

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年 5月 2日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04787

研究課題名(和文) 地域コホートにおけるポストゲノミック分子栄養学を応用した予防医学的研究

研究課題名(英文) Preventive study applying post-genomic molecular nutrition in regional cohort

研究代表者

牟礼 佳苗 (Mure, Kanae)

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90268491

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：栄養素の効果が特定の遺伝子型により異なることをニュートリジェネティクスと言ふ。この概念を地域住民コホートへと応用し、酸化ストレス・内皮機能障害に関するシグナル経路の構成因子の遺伝子型について解析した。アルコール代謝関連遺伝子型が飲酒と動脈硬化指標や感受性などとの関連に影響を及ぼす結果を得、また、血管内皮型一酸化窒素合成酵素の遺伝子型が、塩分摂取と血圧との関連に有意な影響を及ぼす結果を得た。

研究成果の概要(英文)：Nutrigenetics is defined as the effect of genetic variation on dietary response and the role of nutrients. This study has aimed to apply this method to the residential cohort (3,000 participants). The components of oxidative stress and endothelial dysfunction signal were analyzed to clarify the effects on atherosclerotic markers, such as brachial pulse wave velocity, ankle brachial index, augmentation index, carotid intima-media thickness, blood pressure, and serum lipid profiles. There were significant differences among genotypes of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the effects on the association between alcohol drinking and atherosclerotic markers. Genotypes of endothelial nitric oxide also showed significant effects on the association between salt intake and blood pressure.

研究分野：分子予防医学

キーワード：ニュートリジェネティクス 遺伝子多型 動脈硬化指標

1. 研究開始当初の背景

近年、食と健康について改めて注目される中、いわゆる健康食品、サプリメント市場の拡大も著しい。中には、健康被害を伴うものも報告されており、安全で効果的な方法の確立は重要である。

食品に含まれる栄養素や食品由来物質について、例えばがん抑制遺伝子の発現を上昇させるなどの効果が報告されている一方、特定の遺伝子の型によって栄養素の効果が異なることも報告されており、前者をニュートリジェノミクス、後者をニュートリジェネティクスという。

申請者は、超高齢化社会において、加齢に伴う疾患である動脈硬化症・心血管疾患・がん・認知症等の早期予知および予防法の確立は重要な課題と考え、共通発症基盤である酸化ストレスと内皮機能障害に重点を置いて研究を進めている。食によるこれらの疾患の予防には、ニュートリジェノミクス、ニュートリジェネティクス研究が重要であると考え、地域住民コホートへの応用について検討した。

2. 研究の目的

本研究は、地域住民コホート約3,000人を対象に、以下に挙げる目的について行った。動脈硬化症・心血管疾患・がん・認知症等の共通発症基盤である酸化ストレスと内皮機能障害に重点を置き、酸化ストレス・内皮機能・炎症に重要な転写因子である nuclear factor- $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) および nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2)、さらに phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt 経路を標的のシグナル経路とした。

目的：上記シグナル経路構成因子の遺伝子多型解析を行い、遺伝子間の相互作用が酸化ストレス・内皮機能マーカーへ及ぼす影響について明らかにする。

目的：上記シグナル経路構成因子の遺伝子発現を定量解析し、関連性を明らかにする。

目的：加齢に伴う疾患に対して抑制的に作用することが報告されている食品を中心に詳細な摂取頻度調査を実施し、目的で明らかにした遺伝子群について、ニュートリジェネティクス・ニュートリジェノミクス解析を行い、作用機序を明らかにする。

3. 研究の方法

対象者は、和歌山県紀南地域において、平成26～28年に実施された動脈硬化健診を受診し、同意を得た約3,000人(65歳以上約650人、75歳以上後期高齢者約600人を含む)とした。以下に挙げる各指標について測定し、解析した。

非侵襲性動脈硬化指標

脈波伝播速度 (brachial pulse wave velocity, baPWV)、足関節上腕血圧比 (ankle brachial index, ABI)、脈波増大係数

(augmentation index, AIx)、頸動脈内膜中膜複合体厚 (carotid intima-media thickness, CIMT)、脈圧 (pulse pressure, PP)

血中・尿中指標

血中脂質 (HDL-C、LDL-C、中性脂肪、総コレステロール)、糖代謝 (空腹時血糖、HbA1c、HOMA-R)、血圧、高感度CRP、尿中アルブミン等

バイオマーカー

- ・酸化ストレスマーカー：8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub> (8-PGF<sub>2</sub>)、4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) 等
- ・内皮機能マーカー：soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 (sLOX-1)、lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> (Lp-PLA<sub>2</sub>) 等

遺伝子型解析

TaqMan Sample-to-SNP (Thermo Fisher Scientific社、東京)を用いてDNAを抽出し、TaqMan AssayによりリアルタイムPCRを用いて、以下の酸化ストレス及び内皮機能に関連する遺伝子多型を中心に解析した。

Gene	rs	Assay ID
NOS3	rs2070744	C_15903863_10
	rs1799983	C_3219460_20
PPARG	rs1801282	C_1129864_10
	rs3856806	C_11922961_30
PLA2G7	rs76863441	C_11915291_20
PON1	rs662	C_2548962_20
OLR1	rs1050286	C_7433809_30

表中の略号は、NOS3 (nitric oxide synthase 3)、PPARG (peroxisome proliferator activated receptor gamma)、PLA2G7 (phospholipase A<sub>2</sub> group VII)、PON1 (paraoxonase 1)、OLR1 (oxidized low density lipoprotein receptor 1) である。

調査項目

- ・食品摂取頻度調査：簡易型自記式食事歴法質問票 (Brief-type self-administered Diet History Questionnaire: BDHQ) を実施し、食品摂取量 (50種類) および栄養素 (30種類) についてのデータを得た。
- ・その他、疫学研究で加齢に伴う疾患に対して抑制的に作用することが報告されており、細胞・動物レベルで酸化ストレス・内皮機能障害に対するニュートリジェノミクス研究の報告がある多価不飽和脂肪酸 (魚等)、一価不飽和脂肪酸 (オリーブオイル・ナッツ等)、ポリフェノール (ブドウ等)、カロテノイド (トマト等) の他、コーヒー、ヨーグルト等について重点的に解析するが、他の食品 (栄養素) についても質問紙を用いてデ

ータを得た。

#### 4. 研究成果

標的としたシグナル経路の構成分子の遺伝子型について、まず血圧や非侵襲性動脈硬化指標との関連について解析した。その結果、血管内皮型一酸化窒素合成酵素 (NOS3) の遺伝子多型の内、プロモーター領域の T-786C 多型において、動脈硬化指標に与える影響が、男女及び年齢層で異なる結果を得た。すなわち、女性においては、65 歳未満では TT 型が AIx で、65 歳以上では baPWV で、C アレル保有者に比して有意に低値を示した。男性では TT 型が nonHDL-C が C アレル保有者に比して有意に高値を示した (Hashimoto et al., 2016)。

また、核内受容体スーパーファミリーに属する転写因子であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体  $\alpha$  (PPARG) の多型の内、C125G 多型及び C1431T 多型も、男女及び年齢層によって動脈硬化指標に与える影響が異なる結果を得た。すなわち、75 歳以上の女性では、C125G 多型の C アレル保有者が有意に baPWV 高値を示し、75 歳未満の女性では CC 型で有意に LDL-C/HDL-C 比高値を示した。75 歳以上の男性では、CC 型が有意に中性脂肪高値を示し、75 歳未満の男性では T アレル保有者で有意に総コレステロール高値を示した。

ニュートリジェネティクス研究として、アルコール代謝関連遺伝子型が飲酒と健康との関連に与える影響を調べた結果、アルコール代謝酵素である ADH1B の遺伝子多型が、高齢者でより強い影響を与えており、アルデヒド脱水素酵素である ALDH2 の遺伝子多型は年齢に関わらず感受性や問題飲酒行動に影響を及ぼしていた (Hashimoto et al., 2016)。

さらに、NOS3 の G894T 多型において、男性では GG 型において収縮期血圧および脈圧で有意な塩分摂取の影響が見られたが、T アレル保有者及び女性では、有意な影響は見られなかった。

また、抗酸化酵素であるパラオキシナーゼ (PON1) の Q192R 多型では、不飽和脂肪酸のうち、一価不飽和脂肪酸の好ましい影響は、男性の QQ 型の HDL-C 値、RR 型の ABI 値に見られたが、QR 型の総コレステロール値や LDL-C 値ではむしろ逆の影響が見られた。女性では QR 型の LDL-C 値に好ましい影響が見られたが、QQ 型の baPWV 値ではむしろ逆の影響を示した。一方、多価不飽和脂肪酸の好ましい影響は、男性の QR 型の中性脂肪値で観られたが、QQ 型の HDL-C 値や QR 型の総コレステロール及び LDL-C 値ではむしろ逆の影響を示した。女性では、QQ 型の baPWV 値及び QR 型の cIMT 値において好ましい影響が見られる等、遺伝子型の影響が、男女、また指標によって異なる結果を得た。

一方、酸化ストレスや血管内皮マーカーと

の関連について調べた結果、リン脂質の酸化ストレスマーカーである 8-PGF2 において、糖代謝指標などのメタボリックシンドロームリスクと有意な関連が見られた (Mure et al., 2015)。前述の PPARG の C125G 多型が、75 歳未満の男性でのみ有意な関連を示した。一方、血管内皮機能障害を引き起こす酸化 LDL の受容体である lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) の可溶性の sLOX-1 活性については、OLR-1 遺伝子型によって活性が異なる結果を得た。

各遺伝子型の組み合わせ、更なる栄養素との関連解析、またバイオマーカーとの関連については、現在も解析中である。

#### 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 11 件)

Nagano S, Takahashi M, Miyai N, Oka M, Utsumi M, Shiba M, Mure K, Takeshita T, Arita M. Association of serum uric acid with subsequent arterial stiffness and renal function in normotensive subjects. *Hypertens Res*, 査読有, 2017, 40: 620-624. doi: 10.1038/hr.2017.10. Epub 2017 Feb 16. Oka M, Yamamoto M, Mure K, Takeshita T, Arita M. Relationships between Lifestyle, Living Environments, and Incidence of Hypertension in Japan (in Men): Based on Participant's Data from the Nationwide Medical Check-Up. *PLoS One*, 査読有, 2016, 11: e0165313. doi: 10.1371/journal.pone.0165313, eCollection 2016.

Hirata C, Miyai N, Idoue A, Utsumi M, Hattori S, Iwahara A, Uematsu Y, Shiba M, Arita M. Effect of metabolic syndrome components and their clustering on carotid atherosclerosis in a sample of the general Japanese population. *Hypertens Res*, 査読有, 2016, 39: 362-6. doi: 10.1038/hr.2015.152.1.

Hashimoto M, Miyai N, Hattori S, Iwahara A, Utsumi M, Arita M, Takeshita T. Age and gender differences in the influences of eNOS T-786C polymorphism on arteriosclerotic parameters in general population in Japan. *Environ Health Prev Med*, 2016, 21: 274-82. doi: 10.1007/s12199-016-0527-1.

Hashimoto M, Watanabe M, Uematsu Y, Hattori S, Miyai N, Utsumi M, Oka M, Hayashida M, Kinoshita K, Arita M, Takeshita T. Relationships of alcohol

dehydrogenase 1B (ADH1B) and aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) genotypes with alcohol sensitivity, drinking behavior and problem drinking in Japanese older men. *Environ Health Prev Med*, 2016, 21: 138-48. doi: 10.1007/s12199-016-0507-5.

Ito K, Iwane M, Miyai N, Uchikawa Y, Mugitani K, Mohara O, Shiba M, Arita M. Exaggerated exercise blood pressure response in middle-aged men as a predictor of future blood pressure: a 10-year follow-up. *Clin Exp Hypertens*, 2016, 38: 696-700. doi: 10.1080/10641963.2016.1200597.

Mure K, Yoshimura N, Hashimoto M, Muraki S, Oka H, Tanaka S, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T, Takeshita T. Urinary 8-iso-prostaglandin F2 as a marker of metabolic risks in the general Japanese population: The ROAD study. *Obesity (Silver Spring)*, 2015, 23: 1517-24. doi: 10.1002/oby.21130.

Yoshimasu K, Mure K, Hashimoto M, Takemura S, Tsuno K, Hayashida M, Kinoshita K, Takeshita T, Miyashita K. Genetic alcohol sensitivity regulated by ALDH2 and ADH1B polymorphisms is strongly associated with depression and anxiety in Japanese employees. *Drug Alcohol Depend*, 2015, 147:130-6. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2014. 11. 034.

Yoshimasu K, Mure K, Hashimoto M, Takemura S, Tsuno K, Hayashida M, Kinoshita K, Takeshita T, Miyashita K. Genetic alcohol sensitivity regulated by ALDH2 and ADH1B polymorphisms as indicator of mental disorders in Japanese employees. *Alcohol Alcohol*, 2015, 50: 39-45. doi: 10.1093/alcalc/agu080.

Takahashi M, Miyai N, Nagano S, Utsumi M, Oka M, Yamamoto M, Shiba M, Uematsu Y, Nishimura Y, Takeshita T, Arita M. Orthostatic Blood Pressure Changes and Subclinical Markers of Atherosclerosis. *Am J Hypertens*, 2015, 28: 1134-40. doi: 10.1093/ajh/hpu301.

Idoue A, Hirata C, Utsumi M, Miyai N, Iwahara A, Hattori S, Uematsu Y, Shiba M, Buyo M, Arita M. Relationship between blood pressure response during step exercise test and atherosclerotic markers. *Clin Exp Hypertens*, 2015, 37: 19-25. doi: 10.3109/ 10641963.2014.897716.

絵、服部園美、宮井信行、内海みよ子、竹下達也、有田幹雄、地域住民コホートにおける多価不飽和脂肪酸と血清中可溶性 LOX-1 濃度との関連、第 88 回日本衛生学会学術総会、2018 .

島袋美絵、牟礼佳苗、竹下達也、服部園美、宮井信行、内海みよ子、上松右二、志波充、有田幹雄、ADH1B 及び ALDH2 遺伝子多型が血中脂質、動脈硬化指標及び血圧に与える影響、第 88 回日本衛生学会学術総会、2018 .

牟礼佳苗、J-CAPP Study II グループ、アスピリンによる大腸がん予防 (J-CAPP Study II) - 個別化予防への挑戦 -、がん予防学術大会 2017、2018 .

Nagatomo N, Miyai N, Okano Y, Morishita M, Uchikawa Y, Yamamoto M, Shimabukuro M, Mure K, Utsumi M, Takeshita T, Arita M, 27<sup>th</sup> European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection, 2017 .

宮井信行、長友奈央、内川友起子、有馬美保、島袋美絵、牟礼佳苗、内海みよ子、竹下達也、宮下和久、有田幹雄、中高年者における食塩摂取量と喫煙が中心血圧に及ぼす単独及び複合影響、第 90 回日本産業衛生学会、2017 .

長友奈央、宮井信行、森下美佳、岡野友紀子、内川友起子、山本美緒、島袋美絵、牟礼佳苗、内海みよ子、竹下達也、宮下和久、有田幹雄、中高年男性における血圧と喫煙が中心血圧の反射波成分に及ぼす影響第 40 回日本高血圧学会総会、2017 .

長友奈央、宮井信行、森下美佳、岡野友紀子、内川友起子、山本美緒、牟礼佳苗、内海みよ子、竹下達也、宮下和久、有田幹雄、地域住民の中高年者における中心血圧と喫煙および食塩摂取との関連、第 6 回日本高血圧フォーラム、2017 .

牟礼佳苗、島袋美絵、竹下達也、岡檀、服部園美、宮井信行、内海みよ子、有田幹雄、不飽和脂肪酸と動脈硬化指標との関連への PON1 Q192R 多型の影響 (Nutrigenetics 研究) 第 87 回日本衛生学会学術総会、2017 .

島袋美絵、牟礼佳苗、竹下達也、服部園美、宮井信行、内海みよ子、上松右二、有田幹雄、PON1 Q192R 多型が血圧・動脈硬化指標に与える影響、第 87 回日本衛生学会学術総会、2017 .

牟礼佳苗、島袋美絵、竹下達也、OLR1 遺伝子多型 (rs1050286) が喫煙と動脈硬化指標との関連に与える影響、第 16 回日本分子予防環境医学研究会、2017 .

島袋美絵、竹下達也、牟礼佳苗、OLR1 遺伝子多型が PLA2G7 遺伝子多型と動脈硬化指標との関連に与える影響、第 16 回日本分子予防環境医学研究会、2017 .

Mure K, Shimabukuro M, Takeshita T,

[学会発表](計 17 件)

上杉弥優、牟礼佳苗、岸田邦博、島袋美

Oka M, Miyai N, Arita M, Association of Lp-PLA2 (PLA2G7) V279F genotypes with atherosclerotic markers in the general Japanese population, 26<sup>th</sup> Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2016 .

Miyai N, Uematsu Y, Iwahara A, Hattori S, Oka M, Utsumi M, Shiba M, Mure K, Takeshita T, Arita M, The combination of obesity and sarcopenia is associated with cognitive decline in elderly hypertension individuals, 26<sup>th</sup> Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 2016 .

島袋美絵、牟礼佳苗、竹下達也、服部園美、宮井信行、内海みよ子、上松右二、有田幹雄、Lp-PLA2 遺伝子 V279F 多型が血中脂質及び動脈硬化指標に及ぼす影響、第 86 回日本衛生学会学術総会、2016 .

Mure K, Oka M, Buyou M, Hattori S, Iwahara A, Miyai N, Utsumi M, Uematsu Y, Shiba M, Takeshita T, Arita M、Influences of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphism on blood pressure and atherosclerosis indices in association with unsaturated fatty acid and sodium intake, 25<sup>th</sup> European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection, 2015 .

牟礼佳苗、竹下達也、服部園美、内海みよ子、有田幹雄、不飽和脂肪酸および塩分摂取が eNOS Glu298Asp 多型と血圧および動脈硬化指標の関連に与える影響、第 38 回日本高血圧学会総会、2015 .

牟礼佳苗、竹下達也、宮井信行、有田幹雄、アルコール代謝関連遺伝子型と血圧、第 38 回日本高血圧学会総会、2015 .

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

牟礼 佳苗 (MURE, Kanae)  
和歌山県立医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：90268491

### (2)研究分担者

竹下 達也 (TAKESHITA, Tatsuya)  
和歌山県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号：20150310

有田 幹雄 (ARITA, Mikio)  
和歌山県立医科大学・保健看護学部・名誉教授  
研究者番号：40168018

上松 右二 (UEMATSU, Yuji)  
和歌山県立医科大学・保健看護学部・教授

研究者番号：90223502

宮井 信行 (MIYAI, Nobuyuki)  
和歌山県立医科大学・保健看護学部・教授  
研究者番号：40295811

服部 園美 (HATTORI, Sonomi)  
和歌山県立医科大学・保健看護学部・准教授  
研究者番号：00438285

島袋 美絵 (SHIMABUKURO, Mie)  
和歌山県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号：70776939