

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：34409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00895

研究課題名(和文) 日本人の低ビタミンD栄養と高血圧・心血管疾患の関連性：疫学と基礎からのアプローチ

研究課題名(英文) The Relationship between Low Vitamin D Status and Hypertension/Cardiovascular Disease in Japanese: Epidemiological and Basic Approaches

研究代表者

津川 尚子 (Tsugawa, Naoko)

大阪樟蔭女子大学・健康栄養学部・教授

研究者番号：30207352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：高齢女性の血中25-hydroxyvitamin D (25OHD)濃度低下は血圧上昇に対して年齢、BMI、血中PTH濃度、eGFRと独立した影響因子として検出された。一方、若年層を含む集団では血中25OHD濃度と血圧に直接的な関係は認められなかった。ビタミンD受容体遺伝子欠損マウス(VDRKO)の血圧は野生型に比べて有意に高く、ビタミンDは血中Ca濃度非依存的な腎臓Renin遺伝子発現の負の調節因子となり、腎臓上皮型ナトリウムチャンネル(ENaC)の遺伝子発現促進を介して血圧上昇に影響する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国民の収縮期血圧水準が平均2mmHg低下すれば、心血管疾患は約5%、脳卒中罹患率は約6%減少すると推計されている。ビタミンDと血圧・心血管疾患の関連については幾つか報告があるが、そのほとんどは欧米人を対象としたものである。欧米人と日本人では食生活、体格、遺伝的要因も大きく異なり、そのまま日本人に当てはめることはできない。本研究の第一の意義は日本人を対象としてビタミンDと血圧・心血管疾患の関連を調査したことであり、実験動物を用いた基礎研究結果を合わせたデータは日本人のビタミンD栄養改善を進める上で重要な意義を持つ。

研究成果の概要(英文)：In cross sectional study of elderly women, low serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentration were detected as significant factors for elevation of blood pressure independent of age, BMI, serum PTH concentration, and eGFR by multiple regression analysis. On the other hand, we could not find no direct relationship between serum 25OHD concentration and blood pressure in the subjects including young generation.

In basic study, blood pressure of vitamin D receptor gene knockout mice (VDRKO) was significantly higher than that of wild type. We confirmed that vitamin D was a negative regulator of renal Renin gene expression independent of serum Ca concentration, and increase of renal epithelial sodium channel (ENaC) gene expression would contribute to increase of blood pressure in VDRKO.

研究分野：栄養疫学、ビタミン学、公衆衛生学

キーワード：ビタミンD 25-ヒドロキシビタミンD 血圧 副甲状腺ホルモン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた我が国において、生活習慣病や加齢性疾患の予防は積極的に取り組むべき重要な課題である。ビタミンDは、カルシウム代謝調節因子として骨代謝維持に重要な役割を果たし、高齢者の低ビタミンD栄養が寝たきり・要介護にも密接に関連する骨粗鬆症の発症リスクとなる。わが国だけでなく世界的に低ビタミンD栄養状態の増加が問題となり、低ビタミンD栄養が骨代謝だけでなく、細胞の増殖・分化調節や心疾患、高血圧、転倒、ガン/腫瘍発症リスク、免疫機能調節異常にも関連することが報告されていた。

その一例として、ビタミンDの栄養状態を反映する代謝物 25-hydroxyvitamin D (25OHD)の血中濃度が不足域にある低ビタミンD栄養群は、充足群に比べて心血管疾患による死亡リスクが約2倍高くなることや<sup>1)</sup>、ビタミンD不足による死亡リスクには高血圧が関与する<sup>2)</sup>との報告がある。このように、ビタミンD栄養と心疾患・高血圧との関連が報告されていたものの、これらは全て欧米諸国で行われた研究で日本人に当てはまる事象であるかどうかについては不明であった。また、ビタミンDと心疾患・高血圧との関連については、分子メカニズムを証明するための基礎研究が不足していた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、日本人における低ビタミンD栄養と血圧・心疾患の発症との関連性を疫学調査研究により検討し、遺伝子改変モデルあるいは病態モデル動物を用いて高血圧・心疾患とビタミンD栄養の関連性を調べ、作用メカニズムを検討することで、その成果を国民の健康増進に役立てることである。

## 3. 研究の方法

### 疫学研究 (高齢女性)

日本人高齢女性 (平均年齢 64 歳) 211 名を対象に、既存高血圧症、収縮期・拡張期血圧と年齢、血中 25OHD 濃度、血中 PTH 濃度との関係をロジスティック回帰分析法で解析するとともに、血中 25OHD 濃度 20 ng/mL をカットオフ値とした高 25OHD 群と低 25OHD 群の血圧を比較した。また、血中 25OHD 濃度と血圧の関係における血清 Cr 値、eGFR、血中脂質濃度、血中ホモシステイン濃度、尿中ペントシジン濃度の影響を重回帰分析で検討した。

### 疫学研究 (20 ~ 69 歳の健常人男女)

2,977 名の被験者の血中 25OHD 濃度を測定し、血圧、ストレス関連因子の調査、食事の多様性、カルシウム摂取、日常生活調査を行った。うち、血中 PTH 濃度の測定が完了し、計測値の欠損がない 722 名 (平均年齢 43.6 歳) について解析を行った。

### ビタミンD受容体遺伝子欠損マウス (VDRKO) における心血管疾患関連マーカーの解析

VDRKO と同腹系の野生型マウス (WT) を、それぞれ普通食、高カルシウム食摂取群に分けて飼育し、心血管系の形態機能を解析した。血圧・脈拍測定は Softron 社製ラット・マウス自動血圧計 BP-98A-L を用いて測定した。また、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン (RAA) 系の関与を検討するため、腎臓のレニン mRNA 発現、血中レニン濃度および腎臓集合管における上皮型ナトリウムチャンネル (ENaC) の mRNA 発現量を検討した。心臓の形質・機能変化を確認する目的で、重量測定とともに CT (Aloka 社製 Latheta LCT-200) を用いて心臓面積、左心室面積、左心室厚、拡張期体積、駆出量を測定した。また、心臓パラフィン切片 (横断面) をマッソントリクローム (MT) 染色し、線維化部位の面積を計測 (各 13 視野、使用ソフト ImageJ) した。

## 4. 研究成果

#### 疫学研究（高齢女性）

高齢女性ではロジスティック回帰分析の結果、血中 25OHD 濃度が低いほど高血圧の頻度が高いことが確認され、低 25OHD 群の血圧は高 25OHD 群に比べて有意に高かった。単回帰分析において収縮期血圧は、年齢、BMI、血中 PTH 濃度と有意な正相関関係、eGFR、血中 25OHD 濃度と有意な負相関を示したことから、これらを予測因子として重回帰分析を行った結果、年齢と血中 25OHD 濃度は血圧に対する独立影響因子であることが確認され、高血圧治療薬である Ca 拮抗薬、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬を服用する対象者においても、血中 25OHD 濃度の低下は血圧上昇の要因になることを確認した。

#### 疫学研究（20～69歳の健常人男女）

全対象者の平均血中 25OHD 濃度は、20.7 ng/mL(男性：23.8 ng/mL、女性：18.6 ng/mL)で、ビタミン D 不足・欠乏の割合は、それぞれ男性で 37.6%・38.9%、女性で 29.0%・63.2%であった。日焼け止めの使用頻度と血中 25OHD 濃度の関係を検討した結果、週 3 日以上使用群と 3 日未満使用群間に約 3.5 ng/mL の有意差を認めた。この対象者において、血中 25OHD 濃度と血圧の関係を調べた結果、有意な関係は見られなかったが、ビタミン D 栄養低下の指標となる血中 PTH 濃度の上昇と血圧上昇には有意な関係が認められた。若年層を含むビタミン D 栄養状態と血圧の関連については、今後 全 2,977 名のデータを精査し、年齢別の層別解析や他因子を含めた重回帰分析を用いて検討を進める予定である。本対象者の解析を進める過程で新たに確認されたこととして、血中 25OHD 濃度が疲労やうつ、生活（仕事）満足度、健康状態の悪化とともに低下することがわかり、精神的要因がビタミン D 栄養に関連する生活スタイルに影響することが示唆された。

#### ビタミン D 受容体遺伝子欠損マウス（VDRKO）における心血管疾患関連マーカーの解析

普通食摂取の VDRKO は WT に比べて有意に高い血圧を示したが、高 Ca 食摂取により VDRKO の血圧は低下し WT と同等になった。腎臓 Renin の遺伝子発現と血中 Renin 濃度を比較した結果、腎臓の Renin mRNA 発現量はいずれの飼育条件下においても VDRKO で有意に高いことが確認できた。この結果から、Renin 遺伝子の発現はビタミン D 依存的かつ血中 Ca 濃度非依存的に負に調節されると判断された。一方、血中 Renin 濃度は Renin 遺伝子発現量と同様に WT に比べて VDRKO で有意に高い結果となったが、高 Ca 食群の VDRKO の血中 Renin 濃度は普通食群 VDRKO のそれと比べて有意に低いものであった。RAA 系では、Renin の産生・分泌亢進に従ってアンジオテンシン活性化のステップを経て腎臓集合管における上皮型ナトリウムチャネル（ENaC）による Na<sup>+</sup>の再吸収が促進される。そこで、RAA 系の最終段階で働く腎臓 ENaC の遺伝子発現について検討した結果、普通食群、高 Ca 食群のいずれにおいても VDRKO の方が有意に高い発現を示したが、普通食群に比べると高 Ca 食群の VDRKO の ENaC 発現量は低下することを確認した。これらの結果をまとめると、ビタミン D は血中 Ca 濃度非依存的な腎臓 Renin 遺伝子発現の負の調節因子として働くが、VDRKO の腎臓 Renin 遺伝子発現量は高 Ca 食飼育時には必ずしも血圧変化と一致せず、高 Ca 食摂取による血中 Ca 濃度の正常化が血中 Renin 濃度や腎臓 ENaC 発現の低下に作用し、血圧を改善させると考えられた。また、VDRKO の心臓の形態・機能を解析した結果、VDRKO の心臓横断面積は体格に比して大きかったものの、左心室壁が厚く左室面積が小さい傾向にあった。その結果、拡張期体積と心拍出量は低かったものの、体重あたりの心拍出量に差を生じるほどの変化ではなかった。しかし、VDRKO の心臓では線維化が亢進しており、VDRKO の脈拍の低下などの心機能に影響している可能性が考えられた。

（文献）

- 1) Dobnig H et al., *Arch Intern Med.* 2008;168:1340-1349
- 2) Wang TJ et al., *Circulation*, 2008;117:503-511

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yoshikata Hiromi, Tsugawa Naoko, Watanabe Yuna, Tsuburai Taku, Chaki Osamu, Hirahara Fumiki, Miyagi Etsuko, Sakakibara Hideya, Uenishi Kazuhiro, Okano Toshio	4. 巻 38
2. 論文標題 25-Hydroxyvitamin D profiles and maternal bone mass during pregnancy and lactation in Japanese women	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 99 ~ 108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-019-01032-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuwabara Akiko, Tsugawa Naoko, Mizuno Kei, Ogasawara Honami, Watanabe Yasuyoshi, Tanaka Kiyoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 A simple questionnaire for the prediction of vitamin D deficiency in Japanese adults (Vitaimn D Deficiency questionnaire for Japanese: VDDQ-J)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 854 ~ 863
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-018-0984-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishikawa Miyu, Yasuda Kaori, Takamatsu Masashi, Abe Keisuke, Nakagawa Kimie, Tsugawa Naoko, Hirota Yoshihisa, Tanaka Kazuma, Yamashita Shigeaki, Ikushiro Shinichi, Suda Tatsuo, Okano Toshio, Sakaki Toshiyuki	4. 巻 185
2. 論文標題 Generation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in Cyp27b1 knockout mice by treatment with 25-hydroxyvitamin D3 rescued their rachitic phenotypes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 71 ~ 79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsmb.2018.07.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toi Norikazu, Inaba Masaaki, Ishimura Eiji, Tsugawa Naoko, Imanishi Yasuo, Emoto Masanori, Hirayama Yoshiaki, Nakatani Shinya, Saito Akihiko, Yamada Shinsuke	4. 巻 9
2. 論文標題 Significance of urinary C-megalin excretion in vitamin D metabolism in pre-dialysis CKD patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-38613-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ihara Hiroshi, Kiuchi Sachiko, Ishige Takayuki, Nishimura Motoi, Matsushita Kazuyuki, Satoh Mamoru, Nomura Fumio, Yamashita Mine, Kitajima Isao, Tsugawa Naoko, Okano Toshio, Hirota Kouichi, Miura Masakazu, Totani Masayuki, Hashizume Naotaka	4. 巻 55
2. 論文標題 Surveillance evaluation of the standardization of assay values for serum total 25-hydroxyvitamin D concentration in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine	6. 最初と最後の頁 647 ~ 656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0004563218765570	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohta Hiroaki, Kuroda Tatsuhiko, Tsugawa Naoko, Onoe Yoshiko, Okano Toshio, Shiraki Masataka	4. 巻 36
2. 論文標題 Optimal vitamin D intake for preventing serum 25-hydroxyvitamin D insufficiency in young Japanese women	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 620 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-017-0879-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirota Yoshihisa, Nakagawa Kimie, Mimatsu Shino, Sawada Natsumi, Sakaki Toshiyuki, Kubodera Noboru, Kamao Maya, Tsugawa Naoko, Suhara Yoshitomo, Okano Toshio	4. 巻 483
2. 論文標題 Nongenomic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D 3 on cartilage formation deduced from comparisons between Cyp27b1 and Vdr knockout mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 359 ~ 365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2016.12.139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 津川尚子
2. 発表標題 ビタミンD, K摂取の現状と課題
3. 学会等名 日本ビタミン学会第71回大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小笠原帆南、石野穂乃果、井ノ倉里菜、岡田真由子、中谷友香、鎌尾まや、津川尚子
2. 発表標題 血中25-hydroxyvitamin D3濃度に対するカルシウム摂取量の影響ならびにvitamin D3および25-hydroxyvitamin D3の補給効果の検討
3. 学会等名 日本ビタミン学会第71回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津川尚子、柴原晶子、浦千尋、小笠原帆南、水野敬、渡辺恭良、田中清
2. 発表標題 日本人健常成人を対象とした健康計測におけるビタミンD栄養調査
3. 学会等名 第21回日本骨粗鬆症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柴原晶子、津川尚子、水野敬、小笠原帆南、中津由香、渡辺恭良、田中清
2. 発表標題 ビタミンD欠乏判定簡易質問票(Vitamin D deficiency questionnaire for Japanese: VDDQ-J)の妥当性および下肢筋力との関連性の検討
3. 学会等名 第21回日本骨粗鬆症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津川尚子
2. 発表標題 教育講演：日本人のビタミンD栄養の現状と骨および筋肉における役割
3. 学会等名 日本スポーツ栄養学会第6回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津川尚子
2. 発表標題 高齢化社会におけるビタミン・バイオフィクター 摂取の現状と問題点 「ビタミンD不足と健康影響：栄養改善へ向けた取り組み」
3. 学会等名 フォーラム2019 衛生薬学・環境トキシコロジー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishino Mayu, Kuwabara Akiko, Ogasawara Honami, Kamao Maya, Kobayashi Syunjiro, Yamamura Junichi, Tsugawa Naoko
2. 発表標題 Comparison of breast milk vitamin D and 25-hydroxyvitamin D concentration of Japanese breastfeeding women in 1989 and 2016-2017
3. 学会等名 Internattional Conference on Food Factors: ICoFF 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsugawa Naoko, Kuwabara Akiko, Ura Chihiro, Ogasawara Honami, Mizuno Kei, Watanabe Yoshiyasu, Tanaka Kiyoshi
2. 発表標題 Cross-sectional survey for vitamin D status of healthy Japanese adults in the health life research complex program
3. 学会等名 Internattional Conference on Food Factors: ICoFF 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津川尚子、小笠原帆南、堤彩香、中塚はつき、吉田みのり、鎌尾まや
2. 発表標題 若齢ラットの血中25-Hydroxyvitamin D3濃度に対するvitamin D3および25-hydroxyvitamin D3の補給効果ならびにカルシウム摂取量の影響
3. 学会等名 日本ビタミン学会第70回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小笠原帆南、栗原晶子、尾坂郁恵、小野智子、鎌尾まや、中川公恵、長谷川 潤、田中 清、津川尚子
2. 発表標題 若年成人女性のビタミンD栄養とライフスタイルの年間実態調査
3. 学会等名 日本ビタミン学会第69回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 津川尚子、栗原晶子、小笠原帆南、中川公恵、長谷川 潤、田中 清
2. 発表標題 若年成人女性におけるビタミンD栄養とライフスタイルの年間調査ならびにビタミンD栄養改善に対する意識調査
3. 学会等名 第19回日本骨粗鬆症学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----