

令和 5 年 4 月 22 日現在

機関番号：14202

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K24254

研究課題名(和文) 血液及び尿のメタボローム解析と食習慣及び生活習慣病との関連に関する疫学研究

研究課題名(英文) Epidemiologic research on the association between dietary habits, non-communicable diseases, and metabolomics of blood and urine.

研究代表者

岡見 雪子 (Okami, Yukiko)

滋賀医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：60591401

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：INTERLIPID対象者(日本人と日系米人)計1,307人の血清メタボローム解析を実施した。日本人と日系米人で最も異なる血清リポたんぱく質は、男女ともに最小径HDL4濃度であった。HDL4濃度は魚由来オメガ3多価不飽和脂肪酸摂取量と負の相関性があり、日本人は日系米人よりHDL4濃度が低かった。年齢、性別、国、BMI、飲酒量、喫煙状況、身体活動、その他栄養素等で調整しても負の関連性は残り、これら変数との交互作用も認められなかった。今後は、HDL4濃度の臨床的意義についても検討したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝的に類似し、環境要因の異なる日本人とハワイ在住日系米人を比較したところ、男女ともに最小径HDL4が最も異なった。また、日本人が日系米人よりHDL4濃度が低い理由として、高い魚の摂取量が一要因として考えられた。HDL粒子サイズの臨床的意義は謎であるが、先行研究より最小径HDL4は循環器疾患の危険因子またはマーカーである可能性はある。また、HDL粒子サイズや最大径HDL1は魚摂取量のマーカーとして捉えられる可能性もあり、今後さらなる検証が必要である。

研究成果の概要(英文)：Serum metabolomic analysis was performed on 1,307 Japanese and Japanese-American INTERLIPID participants. The most different serum lipoproteins between Japanese and Japanese-Americans were small HDL4 concentrations in both men and women; HDL4 concentrations were inversely correlated with fish omega-3 polyunsaturated fatty acid intake, and Japanese people had lower HDL4 concentrations than Japanese-Americans. Adjustments for age, gender, country, BMI, alcohol consumption, smoking status, physical activity, and other nutrients did not change the results, and no interaction effects of these variables were observed. The clinical significance of HDL4 concentrations will be investigated in the future.

研究分野：栄養疫学

キーワード：栄養疫学 同研究 メタボローム リポたんぱく質 High Density Lipoprotein 魚由来オメガ3脂肪酸 国際共

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

わが国の主な死亡原因である循環器疾患（心疾患および脳血管疾患）を促す要因として、肥満、高血圧、脂質異常症、高血糖等の生活習慣病がある。これらの危険因子には食習慣が大きく関連することが疫学研究により明らかとなっているが、その機序については不明な点が多い。栄養疫学分野における尿中メタボローム解析では、proline betaine が柑橘類、Oacetylcarnitine が赤身肉、S-methyl-L-cysteine sulphoxide がアブラナ科野菜の摂取量を反映することが報告された（O'Sullivan A et al. *Am J Clin Nutr* 2011.等）。また、1996-99年に実施された栄養と血圧に関する国際共同研究である INTERMAP 研究（4か国総計 17 集団のランダムサンプル 4,680 人を対象に、4 日間の 24 時間思い出し法による栄養調査、2 日間の 24 時間蓄尿、2 日間総計 8 回の血圧測定、血液検査、質問紙調査、身体所見等を実施した疫学断面調査）では、尿中の alanine 及び hippurate が血圧値及び食習慣と関連することを報告した（Holmes E et al. *Nature* 2008.）。しかし、血中メタボローム解析事例は少なく、食習慣及び生活習慣病に関わる血中メタボロームの解明が求められている。疫学調査で食習慣を把握する方法として、食物頻度調査、食事記録法、食事思い出し法等が用いられるが、いずれも主観的データであり、信頼性に欠けるといふ問題点がある。生活習慣病と強く関連する食習慣を客観的に把握する方法の確立、すなわち栄養素及び食品摂取量を反映するバイオマーカーの解明が大きな課題として残っている。

## 2. 研究の目的

本研究では、血液中及び尿中のメタボローム解析を行うことで、栄養素及び食品摂取量を反映するバイオマーカーを探索し、生活習慣病に関わる病因・機序を解明し、循環器疾患の予防に役立てる。

## 3. 研究の方法

### 1. INTERLIPID 研究の血清中のメタボローム解析および同定

本研究では、INTERMAP 研究の副研究である INTERLIPID 研究の血清データを用いてメタボローム解析を行う。INTERMAP 研究は中国、日本、英国、米国の 17 集団、40-59 歳男女 4,680 人を対象に、4 日間の 24 時間思い出し法による栄養調査、2 日間の 24 時間蓄尿、4 日間 8 回の血圧測定、質問紙調査等を実施した。これに加え、INTERLIPID 研究では日本人と日系米人（ハワイ）の 5 集団（1,412 人）の血液検体が、ハワイ大学の超低温フリーザーにて長期保存している。本研究ではこれらの検体を対象に英国 Imperial College London でメタボローム解析を行い、代謝物を同定する。具体的には、核磁気共鳴分光法（<sup>1</sup>H NMR）及び超高速液体クロマトグラフ質量分析計（UPLC-MS）を用いて、血清中の糖、アミノ酸、有機酸、脂肪酸、ビタミン等の低分子化合物の総体（メタボローム）を測定し、一連の統計ツールを用い食習慣及び生活習慣病に関連するバイオマーカーとなりうる化合物を探る。同定されたメタボロームは、データクリーニング及び精度管理を行った後、INTERMAP の栄養調査及び循環器疾患基礎情報と突合し、デー

タセットを作成する。

## 2. 生活習慣病に関連する血清中及び 24 時間尿中のメタボロームの解明

先行研究では、肥満、血圧、血糖値、血清コレステロールが腸内や肝内のメタボロームと関連すること、また服薬による代謝変化が報告されている(Yokoi N et al. *Metabolomics* 2015. 等)。しかし、多くはラットやウサギ等の動物モデルを対象とし、人の血液を用いたメタボローム研究は希少である。本研究では血清中のアミノ酸、有機酸、脂質に重点を置き、肥満、血糖値、血清コレステロール等の循環器疾患危険因子と関連するメタボロームを探索する。有望なバイオマーカー候補が抽出された後は、生化学的背景を理解し、医療現場での実用化を目指すために、公的データベース(Human Metabolome Database 等)から一般的な代謝に関する知見を得、物質が持つ代謝機能を明らかにする。

## 3. 食生活のバイオマーカーとしての血中・尿中のメタボロームの意義解明

ここまでで探索された血清中のメタボローム情報と栄養調査データとを統合し、多変量解析により解析する。本研究では、4 日間の詳細な栄養調査が行われていることを生かし、先行研究で生活習慣病と関連することが明らかとなった栄養素及び食品群(魚介類、肉類、豆類、野菜類、果実類等)などの各論としてのメタボロームから、飲酒、喫煙、身体活動、体格等の生活習慣を含めた総合的な栄養指標としてのメタボロームまで、食生活を反映するバイオマーカーとして幅広く考察する。また、日本人と日系米人のメタボロームの違いを探索することで、遺伝子を超えて食環境がメタボロームに与える影響について解明する。従来の疫学研究と新たなメタボローム研究とを総合し、栄養素を含む食生活及びバイオマーカーとしての血中メタボロームより生活習慣病の機序に迫る新たな疫学知見を得る。

## **4 . 研究成果**

INTERLIPID 対象者の 1,394 残存血液検体のうち、INTERMAP データのない人 (n=52) およびメタボローム解析時のクオリティコントロール (n=35) を除外し、1,307 人 (日本人 1,107 人、日系米人 200 人) の血清メタボローム解析が英国 Imperial College London にて実施された。COVID-19 の影響により作業は遅れたものの、最終的には NMR: 112 lipoproteins (BI-LISA) + 25 small molecules (BI-QUANT-PS)、および LC-MS (HPOS): 484 untargeted intensities + 51 annotated intensities (PeakPanther) のデータが納品された。本研究においては、まず血清リポたんぱく質 (112 lipoproteins) に焦点を当てた解析を行った。脂質異常症治療薬服用者 65 人および身体活動指標に欠損のあった 1 人を除外し、1,241 人を解析対象とした。

男女別、地域別 (日本 4 箇所およびハワイ) に血清リポたんぱく質の階層的クラスタ分析を実施したところ、男女差より地域差の方が非類似性は高く、特に地理的に近い方が類似度は高かった。次に、男女別に日本人と日系米人で最も差別化する血清リポたんぱく質因子を解析したところ、男女ともに最小径 HDL4 の構成因子 (ApoA1, ApoA2, phospholipids, cholesterol, free cholesterol, triglycerides 等) であった。最小径 HDL4 は最大径 HDL1 と反比例の関係にあり、日本人は日系米人より HDL4 濃度が低い傾向にあった。HDL4 濃度に最も影響する環境因子を調べたところ、DHA(22:6)、DPA(22:5)、EPA(20:5) などの魚由来オメガ 3 多価不飽和脂肪酸が HDL4 濃

度と負の相関を示した。HDL 粒子径が大きいほど魚由来オメガ3 多価不飽和脂肪酸摂取量が多い傾向にあった。HDL1 濃度と魚由来オメガ3 多価不飽和脂肪酸摂取量の正相関は、HDL コレステロール濃度とそれの正相関よりも大きいものであった。HDL 粒子径と魚由来オメガ3 多価不飽和脂肪酸摂取量との正の関連性は、年齢、性別、国、BMI、飲酒量、喫煙状況、身体活動、その他栄養素で調整しても消えることはなく、これらの変数による交互作用も認められなかった。以上より、遺伝的に相似する日本人と日系米人においては、男女ともに最小径 HDL4 濃度が最も異なり、これには魚摂取量をはじめとする環境的要因が影響していると考えられた。今後は、HDL4 濃度の臨床的意義についても検討したい。

上記の研究成果は、下記にて報告済みである。

#### 学会発表

Okami Y, Miura K, Chan Q, Kadota A, Elliott P, Masaki K, Okayama A, Okuda N, Yoshita K, Miyagawa N, Okamura T, Sakata K, Saitoh S, Sakurai M, Nakagawa H, Stamler J, Ueshima H: INTERMAP and INTERLIPID Research Groups. "Relationship between serum HDL subclasses and nutrient intake in Japanese and Japanese-Americans: The INTERLIPID Study." The 19th International Symposium on Atherosclerosis (ISA 2021). October 2021 (Kyoto, Japan), 2021  
(上記発表において、The 19th International Symposium on Atherosclerosis (ISA 2021), IAS AP Young Investigator Grant を得た)

#### 論文発表

Okami Y, Chan Q, Miura K, Kadota A, Elliott P, Masaki K, Okayama A, Okuda N, Yoshita K, Miyagawa N, Okamura T, Sakata K, Saitoh S, Sakurai M, Nakagawa H, Stamler J (deceased), Ueshima H: for the INTERMAP and INTERLIPID Research Groups. "Small high-density lipoprotein and omega-3 fatty acid intake differentiates Japanese and Japanese-Americans: The INTERLIPID study." *J Atheroscler Thromb*. 2022 Nov 3. doi: 10.5551/jat.63762. Online ahead of print. PMID: 36328528 DOI: 10.5551/jat.63762

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Okami Yukiko, Chan Queenie, Miura Katsuyuki, Kadota Aya, Elliott Paul, Masaki Kamal, Okayama Akira, Okuda Nagako, Yoshita Katsushi, Miyagawa Naoko, Okamura Tomonori, Sakata Kiyomi, Saitoh Shigeyuki, Sakurai Masaru, Nakagawa Hideaki, Stamler Jeremiah, Ueshima Hirotsugu, the INTERMAP and INTERLIPID Research Groups	4. 巻 Online ahead of print
2. 論文標題 Small High-Density Lipoprotein and Omega-3 Fatty Acid Intake Differentiates Japanese and Japanese-Americans: The INTERLIPID Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 in progress
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5551/jat.63762	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Okami Y, Miura K, Chan Q, Kadota A, Elliott P, Masaki K, Okayama A, Okuda N, Yoshita K, Miyagawa N, Okamura T, Sakata K, Saitoh S, Sakurai M, Nakagawa H, Stamler J, Ueshima H: INTERMAP and INTERLIPID Research Groups.
2. 発表標題 INTERMAP and INTERLIPID Research Groups. Relationship between serum HDL subclasses and nutrient intake in Japanese and Japanese-Americans: The INTERLIPID Study.
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (ISA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Byambajav T, Chan Q, Okami Y, Kadota A, Miyagawa N, Okuda N, Nakagawa H, Sakata K, Saitoh S, Okayama A, Yoshita K, Masaki K, Ebbels TM, Holmes E, Elliott P, Stamler J, Miura K, Ueshima H, INTERMAP and INTERLIPID Research Groups.
2. 発表標題 Investigation on the relationship of fish intake and its metabolites with risk factors of metabolic syndrome: INTERLIPID metabolome-wide association study.
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (ISA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	Imperial College London			
米国	University of Hawaii			