が向上、食育の効果が上がった。従って、低侵襲性の爪を用いる遺伝子診断は、身体的負担をかけることなく、体質に対する意識を高める効果があり、食育を実施する際の新しいツールとして有用であると推察される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to clarify the effect of dietary education utilizing genetic diagnosis using DNA from nail clippings. Since we focused on the dietary education to increase the bone mass, we also tried to clarify the genetic and environmental factor that influences the peak bone mass. As a result, we find out that LRP5 (rs376228) is one of the polymorphisms that affects peak bone mass and exercise experience increases the bone mass. Given that the genetic diagnosis using DNA from nail clipping have a non-invasive benefit and raise the young people's awareness of their own health, it could be a useful tool for dietary education.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	2,100,000	270,000	2,370,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食育、遺伝子診断、遺伝子多型、最大骨量、骨粗鬆症、予防栄養、若年女性

## 1. 研究開始当初の背景

食育は小児や中高生など若年者を対象に実施されているが、若年者は成人に比べると

健康上の問題を抱えているものが少なく、食育を実施してもその効果は本人の健康に対する意識に依るところが大きい。そこで、近

年、生活習慣病予防において注目を集めている遺伝子診断を食育に活用できないかと考えた。これまでの研究で、低侵襲性の生物材料である爪から遺伝子を抽出し、遺伝子診断を可能にする技術を開発していたため、それを利用して食育を行うことを計画した。

今回は特に、「骨量アップのための食育」に焦点を絞った。骨粗鬆症は、QOLの低下および寝たきりの原因疾患の一つである。骨粗鬆症予防の重要な戦略の一つは、若年時においてできるだけ多くの骨量を獲得しておくことであり、食育の対象者と一致することから、食育の課題とした。

最大骨量を規定する要因は、食事や運動などの環境要因以上に、遺伝素因が重要である。将来の骨粗鬆症予防の観点から、骨へのカルシウム蓄積が最大になる若年時に、遺伝的に決定されている最大骨量に可能な限り到達することが望まれる。環境要因はライフスタイルを変えることによりコントロールすることができるが、遺伝要因をコントロールすることは現時点では不可能である。しかし、遺伝要因の解析を行い、骨粗鬆症のリスク診断が可能となれば、食育を通じての介入が可能となり、効果的な予防が可能となる。

## 2. 研究の目的

本研究は、(1) 骨量に関連する遺伝子の多型判定、(2) 超音波による骨密度測定、(3) 栄養摂取状況に関する調査を行い、これらの交互作用を検討し、それらを活かした食育の効果を明らかにすることが目的である。

更に、骨量に関連する遺伝子は多数あるが、人種差、性差があり、骨量を規定する決定的なものはまだ報告されていないことから、日本人女性の骨量の指標となる遺伝子多型を見出したい。

## 3. 研究の方法

### (1) 爪を用いる遺伝子多型解析

- ・実施前に必ず被験者にインフォームドコンセントを行い、同意書を交わした。

- ・被験者に爪を切ってもらい、対面で試料の提供を受けた。

- ・採取した爪からゲノムDNAを抽出し、骨粗鬆症に関連する遺伝子多型をTaqMan-PCR法を用いて判定した。

### (2) 栄養摂取状況調査

- ・自作アンケートを用いて、骨量に関連する栄養摂取状況と生活習慣を調査した。

### (3) 骨量評価

- ・超音波法 (ALOKA社製 AOS-100) を用いて踵骨音響的骨量評価を測定し、年齢に応じた充足率を出した。

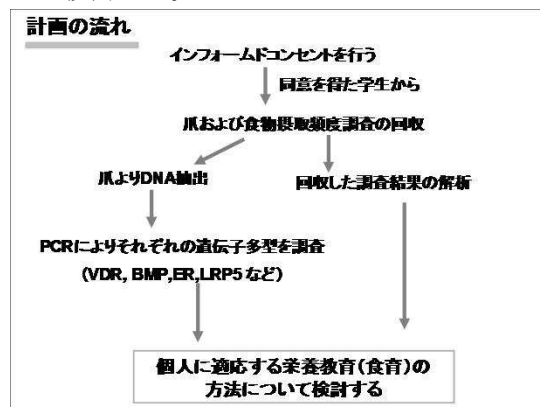
### (4) 交互作用の解析

- ・統計解析ソフト SPSS ver.17.0 を用いて、遺伝因子、食事・運動などの環境因子と現在の骨量との関連性を統計的に解析した。

### (5) 介入方法の検討と介入

- ・遺伝子診断の結果に基づいて、個人に必要な食育の方法を検討し、実施した。

- ・遺伝子診断結果を受けてからの被験者の意識や食育への態度がどのように変化するのかが検討した。



## 4. 研究成果

### (1) 爪遺伝子診断の効率化

爪遺伝子診断を正確かつ迅速に行うためには、爪ケラチンを効率よく分解し、ゲノムDNAを安定して取り出すことが重要である。研究を効率良く進めるため、爪ケラチン分解酵素の探索を行った。結果、爪ケラチンに作用するプロテアーゼをメロン由来抽出物中より新規に見出した。この酵素は、爪ケラチンからのDNA抽出法に用いると、DNA抽出効率を約3.6倍高めることができた(図1)。従来、爪組織は硬く消化が困難であるが故に、DNA抽出源として利用が難しかったが、今回の新規酵素によりその利用性を飛躍的に高めた。以降の研究では、本酵素を使用して爪遺伝子診断を行った。

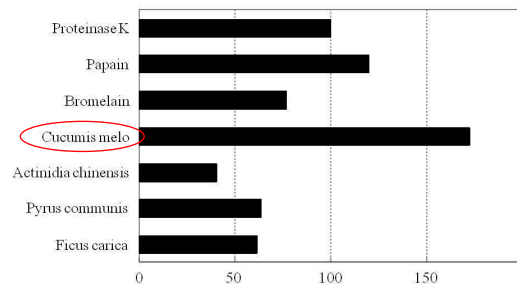


図1: ケラチン分解効率の比較  
(プロテアーゼ K を 100 としたときの相対的分解率)

## (2) 遺伝子多型解析と最大骨量関連遺伝子多型の探索

日本人の若年女性における最大骨量関連遺伝子多型については報告が少ないため、遺伝子多型の探索を行った。

対象は武庫川女子大学の食物栄養学科に通う学生 257 名とし、爪のサンプリング、骨評価値の測定、食生活に関するアンケート調査を行った。採取した爪より、ゲノム DNA を抽出し、TaqMan-PCR 法にて遺伝子多型の判定を行った。調べた遺伝子多型は、エストロゲン受容体 (ESR) 存在下の rs9340799 (ESRX) と rs2234693 (ESRP)、LDL 受容体関連タンパク 5 (LRP5) rs376228、I 型コラーゲン rs1800012 (CLA1) の 4 種類であった。骨量は超音波骨評価装置を用いて測定した。

結果、LRP5 (rs376228) において最大骨量との関連を見出した (図 2)。すなわち、LRP5 の遺伝子多型のタイプが TT である場合、骨評価値は  $2.747 \pm 0.278$  と最も高かった (n=95)。逆に、CC である場合は、 $2.642 \pm 0.754$  と最も低く (n=113)、ヘテロ型の TC はその中間の値を示した (n=49)。

このデータから、LRP5 (rs376228) は日本人の若年女性の最大骨量に關与する遺伝子多型の一つであることが明らかとなった。

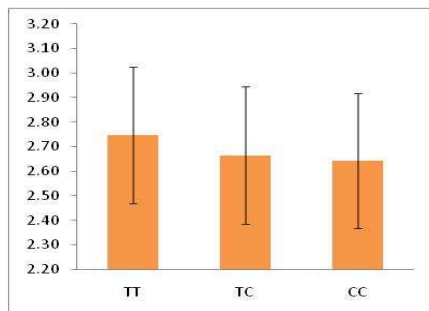


図 2 : LRP 遺伝子多型と骨評価値

## (3) 骨量に影響する環境因子の探索

骨量は遺伝因子だけでなく、環境因子も影響する。そこで、食生活アンケートを実施し、環境因子の探索を試みた。具体的には、カルシウムやビタミン D などの骨形成に必要な栄養素摂取量や、食事バランス、運動経験の有無、歩行時間など 30 項目について回答してもらった。

予想と異なり、カルシウムを含む牛乳、乳製品は骨量にほとんど影響していなかった。アンケート項目の回答の差異で骨量に影響があったのは、思春期の運動経験の有無であった (図 3)。思春期に部活動で積極的に運動していた者は、骨評価値が最も高く、全く

していない者に比べて骨量が 5% 多くなっていた。また、データには示していないが、大学生になったいま現在も運動を継続している者や、習慣的に歩行運動している者はそうでない者に比べて骨評価値が高い傾向にあった。今回の結果から、最大骨量は骨に物理学的刺激を与える運動習慣の有無が骨量の大小に影響することが示唆された。特に、成長期である思春期に運動することは骨量増加につながることを示された。

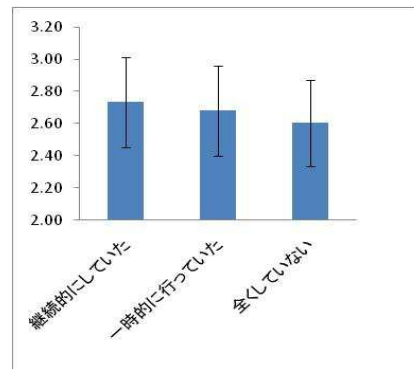


図 3 : 思春期の運動経験の有無と骨評価値

## (4) 遺伝子判定結果の還元と食育

遺伝子多型判定結果は、文書により被験者にフィードバックし、その後リーフレットによる食育を行った。遺伝子多型の判定結果を見た被験者は、自身の体質に対する意識が高まり、骨量増加のためにすべき食事や運動について強い関心を示した。

このことから、遺伝子診断は食育に臨む前段階の意識づくりという点に於いて有効であった。特に、若年層は自ずから健康であるため、中高年層に比較して自身の健康に対する意識が低い傾向にある。しかし、遺伝子診断という書き換えることのできない「体質」を認識することで、将来起こりえるかもしれないものを「予防したい」という動機づけができ、効果的な食育を行うことが可能となったと考えられる。

## (5) 総括

以上の結果より、爪という侵襲性の低い材料を用いた遺伝子診断は被験者に身体的負担をかけることなく、体質に対する意識、生活習慣に対する認識を高める効果があり、食育を実施する際の新しいツールとして有用であると推察される。一方で、遺伝子診断は将来の疾病に対する過剰な危機感を抱かせる一面もあるため、一定の年齢に達した者に実施すべきと考えられる。

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) Yoshida-Yamamoto S et al.

論文標題: Efficient DNA Extraction from Nail Clippings Using the Protease Solution from Cucumis melo.

雑誌名: Molecular Biotechnology

査読の有無: 有

巻: Epub ahead of print

発行年: 2010 年

(2) Sato Y et al.

論文標題: An N-glycosylation site on the beta-propeller domain of the integrin alpha5 subunit plays key roles in both its function and site-specific modification by beta

1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III.

雑誌名: Journal of Biological chemistry

査読の有無: 有

巻: 284

発行年: 2009 年

ページ: 11873-11881

[学会発表] (計 3 件)

(1) 発表者: 山本周美

発表表題: 母体・胎児のトランス脂肪酸解析

学会名: 日本小児栄養研究会

発表年月日: 2010 年 3 月 6 日

発表場所: 京都大学医学部 芝蘭会館

(2) 発表者: 山本周美

発表演題: メロン由来プロテアーゼを用いる効率的 DNA 抽出方法の確立

学会名: 第 14 回日本食品化学学会総会・学術大会

発表年月日: 2009 年 5 月 30 日

発表場所: 武庫川女子大学

(3) 発表者: 吉田周美

発表表題: 爪遺伝子診断による若年女性への食育

学会名: 日本栄養食糧学会 60 周年記念シンポジウム

発表年月日: 2007 年 5 月 19 日

発表場所: 京都国際会館

[図書] (計 2 件)

(1) 田中敬子他

出版社: 朝倉書店

書名: 栄養教育論

発行年: 2010 年

総ページ数: 149 ページ (p37~42、87-91、

118~125)

(2) 吉田周美他

出版社: 建帛社

書名: 栄養学研究の最前線

発行年: 2008 年

総ページ数: 203 ページ (p191~198)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 周美 (YAMAMOTO SHUUMI)

武庫川女子大学短期大学部・

食生活学科・講師

研究者番号: 6 0 4 4 1 2 3 4

\* 文書内における「吉田周美」の表記は、「山本周美」の旧姓です。