

平成11年度～平成15年度

私立大学学術研究高度化推進事業「ハイテク・リサーチ・センター整備事業」

研究成果報告書

高度バイオテクノロジーによる 生活習慣病の一次予防



生活習慣病研究センター
研究代表者
香川 靖雄



生活習慣病研究センター 全景

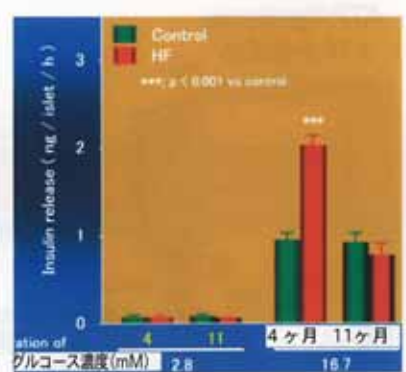


学校法人 香川栄養学園
女子栄養大学

A 班



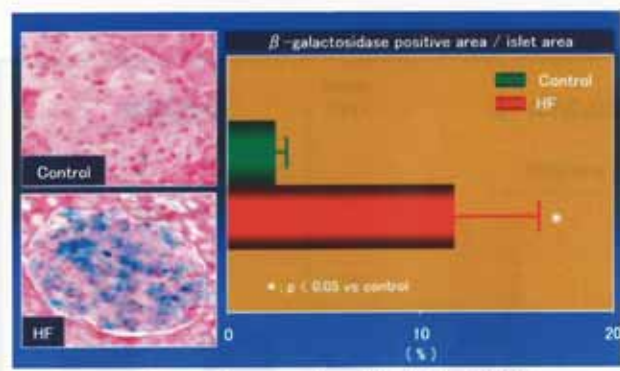
A1. 研究代表者香川靖雄の国際会議報告 (女子栄養大学2003年11月)



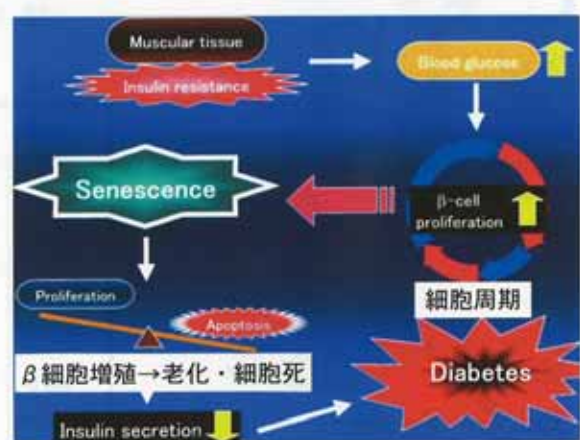
A2. 単離膵島の糖依存インスリン分泌HF: 高脂質食分泌亢進→減少



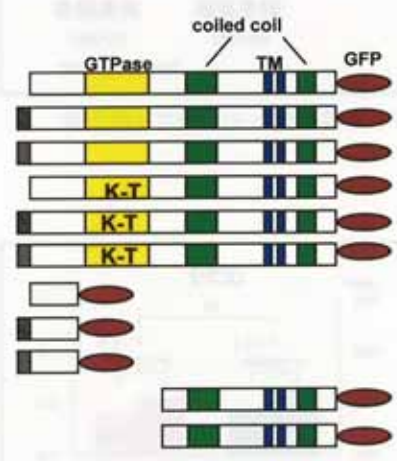
A3. A班リーダー: 佐久間慶子教授(左)



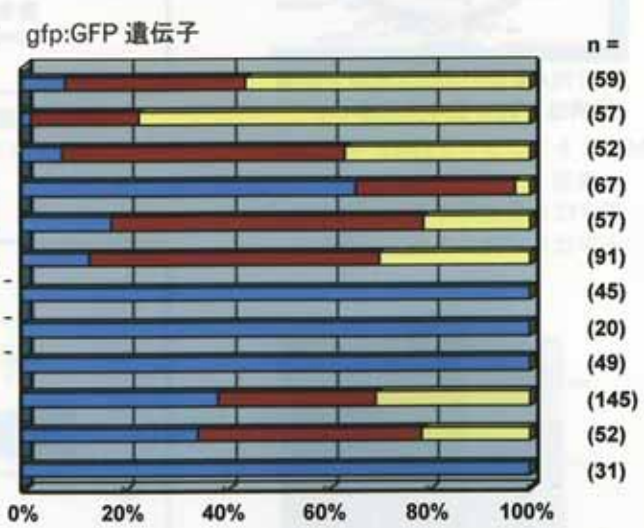
A4. 高脂質食11ヶ月後の膵島老化 (青色) βガラクトシダーゼ染色, 対象は発色僅少



A5. 膵島老化による2型糖尿病発生実験



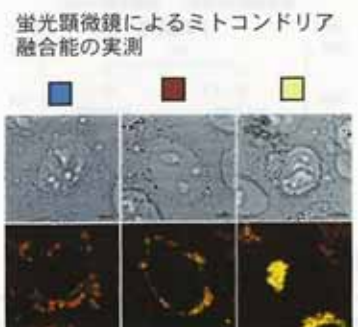
- GFP: 緑色蛍光蛋白質
- gfp: GFP 遺伝子
- hfzo1-gfp
- hfzo2-gfp
- hfzo3-gfp
- hfzo1(K88T)-gfp
- hfzo2(K116T)-gfp
- hfzo3(K109T)-gfp
- hfzo1-head-gfp
- hfzo2-head-gfp
- hfzo3-head-gfp
- hfzo2-CTC-gfp
- hfzo3-CTC-gfp
- F1γ-gfp



hfzo 遺伝子のトランケーションとGTPase部位への特異的変異導入 hfzo-1,2,3と人工変異hfzoによる3種のミトコンドリア融合状態の割合

■ elongated ■ perinuclear □ large mass

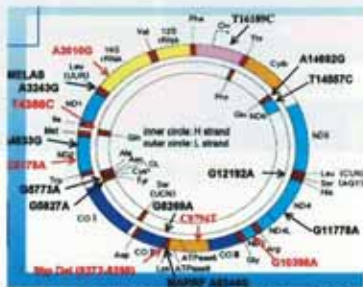
Sato A et al.: Bioscience Report 23: 313 (2003)



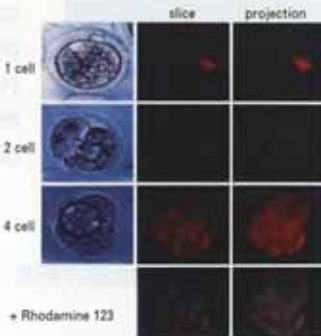
A6. 老化, 糖尿病による損傷ミトコンドリア修復膜融合の蛋白質hfzoの発見と機能解析



Fukushima A et al.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 50: 50 (2004)
A7. DNAアレイによる分析

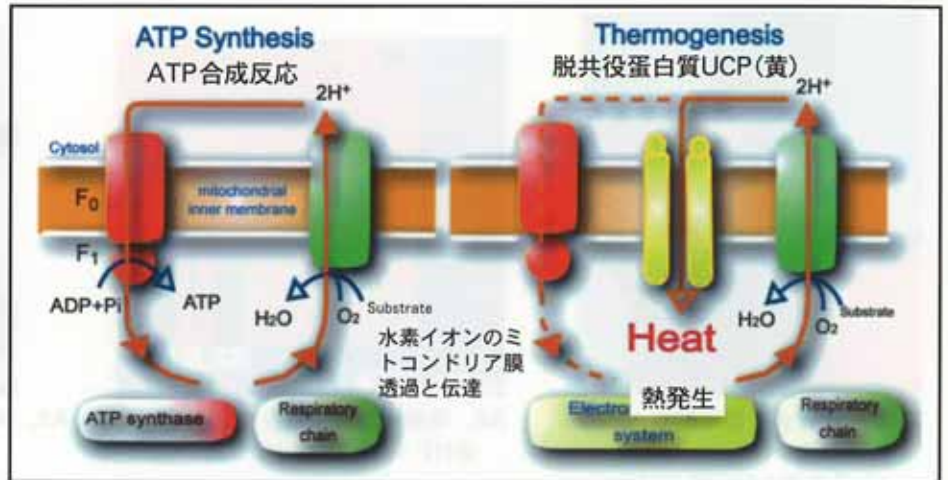


C5178A多型のA型は長寿で抗糖尿病性であり日本人に多い。
A9. ミトコンドリアDNA (mtDNA) の構造
黒字は本研究等で発見された変異
赤字は本研究の多型分析部位

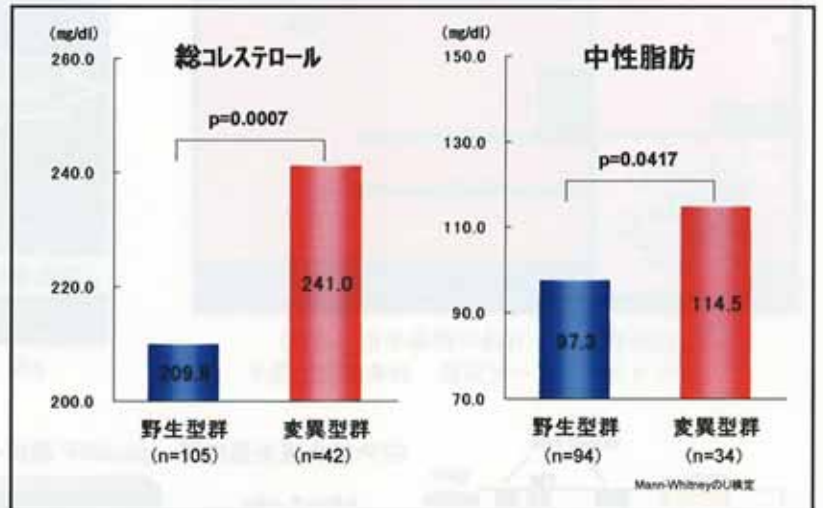


すでに人体で ooplasmic transfer と呼ばれ、遺伝子治療で数十名の健康な子供が生まれている。
Kagawa Y et al.: *Adv. Drug Del. Rev.* 49: 107 (2001)

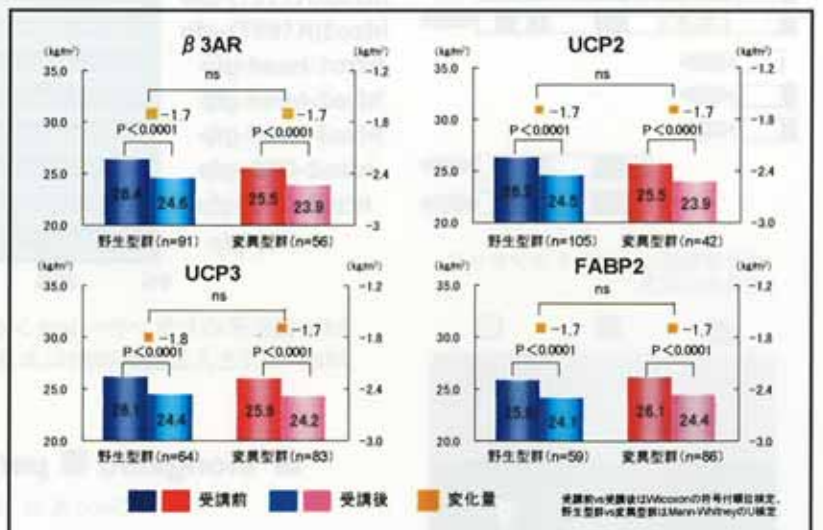
A11. 受精卵核にミトコンドリアの移入



A8. 脱共役蛋白質によるエネルギーの熱変換の機構



A10. 受講前の総コレステロールと中性脂肪へのUCP2 (脱共役タンパク質2) 多型の影響

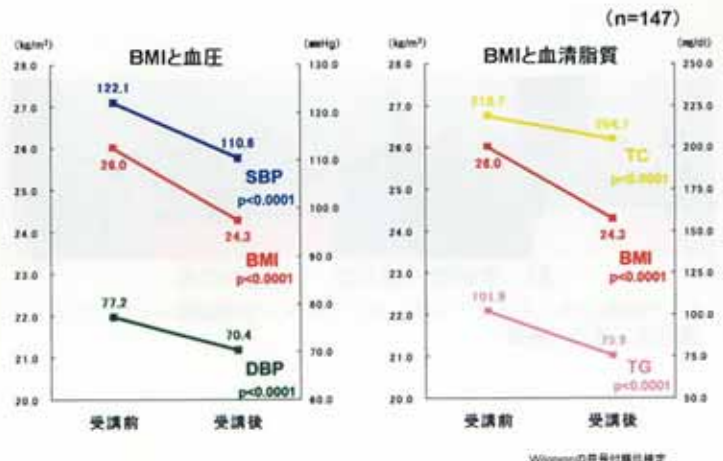


A12. 栄養クリニック受講効果への肥満関連遺伝子多型の影響 (BMIを一例として。三枝, 佐久間, 香川他: 病態栄養, 印刷中(2004))

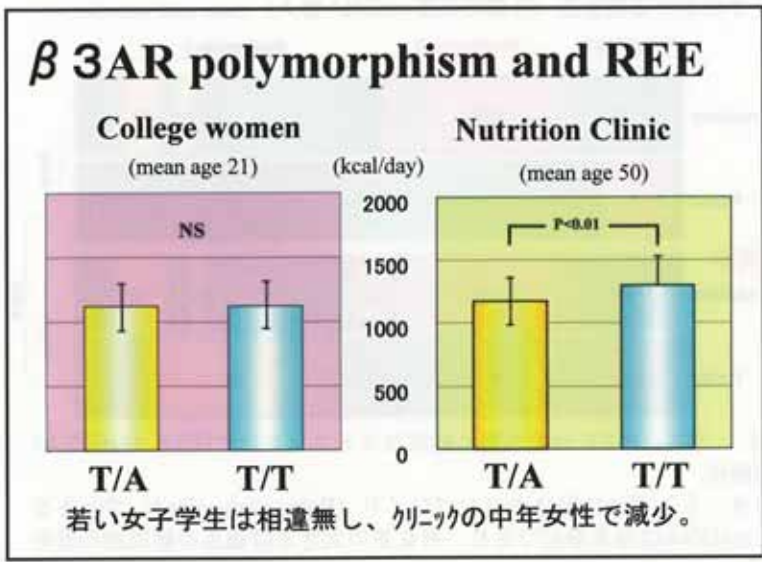
B 班



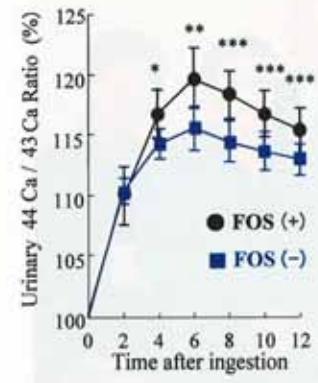
B1. B班リーダー鈴木久乃名誉教授（左）（日本栄養士会会長）と上西助教授（右）



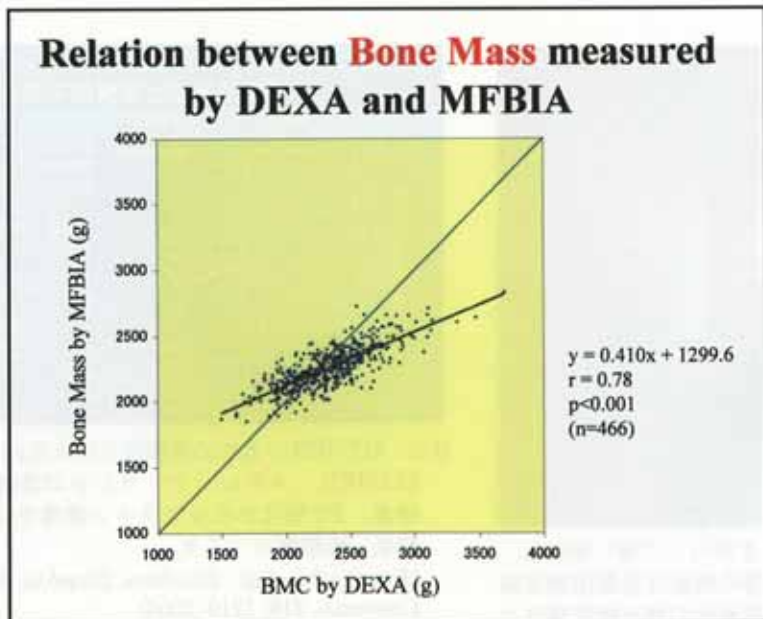
B2. 栄養クリニック指導の高い有効性



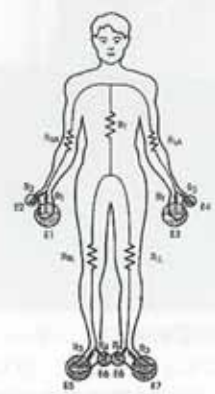
B3. β3アドレナリン受容体T/A多型と安静時代謝 (REE)



B4. FOSのカルシウム44吸収促進
フルクトオリゴ糖：FOS
*p<0.05, **p<0.005
***p<0.001
上西他：栄養学雑誌. 60: 11 (2002)



InBody 3.0
(BioSpace Co., Ltd.)



B5.6. 骨量の二重X線法 (DEXA) とインピーダンス法 (MFBIA) による測定比較



B7. 本研究の協力者 7ヶ国の代表

「女子栄養大学ハイテク・リサーチ・センター公開国際シンポジウム」
講演者、座長、班員



B8. 研究対象のモンゴロイドの人類学



B9. (左から) 本学客員教授ピンズ博士 (オーストラリア カーティン工大)、ナランチュア博士 (モンゴル共和国公衆衛生研究所)、本学学長香川芳子

アジア大太平洋5ヶ国のモンゴロイドのミトコンドリア多型分布と
パラオにおける男女差 (外来の母系mtDNA移入) men and women



B10. モンゴロイド進化分析の最も確実なミトコンドリアDNA (mtDNA) 多型解析

パラオ、トンガの住民は古モンゴロイド (Paleomongoloid) ではあるが、mtDNAは母系遺伝であり、男女差の大きさは過去の植民地の歴史を示す。

Kagawa Y *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295: 207 (2002)



B11. 生活習慣病研究センター (別名メタボリック棟) 宿泊室
人体のエネルギー代謝、カルシウム等の厳密な長期出納実験が可能。本研究費で建設され、我国栄養学の拠点研究施設となった。



B12. MTHFRの多型の葉酸投与による回復
MTHFR: メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素。TT型はホモシステイン濃度を上げ、痴呆、脳梗塞のリスク。

Hiraoka M *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 316: 1210 (2004)

C班

食事及び健康調査の様様



C1. 身体測定 (於：モンゴル)



C2. 中村大統領の血圧を測定する柴田教授 (於：パラオ)



C3. 採血 (於：タイ)



C4. 心電図 (於：中国)



C5. 食事調査 (於：タイ)

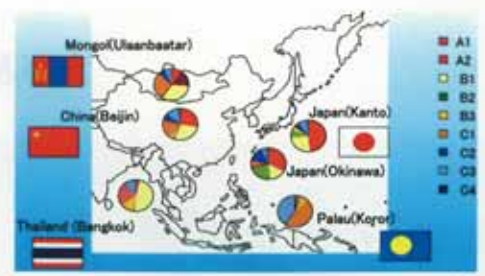


C6. 対象者住居 (ゲル内) (於：モンゴル)



本学客員教授Hartmann博士

C7. (中央) C班リーダー 長谷川 恭子教授



C8. ミトコンドリアDNAの人種別ハプロタイプ頻度
日本沖縄間でさえ大きな差が見られる。
長寿mtDNA多型は日本の特色である。

C9. M

	Okinawa (n=50)	Thai (n=106)	Palau (n=54)	Mongol (n=126)
PPAR γ 2	2 98	8 92	2 98	12 2 84
LEPR ex6	10 90	3 32 65	4 31 65	7 38 55
Apo E	3 90 7	8 80 12	19 69 13	4 78 18
AGT M235	8 34 58	3 33 64	4 45 51	6 39 55
UCP2	8 38 54	25 72 3	17 83	25 72 3
UCP3p	24 55 20	53 40 8	96 4	43 43 14
AGT a-20c	52 34 14	67 31 2	66 32 2	77 22 2
β 3AR	78 18 4	82 18	87 13	65 32 3
LEPRex14	96	87 11 2	98	70 27 3

C10. F

	Okinawa (n=50)	Thai (n=106)	Palau (n=54)	Mongol (n=126)
PPAR γ 2	2 98	4 96	2 3 95	12 1 88
LEPR ex6	12 88	4 19 77	2 27 71	6 31 63
Apo E	1 92 7	6 81 13	21 66 13	3 85 13
AGT M235	6 26 68	2 38 60	13 34 53	7 42 51
UCP2	4 46 50	25 73 2	7 93	28 66 5
UCP3p	26 56 18	59 31 9	2 96 2	40 46 14
AGT a-20c	40 60 14	66 31 3	71 27 2	66 29 6
β 3AR	62 32 6	79 18 3	94 6	65 33 2
LEPR ex14	94	94 6	100	72 2

C9. 男性 (M) C10. 女性 (F) の核DNAの肥満関連遺伝子多型の国別頻度
赤は肥満を起こし易いホモ型、青は肥満になり難いホモ型、黄は両者のヘテロ型多型略号、変異部位、蛋白質名と意義は本文5頁、表1を参照。
Kagawa Y. et al.: Asia-Pacific J. Public Health 15 (suppl): S10 (2003)

D班



D1. 溢れる程のトンガ人が参加して実施された食事調査



D2. 2001年調査（左から）林教授、トンガ王国前公衆衛生局長フロカーカ博士、足立教授、保健大臣、工藤教授、村山博士、山本管理栄養士



D3. 1メートル程のタロイモを並べて売る青物市場を視察する工藤教授と林教授



D4. 日本から持参した体脂肪計で自分自身を計測するトンガ王国保健大臣（右端）



D5. 現地調査の測定法の確定のために実施した在日トンガ人のプレ調査（於：女子栄養大学）



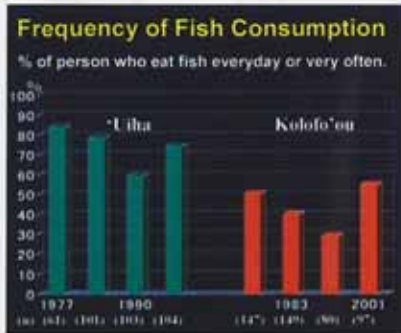
D6. 28年前から継続した調査対象者 Uhia（離島地区）近所の人



D7. D班リーダー足立己幸教授（右）トンガ王国のパル博士の発表を司会する。

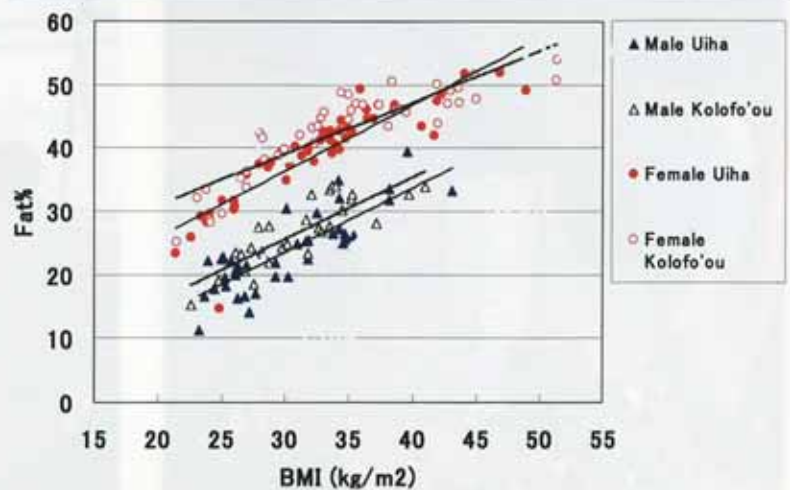


D8. ハイテク・リサーチ・センター国際会議で質問する小松教授

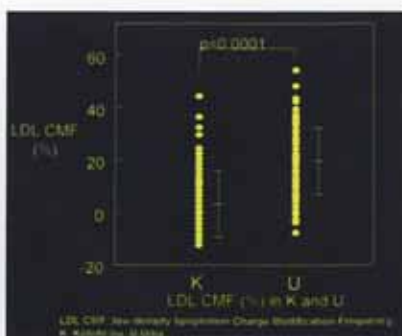


D9. 魚の消費頻度調査
伝統的食生活をする離島Uiha地区に比べ近代化の進んだKolofo'ou地区では摂取量が少ない。

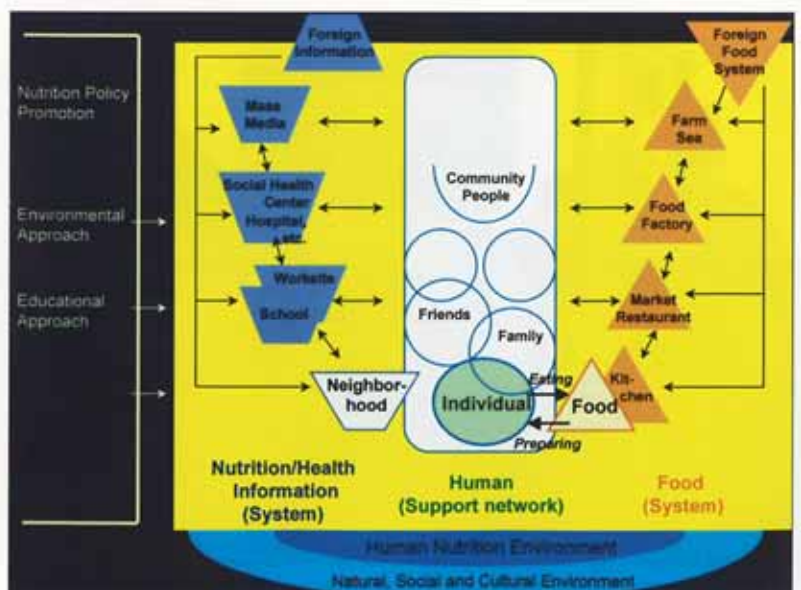
BMI and Body Fat % of Tongan Adults



D10. 巨大な体躯、日本で理想とされるBMI=22以下は3人しかいない。しかし、血圧、コレステロール、空腹時血糖などの異常者はBMI>32から。



D11. 動脈硬化のLDL CMF
Uiha地区が多い。
LDL CMF：低密度リポ蛋白質の変性度数（村上教授）



D12. 栄養政策、環境条件、教育の情報系と人の支援系と食物の系の枠組

高度バイオテクノロジーによる生活習慣病の一次予防

研究代表者 香川靖雄（女子栄養大学副学長 教授）

女子栄養大学のハイテク・リサーチ・センターの成果は、遺伝子医学をはじめとする高度なバイオテクノロジーを生活習慣病の一次予防に導入して国民に寄与するものです。

生活習慣病とは、生活習慣が発症に深くかかわっている疾患の総称で、肥満、高血圧、高コレステロール血・高脂血などの軽症病態期から始まり動脈硬化や高血糖を経て、糖尿病、心臓病、脳卒中、癌などに至る疾患を指します（図1）。しかし、医師が患者さんに生活習慣病という病名を付けることはありません。つまり、これは病気の総称であると共に、国民一人一人に生活習慣に気をつけてもらい予防したいと考えた公衆衛生審議会が1996年に提唱した行政用語です。生活習慣病の経過は、数十年に及ぶ食事・運動等の生活習慣要因と遺伝的要因の相互作用で生じます。軽症病態期を含む患者の頻度は60歳台で人口の60%が高血圧や高コレステロール血・高脂血、30%が肥満か高血糖という現状です〔1〕。2003年に発表された厚生労働省の糖尿病調査でも軽症病態期にあるものまで含めると国民6人に1人にまで激増しました。今までの予防対策にどのような欠陥があったのでしょうか。

1. 生活習慣病の対策には一次予防が必要です

健康人の段階から軽症病態期に入るのを予防するのが一次予防です〔1〕。しかし、日本では病名が付いて始めて保険の給付が行われるので、疾患確立期以降の進展を主に投薬で遅らせる二次予防が中心です。二次予防は生活習慣病が「成人病」と呼ばれた時代の「早期発見、早期治療」の対策ですが、確立した疾患の回復は難しく、さらに医療費がかかります。また、その期間になっても何の苦痛もないので放置して進行する人も多いのです。しかし、やがて図1下の脳卒中、心筋梗塞、癌転移等が起こり救急車で搬送されます。この再発を防ぎ、致死を免れるのが三次予防で、病院では巨額の医療費が費やされ、しかもQOL（生活の質）が大変低くなります。例えば22万人もの血液透析患者だけでも1人月に60万円もかかりますが、外国では極めて少数の透析患者しかいません。団塊の世代の人々が疾患確立期に入り、多数の合併症が起ると、津波のように医療費が増加して健保体制が崩壊してしまうでしょう。男女とも各種の疾病に罹る頻度が最も少ないBMIは22ですが、最長寿命から見れば男性は24程度がよいのです（厚生労働省多目的コホート研究）。特に高齢社会となり、激増する要介護者、痴呆患者の介護予防対策として、低栄養を避け、葉酸やカルシウムの所要量も見直す必要を見いだしました。

2. ハイテクノロジーの応用

生命科学と情報科学の躍進が栄養学の技術面にも大きな影響を与えました。遺伝子や蛋

白質の解析技術には高度の情報機器が組み込まれています。本研究で購入した Sequence Detection Systems (ABI Prism 7700)や何百もの遺伝子を同時に解析できる後述の遺伝子アレイ (またはチップ) の装置もその例です(カラー図番号 A7以下同様)。本学の放射性同位元素施設、核磁気共鳴装置、質量分析装置も使用しましたが、とくに MALDI-TOF は飛躍的な性能をもっています。これは生体高分子の断片質量のパターンを数秒で解析して、既知高分子の内蔵データベースで同定する分析機器で田中耕一氏に 2002 年度ノーベル賞を授与されましたが、本研究でもすでに 2000 年から学外施設を借用して分析しています。また肥満度や骨密度の計測にも二重 X 線吸収法 (DPX-LIQ, Lunar 社) や 8 電極式多周波インピーダンス式体組成計 (InBody3.0) などの新テクノロジーが使用されました(B5,6)。高度の電子スピン共鳴装置や安定同位元素による代謝解析(B4)も海外と協力して行いました。

大型情報機器として本プロジェクトが中心的に使用したのは電算機 Fujitsu Grand Power 5000 です。蓄積する遺伝子などの情報はサーバーに特殊セキュリティーをかけ、さらにデータ群毎に防火壁で遮断をして、それらの全ソフトウェアも秘匿しました。すでに本学ホームページに公開したカラーの中間報告書や論文についてだけは同機 Bias1000 サーバーにコピーしました。IT 技術は単にデータ解析に止まらず、フードマッピング法という新栄養調査法だけでなく、グラフィックスによる栄養指導ソフトの開発にも広く応用しました。

3. 生活習慣病関連のヒト・ゲノム解析研究

生活習慣病予防で問題となるのは、同じ栄養・運動でも、発病する人とならない人がいることです。これは主に遺伝的要因によります (図 1 上)。本研究の開始時にヒト・ゲノムの基本的解明が報告され、欧米では全国民の遺伝子、病歴、家系図の調査を法律で定めた国もあって研究が大きく進みました。しかし、日本人の生活習慣病関連の遺伝子は白人と大きく異なります。1945 年以降の日本の食事は西欧化の影響が大きく、かつては 7% であった脂肪エネルギー比率が 25% を越えたので、飢餓耐性の遺伝子が多い日本人に肥満、糖尿病が増えたのです [1]。日本の広島の人々に比べて、同じ遺伝子の広島出身の日系二世を調べると、白人よりも 2-3 倍も高コレステロール血、糖尿病が多いのです。そこで欧米の模倣ではなく、モンゴロイド独自の研究が必要とされました [1]。日本、アジアの遺伝子多型調査には様々な困難が克服してこの研究が行なわれたのです [2] [3]。

遺伝子多型とは正常個体の人口の中に 1% 以上の頻度で存在する遺伝子の多様性 (相違) のことです。遺伝子多型の中で最も主要なのが一塩基多型 (SNP = single nucleotide polymorphism) です [3]。これは図 2 の肥満と遺伝子の例に示すように、遺伝子を作っている 4 種の塩基 (a.g.c.t) の長い配列の中で僅か 1 個の塩基だけが変化した多型です。図 2 右上の tgg という配列は β 3 アドレナリン受容体 (β 3AR) という蛋白質の 64 番目のアミノ酸をトリプトファン (略号は Trp または W) と決めています。変異で tgg の t が c に変わって cgg となるとアルギニン (略号は Arg または R) に変わります。このような変異を W64R

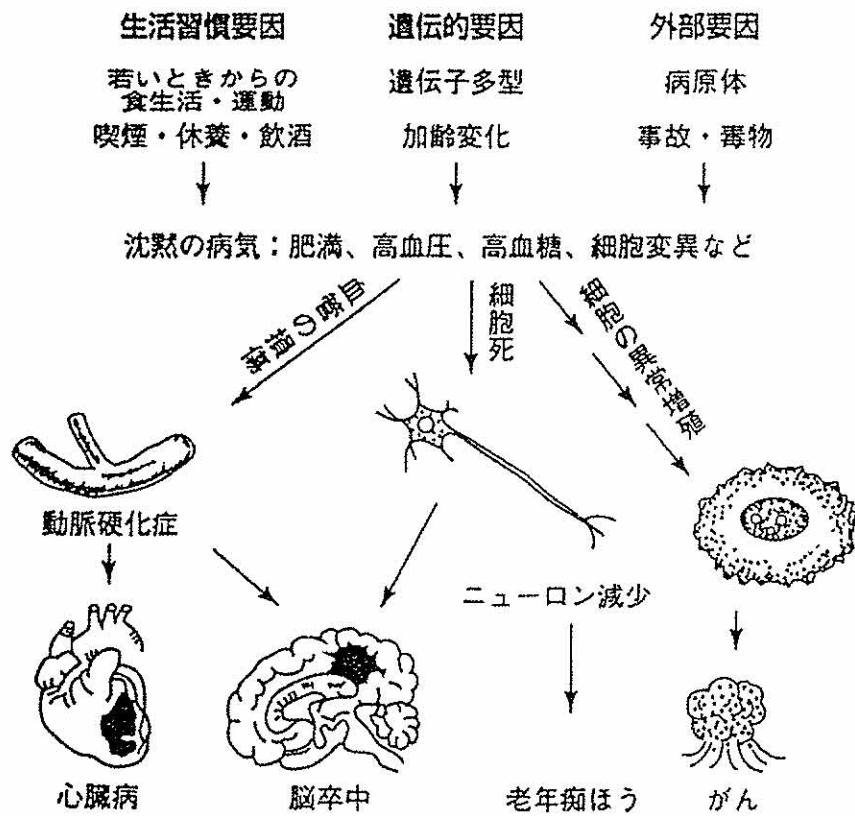


図 1

肥満の発症要因

一塩基多型 (SNPs) β 3アドレナリン受容体 W64R

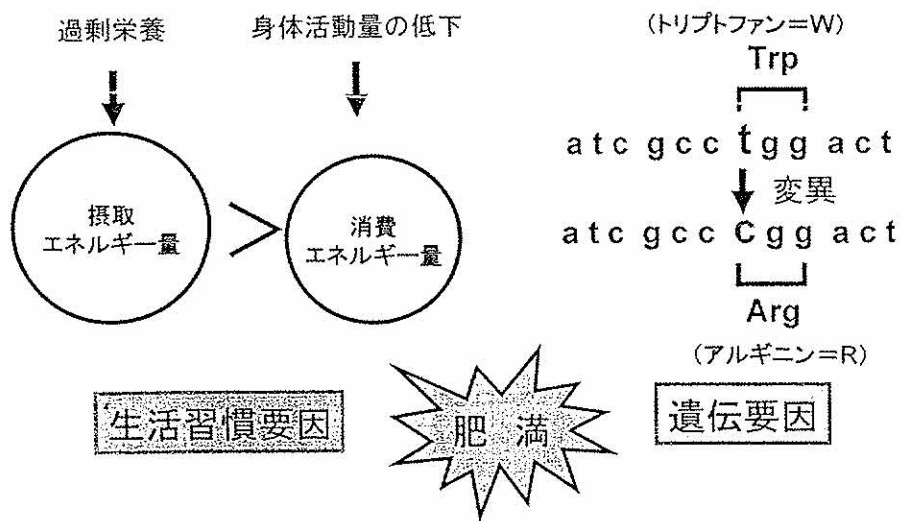


図 2

と書きます。この R 型をもつ人は日本人の約 30%いますが安静時代謝が W 型の人に較べて約 180kcal/日 (おにぎり 1 個分) 少ないので(B3)、図 2 左下のように肥満しやすいのです。しかし、R 型の人でも後述のように食事で適正体重に気をつけていれば心配はありません。本研究で解析した主な SNP は表 1 に要約してあります。表 1 の 2 行目の c-55t とあるのは、c という塩基がアミノ酸の決定部位以外の -55 番目にあつて、変異 c→t を起こした事を示します。この -55 番目の位置は UCP3 (脱共役蛋白質 3) の生産量を決めるプロモーターにありますので UCP3-p と略するのです。

中高年の一卵性双生児で調べると、高血圧、高血糖、肥満などが兄弟で共に起こる一致率はどれも 50%前後ですから、約半分が遺伝、残りの半分が栄養・運動などの環境による事が判りました〔4〕。生活習慣病に罹りやすい遺伝子多型なので感受性遺伝子と呼ばれます。これらは正しい生活習慣さえ守っていれば罹りにくいという本研究の実践に希望を与えてくれるのです〔3〕。

4. 研究の特色：モンゴロイドの遺伝子多型、無投薬対照、栄養調査、長期追跡数ある生活習慣病の研究の中で、本研究は下記の点に特色があり優れています。

モンゴロイドの研究：モンゴロイドの遺伝子多型と栄養の関連に関する研究は乏しいのが現状です。表 1 にはこの研究で分析された代表的な SNP が要約してあります。表の中で左端の欄に #印を付けた SNP は頻度が白人に較べて日本人に多い肥満関連遺伝子です。特に UCP2 やアディポネクチンの SNP は最近行なわれた国内の多数の集計ですすでに糖尿病との関連が確認されたものです。逆に白人では肥満、糖尿病を起こし易いと報告されている腫瘍壊死因子 α (TNF α) a 多型やインターロイキン 6 (IL6) の c 型多型は日本人にはほとんどいなかったので、この研究から省いてあります。

1976 年から研究代表者は当時長寿日本 1 であった沖縄離島の栄養生化学調査を始めています。本学の長谷川教授が現在まで継続し、同年、トンガ島の肥満の研究を本学の足立教授が始めています。パラオ、中国 6 省、モンゴルなどについても本プロジェクト以前から調査をしています。

遺伝子多型解析：研究代表者は遺伝子病班班長〔5〕や日本生化学会副会長、日本遺伝子治療学会長などとして、今回の研究の基盤となる日本人のエネルギー代謝関連の遺伝子とその機能を長年手がけてきました (A8-A11)〔5〕。さらにミトコンドリア DNA(mtDNA) によるモンゴロイドの人類学的同定はこの研究の大きな特色です (A9, B10, C8)〔2〕。これによって国内外の多くの核 DNA の多型も解析したのです (C9, C10)

無投薬対照：現在の日本では高齢人口の多数が降圧剤 (60 歳以上の人口の 30%が降圧剤を服用)、抗コレステロール剤を服用していて、多様な薬剤服用者の混合集団についての二次予防の調査が大半です。そのため生活習慣病の一次予防段階の解明に不可欠な無投薬対照を欠いています。しかし、日本・シンガポールを除く多くのアジア・太平洋諸国では経済的理由から生活習慣病に対して投薬は僅かしか行なわれていないのです。そのため、バ

表1 本研究で解析された肥満関連の遺伝子多型と略号

遺伝子の名称	英語名	略号	変異と位置	機能
β3 アドレリン受容体 #	β3 adrenergic receptor	β3 AR	W64R	脂肪組織表面にあって交感神経刺激で脂肪分解を促進。
脱共役蛋白質 3 プロモーター #	Uncoupling protein 3 prom.	UCP3-p	c-55t	ミトコンドリアにあり、I細胞-を熱に変換する UCP 3 の量を制御。
レプチン受容体 #	Leptin receptor	LEPR	N233R, ex 6 K656N ex14	脳の視床下部にあるレプチン結合部位、食欲を下げ、活動を増す ex=exon の略
ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 #	Peroxisome proliferatoractivator	PPARα PPARγ2	L162V V12P	脂肪細胞の代謝酵素の合成を制御するステロイドホルモン受容体
カルパイン 10	Calpain 10	CAPN10	g 4852a	糖尿病関連蛋白質水解酵素
アポリポ蛋白質 E	Apolipoprotein E	ApoE	ε2, ε3, ε4	血清脂質輸送、脳脂質代謝 ε4 は痴呆促進
脱共役蛋白質 2 #	Uncoupling protein 2	UCP2	45bp 欠失(d) と挿入(i)	ミトコンドリアのI細胞-を熱に変換 白色脂肪組織等に分布
アディポネクチン #	Adiponectin	AMP1	t 54g t 276g	脂肪組織から分泌されて、肥満、糖尿病を予防する蛋白質
脂肪酸結合蛋白質 2 #	Fatty acid binding protein 2	FABP2	A54T	脂肪酸の吸収、輸送 小腸上皮に存在、肥満に関与
小胞体脂肪輸送体 #	Microsomal TG** transfer protein	MTP	c-493g	小胞体における脂肪の輸送促進。血清 TG**低下作用
SREBP* 切断活性化蛋白質	SREBP cleavage activating protein	SCAP	I796V	SREBP*の変換を通して高脂肪血を防ぐ。

肥満型の変異の多くは飢餓耐性遺伝子の本体と考えられている。

日本人が白人に比べて変異型多型の頻度が多いもの。PPARγ2 の P 型は日本人の 95% を占めるので、日本人のほぼ全てが糖尿病感受性と考えられ、肥満との解析は省略した。

*SREBP: Sterol regulatory element-binding protein:ステロール制御要素結合蛋白質:

下流に存在するコレステロールなどの関連遺伝子を発現制御するトランス因子の 1 種

**TG:triglyceride:中性脂肪、トリグリセライド

アミノ酸は 1 文字表記なので、3 文字表記では例えば W は Trp=トリプトファン、R は Arg=アルギニン

ラオ、タイ、中国、モンゴル、トンガで地域住民と協力して、遺伝子解析、栄養調査、臨床検診を行いました。日本人については、現在のような投薬が希だった 20・35 年前の女子栄養大学栄養クリニック受診者から遺伝子と現在の検診結果を送っていただき、過去の診療記録、栄養摂取などと共に無投薬の被験者のみを選んで解析しました。その無投薬での有効性は図(B2)で一端がわかります。

長期介入調査：生活習慣病は健康時から発病までに数十年かかるのですから、一次予防にはどれだけ長期の介入の追跡が行なわれているかが大切です。久山研究など優れたコホートもありますが、介入はなく、栄養クリニックのような長期介入研究が乏しいのです。仮に病名が付いた二次予防段階の記録でも、医師法では病歴保存期間が5年と定められており、保存されている場合でも、電子カルテ導入以前ですから、過去に遡る長期の臨床・栄養指導の記録を倉庫に山積の状態から検索し難いという重大な欠点があります。研究対象は 1969 年に開設した本学栄養クリニックの過去 35 年間の約 4000 名について詳細な受診者の保存記録があります。欧風化によって生活習慣病の長期増加過程を本学が 1976 年以来調査してきた上記のアジア・太平洋諸国の住民の SNP と基本資料も参考になります。

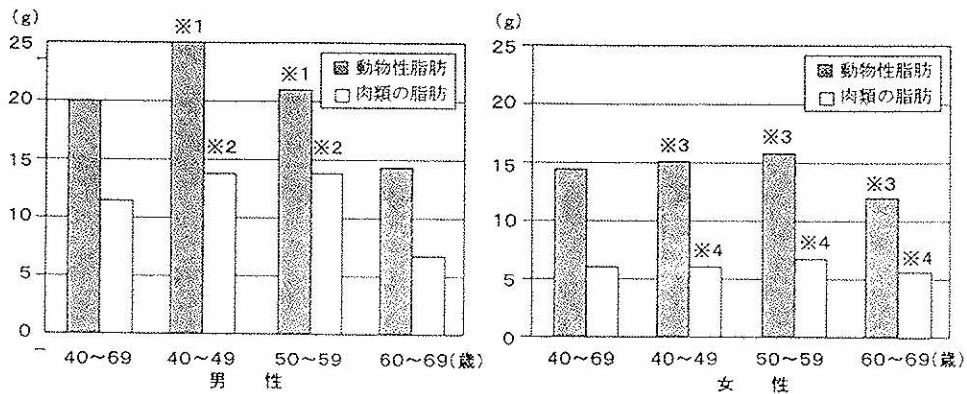
栄養調査：日本で行なわれている食生活・運動の解析の大部分は国民栄養調査を除けば、簡単なアンケート記入か聞き取り調査が多いのです。女子栄養大学が長年行って来た、習熟した管理栄養士の指導による食事記録法を始めとする詳細な生活習慣に応じた内容が優れています。アジア各国では通訳とともに食品モデルを持参して量を確認するのは(C5)。後述の D 班のように対象者自身に食事の絵を書いて貰う独特な方法もあります(図4)。研究代表者は自治医大の辺地医療のための沖縄離島の栄養学的調査を続け、また C 班の長谷川教授も沖縄の食生活を調べた 20 年に及ぶ経験があります(図3)。

5. 分子、個体、集団、生態の 4 レベルで研究 (15~52 頁参照)

生活習慣病は A.分子レベルで見れば細胞の変化から始まり、B.個体レベルで見れば肥満、高血糖、高血圧などの臨床症状があり、C.集団レベルでは、地域、人種ごとに異なった頻度や特徴があります。さらに、D.生態レベルでは原因となった食行動などがあります。たとえば個体の生活習慣病を解析するにも、分子レベルの遺伝子解析や栄養素の分析は不可欠です。そこで、A.B.C.D 4 つのレベルの班に分けて、新しい技術を応用して、研究を進めました。その代表的な成果は巻頭計 8 頁 A1-12, B1-12, C1-10, D1-12 に示されています。この各班は共同して研究をすすめ、例えば A 班で脱共役蛋白質 UCP の機能をしらべ (A8)、UCP 2 遺伝子の多型分析を B 班の栄養クリニックの受講者で変異型ではコレステロールや中性脂肪が高いことを見出します (A10)。ついて C 班での変異型の頻度 (C9, 10) と調査結果 (C1-C8) と照合するのです。

A 班：分子レベル班 (リーダー 佐久間慶子教授)

A 班は高度なテクノロジー、新鋭機器を栄養・食糧の様々な分野に応用して生活習慣病の



沖縄県民の食品群別脂肪摂取量
(1999年女子栄養大学栄養科学研究所報告より)

- ※1: P<0.05(対60~69歳、動物性脂肪)
- ※2: P<0.05(対60~69歳、肉類の脂肪)
- ※3: P<0.01(対男性、動物性脂肪)
- ※4: P<0.01(対男性、肉類の脂肪)

図3

Eさん調査票(女性・77歳)

料理のバランスチェック

記入日: 12月 11日

氏名: () 性別: 女性

※1日1食を2回に分けて食べてください。

※1日の摂取量を記入してください。

時間	食事	食べた食品	摂取量	ポイント
朝食	白米	白米、味噌汁、納豆、漬物、茶
昼食
夕食

食材料のバランスチェック

食品群	食品名	摂取量	ポイント
主食	飯、パン、うどん、そば、スパゲッティなど	1食: 4点	4点

肉類	肉類、魚介類、卵など	1食: 6点	6点

大豆	納豆、豆腐、味噌、がんもどき、生揚げなど	1食: 7点	7点

魚	小魚、干エビ、しらす、昆布、わかめなど	1食: 6点	6点

野菜	ピーマン、トマト、人参、ほうれんそうなど	1食: 6点	6点

その他	レタス、きゅうり、みかん、りんごなど	1食: 5点	5点

乳類	牛乳、チーズ、ヨーグルトなど	1食: 10点	10点

評価	60~100点	たいへんよい	10点
	60~79点	少し注意	7点
	59点以下	注意を要す	0点

総得点: 67点

栄養素等のバランスチェック

栄養素	必要量	摂取量	充足率(%)
エネルギー(kcal)	1450	1387	96
炭水化物(g)	217.5	191.7	88
たんぱく質(g)	65.0	53.8	83
脂質(g)	36.3	25.6	71
カルシウム(mg)	600	378	63
鉄(mg)	10.0	9.2	92

栄養素	必要量	摂取量	充足率(%)
ビタミンA(μg)	540	505	94
ビタミンB1(mg)	0.70	0.47	67
ビタミンB2(mg)	0.80	1.37	171
ビタミンC(mg)	100	104	104
食塩(g)	10.0	6.4	64

多様な料理を少しずつ食べようという意識から、一つの料理を母と半分ずつ分けて食べています。しかし、食材料のバランスチェックでは67点で少し注意を要す。と評価され、栄養素毎のバランスチェックを見ても、残念ながら157cmで61kgのEさんにとって必要量を満たしていない栄養素が多く、毎日継続と不足が心配です。

図4

一次予防の基礎手段を得ることを目標としました。第一に各班の遺伝子、特に SNP を分析し、また遺伝子発現の解析を重視しました。その技術の一つが (A7) に示す遺伝子アレイです。この技術によって生活習慣病を防ぐ n-3 系脂肪酸 (魚に多い DHA 等) は遺伝子がミトコンドリアの脱共役蛋白質の遺伝子発現を増して肥満を予防し、癌やアレルギーを予防する多くの遺伝子の発現を制御することが判りました [6]。また健康食品の一つオリゴ糖のカルシウム代謝遺伝子の発現促進作用も遺伝子アレイでわかりました [7]。

A 班の大切な研究に精密な純系動物による栄養実験があります。脂質の過剰摂取によって、インスリン抵抗性が増加して、2 型糖尿病の原因と推定されるランゲルハンス島の代償的増殖とそれに続く疲弊が老化指標の増加で示されました (A2,4,5)。さらに立屋敷班員は核磁気共鳴法を用いて次々登場する新食品の種類、組成を簡易定量する新技術 (ケモメトリックス) を開発しました [8]。また五明班員は糖尿病の予防に有用なグリセミックインデックス抑制機能を果物から見出しました。

人体エネルギーの根源となる ATP 合成酵素 (A8) の基礎研究は加速器、電子スピン共鳴装置、部位特異変異 (A6)、トランスジェニックマウス (A11) など最高のハイテクノロジーを用いて行なわれました [9]。徳久班員は脳の日リズム制御作用のある D-アミノ酸の代謝を重水素を用い質量分析器で測定しました。また、MALDI-TOF などを用いてアルツハイマー型痴呆の脳に蓄積する D-アスパラギン酸含有蛋白質の分解酵素を発見することができました [10]。この酵素とその活性化剤は痴呆の新しい治療法となりえますので現在特許を申請中です。また新しくビタミンの所要量として定められたビオチンに抗糖尿病の働きがあることを発見しました [11]。

B 班：個体レベル班 (リーダー 鈴木久乃教授、後半、工藤秀機教授)

8 電極式多周波インピーダンス式体組成計 DEXA 法など新鋭の計測機器を比較して肥満度、骨密度などの栄養評価法を検討しました (B5,6)。栄養クリニックの四群点数法と運動によって、飢餓耐性の遺伝子多型にもかかわらず、長期 (25 年後)、短期の一次予防が可能であることを示しました。栄養クリニックでは投薬なしでも (A12, B2) に示すように肥満 (BMI = 体格指数 > 25) とそれに伴う高血圧、高脂血症、高コレステロール血も極めて有意 ($P < 0.0001$) に改善したのです。国民栄養調査では中高年になると、BMI が増加するのに、栄養クリニックの受講者では初診時に較べて 25 年後に減少していたのです [2]。調査した 10 種の飢餓耐性遺伝子多型の肥満を促進する変異型 (ホモとヘテロの合計) で全て BMI が改善することが認められたのです。さらに詳しく脱共役蛋白質 2 (UCP2) の *rs167971* 多型 (ホモ) を調べても、確かに BMI、LDL コレステロール、総コレステロール、血糖は高い傾向にありますが (A10)、指導後には *rs167971* 多型と近い値にまで改善しているのです (A12、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$)。

新しく所要量の決まった葉酸等 8 種のビタミンの過不足、血清濃度を解明しました。遺伝子の多型に応じた個人対応の栄養指導については、まだ未解決の点も多いのですが、比較

的単純な栄養改善が可能な例があります。遺伝子発現の調節と関係の深いメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素の TT 多型は、疫学調査では脳梗塞、心筋梗塞、痴呆を起こし易いのです。その原因となる血清ホモシステインは血管内皮や神経細胞を障害するのです〔12〕。日本人におけるメチレンテトラヒドロ葉酸還元遺伝子多型の頻度は CC 型 31%、CT 型 55%、TT 型 15%で、所要量を充足しているにもかかわらず TT 型では血清葉酸値は低く、血清ホモシステイン値は高値を示しました〔13〕。すなわち、日本人においても TT 型を持つ人が動脈硬化症を防ぐには、現行の所要量よりさらに高めに葉酸を摂取する必要があります。葉酸代謝にかかわる MTHFR の A1298C、メチオニン合成酵素遺伝子の A2756G、還元葉酸輸送体遺伝子の G80A の SNP があっても、B12 のように葉酸を 400 μ g 摂取することによって、正常人と近い血清葉酸濃度が達成でき、ホモシステイン濃度も正常まで下がったのです〔13〕。これは、オーダーメイド栄養学の成功例として、2004 年の第 7 次改訂栄養所要量に影響を与えました。

C 班：集団レベル班（リーダー 長谷川恭子教授）

私達モンゴロイドの生活習慣病の遺伝子と栄養は特殊です〔2〕。現代は飽食の時代といわれていますが、これが肥満の原因と考えるのは誤りです。平均総エネルギー摂取は過去 20 年間減り続けており、日本人ではすでに 1 日 2000kcal を割っています。食事の脂質の増加、運動減少、不規則な生活などの近代化による肥満、高血糖、高血圧の増加が確認されました〔2, 14, 15〕。例えば 1980 年代まで全国 1 位だった長寿県沖縄の男性平均寿命の順位が、半分以下の 26 位にまで転落してしまっただけです。ただし、伝統食を守っている女性と 60-69 歳の高齢男子の平均余命は依然として全国一位を保っています。これは図 3 にしめすように、C 班の沖縄での食生活調査の結果、戦後世代の中高年男性は米国の食文化の影響を強く受けて、動物性脂肪摂取が 20g 以上、肉類の脂肪が 10g 以上と著しく増加したため（図 3）、糖尿病が 8 年間で 24%から 27%に増加したのをはじめ、心筋梗塞も全国平均より高くなったと考えられます〔16〕。

日本人を含むモンゴロイドの約十種の飢餓耐性遺伝子多型頻度が明らかになり（C9, 10）、その近代化、都市化に伴う生活習慣病の増加が認められました。例えばタイの都市部（平均体重：男 65.8kg、女 60.1kg）と伝統的な農村部（平均体重：男 53kg、女 55.6kg）を比較すると有意の差があり（ $p < 0.05$ ）、都市部では ApoE と LDL-C と有意の相関していました。糖尿病が激増したパラオでは平均体格指数（BMI）は 30 を超え、空腹時血糖は男女とも 32%、HbA1c は 38%が基準範囲を超えていました。日本人と違い、パラオには β 3 アドレナリン受容体の Arg 型は少ないのですが、脱共役蛋白質との関連が高いことがわかりました〔14, 15〕。PPAR γ 2 は、男性の 98%女性の 95%が変異型、CAPN 10 も男性の 100%、女性の 96.8%が変異型、UCP3-p のヘテロの変異型も男性の 96.3%、女性の 96.8%を占め、LEPRexon6 の変異型ホモは男性 64.8%、女性 71.8%に認められました。遺伝子解析結果を重回帰分析によって、臨床検査値に対する影響を検討したところ、男性では HbA1c と

UCP3-p($p<0.01$)、空腹時血糖と UCP3-p($p<0.01$)で、女性ではレプチンと ApoE($p<0.05$)、体脂肪率と UCP3-p($p<0.05$)に相関がありました〔14、15〕。

これら諸地域の食事記録、遺伝子解析、臨床検査値、食生態の膨大なデータは電算機に記録されています。その内容は本報告書に納めることは不可能なので、別途に C 班の国際会議を開催し、討議の後にデータを印刷物として関係各国に配布しました〔17〕。また、さらに詳しいこれらの因子についての研究を進めています〔2、18〕。

D班：生態レベル班（リーダー 足立己幸教授）

この班は社会や心を軸にした食生態学、行動科学が大きな目標です。この研究に最近の IT 革命を導入しました。食生態調査の枠組みを丁寧に組み上げてゆきました（例えば D12）。

D 班は 1976 年以来トンガ王国をフィールドとして「健康な肥満」の基盤が伝統的な芋、魚、ココナッツと運動習慣にあることを実証してきました。D10 を見てもわかるように、現在の日本では BMI22 前後が健康的とされていますが、トンガ人に 22 以下の人は僅か 1.5% で、大部分は 30 を越え、50 以上の人までいたのです (D10)。日本人のエネルギー摂取量の約 2 倍にあたる約 5000kcal を摂取する人が多いのです。このような極端な肥満、エネルギー摂取で大丈夫なのでしょうか。そして今回は伝統的な離島 U 地区 (Uiha) と近代化した首都 K 地区 (Kolo'ou) を比較しながら QOL の向上につながる健康教育・ヘルスプロモーションの評価手法の開発研究を行いました (D12)。今回は 216 名について幅広い研究を行い、U 地区と K 地区の BMI そのものには大きな差はないけれども (D10)、BMI>32 の人に高コレステロール、高血糖、高血圧などのリスクが多いこと、しかも同じ肥満でも U 地区が K 地区よりも有意に健康度、魚の摂取 (D9) が多いことを明らかにしました。ただし D11 に示すように有害な LDL CMF が U 地区で高いことは今後の検討課題です。

また、武藤班員は各国で利用可能な Java アプレットを用いたフードマッピングを開発して糖尿病予防や栄養教育の媒体をコンピューターグラフィックスで作成しパラオ住民に使用してみました。

足立教授は長年子供達の孤食の実態を、食事の絵を描かせることで的確に把握して来ました (図 4)。本プログラム開始以来、特に高齢社会となり、どのように介護予防をすすめ、幸福な生涯を送れるかを、単に栄養摂取量や身体計測だけではなく、社会の中の様々な生態学の幅広い視野から取り組んで来ました。また、糖尿病をはじめとする生活習慣病の予防や治療には、本人の行動変容が必要です。従来医療者による指導を遵守させる服薬のコンプライアンス、栄養指導に対するアドヘランスを重視する態度から、本人自身の医療の能力を高めるエンパワーメントが重視されるようになりました。

山内班員はハイテク研究用のデータベースサーバーを設け、必要な情報の活用、閲覧を可能としました。

6. 本プロジェクトの成果はどのように活用されたのでしょうか

近代化と生活習慣病： 確かに欧米では生活習慣病や介護予防の優れた研究がありますが〔19,20〕、WHO の定める肥満は BMI>30 であるのに、日本肥満学会の定義では BMI>25 と大きくことなります。また白人は1日の平均エネルギー所要量が約 3000kcal であるのに日本人は平均約 1970kcal しか摂取していません。この相違は表 1 で # で示した飢餓耐性遺伝子多型の白人との相違です。そのため、本研究の A,B,C,D 班が明らかにしたように白人の基準とする食生活をはじめとする近代化は、高脂質食を始めモンゴロイドには有害な面があるのです。この内容は本報告書の中にある国際シンポジウムの討論で公開されました。脂質エネルギー比率は 25%以下がよいなど、本学の栄養クリニックの 4 群点数法と運動が具体的に、20-30 年間の長期にわたって無投薬で有効なことが示されました (B2)〔2〕。

遺伝子多型と個人対応の栄養： このプロジェクトが始まった翌年の 2000 年から、生活習慣病の一次予防を目指して、政府は「健康日本 21」と「食生活指針」を発表しました。しかし、現在の所要量は平均的な数値ですから、多型による個人差が C9, C10 のように多様ならば、生活習慣病は予防し難い面があるのです〔21〕。例えば葉酸の所要量は過去には貧血の予防の観点を中心でしたが、現在は高齢者の痴呆、脳梗塞の予防に日本人の 15%を占めるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素の遺伝子多型に応じた葉酸摂取の倍増を栄養クリニックでは指導するようになりました (B12)。カルシウムも上西班員の結果では個人によっては所要量より多くを推薦します。肥満関連多型は図 C9, 10 のようにモンゴロイドに高頻度に存在しますが、A12 の例で判るようにテストした全ての多型でも栄養と運動で治療、予防できることが明確に示されました。これによってマスメディアなどの遺伝子多型が不治の障害であるという誤解も解けるでしょう〔3〕。

介護予防の栄養： 高齢者は個体差が大きいので、80 歳、90 歳の栄養所要量は定められていません。そこで、個別のアセスメントと個人対応栄養が必要になるのです。栄養は決して中高年を対象とした生活習慣病予防の延長ではありません。一人一人の食事とその環境を評価、改善した例は図 4 に示しました。独居高齢者の1日の摂取食品数は平均僅か 8 種類と、家族のいる所帯の 3 分の 1 に過ぎません。そしてその解決の具体策を得ることができました。その一つの試みとして栄養バランスを毎日簡単にとれる D 班では「弁当箱ダイエット法」群羊社 (2004) を考案しました。また、従来、貧血のためのビタミンとされた葉酸も高齢社会に相応しく痴呆予防を目標としました〔12〕、〔13〕。栄養クリニックの長期追跡では BMI は 24 程度がよく、また介護予防の観点からも、むしろ PEM (蛋白質エネルギー栄養障害) を防ぎ〔22〕、血清総コレステロールも 65 歳を越えれば 230mg/dl までは好ましいのです。

本学の社会的役割： 生活習慣病の一次予防の政策「健康日本 21」と「食生活指針」これに関連した諸委員会や第 7 次改訂栄養所要量の委員に本プロジェクトの班員の一部分が参画し本プロジェクトの成果を利用して活躍しています。2004 年にはじまった「食育」政策の「栄養教諭」の制度は本学の学長が委員長を務めています。研究代表者もこのプロジェク

トの資料を食育関連の委員会を始め内閣府の高齢者対策の委員として提供しました。足立、三木班員を中心に文部科学省、厚生労働省の生活習慣病関連、ならびに農林水産省を含めた食生活指針策定に関する委員として D 班研究の方法論や研究成果を直接に政策に反映させました。大学ランキング(朝日新聞社出版局)によれば本学は教授に占める政府委員の割合が実に全国 1 位(2000 年)です(48 頁参照)。

研究代表者が著した岩波新書「生活習慣病を防ぐ」はベストセラーとなり〔21〕、A 班班長の佐久間慶子教授の「分子生化学入門」はよい啓蒙書となりました。B 班班長の鈴木久乃教授は日本栄養士会会長として全国の生活習慣病予防を指導しています。C 班班長の長谷川恭子教授は日本脂質生化学会をはじめ生活習慣病と関連の深い諸学会に成果を伝えました。D 班班長の足立己幸教授は、食生活指針の策定や著書「NHK スペシャル 65 歳からの食卓」をはじめ巻末の 400~403 頁の図のように活発なマスメディア活動を通して生活習慣病予防に大きな貢献をしました。

文 献

- 〔1〕 香川靖雄監修：生活習慣病（前編、後編） 最新医学 57 巻、増刊号 2002.
- 〔2〕 Kagawa Y et al.: Single nucleotide polymorphism of thrifty genes for energy metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295:207-222, 2002.
- 〔3〕 香川靖雄：日本の遺伝子多型調査の推進と人命尊重 生化学 76(1) 1、2004
- 〔4〕 Poulsen P. et al. : Genetic versus environmental aetiology of the metabolic syndrome among male and female twins. *Diabetologia* 44:537-543, 2001.
- 〔5〕 文部省（現文部科学省）科学研究費補助金重点領域研究「病因遺伝子の単離と解析（略称遺伝子病）」班班長報告：学術月報 48 : 800-806, 1995: 含む *Nature Genet.* 4:300, 1993, *J. Biol. Chem.* 269:6878, 9325, 12488, 17815, 19060, 1994, 271: 22017, 1996, 272: 15510, 1997 等。
- 〔6〕 Cha, S.H., Fukushima, A., Sakuma, K. and Kagawa, Y.
Chronic docosahexaenoic acid intake enhances expression of the gene for uncoupling protein 3 and affects pleiotropic mRNA levels in skeletal muscle of aged C57BL/6NJcl mice. *J. Nutrition* 131, 2636-2642, 2001.
- 〔7〕 Fukushima, A., Ohta, A., Sakai, K. and Sakuma, K. : The effect of fructo-
Oligosaccharides was analyzed by cDNA expression arrays. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 50: in press, 2004.
- 〔8〕 立屋敷哲 核磁気共鳴吸収 (NMR) 法による果汁の成分分析と市販ジュースの評価法の検討 果汁協会報 535 32-38, 2003. 他
- 〔9〕 Kagawa, Y. Biophysical studies on ATP synthase. *Adv. Biophys.* 36: 1-25, 1999 ; *J. Bioenerg. Biomembranes* 32, 471-484, 2000; *Cell Biochemistry Biophysics* 39: 175-181, 2003; *J. Biol. Chem.* 275, 15992, 16001, 2000.

- [10] Kinouchi, T. Kagawa, Y. et al.: Mammalian D-aspartyl endopeptidase: a scavenger for noxious racemized proteins in aging. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314: 730-736, 2004.
- [11] Sone, H., Sasaki, Y., Komai, M., Toyomizu, M., Kagawa, Y. and Furukawa, Y.: Biotin enhances ATP synthesis in pancreatic islets of the rat, resulting in reinforcement of glucose-induced insulin secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314: 824-829, 2004
- [12] Seshadri, S., Beiser, A., Selhub, J. et al.: Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer disease. *N. Eng. J. Med.* 346: 476-483, 2002
- [13] Hiraoka, M., Kato, K., Saito, Y., Yasuda, K. and Kagawa, Y.: Gene-nutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 316:1210-1216, 2004
- [14] Yanagisawa, Y., Hasegawa, K., Dever, G.J. et al.: Uncoupling protein 3 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 contribute to obesity and diabetes in palauans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281: 772-778, 2001
- [15] Kagawa, Y., Dever, G.J., Otto, C.T.Y., Charupoonphol, P., Supanatas, S., Yanagisawa, Y., Sakuma, M. and Hasegawa, K. Single nucleotide polymorphism and lifestyle-related diseases in the Asia-Pacific Region: Comparative study in Okinawa, Palau and Thailand. *Asia-Pac. J. Public Health* 15 (Suppl):S10-S14, 2003
- [16] 香川靖雄: 沖縄県男性の平均余命順位の急落 *最新医学* 58(4)100-102, 2003.
- [17] Project Group C of High Technology Research Center KNU: *Diet, Health and Gene in Asia-Pacific Countries*. Pp.1-98, 2003
- [18] Kagawa, Y., Cha, S., Hasegawa, K., Hamamoto, T. and Endo, H. Regulation of energy metabolism in human cells in aging and diabetes: FoF1, mtDNA, UCP, and ROS. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266, 662-676, 1999.
- [19] Fries JF: Aging, cumulative disability, and compression of morbidity. *Compr Ther* 27:322-329, 2002.
- [20] Knowler, W.C. et al.: Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New Engl. J. Med.* 346: 393-403, 2002
- [21] 香川靖雄: 生活習慣病を防ぐ 岩波新書 岩波書店 東京 2000
- [22] 香川靖雄: 老化と生活習慣 岩波書店 東京 2003