

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 13 日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350177

研究課題名(和文) 食行動と食嗜好を規定するグレリン遺伝子多型に於ける、食欲発現機構の疫学解析

研究課題名(英文) Appetite and dietary tendency: preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese

研究代表者

山田 晃一 (Yamada, Kouichi)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・健康増進研究部・上級研究員

研究者番号：00182527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：食欲を亢進するペプチドホルモンのグレリンは、主に胃で産生されるが、視床下部や辺縁系に作用して、食行動、食嗜好を規定する事が動物実験から示唆されている。私達もグレリン遺伝子多型が少数型ホモの肥満女性(約10%存在)に於いて、食事摂取量、エネルギー摂取量(肥満女性平均の約82%の値で、これは正常体重の女性並み)、脂質、肉類の摂取量などが少ない事から、彼女らが意外にも「小食」で食欲そのものも乏しく、蛋白質や脂質をあまり好まない事を明らかにした。私達は本研究で、彼女らの食べ物の絵に対する反応性が低いかを実際に光トポグラフィ(fNIRS)を用い測定。また彼女らは空腹時の総グレリン量が有意に少なかった。

研究成果の概要(英文)：Preproghrelin gene SNPs are possible predisposing factors to obesity and other metabolic syndromes. To study the correlation between genotypes and obesity, we recruited 117 obese Japanese women. Minor homozygotes for 5 preproghrelin gene SNPs indicated significant correlation with dietary tendency. Total food intake, sugar, and dairy product intake were low in +3056C/C women. Their energy, protein, fat, and meat intake was also low. Energy balance calculation showed considerably reduced fat and protein consumption. Thus, surprisingly, it was revealed that minor homozygotes for preproghrelin gene SNPs were light eaters, did not prefer fat or protein, and apparently had a poor appetite, although they were predisposed to obesity. In this study, using fNIRS and foods cues, we analysed their appetite. Total ghrelin was also determined, and their values were significantly reduced.

研究分野：遺伝子疫学

キーワード：食行動 食欲 遺伝子多型 食嗜好 脳機能

1. 研究開始当初の背景

ヒトや実験動物に投与すると、実際に摂食が亢進されるグレリン、その遺伝子多型が生活習慣病、特に肥満に影響することは容易に予想できる。実際、グレリン多型と生活習慣病に罹りやすさの関連について非常に多くの報告があるが、研究者間で必ずしもコンセンサスは得られていない (Pulkkinen et al. 2010 など)。

私達は長野県佐久市佐久総合病院の人間ドック受診者から肥満治療介入研究 (SCOP) に参加した 235 人の肥満患者 (BMI > 28.3) を対象とした「佐久肥満克服コホート」において、(プレプロ)グレリン遺伝子の 5 多型 (-1500C > G (rs3755777), -1062G > C (rs26311), -994C > T (rs26312), Leu72Met (rs696217), +3056T > C (rs2075356)) を解析し、BMI、体脂肪率、その他の臨床的及び生化学的指標との関係を統計的に研究した。+3056C/C 型の男性は空腹時血糖値が高いなど糖尿病になりやすい所見があり、また -1062C/C 型、或いは 72Met/Met 型の女性では BMI や CT で計測した総脂肪面積、腹腔内脂肪面積率が高く、肥満傾向があった。

グレリン少数型ホモの女性 (約 10% 存在) の血中の総コレステロール値などは有意に低く、グレリンが血中脂質濃度を下げて、脂肪を主に腹腔内に蓄積させていると考えられる (Takezawa, Yamada et al. *Obes. Res. Clin. Prac.* 2009)。

2. 研究の目的

食欲を増進させ、成長ホルモン分泌を促す (プレプロ)グレリンの遺伝子多型は、上記の様に肥満や糖尿病になりやすさに影響する可能性がある。私達は更にプレプログレリン遺伝子多型について解析を行い、少数型ホモの肥満女性は、特に肥満しやすいにもかかわらず、意外にも「小食」で、明らかに食欲が乏しく、また、以下の特徴的な嗜好を持つことを明らかにした。

まず、自記式食事歴質問表 (DHQ) で食事を調べると、+3056C/C 型の女性は、食事摂取重量が有意に少なく、エネルギー、蛋白質、脂質、炭水化物の摂取量も少ない傾向があり、小食であった (標準体重女性並み)。

そして、菓子や砂糖類の摂取量が少なく、甘みを特別に好まない点も顕著であった。三大栄養素のカロリー比率を見ると、+3056T/T 型や T/C 型に比べて脂質や蛋白質の比率が低かった。私達は、彼女らのグレリンの発現量が少ないと推測している。

さらに、坂田式食行動アンケートを用いて C/C 型の女性の食行動を調べると、「食動機」と「代理摂食」、「甘いものに目がない」のスコアが有意に低かった。これらの結果から、プレプログレリン遺伝子多型によって食欲の感じ方が異なっている可能性がある。

本研究では、以下の調査分析を行い、グ

レリンの遺伝子多型が少数型ホモの肥満女性からは『なぜ「小食」なのか』、更には、『なぜ「小食」なのに肥満しやすいのか』を解明したいと考えた。

グレリンの遺伝子多型が少数型ホモの、正常体重や痩身の女性でも肥満女性と同じ傾向があるか

私達は少数型ホモの肥満女性では空腹時のグレリン量がやや少ないと予想しているが、実際に少ないか (正常体重者や痩身者ではどうか)

少数型ホモの肥満女性では食べ物の絵や匂いに対する反応性が実際に低いか (光トポグラフィ (fNIRS) による脳機能解析)

グレリン遺伝子の下流の摂食亢進遺伝子の多型でも同様の表現型になるか

3. 研究の方法

1. コホートの設定と介入研究 (佐久肥満克服コホート)

佐久総合病院において人間ドック検診を受けた受診者の中から、BMI 値 28.3 以上の介入研究参加者 235 名 (男性、118 名、女性、117 名) を募り、対象としている。この中から、グレリン遺伝子多型が少数型ホモの肥満女性 16 名を含む 60 名の肥満女性に「脳機能解析研究への参加お願い」を郵送し、10 名からインフォームドコンセントを得た。

2. データベースの作成

介入研究参加者の、介入研究開始時、及び開始 1~3 年後のデータから、身体測定や血液検査等の結果 (身体測定値、CT で測定した腹腔内脂肪面積、糖負荷試験結果、血液生化学検査結果、尿検査結果、アディポネクチン等測定値、エネルギー代謝測定値や運動量、食事量等調査結果等) を得て、データベースを作成している。

3. 遺伝子多型解析

全血からの DNA 精製はキアゲン社の QIAamp DNA blood kit を用いて行った。これらの DNA をサンプルとして、肥満及び糖尿病・高血圧・高脂血症関連遺伝子の多型を解析中である。検出の方法は PCR-RFLP 法を用い、DNA band の検出は、島津製作所 MultiNA により、マイクロチップ電気泳動法にて行っている。現在迄に 27 遺伝子 50 多型の解析が終了している。

4. 光トポグラフィ (fNIRS) による脳機能解析

スクリーンに投影された 1) 食欲増進画像、2) 食欲減退画像、3) 風景画像を被験者に交互に見せ、LABNIRS (島津製作所) を用いて、脳血管内のヘモグロビン濃度を測定することにより、脳賦活を計測した (測定部位: 前頭前野、左右唾液腺付近、チャンネル数: 全 53 チャンネル)。

5. データ・マネジメント

解析は、SPSS データベースを作成して、遺伝子型と、介入開始時のデータ、及び開始 1~3 年後の差との相関を解析する。食事、各

栄養素、栄養成分の摂取量は DHQ (Diet History Questionnaire) から、食行動の傾向は坂田式食行動アンケートからデータを得、SPSS を用いて相関を検出した。

6 . 対象者の人権と利益保護への配慮
「佐久健康長寿コホート」, 「佐久肥満克服コホート」, 両コホート共に、国立健康・栄養研究所の倫理委員会および佐久総合病院倫理委員会の審査を受け、既に承認済みであり、また「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して行っている。

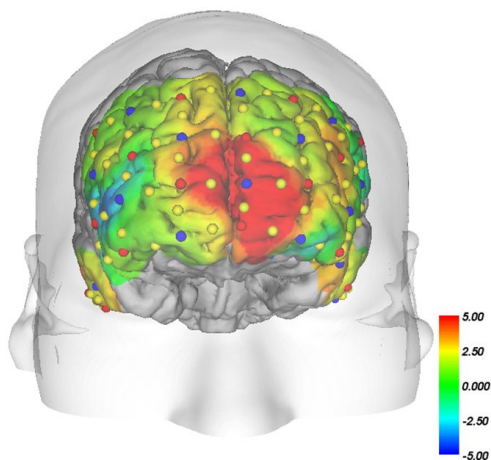
4 . 研究成果

グレリンの遺伝子多型が少数型ホモの、正常体重の女性でも肥満女性と同じ傾向があるかについては、佐久健康長寿プログラムの正常体重女性について、+3056T>C (rs2075356)多型を解析した。C/C型の正常体重女性は、体脂肪率とBMIの平均値は高いものの、有意ではなかった。

少数型ホモの肥満女性の空腹時グレリン量の測定 保存血より、三菱化学ヤマトロン社のELISAキットを用いてデス・アシルグレリン量を測定し、+3056T>CのCアリル保持者は、実際に血中グレリン量が少ないという結果を得た (T/C + C/C, n=44, 32.61±11.9 fmol/ml; T/T, n=27, 42.65±24.2 fmol/ml; p=0.052)。

少数型ホモの肥満女性の、食べ物の絵や匂いに対する反応性(食欲)の測定 神奈川工科大のfNIRS(光トポグラフィ)を用いて、まず、学生等(6名)で予備実験を行った。測定に当たっては頭部全面をプローブで覆う必要は無く、前頭部分にのみ装着すれば測定できるが、反応の微妙な程度差を捉えるためには、被験者の空腹の程度を出来るだけ揃える事が重要と考えられる。

LABNIRSによる食欲亢進画像



LABNIRS(島津製作所)を用いて、佐久肥満克服コホートの肥満女性(10名)について食欲求の測定を行った。食品画像(或いは風

景画像)を見せることにより、食欲求度が高いと前頭葉が賦活され、背外側前頭前野及び前頭極において、先行研究の若年者データと比較して高い、血流の亢進が見られた(前図の赤色部分)。

現在更に解析中であり、さらに測定を行なって、グレリン遺伝子多型に特徴的な所見を得たいと考える。

摂食関連遺伝子のレプチン、PYY、GOATの多型を解析したが、グレリンと類似の表現型ではなかった。PYY遺伝子多型が少数型ホモの肥満女性はエネルギー、蛋白質、脂質の摂取量が多い傾向にあり、また肉類のそれは有意に多かった(肉類の摂取量; PYY_rs1057046; G/G, n=57, 49.87±42.69 g; G/C, n=47, 47.25±31.88 g; C/C, n=14, 88.44±60.90 g; p=0.004)。また彼女らは糖尿病所見(HbA1c値、OGTT値等)と顕著な相関あり。

グレリン+3056T>CがCC型の肥満男性の食嗜好調査 彼らは「小食」ではなく、特別な肥満傾向も無いが、アルコール摂取量が多い傾向にあり、ビタミンDと魚介類の摂取量が有意に多い。同様の傾向が-1062G>C等でも見られ(酒類の摂取量; G/G, n=41, 368.6±409.4 g; G/C, n=49, 241.3±57.0 g; C/C, n=25, 418.5±622.8 g; p=0.056)、グレリンは菓子や酒等の「快楽的」食嗜好を助長すると言われるが、この少数型ホモの男性の「酒好き」はそれと一致した。

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)

Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese women. Minor homozygotes are light eaters, do not prefer protein or fat, and apparently have a poor appetite. Takezawa J, Yamada K, Miyachi M, Morita A, Aiba N, Sasaki S, Watanabe S; Saku Cohort Study Group. *Appetite* 2013;63: 105-111. doi: 10.1016/j.appet.2012.12.006 (査読有)

Low-molecular-weight adiponectin and high-molecular-weight adiponectin levels in relation to diabetes. Goto M, Goto A, Morita A, Deura K, Sasaki S, Aiba N, Shimbo T, Terauchi Y, Miyachi M, Noda M, Watanabe S; Saku Cohort Study Group. *Obesity (Silver Spring)*. 2014;22:401-7. doi: 10.1002/oby.20553. (査読有)

The POLD3 subunit of DNA polymerase δ can promote translesion synthesis independently of DNA polymerase ζ . Hirota K, Yoshikiyo K, Guilbaud G, Tsurimoto T, Murai J, Tsuda M, Phillips LG, Narita T,

Nishihara K, Kobayashi K, Yamada K, Nakamura J, Pommier Y, Lehmann A, Sale JE, Takeda S. Nucleic Acids Res. 2015;43:1671-83. doi: 10.1093/nar/gk v023 (査読有)

[学会発表](計 2件)

竹澤 純、山田 優香、山田 晃一、森田 明美、高尾 秀伸、饗場 直美、渡邊 昌、日本人肥満女性に於けるプレプログレリン遺伝子多型：食欲と食事傾向について、第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸国際展示場(神戸)

田原 諒人、橘 秀貴、朝川 菜月、七戸 遥、高尾 秀伸、饗場 直美、体型が味覚に及ぼす影響の検討-肥満判定基準の違いに着目して-、日本人間工学会第 24 回システム大会、2016 年 3 月、早稲田大学(東京)

6. 研究組織

(1)研究代表者

山田 晃一 (Yamada, kouichi)
独立行政法人国立健康・栄養研究所
健康増進研究部 上級研究員
研究者番号：00182527

(2)研究分担者

饗場 直美 (Aiba, Naomi)
神奈川工科大学 応用バイオ科学部
教授
研究者番号：50199220

(3)研究分担者

森田 明美 (Morita, Akemi)
甲子園大学 栄養学部 教授
研究者番号：40262638

(4)研究分担者

宮地 元彦 (Miyachi, Motohiko)
独立行政法人国立健康・栄養研究所
健康増進研究部 部長
研究者番号：60229870

(5)連携研究者

渡邊 昌 (Watanabe, Shou)
独立行政法人国立健康・栄養研究所
栄養疫学研究部 客員研究員
研究者番号：60051637

(6)研究協力者

竹澤 純 (Takezawa, Jun)
独立行政法人国立健康・栄養研究所
健康増進研究部 協力研究員