

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700741

研究課題名(和文) 血中ミネラル濃度が細胞外抗酸化防御機構に与える影響

研究課題名(英文) Effects of blood mineral levels on extracellular antioxidant defense system

研究代表者

亀崎 文彦 (KAMEZAKI, Fumihiko)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：40535225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、809名の中年日本人男性労働者において、血中ミネラル濃度の減少は細胞外抗酸化防御機構の障害に重要な役割を担っているという仮説を検討した。その結果、鉄やマグネシウムのようなミネラルと心血管系における主要な抗酸化酵素である細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度に統計学上有意味な相関関係を認めなかった。血中ミネラル濃度が細胞外抗酸化防御機構に与える影響を明らかにするためにはさらなる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In a total of 809 middle-aged Japanese male workers, we examined the hypothesis that a decrease level of blood mineral has an important role on the dysfunction of extracellular antioxidant defense system. This study demonstrated no statistically significant correlations between blood levels of mineral such as iron and magnesium and extracellular superoxide dismutase, a major antioxidant in the cardiovascular system. Further examinations are needed to elucidate effects of blood mineral levels on the extracellular antioxidant defense system.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：ミネラル 細胞外スーパーオキシドジスムターゼ 酸化ストレス 鉄 マグネシウム

## 1. 研究開始当初の背景

心血管病は、日本人の主要な死亡原因であり、その予防は日本国民の健康保持・増進に極めて重要である。日本人における心血管病増加の背景には食生活の欧米化があり、欧米食は和食と比較して鉄、マグネシウムといったミネラルの含有が少ない傾向がある。体内のミネラル不足は、活性酸素種、特にスーパーオキシドアニオンの増加を惹起し、血管内皮障害などの組織損傷を生じ、様々な心血管病の病因・進展に關与する可能性が示唆されている。

スーパーオキシドアニオンに対する重要な抗酸化防御機構にスーパーオキシドジスムターゼがあり、スーパーオキシドアニオンが過酸化水素と酸素になる相互反応を触媒する。細胞外スーパーオキシドジスムターゼは、血管の細胞外間隙における主要な抗酸化酵素であり、血管平滑筋細胞や線維芽細胞より分泌されている。この抗酸化酵素は、ヘパラン硫酸プロテオグリカン、コラーゲン、フィブリン-5 と結合することにより細胞外マトリックスや内皮細胞表面に存在する。このような特徴は、効果的にスーパーオキシドアニオンを除去することを可能にし、他の活性酸素種の直接及び間接反応を減弱することを可能とする。更に、一酸化窒素の生物学的利用能の主要な決定因子とされ、細胞外抗酸化防御機構において中心的な役割を担っている。これまでの報告では、鉄、マグネシウムなどのミネラル不足が酸化ストレスの増加に關与することが示唆されるが、抗酸化防御機構に与える影響は十分に解明されていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、血中ミネラル濃度の減少は酸化ストレスを増加させるだけでなく、細胞外抗酸化防御機構の障害、特に細胞外スーパーオキシドジスムターゼの分泌障害に重要な役割を担っているという仮説を検討することである。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究対象者

平成 22 年 6 月に健康診断を受診した単一事業所に勤務する 40 歳以上の男性労働者 969 名のうち 840 名 (86.7%) が研究参加に同意した。本研究では、心血管病の既往がある者および細胞外スーパーオキシドジスムターゼの遺伝子異常が疑われる血漿濃度 200 ng/dL 以上を有する者を除外した 809 名を最終的に検討した。健康診断時の内科医診察で病歴、喫煙状況、内服薬の有無などが聴取され、加えて、身長、体重、ウエスト周囲径、血圧、脈拍数などの理学所見データを収集した。中性脂肪、HDL コレステロール、血糖などは健康診断項目として自動分析器で測定

された。なお、本研究はヘルシンキ宣言を遵守して実施された。

### (2) ミネラル濃度の測定

全ての研究対象者から空腹時血液サンプルを採取し、遠心分離後 (3000 回転、15 分)、上清を -80 度で凍結保存した。本研究では、鉄、不飽和鉄結合能、マグネシウムをそれぞれニトロソ PSAP 法、パソフェナントロリン法、比色法で測定した。総鉄結合能は、鉄と不飽和鉄結合能の和として算出した。

### (3) 細胞外スーパーオキシドジスムターゼの測定

細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度は、凍結検体を融解後に 2-step ELISA 法で測定した。今回用いた測定系は、他のスーパーオキシドジスムターゼアイソフォームに交差反応は示さず、加えて、細胞外スーパーオキシドジスムターゼ活性と相關する。

### (4) 一酸化窒素代謝産物の測定

細胞外スーパーオキシドジスムターゼは一酸化窒素の決定因子であり、本研究では一酸化窒素代謝産物 (亜硝酸/硝酸塩) の血漿濃度を Griess 法で測定した。本測定の特徴は、硫酸亜鉛-水酸化ナトリウム系除蛋白法と組み合わせることで高い感度と精度が得られることである。

### (5) メタボリックシンドロームの定義

本研究では、国際糖尿病連合など世界主要 6 学会が提唱する診断基準に従い、腹部肥満 (ウエスト周囲径 85.0 cm 以上)、中性脂肪高値 (中性脂肪 150 mg/dL 以上または薬物治療中)、HDL コレステロール低値 (40 mg/dL 未満)、血圧高値 (130/85 mmHg 以上または薬物治療中)、そして空腹時血糖高値 (100 mg/dL 以上または薬物治療中) の 5 項目のうち、3 項目以上に該当する場合、メタボリックシンドロームと診断した。

## 4. 研究成果

### (1) 研究の主な成果

#### 研究対象者の特徴

本研究には 809 名の男性労働者 (平均 50 歳) が参加した。研究参加者のウエスト周囲径、中性脂肪、HDL コレステロール、収縮期および拡張期血圧、そして空腹時血糖の中央値 (四分位範囲) は、それぞれ 83.1 (78.5-88.0) cm、100 (73-145) mg/dL、63 (53-75) mg/dL、126 (120-132) mmHg、76 (70-80) mmHg、89 (84-94) mg/dL であった。メタボリックシンドロームの頻度は 13.1% (n=106) であり、腹部肥満、中性脂肪高値、HDL コレステロール低値、血圧高値、空腹時血糖高値に該当する者の割合はそれぞれ 39.3% (n=318)、27.3% (n=221)、3.2% (n=26)、43.1% (n=349)、12.6% (n=102) であった。

### ミネラル指標と細胞外スーパーオキシドジスムターゼの関連

血漿中における鉄、不飽和鉄結合能、総鉄結合能、マグネシウム、そして細胞外スーパーオキシドジスムターゼの中央値（四分位範囲）は、それぞれ44.0 (33.0-58.7)  $\mu\text{g/dL}$ 、384.9 (327.1-447.2)  $\mu\text{g/dL}$ 、433.4 (370.2-496.6)  $\mu\text{g/dL}$ 、1.02 (0.79-1.28)  $\text{mg/dL}$ 、49.6 (42.6-58.2)  $\text{ng/dL}$ であった。鉄、不飽和鉄結合能、総鉄結合能、マグネシウムと細胞外スーパーオキシドジスムターゼに統計学上の有意な相関関係はなかった。

また、血漿一酸化窒素代謝産物濃度の中央値（四分位範囲）は33.2 (21.1-52.4)  $\mu\text{mol/L}$ であった。鉄、不飽和鉄結合能、総鉄結合能、マグネシウムと一酸化窒素代謝産物に有意な相関関係はなかった。

### ミネラル指標とメタボリックシンドロームの関連

不飽和鉄結合能 [中央値 (四分位範囲)] はメタボリックシンドロームと診断された群と診断されなかった群で同等であったが [387.3 (335.6-443.2)  $\mu\text{g/dL}$  対 383.2 (326.7-447.7)  $\mu\text{g/dL}$ 、 $p=0.50$ ]、鉄はメタボリックシンドロームと診断された群で有意に増加していた [55.0 (44.0-77.0)  $\mu\text{g/dL}$  対 44.0 (33.0-55.0)  $\mu\text{g/dL}$ 、 $p<0.05$ ]。結果として、総鉄結合能はメタボリックシンドロームと診断された群で有意に高値であった [453.2 (402.4-508.2)  $\mu\text{g/dL}$  対 429.6 (368.3-493.2)  $\mu\text{g/dL}$ 、 $p<0.05$ ]。マグネシウムはメタボリックシンドロームと診断された群と診断されなかった群で同等であった [0.98 (0.80-1.25)  $\text{mg/dL}$  対 1.03 (0.79-1.29)  $\text{mg/dL}$ 、 $p=0.41$ ]。

### (2) 今後の展望

本研究は、鉄やマグネシウムのようなミネラルと心血管系における主要な抗酸化酵素である細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度に統計学上有意な相関関係を認めなかった。血中ミネラル濃度が細胞外抗酸化防御機構に与える影響を明らかにするためにはさらなる検討が必要である。

### 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5件)

亀崎文彦、筒井正人、高橋正雄、園田信成、久保達彦、藤野善久、足立哲夫、安部治彦、竹内正明、真弓俊彦、尾辻豊、Plasma levels of nitric oxide metabolites are markedly reduced in normotensive males with electrocardiographically determined left

ventricular hypertrophy, Hypertension, 査読有、2014 in press

亀崎文彦、安部治彦、真弓俊彦、ICU入室中の心房細動の予防・治療、INTENSIVIST、査読有、6巻、2014、237-244  
[http://www.medsil.co.jp/books/products/detail.php?product\\_id=3374](http://www.medsil.co.jp/books/products/detail.php?product_id=3374)

亀崎文彦、園田信成、中田靖、村岡秀崇、岡崎昌博、田村雅仁、安部治彦、竹内正明、尾辻豊、Association of seasonal variation in the prevalence of metabolic syndrome with insulin resistance, Hypertension Research、査読有、36巻、2013、398-402、DOI: 10.1038/hr.2012.197

亀崎文彦、園田信成、尾辻豊、メタボリックシンドローム有病率の季節変動とインスリン抵抗性の関連、血圧、査読無、20巻、2013、986-987、

[http://www.sentan.com/cgi-bin/db\\_n.cgi?mode=view\\_backno&no=985](http://www.sentan.com/cgi-bin/db_n.cgi?mode=view_backno&no=985)

亀崎文彦、園田信成、中田靖、櫻山国宣、村岡秀崇、岡崎昌博、田村雅仁、安部治彦、竹内正明、Proposed cutoff level of waist circumference in Japanese men: evaluation by homeostasis model assessment of insulin resistance levels, Internal Medicine、査読有、50巻、2012、2119-2124、

DOI:

[10.2169/internalmedicine.51.7235](http://dx.doi.org/10.2169/internalmedicine.51.7235)

#### [学会発表](計6件)

亀崎文彦、Proposed cutoff level of waist circumference in middle-aged Japanese men: evaluation by plasma leptin levels、第78回日本循環器学会学術集会・総会、2014年3月22日、東京国際フォーラム(東京)

亀崎文彦、Significant impact of self-reported eating speed on the prevalence of metabolic syndrome and plasma adiponectin level、American Heart Association Scientific Sessions 2013、2013年11月18日、Dallas Convention Center (Dallas, USA)

亀崎文彦、Reduced plasma levels of nitric oxide metabolites in normotensive middle-aged men with electrocardiographically determined left ventricular hypertrophy、European Society of Cardiology Congress 2013、2013年9月1日、Amsterdam RAI (Amsterdam, Netherland)

亀崎文彦、細胞外スーパーオキシドジスムターゼの経気管的遺伝子導入はラットにおけるモノクロタリン誘発性肺高血圧症を軽減する、第13回日本NO学会学術集会、2013年6月28日、沖縄県医師会館(沖縄)

亀崎文彦、Plasma levels of nitric oxide metabolites are markedly reduced in normotensive individuals with electrocardiographically determined left ventricular hypertrophy、American Heart Association Scientific Sessions 2012、2012年11月5日、LA Convention Center (LA、USA)

亀崎文彦、低下したアディポネクチン濃度はメタボリックシンドロームの季節変動を予測する、第35回日本高血圧学会総会、2012年9月20日、ウェスティンナゴヤキャッスル(名古屋)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

亀崎文彦(KAMEZAKI Fumihiko)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：40535225

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：