

平成 17 年度 (2005)

## ハイテク・リサーチ・センター 研究発表会

高度バイオテクノロジーによる生活習慣病の一次予防

日時 平成 18 年 3 月 27 日 (月) 13 時 30 分 ~

会場 女子栄養大学 坂戸キャンパス 2 号館 1 階 多目的栄養教育実習室

13 : 30 ~ 13 : 40

女子栄養大学

ハイテク・リサーチ・センターの過去と将来

研究代表 香川靖雄 副学長

### 特別研究員発表

座長 : 研究代表 香川靖雄 副学長

13 : 40 ~ 14 : 10

抗血栓性タンパク質であるトロンボモジュリンの末梢時計を介した発現変動 曾根清明 研究員

14 : 10 ~ 14 : 40

海洋性コラーゲンペプチドの新規機能性の解明 - シロサケ由来の場合 - 清瀬千佳子 研究員

14 : 45 ~ 15 : 40

### A 班 高度バイオテクノロジーの栄養学への応用

座長 : リーダー 佐久間慶子 教授

そば粉のアンジオテンシン - 変換酵素阻害物質

青柳 康夫 教授

マウス粘膜免疫機能 その加齢変化と食餌による維持について

林 修 教授

腸管におけるカルシウム吸収関連遺伝子の発現調節

福島亜紀子 専任講師

15 : 40 ~ 16 : 35

### B 班 栄養クリニック・病態

座長 : リーダー 工藤 秀機 教授

葉酸栄養状態とホモシステイン、遺伝子多型について

福島 真実 助手

母娘の骨密度、体脂肪の変動に関する検討

上西 一弘 助教授

日本における小児期発症 2 型糖尿病の現状

大和田 操 教授

16 : 35 ~ 17 : 30

### C 班 モンゴロイドの環境・食生態

座長 : 武藤志真子 教授

モンゴル調査の経過と課題 酸化ストレス度、食生活の現状を中心に

小松 文夫 教授

沖縄の長寿の“かげり”に関する研究 - 都市部と農村部の比較 -

宮城 重二 教授

坂戸地域のここ 30 年間の食生態の変遷と課題 - 坂戸スタディ (仮称) の出発にあたって -

リーダー 足立 己幸 教授

17 : 30

### 閉会挨拶

研究代表 香川靖雄 副学長

## 抗血栓性タンパク質であるトロンボモジュリンの末梢時計を介した発現変動

特別研究員・曾根清明

さまざまな疾患には一日の中で発症しやすい時間帯があり、心筋梗塞や脳梗塞の発症には午前中にピークが観察される日内変動が存在することが知られている。その原因としては起床後の交感神経活動の亢進が関係していると推測されているが、血管壁における凝固調節の点からは、線溶系の関与が報告されているだけで、凝固系についてはまだ十分な検討がなされていない。血管内皮細胞に発現するトロンボモジュリン（以後、TM）は、流血中のプロテインCを活性化してトロンビン産生を抑制することで血液流動性維持に寄与する抗血栓性タンパク質である。血栓形成反応は出血局所での速やかな止血に不可欠な生体防御反応であるが、血管内における不適切な血栓の形成は血栓症の原因となることから、血管壁における抗血栓性機能を担うTMに着目して研究を行った。今回は、1)TM発現の概日リズム、2)末梢組織におけるTM発現変動、3)時計遺伝子によるTM発現制御、についてすでに検討されていた結果を含めて紹介する。

1) TM発現の概日リズム 自由摂食、明期開始0:00、暗期開始12:00とする12時間明暗周期の環境下で飼育されたマウスの肺におけるTM遺伝子のmRNA発現量をノーザンプロット法で定量した結果、20:00に発現のピークを示す概日リズムが確認された。さらに、概日リズムの形成に必要な時計遺伝子であるCLOCKが変異したマウスの肺では、TM遺伝子の発現変動が平坦化することから、TM発現の概日リズム形成は、時計遺伝子による発現制御の影響下にあることが示唆された。

2) 末梢組織におけるTM発現変動 時間的に摂食を制限されている環境下（制限給餌）においても、中枢における概日リズムはそれまでと同様に保たれるが、末梢組織のリズムは位相がシフトすること、すなわち、末梢組織には自律的な概日リズムのあることが知られている。摂食時間を明期の4時間だけに制限して、TM遺伝子のmRNA発現量をノーザンプロット法で定量した結果、肺におけるTM発現のピークは早期側にシフトすることが判明した。従って、TMの概日リズムは末梢組織の時計遺伝子により制御されていることが示唆された。

3) 時計遺伝子によるTM発現制御 時計遺伝子による概日リズムの形成は、標的遺伝子の転写調節領域に存在するCACGTG配列（E-box）を介して制御されることが知られており、ヒトTM遺伝子の転写調節領域には、転写開始点より上流の2ヶ所にE-boxが存在していた。さらに、レポーターアッセイ法で時計遺伝子によるTM遺伝子の転写調節機構を検討した結果、CLOCK-CLIFのヘテロ二量体存在下で転写が促進すること、また、E-boxへの変異の導入によりこの活性化が起こらなくなることが確認された。

以上の結果から、TM発現には末梢時計の制御による概日リズムがあり、E-boxを介したCLOCK-CLIFのヘテロ二量体の作用により転写が促進することが示唆された。また、制限給餌がTM発現の概日リズムに変化を及ぼすことから、摂食の規則性の変化が血液流動性の変化にも反映すると考えられる。このことは、規則正しい食生活が血栓症の予防に重要であることを示唆しており、さらにこのような検討が進展することは末梢の時計遺伝子の時間的な発現制御を標的とした血栓症の予防法や治療法の開発につながると期待される。

## 海洋性コラーゲンペプチドの新規機能性の解明 - シロサケ由来の場合 -

特別研究員・清瀬千佳子

近年、健康食品ブームにより様々な素材が取り上げられ市場に出回っている。その中においてコラーゲンも例外ではなく、加熱変性や酵素分解を行ったコラーゲン由来のペプチド製品も広く利用されている。これまで、豚や鶏由来のコラーゲンペプチドについては骨代謝への効果やコラーゲン合成能の促進など機能性がいくつか報告されている。一方、魚類のコラーゲンのアミノ酸配列は高等脊椎動物のものとは異なることが知られており、それゆえ分解されたペプチド類は豚や鶏由来のものとは異なった分解物が得られ、さらなる新しい機能性も考えられる。そこで、本研究は生活習慣病の一次予防を視野に入れ、魚類のコラーゲンペプチドの新規機能性を明らかにするために、特に脂質代謝との関連に着目し、動物実験を行った。今回用いたコラーゲンペプチドは機能性を発揮するであろう、ペプチドやアミノ酸を同定しやすい用に、シロサケ皮単一から精製されたコラーゲンペプチドを用いることにした。

7週令 SD 系雄ラットは AIN93G 配合を基本とした精製飼料にて5日間予備飼育した後、対照群(CG)、油脂投与群(LG)、ペプチド投与群(PG)、油脂 + ペプチド投与群(LPG)の4群に分けた。群分けした後、すぐにすべてのラットを24時間絶食にした。対照群は絶食後直ちに解剖し、投与前値とした。対照群以外の各群はそれぞれの試料を単回投与し、投与2時間後、4時間後、8時間後に解剖を行った。今回投与した油脂は大豆油を、またシロサケ皮由来コラーゲンペプチドは井原水産(株)製マリンコラーゲンペプチドを水に溶解させたもの(0.5g/mL)を、それぞれラット1匹あたり0.5mL、1.0mL単回で経口投与した。ラットは解剖・採血後、血漿を分離し、血漿中トリグリセリド(TG)濃度、総脂質(TL)濃度、総コレステロール(T-Chol)濃度、リン脂質(PL)濃度を測定した。同様に肝臓中TG含量についても測定を行った。また、血漿中アミノ酸およびペプチドの変動についても測定することにし、コラーゲン特有のアミノ酸である、ヒドロキシプロリン(Hyp)、グリシン(Gly)、プロリン(Pro)の3つのアミノ酸の測定を行った。

大豆油を投与した後の血漿中TG濃度は速やかに上昇し、投与2時間においては投与前値の2倍以上に上昇した。しかし、コラーゲンペプチドを同時に投与すると投与2時間後では有意なTG濃度の低下が認められ、投与4時間においても低下傾向を示した。その後、投与8時間で投与前値とほぼ同値となった。この結果より、コラーゲンペプチドには脂質吸収を阻害または遅延する効果があることが示唆された。一方、PGにおける血漿中TG濃度は投与前値と比べて投与2時間後で有意な低下が見られたことから、体内に吸収された後のTG合成系または脂肪酸代謝系に何らかの影響を与えることも推察された。この時のコラーゲン特有のアミノ酸類の挙動を検討したところ、Hyp、Gly、Proとも投与2時間後で遊離体が有意に上昇し、またペプチド体も上昇傾向が見られたことから、これらのアミノ酸またはこれらのアミノ酸を含むペプチド体が脂質代謝に関連している可能性が考えられた。現在、どのようなペプチドが血中に存在するか検討中である。さらに、シロサケ由来コラーゲンペプチドの単回投与に血中TG低下能があることが明らかになったので、ヒトが健康食品として摂取する1日量に相当する量を食事に混合して連続摂取させることで同様な効果が見られるか、また肝臓中TG合成関連酵素の活性や発現に影響を与えるかどうかについても検討中である。

## そば粉のアンジオテンシン - 変換酵素阻害物質

教授・青柳 康夫

【目的】アンジオテンシン - 変換酵素(ACE)は、レニン-アンジオテンシン系による血圧調節機構における、昇圧酵素として働いており、この酵素の阻害剤は降圧効果を示すことが知られている。このため、機能性食品開発の目的で食品中の ACE 阻害物質の研究がなされており、すでに、いくつかの低分子ペプチドが特定保健用食品基材として認可されている。そば粉抽出物には強い ACE 阻害効果が存在することが知られているが、その活性成分については明らかにされていない。そこで、この活性成分を明らかにする目的で、本研究を行い、新規 ACE 阻害成分を明らかにしたので報告する。

【方法】ACE 阻害の測定は、Sigma 社のウサギ肺 ACE を用い、Hippuryl-L-histidyl-L-leucine を基質とする、Cushman と Cheung の方法により行った。そば粉 2Kg より 70%エタノール抽出物を得、濃縮後ヘキサン、ついで酢酸エチルにより抽出し各画分の ACE 阻害を測定したところ残渣の水層に阻害活性が認められた。そこで、この水層を Amberlite IR-120、Dowex 1x4 などを用いたイオン交換クロマトグラフィーにより分画し、阻害成分の単離を試みたところ、最終的に水-エタノールよりの再結晶により、無色の結晶 44mg が活性成分として得られた。本物質はニンヒドリン反応陽性であった。

【結果と考察】そば粉より得られた ACE 阻害成分は融点 275~280 °C、比旋光度 $[\alpha]_D^{23.5} = -40$ (c0.4, H<sub>2</sub>O)、FAB-MS による分子量 319、また高分解能 FAB-MS により C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> の分子式が得られた。本物質は、6N HCl による加水分解では通常のアミノ酸とは異なる多数のニンヒドリン陽性物質を生成する。本物質の化学構造は、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、FAB-MS のプロダクトイオンスペクトルなどの検討により、2"-ヒドロキシニコチアナミンであると決定された。また、そば粉には本物質が主成分として存在し、ニコチアナミンは少ないが、そばの芽には本物質とニコチアナミン同等量存在していた。ソバの属するタデ科の植物について調べたところ、いくつかの種で本物質の存在が確認できた。Chemotaxonomy 的な見地からも本物質は興味深いものと考えられる。

本物質の ACE 阻害活性は IC<sub>50</sub>=0.85 μM であり、ニコチアナミンと同等またはそれ以上の効力であった。本物質やニコチアナミンの ACE 阻害は強いキレート能によると考えられるが、いくつかのニコチアナミン類縁体の ACE 阻害能を測定し構造活性相関を見たところ、mugineic acid や 2'-deoxymugineic acid は活性が弱く、キレート能以外の要因が存在することが予測された。本物質をつくば高血圧マウスならびに SHR に投与し、血圧に対する影響を検討したところ、単回投与の実験であるが、どちらのネズミでも血圧の低下が観察された。また、SHR での実験では LCMS により血中に本物質の存在が観察された。

ソバの ACE 阻害物質はフラボノイドのルチンが取りざたされていたが、2"-ヒドロキシニコチアナミンがその主要な活性成分であることが明らかになった。本物質は動物ならびに人に対し、血圧低下効果が期待できることから、今後さらに検討を続け、機能性食品素材としての可能性を追求したいと考えている。

Aoyagi, Y., : An angiotensin-1 converting enzyme inhibitor from buckwheat(*Fagopyrum esculentum* Moench) flour. *Phytochemistry*, Vol. 67, pp.618-621,2006.

## マウス粘膜免疫機能 その加齢変化と食餌による維持について

教授・林 修

年齢を重ねるにつれ、ヒトに備わっている様々な機能は徐々に低下する。全身免疫より先に粘膜免疫機能低下が起こるとされているが、その詳しい解析はされていない。腸上皮細胞間リンパ球 (intestinal intraepithelial lymphocytes; IEL) も、加齢による影響についてあまり知られていない粘膜免疫担当細胞のひとつである。高齢になると、タンパク質やエネルギー摂取量の低下、ビタミン類、微量元素などの不足に伴い、免疫機能が低下する傾向にある。栄養を適切に補うことで、免疫機能を介する高齢者の疾病負荷が軽減される。

本研究では、初期感染防御に関わるとされる IEL に着目し、粘膜免疫機能の加齢による変化と、食餌によるその機能維持を知ることを目的として、実験 1 で、フローサイトメトリー (Flow cytometry; FCM) 法によるマウス IEL サブセット解析とその加齢による変化、また実験 2 では、加齢による IEL サブセット変化に対するスピルリナ熱水抽出液摂取の改善効果を検討した。

### 【実験 1】加齢にともなうマウス IEL サブセットの変化

方法：BALB/cA Jcl 雄性 6 週齢成熟マウスおよび 43 週齢前後リタイアマウス小腸から回収した IEL を、抗 CD45-FITC, 抗 CD4-PE, 抗 CD8<sup>-</sup>-Biotin 標識モノクローナル抗体にて蛍光抗体染色し、フローサイトメトリー解析にてその IEL サブセットを比較検討した。

結果：IEL サブセットのうち、CD8<sup>+</sup>細胞は加齢により有意に減少した ( $p < 0.05$ )。一方 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞および CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>細胞は有意に増加した ( $p < 0.01$ )。CD4<sup>+</sup>細胞に対する影響は、あっても少ないと思われる。

### 【実験 2】加齢によるマウス IEL サブセット変化に対するスピルリナ熱水抽出液摂取の効果

方法：BALB/cA Jcl 雄性 6 週齢成熟マウス H<sub>2</sub>O 投与 (Adult) 群、43 週齢前後リタイアマウス H<sub>2</sub>O 投与 (Retire) 群およびスピルリナ熱水抽出液投与 (Retire SP) 群の 3 群を 5 週間飼育した。マウス小腸から回収した IEL を、抗 CD45-FITC, 抗 CD4-PE, 抗 CD8<sup>-</sup>-Biotin, さらに、抗 TCR<sup>-</sup>-PE, 抗 TCR<sup>-</sup>-PE 標識モノクローナル抗体にて、CD45/CD4/CD8, CD45/TCR および CD45/TCR<sup>-</sup> の組み合わせで二重ないし三重蛍光抗体染色し、フローサイトメトリー解析にて IEL サブセットの加齢変化に対するスピルリナ熱水抽出液の効果を検討した。

結果：スピルリナ熱水抽出液摂取 Retire SP 群においては、非摂取 Retire 群でみられた CD45<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞率の減少および CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>細胞率・CD45<sup>+</sup>TCR<sup>-</sup>細胞率の増加は観察されなかった。さらに、CD45<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞率、CD45<sup>+</sup>TCR<sup>-</sup>細胞率は、Retire 群と比較して有意に上昇した ( $p < 0.05$ )。Retire SP 群 IEL サブセットは、Adult 群とほぼ類似する結果を示した。

【考察】スピルリナ熱水抽出液摂取は、加齢による CD8<sup>+</sup>T 細胞および Th1 型 T 細胞の減少を抑制し、腸管機能の恒常性維持および経口免疫寛容の成立に関与する機能を維持する効果があることが示唆された。また、先行研究の結果<sup>1, 2)</sup>と考える場合、スピルリナ成分が抗原特異的免疫応答を高める効果に加えて、非特異的免疫応答による感染の初期防御能を増強する一方、自己免疫疾患を抑制する可能性のあることが示唆された。

- 1) Nemoto-Kawamura, C., Hirahashi, T., Nagai, T., Yamada, H., Katoh, T., Hayashi, O.: Phycocyanin enhances secretory IgA antibody responses and suppresses allergic IgE antibody response in mice immunized with antigen-entrapped biodegradable microparticles. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* (Tokyo). **50**, 129-136 (2004)
- 2) Hayashi, O., Ono, S., Ishii, K., Shi, Y., Hirahashi, T., Katoh, T.: Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* in mice. *J. Appl. Phycol.*, **18**, (2006, in press)

## 腸管におけるカルシウム吸収関連遺伝子の発現調節

専任講師・福島亜紀子

カルシウム(Ca)は主要なシグナル伝達因子であり、生体内に Ca の関わらない反応はない。従って、血液中及び細胞内の Ca ホメオスタシスは厳密に制御されているが、その貯蔵源である骨格については、近年、骨粗鬆症の問題が大きくなっている。Ca 摂取不足は特に日本において叫ばれて久しいが、未だ改善されていない。

生体の Ca 摂取の最初の段階である小腸における吸収及び調節機構も未だ解明されていない。現在までに、腸管よりの Ca 吸収に関与すると報告のある分子は、小腸粘膜上皮細胞の管腔側に発現し細胞に Ca を取り込む Ca 輸送体 (TRPV6) 細胞内を輸送するカルビンディン D9k、基底膜側に発現し細胞から血液に Ca を渡す Ca ATPase (PMCA1) である。全ての分子がビタミンDによって誘導されると報告されているが、いずれの遺伝子についても転写調節領域にあるべきビタミンD受容体(VDR)が結合する DNA 配列は未だ明らかにされていない。

私達は、難消化性糖質のフラクトオリゴ糖(FOS)投与がラットのカルシウム吸収を促進するという実験系を用い、このカルシウム吸収促進時にカルシウム吸収関連遺伝子と転写因子がどのように変化するかを調べることにより、カルシウム吸収機構を明らかにしようと考えている。

ラットに FOS 食を投与すると、TRPV6、カルビンディン D9k、VDR mRNA 量は有意に増加したが、PMCA1 mRNA 量は変化しなかった(1)。この発現誘導には、FOS の発酵産物である短鎖脂肪酸の関与が示唆されるため、これらの遺伝子を発現しているヒト結腸腺癌由来細胞(Caco-2)に短鎖脂肪酸の添加実験を行った。すると、酪酸 Na、プロピオン酸 Na によって TRPV6、カルビンディン D9k mRNA 量には有意な増加が観察されるが、VDR mRNA 量は変化しなかった。VDR は、VDR ノックアウトマウスの解析等より TRPV6、カルビンディン D9k を正に制御すると報告されている。しかし、FOS によるカルシウム吸収促進の際には、VDR 以外の転写因子の関与が示唆された。

更に、短鎖脂肪酸誘導に関与するシスエレメントを同定するために、ラット遺伝子を ファージゲノムライブラリーをスクリーニングしてクローン化し、塩基配列を決定した。TRPV6 の開始コドンより下流をルシフェラーゼに置き換え、TRPV6 の転写開始点より 5'上流を含むプラスミドを各種作成し、Caco-2 細胞にトランスフェクションした。その細胞に酪酸誘導を行い、ルシフェラーゼアッセイによって酪酸誘導に関与するシスエレメントを解析し、プロモーター領域に酪酸に応答する領域を含むことを確認した。現在、詳細な解析を進めている。

さらに解析が進み、Ca 吸収に関わる全ての遺伝子とその調節メカニズムが解明されれば Ca 吸収の全貌が明らかになり、その上で、Ca 吸収を促進する食事の選択に正しい提案を行えると期待している。

(1) Fukushima, A., Ohta, A., Sakai, K. and Sakuma, K.: Expression of calbindin-D9k, VDR and Cdx-2 messenger RNA in the process by which fructooligosaccharides increase calcium absorption in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 51, 426-432 (2005)

## 葉酸栄養状態とホモシステイン、遺伝子多型について

助手・福島真実

葉酸はビタミンB<sub>12</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>とともにホモシステイン・メチオニン代謝に重要な関与をしており、長期軽度欠乏ではC-1代謝が妨げられて血中ホモシステイン(tHcy)濃度の上昇を招く。そのため葉酸摂取不足は高ホモシステイン血症を招き血管疾患を起こしやすくし、高齢期に認知症の原因となる。妊娠可能な女性においては、胎児の神経管閉鎖障害(NTDs)との関連も指摘されている。また、葉酸代謝系に關与している酵素やレセプターにはいくつかの遺伝子多型が存在しており、代謝への影響が知られている。我々は、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR) C677T遺伝子多型が葉酸栄養状態に与える影響を検討したところ、変異型TTをもつ者では、葉酸を十分に摂取していてもCCやCT型の者に較べて血清葉酸値は低く、血清tHcy値は高値を示したが、葉酸負荷試験の結果 こうした多型間の差は葉酸 400 μg 4週間負荷により解消されることを報告した。しかし、日本人におけるホモシステイン代謝に関するビタミン栄養状態と遺伝子多型の関係を統一的に検討した例はほとんどない。そこで、葉酸とともにB<sub>12</sub>、B<sub>6</sub>の摂取量、血清濃度と血中tHcy値に及ぼす7種類の遺伝子多型の影響を検討した。

健康な若年女性(100名、21±2歳)と中高年女性(50名、67±10歳)を対象に、7種類の遺伝子多型(MTHFR C677T、A1298C、メチオニン合成酵素; MS A2756G、メチオニン合成還元酵素; MTRR A66G、シスタチオニン合成酵素; CBS 844ins68、グルタメートカルボキシペプチダーゼ; GCP C1561T、還元葉酸輸送体 RFC-1 G80A)を調べた。ビタミン摂取量は3日間の食事記録より算出し、血清葉酸、B<sub>12</sub>、B<sub>6</sub>、総ホモシステイン値を測定した。若年者の摂取量は葉酸 316±100.9 μg、B<sub>12</sub>は 5.5±3.7 μg、B<sub>6</sub>は 1.20±0.38mgで中高年の葉酸 421.7±173.4 μg、B<sub>12</sub>の 7.1±4.4 μg、B<sub>6</sub>の 1.63±1.60 mgに比べていずれも少なかった。若年者の血清葉酸値 19.6±10.2 nmol/l および血清 B<sub>12</sub> 値 402.9±127.8 pmol/l は中高年(葉酸: 27.5±13.7 nmol/l、B<sub>12</sub>: 603.5±427.1 pmol/l)より有意に低かった(p<0.001)。しかし tHcy 値は若年者 9.2±1.8 μmol/l に比べて中高年では 10.8±4.5 μmol/l と高い傾向がみられた。多型の影響がみられたのは MTHFR C677T で、TT 型(多型頻度 15.6%)では低葉酸値、高 tHcy 値を示し、tHcy 値 10 μmol/l 以上では TT の頻度が有意に高かった。更に葉酸のみならずその代謝に関連するビタミン B<sub>12</sub>、B<sub>6</sub> 摂取量がすべて充足でも TT 型では血清 tHcy 値は高値を示した。

認知症患者 26 名(87±7歳)においても同様に検討したところ、葉酸摂取量は 349±57 μg と充足しているにも関わらず、血清葉酸値が 9.7±4.4nmol/l と極めて低く、血清 tHcy 24.7±13.1 μmol/l は既報の健常超高齢者の 10.2 μmol/l (n=79)より極めて高値であった。TT 型頻度も 26%と高かったが、血清 tHcy (μmol/L) は TT=30.3±17.0 > CT=25.5±15.6 > CC=20.6±5.6、血清葉酸(nmol/l)は TT=8.8±3.6 < CT=9.3±4.4 < CC=10.7±4.9 と多型の影響は健常人と同様の傾向を示した。しかし、CC 型でも認知症では両値に対照と有意の差が見られた。血清 tHcy が CC 型、TC 型においても健常者よりも著しく高い理由は不明であり、認知症の進行予防のための葉酸摂取量については更なる検討が必要である。

Hiraoka M, Kato K, Saito Y, Yasuda K, Kagawa Y. Gene-nutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochem Biophys Res Commun.*316: 1210-1216(2004)

Hiraoka M. Folate intake, serum folate, serum total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol.* 50: 238-245(2004)

## 母娘の骨密度、体脂肪の変動とその要因に関する検討

栄養生理学研究室助教授・上西一弘  
給食・栄養管理研究室教授・石田裕美  
臨床栄養医学研究室教授・工藤秀機

【目的】近年、測定技術の進歩により身体組成を非侵襲的に測定することが可能となった。二重 X 線吸収法 (DEXA 法) は極少量の X 線被曝の問題はあるものの、身体組成を測定するための有用な方法として広く用いられてきている。本研究では DEXA 法を用いて、健康な女子大学生とその母親を対象に身体組成の測定を行った。合わせて血液・尿の生化学検査、食物摂取頻度調査、健康状態に関するアンケートを行い、母娘の骨密度、体脂肪の変動とその要因に関する検討を行った。

【方法】対象者は本学の学生 109 名とその母親である。全身骨密度、体脂肪の測定は DEAX 法 (ルナー社製 DPX-LIQ) を用いた。早朝空腹時に採血、採尿を行い、血液学的検査、一般生化学検査、各種骨代謝マーカー、レプチンなどの測定を行った。同時に食物摂取頻度調査を行い、エネルギーをはじめいくつかの栄養素の摂取量を推定した。健康状態に関するアンケートでは、骨折歴、ダイエット経験、体調などを調査した。本研究は本学倫理委員会の承認を得て、参加者に説明、同意を得た上で実施した。

【結果】対象者の主な身体状況、カルシウム摂取量は表に示すとおりである。

	女子大学生	母親
年齢 (歳)	20.3 ± 1.6	49.9 ± 3.7
身長 (cm)	159.1 ± 4.9	155.9 ± 4.7
体重 (kg)	52.2 ± 7.0	54.8 ± 8.7
BMI	20.6 ± 2.6	22.5 ± 3.6
全身骨密度 (g/cm <sup>2</sup> )	1.121 ± 0.064	1.104 ± 0.124
全身骨量 (g)	2378 ± 304	2291 ± 288
体脂肪率 (%)	27.2 ± 6.1	30.7 ± 6.8
Ca 摂取量 (mg/day)	462 ± 159	539 ± 155

【考察】女子大学生では全身骨密度とカルシウム摂取量とは弱い正の相関がみられた。しかし母親では相関はみられなかった。これは年齢が最も骨密度に影響しているからと考えられる。そこで、母親の骨密度を Z スコアで検討すると、牛乳・乳製品摂取量との関係が示され、摂取量が多い者が骨密度は高値を示した。また、母親ではカルシウム摂取量と体脂肪率の間に有意な負の相関がみられた。

母と娘の骨密度、体脂肪率には相関が認められた。エネルギーやカルシウムの摂取量にも相関がみられたことから、これは遺伝だけではなく生活習慣も影響していると考えられる。

## 小児期発症 2 型糖尿病の現状

### 我が国における学童糖尿病検診結果から

教授・大和田 操

【緒言】腎疾患の早期発見の為に「学校検尿」の際に、同時に糖尿病検診を行う試みが東京を含めた数箇所で行われ、我が国では小児期発症 2 型糖尿病が稀でないことが明らかにされた。その結果、文部省は 1994 年度から学校検尿の検査項目として尿糖検査を義務付け、我が国の小児では、1 型よりも 2 型糖尿病の発症頻度が高いことが全国レベルで明らかにされたので、小児 2 型糖尿病の疫学、自然経過、治療に関するこれまでの知見を紹介する。

【対象・方法】東京地区の公立小・中学生、年間 25 万～40 万人を対象に尿糖検査を行い、陽性者には経口ブドウ糖負荷テストを含む精密検査を施行して、糖尿病児を選別した。2 型糖尿病と判定された場合には、まず、食事・運動療法を、また、必要に応じて薬物療法を加えて経過を追跡し、その予後と、予後に関する要因について検討した。

【結果】1974～2000 年の 27 年間に発見した 215 例の 2 型糖尿病の解析結果を以下に示す。

(1) 小児 2 型糖尿病の疫学と特徴：学童糖尿病検診の結果、全国で 2 型糖尿病が毎年学童 10 万人当たり 3～7 人発見され、その発症率は我が国の 1 型糖尿病発症率よりも高いことが示された。東京地区で発見された症例は、中学生を中心に発症し、男子例では中等度以上の肥満を示す例が 65%であるのに対し、女子例の 65%は非肥満～軽度肥満例であり、インスリン過分泌を認め、2 型糖尿病の家族歴が高いなどの特徴を認め、同様な特徴が全国で発見された例にも認められ、これらは我が国の小児 2 型糖尿病の普遍的な特徴と考えられる。

(2) 小児 2 型糖尿病の治療成績：東京地区で学童糖尿病検診を開始した 1970 年代には、小児 2 型糖尿病の治療方法は示されていないが、肥満例が多く、ケトosisを認めず、内因性インスリン分泌が残存していることから、筆者らは食事・運動療法を選択した。その結果、数か月の治療によって、全例で血糖コントロール及び肥満の改善が認められ、その効果は中等度以上の肥満例で特に顕著であった。然し、食事・運動療法が有効な肥満例では、ひとたび改善が得られると治癒したと錯覚し、中途脱落する例が稀ではなかった。一方、非肥満、軽度肥満例では、食事・運動療法を遵守しているにも拘らず、再び血糖コントロールが悪化する例が多く、これらにはインスリン或いは経口血糖降下薬が有効で、薬物療法の併用によって長期間良いコントロールを保つ例が多かった。

【考察・結論】我が国の学童糖尿病検診では、2 型糖尿病が多く発見され、その 80%以上が肥満傾向を示している為に「肥満＝糖尿病」と短絡的に捉えられるが、糖尿病を発症するのは、肥満児の極一部に過ぎない。また、小児 2 型糖尿病は、所謂「生活習慣病」の早期発症モデルであるとされるが、必ずしもそれは正しくないとする。即ち、小児 2 型糖尿病の発症には、遺伝的素因が大きく関っており、糖尿病の臨床的重症度も症例によってかなり異なることが筆者らの 30 年余に亘る追跡でも示された。しかし、日本人に多い 2 型糖尿病の遺伝的素因を持つ家系では、小児期からの「適切な食事と運動」習慣が、糖尿病発症予防に繋がることは論を待たない。また、2 型糖尿病児に対しては、食事療法を含め、中途脱落させないような管理方法を検討することが今後の大きな課題である。

【発表論文】

Urakami.T., Owada.M., et al : Annual incidence and clinical characteristics of Type2 diabetes in children as detected by urine glucose screening in Tokyo Metropolitan area. Diabetes Care 28: 1876-1881, 2005

## モンゴル調査の経過と課題：血中酸化ストレス度、食生活の現状を中心に

教授・佐久間充

教授・小松文夫

助教授・川端輝江

助教授・金子嘉徳

### 目的

身体の酸化ストレスは動脈硬化、高血圧、心筋梗塞、脳梗塞、呼吸器疾患、免疫疾患、ガンなどの発生に関係し、老化にも大きな影響を及ぼす。2002年の調査で、モンゴル国には種々の生活習慣病が多く、平均寿命は先進国に比べて短く(男性62歳、女性69歳)、それに野菜食が少ないことが観察された。そこで今回、再度モンゴル国を訪れ、健康調査を実施し、とくに血中酸化ストレス度及び食生活を中心に検討したので報告する。

### 調査方法

調査時期は2005年7月27-29日で、フブスグル県ムルン立病院で行った。ムルン市は県の中心都市で、人口3万。山間に広がる平地に開かれた町で、すぐ北はロシア領となる。住民は木材で塀が回された敷地に住み、井戸を掘り、浸透式のトイレを掘って生活している。服装は日本の田舎の人々と同様で、羊毛の生産、材木の伐採、鉱山の採掘、道路工事、大工、ゴミ焼却の仕事をするが、小さな町で、他に特別な産業はない。

対象者の選択：モンゴル共同研究者により無作為に健康な現地人164人が集められた。住民は体格が男女とも日本人とほぼ同等、平均的な生活を営んでいるものであった。

調査方法：調査は受付、同意書・アンケート記入、身体計測、尿検査、検査用血液採取、血中酸化ストレス度測定(d-ROM testによるROM値測定)、食物摂取頻度聞き取り調査、ハーブ摂取調査の順に行い、さらに各家庭訪問により、個人宅の食事内容の調査と食物写真撮影を行った。血液検査はSRLで行った。

### 結果

食事調査では小麦粉、肉、ミルク製品と脂肪食が主で、野菜・果物はきわめて少なく、この地方では野菜や果物を摂取する習慣がないと思われた。モンゴルでは一般に夏場は馬乳酒を多くとるが、この地方は少なかった。

酸化ストレス度(ROM値)は、ムルン市民(n=164、24-66歳): $429.7 \pm 95.2$  Carr U、日本人(n=220、21-98歳): $335.3 \pm 59.8$  Carr U ( $p < 0.001$ )。ムルン市民は若い世代から高いROM値を示し、ROM値はBody fat ratioと相関し、握力と逆相関した。血中MDA-LDLと尿中8-OHdGは高め、一方抗酸化能SOD活性は低めだが高値を示す例もあった。血清脂質は日本人と同程度だが、40-50代ではトリグリセライド値が他の年代より高めを示した。血中ビタミンAとEは日本人と同程度、ビタミンCは低かった。

### 考察

住民は高い酸化ストレス度を示したが、これはこの国の平均寿命の短さや早期老化にかなり影響を与えていると思われる。酸化ストレス度には、喫煙、飲酒、経口避妊薬使用、野菜不足の食生活、過重労働、それに冬はマイナス40以下となる厳しい気候などが関係しているに違いない、特に野菜不足は抗酸化能の低下を招くので、バランスのとれた食生活を導入することが重要であろう。なお平成18年度は若年者や子供の血中酸化ストレス度を測定し、どの年代から酸化ストレス度が高くなるのかを明らかにしたい。

## 沖縄の長寿の“かげり”に関する研究 - 都市部と農村部の比較 -

保健管理学研究室教授 宮城 重二

序論：沖縄県は、これまでわが国の長寿県といわれてきた。そして、食生活・食文化をはじめ、多くの分野からその長寿の要因に関する研究が進められてきた。

しかし、2000年の平均寿命をみると、特に男性の全国順位が26位に転落し(47都道府県中)長寿の“かげり”がみられるようになった。その要因として、死因・死亡構造や先行研究から次の点がすでに指摘されている。つまり、特に男性では青壮年の死亡率が全国値より高い。脳血管疾患や虚血性心疾患の死亡率が高くなり、特に男性の虚血性心疾患の死亡率は全国値を上回るようになった。若い世代ほど、また男性ほど、カレーや卵料理、沖縄そばなどの簡単料理や洋風の料理を好み、伝統食の敬遠傾向がみられる。沖縄社会は車社会、酒社会、夜社会としての特徴を強め、精神構造の面でも個人主義が助長されている。沖縄は肥満者が多い。

さらに、沖縄の長寿の“かげり”には、食の欧米化と共に都市化の影響が考えられる。したがって、本研究では、その点を明らかにすることを目的とした。

対象及び方法：沖縄県の大里村(農村部)O中学校と浦添市(都市部)U中学校の2年生とその保護者を対象に、2005年9月、中学生は集合法で、保護者は留め置き法でアンケート調査を実施した。対象者は大里村O中学校が185親子、浦添市U中学校が229親子である。回収率は、O中学校が子ども100%・親89%、U中学校が子ども93%・親81%であった。

結果：中学生の身長・体重には両地域で有意差はなかったが、女子の体重が農村部より都市部において軽い傾向があった。中学生の身体活動(部活等)では、都市部が農村部より有意に少なかった。中学生の「家族での外食」や「ファーストフード」の摂食頻度は、いずれも都市部が農村部より双方とも有意に多かった。日常での「沖縄料理」や伝統的な「行事食」のここ10年間の変化に対する回答では、双方とも「かなり減った」というのは、農村部より都市部に多く、伝統的な「行事食」では有意差がみられた。

そして、両地域の健康状態をみると、まず、BMIでは女子中学生で農村部より都市部において、平均値が有意に低く、「やせ」の割合も有意に高かった(同割合は農村部17%、都市部39%)。女子のやせ志向は都市部で進行している。また、「自覚症状得点」は、親子とも農村部より都市部において高い傾向にあり、特に中学生では有意差がみられた。

結語：都市化の影響が食生活等の変化をもたらし、健康への悪影響をもたらしていることが考えられ、長寿の“かげり”の要因となっていることが示唆される。

## 坂戸地域のここ 30 年間の食生態の変遷と課題 坂戸スタディ（仮称）の出発にあたって

教授・足立己幸、武見ゆかり、武藤志真子  
専任講師・藤倉純子  
研究所客員教授・佐々木敏

### 1．坂戸地域のここ 30 年間の環境変化と食生態

女子栄養大学坂戸キャンパスの開設が 1963 年 3 月、当時“坂戸町”の人口は 2 万人強であった。1976 年に坂戸市になり、若葉台団地入居の開始、工業団地の創業、若葉駅の開通、市民健康センターの開設等のもと、1990 年代になり、9 万人を超え今日に至っている。この間、1973 年から 10 年間ほどの人口増加率は日本国内第一位であった。坂戸市住民の食生態に関する研究は、いわゆる都市化との関係で食生活の変化を図る指標（加工食品導入度）の開発、都市化段階を異にする地域での食事パタンの評価指標に関する研究、家族との共食に関する研究等を中心に進められてきた。これらの調査結果を再解析し、ここ 30 年間の食事パタン、食行動（知識・態度を含む）、ライフスタイル並び食環境の変遷を検討している。食事パタンについて料理レベルでは主食・主菜・副菜を組み合わせた食事の出現率の低下、その原因としての副菜料理(野菜を主材料とする料理)の出現率の低下が認められた。フードシステムや食情報システムの両面からとらえる食環境の変化、それらの背景に当たる自然環境の変化（平田久教授らの研究結果）との関連を検討している。

### 2．坂戸スタディ（仮称）の構想

目的は坂戸市児童と保護者の食生活・健康の向上ををめざした「食育プログラム」の開発、及び長期追跡による、その効果の検証。C 班研究の特徴である食環境やライフスタイルとのかかわりに注目をして生活習慣病の成立の仕組みを明らかにすること、その成果から実践可能な一次予防の方策を具体的な食育プログラムとして提案する。前項の調査枠組みや成果を活用し、行動変容や環境づくりに関する理論をベースに構築してきた研究計画案を用いて、坂戸市、教育委員会、小学校等の関係者との協議を重ねてきた。食を中心にすえた地域コホート研究は国内外で例が見られないので、慎重に進めている。地域と大学との協働により、住民にとって質の高い健康や生活の質の確保、ならびにそれらの持続可能な、質の高い食環境との共生を実現すべく、坂戸「食スタディ」実施ネットワークづくりについても協議を進めている。

（平成 18 年度から田中久子教授、大久保公美助手が共同研究者に加わる）