

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590844

研究課題名(和文)都市部住民におけるLDL酸化予防のための生活習慣の解明

研究課題名(英文)Lifestyle factors on preventing oxidized LDL-cholesterol in urban residents

研究代表者

久保田 芳美(Kubota, Yoshimi)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：60403317

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：神戸研究では、食事指標として血清ビタミンEを測定し、ビタミンE摂取が酸化LDLの血管内皮機能障害の抑制に関連する可能性を学会報告した。その他の学会発表は、塩分摂取量や塩分知覚低下と血圧について、酸化LDLと肥満について報告を行った。論文発表では、食事指標である血中脂肪酸と、酸化LDLが強く関与するとされる慢性炎症との関連について分析した原著論文がJ Nutr Health Aging に受理された。篠山研究では、酸化LDLのほか、尿中L-FABP(酸化ストレスや細小動脈硬化に関連)の測定を行った。篠山研究では、生活習慣要因について対象者に詳細に聴き取りをしており、今後成果を公表していく。

研究成果の概要(英文)：In the Kobe study, the cohort study of urban residents, we measured serum tocopherols as a dietary factor. We reported in the academic conference that suggested that dietary vitamin E may be associated with lower oxidized low-density lipoprotein (Ox-LDL) and suppression of endothelial dysfunction. Other reports in the academic conferences were: the salt intake, taste recognition of salt and blood pressure; Ox-LDL and overweight or obesity. Furthermore, the original article was accepted for publication in J Nutr Health Aging. We examined the association between serum polyunsaturated fatty acids (as dietary factor) and systemic inflammation (Ox-LDL is known to be involved in) in the article. In the Sasayama study, the cohort study of rural residents, we measured Ox-LDL and urinary L-FABP (it is associated with oxidative stress and microvascular angiopathy). We also surveyed detail lifestyle factors in the Sasayama study and continuously progress the research findings.

研究分野：栄養疫学

キーワード：疫学調査 動脈硬化予防 LDL酸化 都市部住民 農村部住民

1. 研究開始当初の背景

高コレステロール血症は、欧米諸国だけでなくわが国においても虚血性心疾患死亡の危険因子であることが全国規模の疫学研究により示されており、特に高 LDL コレステロール(LDL-C)血症の予防が重要とされている¹⁾。LDL-C の中でも動脈硬化の進展に関与するのは酸化 LDL である。酸化 LDL は血管内皮機能障害を誘発するが、その作用を内皮細胞上で媒介する受容体がレクチン様酸化 LDL 受容体(LOX-1)であり、その発現の亢進は動脈硬化の進行と強く関係していると考えられる。わが国においても一般住民を対象とした疫学研究において、酸化 LDL の指標である LOX-1 ligand containing ApoB (LAB)が脳卒中および虚血性心疾患の発症を予測することが報告されている²⁾。しかしながら酸化 LDL に関する知見は少ない。例えば肥満の場合、酸化 LDL が高値になることが予想されるが、日本人において肥満と酸化 LDL との関連についての報告はほとんど見当たらない³⁾。また、生活習慣との関係についても報告されていない。抗酸化ビタミンは LDL 酸化抑制を介して動脈硬化を抑制することが期待されているが、抗酸化ビタミンの摂取量と循環器疾患について検討した疫学研究はあるものの抗酸化ビタミンの循環器疾患に対する予防効果についての見解は定まっておらず⁴⁾、循環器疾患発症の前段階である LDL-C 酸化と抗酸化ビタミンの関連を検討した研究は見当たらない。食事指標としての抗酸化ビタミンをはじめ、生活習慣要因と酸化 LDL との関連について検討することにより、生活習慣改善による動脈硬化進展予防対策につなげることができると考えられる。

2. 研究の目的

都市部住民コホート神戸研究において、食事指標である血清ビタミン E と LAB、可溶性 LOX-1(sLOX-1)との関連を検討する。酸化 LDL には慢性炎症が強く関連するため、慢性炎症の指標として高感度 CRP を用い、食事指標である血清脂肪酸との関連を検討する。また、肥満指標として腹囲、BMI と LAB、可溶性 LOX-1(sLOX-1)について分析する。

農村部住民コホートである篠山研究では、生活習慣と酸化 LDL および、酸化ストレスや細小動脈硬化に関連する尿中 L 型脂肪酸結合

蛋白(L-FABP) との関連について検討する。

3. 研究の方法

(1)~(4)は、都市部住民コホートである神戸研究のベースライン調査参加者を研究対象とした。対象条件は、40-74 歳のがん、循環器疾患の既往がなく、高血圧、脂質異常症、糖尿病の治療中でない者とした。

(5)は、農村部住民コホートである篠山研究の参加者を研究対象とした。篠山研究の対象者は、40-64 歳の特定健診受診者である。

(1)血清ビタミン E と LAB、sLOX-1 との関連について

血清中の α -トコフェロール、 γ -トコフェロール、 β -トコフェロールを測定した男性 152 名、女性 361 名を解析対象とした。対数変換した sLOX-1、LAB、sLOX-1 と LAB の積(LOX-index)の値を従属変数、血清ビタミン E を独立変数とし、性別、年齢、BMI、現在喫煙を共変量として、重回帰分析を行った。

(2)血清脂肪酸と高感度 CRP の関連について

男性 337 名、女性 765 名を解析対象とした。血清脂肪酸は、血清中の総脂肪酸量に対する n-3 系多価不飽和脂肪酸(n-3 系 PUFA)および n-6 系多価不飽和脂肪酸(n-6 系 PUFA)の割合(%)を算出した。n-3 系 PUFA および n-6 系 PUFA を構成する全ての PUFA についても総脂肪酸量に対する割合をもとめた。高感度 CRP を従属変数、n-3 系 PUFA(%)または n-6 系 PUFA(%)を独立変数とし、性別、年齢、BMI、収縮期血圧、血糖値、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、喫煙状況、飲酒状況を共変量とした重回帰分析を行った。さらにどの PUFA との関連が強いかを調べるために、n-3 系 PUFA のモデルには n-6PUFA を共変量に、n-6 系 PUFA のモデルには n-3 系 PUFA を共変量に加えて同様の解析を行った。

(3)肥満指標(腹囲・BMI)と LAB、sLOX-1 との関連について

現在喫煙習慣のない男性 302 名、女性 761 名を解析対象とした。対象者は、腹囲(80cm>、80cm \leq ,85cm>、85cm \leq ,90cm>、90cm \leq)、BMI(22 kg/m²>、22 kg/m² \leq ,25 kg/m²>、25 kg/m² \leq)に男女別に分類した。sLOX-1、LAB、LOX-index の値は対数変換し、腹囲または BMI の分類に

より性別に年齢調整平均値を比較した。同様に他の血中脂質についても比較を行った。LDL-コレステロール値は、Friedewald法により算出し、LABについては、さらにLDL-コレステロールの調整値も比較した。

(4)塩分摂取量と塩分知覚低下および血圧との関連について

随時尿を収集した男性341名、女性775名を解析対象とした。塩分摂取量は随時尿中のNaとクレアチニン濃度から推定した24時間Na排泄量から求めた⁵⁾。塩分濃度の異なるろ紙(ソルセイブ)を舐めてもらうことによって塩分知覚を評価し、塩分知覚閾値0.8%以上を知覚低下と定義した。男女別に食塩推定摂取量により3群(男性:6g未満、6g以上8g未満、8g以上、女性:6g未満、6g以上7g未満、7g以上)に分類し、塩分知覚低下の頻度を比較した。さらに、年齢・喫煙状況・飲酒状況を調整した収縮期血圧/拡張期血圧および腹囲の平均値を比較した。

(5)喫煙状況とLAB、sLOX-1、尿中L-FABPの関連について

特定健診問診により聴き取りした喫煙状況により、LAB、sLOX-1については、男性106名を解析対象とし、喫煙状況別にLAB、sLOX-1の中央値を比較した。尿中L-FABPについては、随時尿を収集した男性367名、女性429名を解析対象とした。尿中L-FABP値は、尿中クレアチニン値により補正した値を用いた[尿中L-FABP値×100/尿中クレアチニン値(μg/gCRE)]。尿中L-FABPは、性別に喫煙状況別の検査値の分布を確認した。

4. 研究成果

(1)血清ビタミンEはLAB(標準化係数=-0.186、p<0.01)およびLOX-index(標準化係数=-0.150、p<0.01)と有意な負の関連を示した。sLOX-1とは有意な関連はみとめられなかった。対象者をLDLコレステロール低値群(<130mg/dL)と高値群(≥130mg/dL)に分類すると、LDL低値群では、血清ビタミンEはLAB(標準化係数=-0.204、p<0.01)およびLOX-index(標準化係数=-0.171、p<0.01)との間に有意な関連がみとめられたが、LDL高値群では有意な関連はみとめられなかった(表1)。LDLコレステロールが低い者におい

て、血清ビタミンEとLABおよびLOX-indexとの間に有意な関連がみとめられた。ビタミンE摂取は、LOX-1系変性LDLの血管内皮機能障害の抑制に、LDLコレステロールが低値の集団において、より強く関連することが示唆された。

表1. LDLコレステロール値別の血清ビタミンEの標準化係数

LDL-コレステロール<3.4mmol/L (<130mg/dL) n=257				LDL-コレステロール≥3.4mmol/L (≥130mg/dL) n=256			
従属変数: sLOX-1				従属変数: sLOX-1			
係数	95%信頼区間	標準化係数	P値	係数	95%信頼区間	標準化係数	P値
-0.006	(-0.032 - 0.020)	-0.029	0.64	-0.005	(-0.045 - 0.035)	-0.016	0.80
従属変数: LAB				従属変数: LAB			
係数	95%信頼区間	標準化係数	P値	係数	95%信頼区間	標準化係数	P値
-0.044	(-0.070 - -0.018)	-0.204	<0.01	0.015	(-0.018 - 0.048)	0.059	0.36
従属変数: LOX index				従属変数: LOX index			
係数	95%信頼区間	標準化係数	P値	係数	95%信頼区間	標準化係数	P値
-0.050	(-0.086 - -0.014)	-0.171	<0.01	0.010	(-0.042 - 0.063)	0.025	0.70

独立変数: 血清ビタミンE (α-トコフェロール/non-HDLコレステロール)
従属変数: 対数変換、共変数: 性別、年齢、BMI、現在喫煙

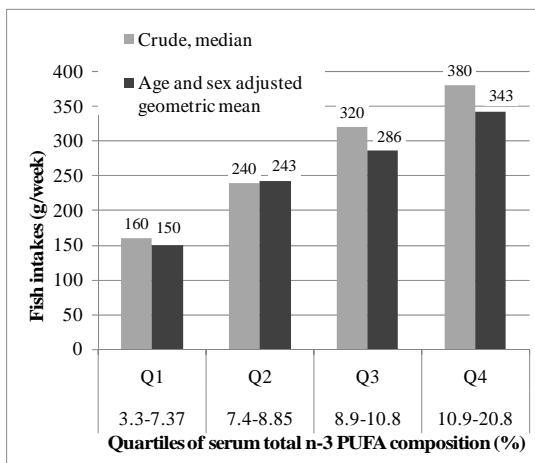
(2)高感度CRP値に対する標準化係数は、長鎖n-3PUFA(EPA+DHA+DPA): -0.091(p<0.01)、EPA: -0.071(p=0.03)、DHA: -0.068(p=0.04)であり、PUFAを共変数に加えたモデルにおいて、長鎖n-3系PUFAは高感度CRP値と負の関連を示した。さらにn-6系PUFAの標準化係数は、n-6系PUFA: -0.169(p<0.01)、リノール酸: -0.159(p<0.01)であり、同様の傾向がみとめられた(表2)。

表2. 高感度CRPを予測する重回帰式のn-3PUFAおよびn-6PUFAの標準化係数

Independent variables	Dependent variables: hs-CRP*			
	Coefficient	95%CI	Standardized coefficient	P value
Model 1				
Total n-3 PUFA (%)	-0.03	(-0.06 - -0.01)	-0.089	<0.01
Total n-6 PUFA (%)	-0.05	(-0.07 - -0.03)	-0.169	<0.01
Adjusted coefficient of determination (R ²)=0.16				
Model 2				
Long chain n-3 PUFA (%)	-0.03	(-0.06 - -0.01)	-0.091	<0.01
Total n-6 PUFA (%)	-0.05	(-0.07 - -0.03)	-0.169	<0.01
Adjusted coefficient of determination (R ²)=0.16				
Model 3				
Long chain n-3 PUFA (%)	-0.03	(-0.06 - -0.01)	-0.089	<0.01
LA (%)	-0.05	(-0.07 - -0.03)	-0.173	<0.01
AA (%)	-0.02	(-0.07 - 0.03)	-0.023	0.46
Adjusted coefficient of determination (R ²)=0.16				
Model 4				
EPA* (%)	-0.140	(-0.27 - -0.01)	-0.071	0.03
LA (%)	-0.049	(-0.07 - -0.03)	-0.159	<0.01
AA (%)	-0.018	(-0.07 - 0.04)	-0.020	0.51
Adjusted coefficient of determination (R ²)=0.16				
Model 5				
DHA (%)	-0.048	(-0.09 - 0.00)	-0.068	0.04
LA (%)	-0.050	(-0.07 - -0.03)	-0.162	<0.01
AA (%)	-0.019	(-0.07 - 0.04)	-0.021	0.49
Adjusted coefficient of determination (R ²)=0.16				

血清 n-3 系 PUFA は、魚の摂取量に依存するとされているが⁶⁾、本研究でも相関がみとめられた(図 1)。先行研究では、魚の摂取量高値と循環器疾患リスク低下との関連について報告されており⁷⁾、今回みとめられた血清 n-3PUFA と高感度 CRP 低値との関連は、循環器疾患リスク低下に一部関与している可能性がある。以上の結果より、健康な日本人において、n-3 系 PUFA および n-6 系 PUFA の摂取は、動脈硬化性疾患のリスクである軽度の炎症を抑制する可能性が示唆された。

図 1. 魚の摂取量と血清 n-3PUFA



(3)年齢および LDL コレステロールを調整した LAB 値は、腹囲では、男性は 80cm>:21.5、80cm≤,85cm>:23.7、85cm≤,90cm>:23.0、90cm≤:25.5 μg/mL(p for difference=0.02)、同様に女性では 22.0、25.1、24.2、23.4 μg/mL (p for difference<0.01)であり、男性では 90cm≤の群で有意に高値を示し、女性では 80cm≤の群で高値となる傾向がみとめられた。BMI では男女とも 22kg/m²≤で LAB は高値となった。sLOX-1 および LOX-index 値については、肥満指標間で差を認めなかった。過体重レベルの肥満の動脈硬化リスクには、男女とも既知の血中脂質に加えて LAB が関連することが示唆された。

(4)食塩摂取量は、男性(6g 未満 6.5%、6g 以上 8g 未満 24.9%、8g 以上 68.6%)、女性(6g 未満 10.3%、6g 以上 7g 未満 15.4%、7g 以上 74.3%)であった。各群における塩分知覚低下の頻度は、男性(6g 未満 18.2%、6g 以上 8g 未満 25.9%、8g 以上 27.4%)、女性(6g 未満 18.8%、6g 以上 7g 未満 14.3%、7g 以上 15.8%)であっ

た。多変量調整平均値は、収縮期血圧/拡張期血圧：男性(6g 未満 118/76、6g 以上 8g 未満 121/76、8g 以上 124/79 mmHg)、女性(6g 未満 107/66、6g 以上 7g 未満 110/67、7g 以上 115/70mmHg)、腹囲：男性(6g 未満 78.8、6g 以上 8g 未満 81.3、8g 以上 83.9cm)、女性(6g 未満 73.5、6g 以上 7g 未満 75.7、7g 以上 79.5cm)であった。男性では食塩摂取量高値群において塩分知覚低下の頻度が高くなる傾向を認めた。さらに男女ともに塩分摂取が多くなるほど血圧および腹囲が高値となった。

(5)LAB と sLOX-1 の測定した者において喫煙状況は現在喫煙:27 名、過去喫煙:51 名、非喫煙:28 名であった。sLOX-1 の中央値は、現在喫煙者 356、過去喫煙者 326、非喫煙者 311 ng/L、LAB の中央値は同 5.0、4.6、4.2 mg/L と、sLOX-1 と LAB は喫煙者ほど高い傾向がみとめられた。男性の尿中 L-FABP の中央値は 1.57 μg/gCRE、女性の中央値は 1.89 μg/gCRE であり、女性の方が検査値の分布が高い傾向にあった。対象者の喫煙状況は、男性(現在喫煙 107 名、過去喫煙 170 名、非喫煙 90 名)、女性(同 21 名、24 名、384 名)であった。男性において尿中 L-FABP が中央値 1.57 μg/gCRE 以上であった者、女性において中央値 1.89 μg/gCRE 以上であった者は、喫煙状況別では、男性(現在喫煙:56%、過去喫煙:49%、非喫煙:44%)、女性(現在喫煙:52%、過去喫煙:50%、非喫煙:50%)であり、男性において喫煙者では尿中 L-FABP 高値の者の割合が高くなった。生活習慣要因とこれらの動脈硬化予測指標について、引き続き分析を進める。

< 参考文献 >

- 1) 日本動脈硬化学会 動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年度版
- 2) Inoue N, et al. Clin Chem 2010;56:550-558.
- 3) Sawamura T, et al. Clinica Chimica Acta 2015;440:157-163
- 4) Cherubini A, et al. Curr Pharm Des 2005;11:2017-2032.
- 5) Tanaka T, et al. J Hum Hypertens 2002;16:97-103.
- 6) Hodson L, et al. Prog Lipid Res 2008;47:348-380.

7) Hu FB, et al. J Am Coll Nutr
2001;20:5-19.

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4件)

1. Kubota Y, Higashiyama A, Imano H, Sugiyama D, Kawamura K, Kadota A, Nishimura K, Miyamatsu N, Miyamoto Y, Okamura T. Serum polyunsaturated fatty acid composition and serum high-sensitivity C-reactive protein levels in healthy Japanese residents: the KOBE study. *J Nutr Health Aging* (in press) 査読有
DOI:10.1007/s12603-015-0497-9
2. Sugiyama D, Higashiyama A, Wakabayashi I, Kubota Y, Adachi Y, Hayashibe A, Kawamura K, Kuwabara K, Nishimura K, Kadota A, Nishida Y, Hirata T, Imano H, Miyamatsu N, Miyamoto Y, Sawamura T, Okamura T. The relationship between lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands containing apolipoprotein B and cardio-ankle vascular index in healthy community inhabitants: The KOBE study. *J Atheroscler Thromb* (in press) 査読有
DOI: <http://doi.org/10.5551/jat.26450>.
3. Higashiyama A, Kubota Y, Marumo M, Konishi M, Yamashita Y, Nishimura K, Fukuda Y, Okamura T, Wakabayashi I. Association Between Serum Long-Chain n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acid Profiles and Glomerular Filtration Rate Assessed by Serum Creatinine and Cystatin C Levels in Japanese Community-Dwellers. *J Epidemiol*. 2015 ; 25:303-11. 査読有
DOI:10.2188/jea.JE20140093.
4. 久保田芳美, 岡村智教 脂質異常症 UPDATE 冠動脈疾患 臨床栄養 122:6,691-695, 2013 査読無

[学会発表](計9件)

1. 久保田芳美, 東山綾, 西村邦宏、杉山大典、今野弘規、門田文、西川智文、平田匠、西田陽子、宮松直美、宮本恵宏、岡

村智教. LOX-1 ligand containing ApoB (LAB), waist circumference and body mass index in healthy Japanese: the KOBE study. 第25回日本疫学会総会, 2015年1月21~23日, ウィンクあいち (愛知県名古屋市)

2. 久保田芳美, 東山綾, 西村邦宏、杉山大典、今野弘規、門田文、西川智文、平田匠、宮松直美、宮本恵宏、岡村智教. 都市健康住民における塩分摂取量と塩分知覚低下および血圧との関連: 神戸トライアル. 第73回日本公衆衛生学会総会, 2014年11月5~7日, 栃木県総合文化センター (栃木県宇都宮市)
3. 桑原和代、杉山大典、武林亨、原田成、栗原綾子、東山綾、久保田芳美、岡村智教. 地域住民における LDL-C と non-HDL-C の差は 30mg/dL より小さい: 神戸研究と鶴岡メタボロームコホート研究の結果から. 第46回日本動脈硬化学会総会・学術総会, 2014年7月10~11日, 慶應プラザホテル (東京都新宿区)
4. 久保田芳美, 東山綾, 西村邦宏、杉山大典、今野弘規、門田文、西川智文、平田匠、宮松直美、宮本恵宏、岡村智教 都市部住民における血清ビタミンEと LOX-1系変性LDL指標: 神戸トライアル. 第24回日本疫学会学術総会, 2014年1月24~25日, 日立システムズホール仙台 (宮城県仙台市)
5. 岡村智教、久保田芳美、東山綾、杉山大典、門田文、今野弘規、西村邦宏、宮松直美、宮本恵宏 神戸トライアル(第1報) 研究デザインと新しいバイオマーカーとしての LOX-1系変性LDL指標の基本集計. 第23回日本疫学会学術総会, 2013年1月25~26日, 大阪大学コンベンションセンター (大阪府吹田市)
6. 久保田芳美, 東山綾, 西村邦宏、杉山大典、今野弘規、門田文、宮松直美、宮本恵宏、岡村智教 神戸トライアル(第2報) 成人後の体重増加と高分子量アディポネクチンおよび LOX-1系変性LDL指標の関連. 第23回日本疫学会学術総会, 2013年1月25~26日, 大阪大学コンベンションセンター (大阪府吹田市)
7. 杉山 大典、久保田 芳美、東山 綾、今野 弘規、門田 文、西村 邦宏、宮松 直

- 美、宮本 恵宏、岡村 智教 神戸トライアル(第3報)LOX-1系変性LDL指標とシスタチンC・推定糸球体濾過量との関連。第23回日本疫学会学術総会，2013年1月25～26日，大阪大学コンベンションセンター（大阪府吹田市）
8. 門田文、東山綾、久保田芳美、杉山大典、今野弘規、西村邦宏、宮本恵宏、宮松直美、岡村智教 神戸トライアル(第4報)都市部住民における高分子量アディポネクチンと代謝性因子 CAVI との関連。第23回日本疫学会学術総会，2013年1月25～26日，大阪大学コンベンションセンター（大阪府吹田市）
9. 東山綾、若林一郎、久保田芳美、杉山大典、今野弘規、門田文、西村邦宏、宮松直美、宮本 恵宏、岡村 智教 神戸トライアル(第5報)都市部一般住民におけるLOX-1系変性LDL指標とCAVIとの関連。第23回日本疫学会学術総会，2013年1月25～26日，大阪大学コンベンションセンター（大阪府吹田市）

〔図書〕(計1件)

1. 岡村智教、久保田芳美、第1章 生活習慣病の疫学 高トリグリセライド血症 健康教育マニュアル 日本家族計画協会 86-87, 2014

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)
取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

先端医療センターHP

<http://www.ibri-kobe.org/laboratory/research/lab12/01.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

久保田 芳美 (KUBOTA, YOSHIMI)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：60403317

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

岡村 智教 (OKAMURA, TOMONORI)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：00324567

東山 綾 (HIGASHIYAMA, AYA)
国立循環器病研究センター・
研究開発基盤センター・室長
研究者番号：20533003

門田 文 (KADOTA AYA)
滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・
特任准教授
研究者番号：60546068