

研究報告書

はじめに

Homocysteine（ホモシステイン）は肥満、高血圧、糖尿病に並ぶ心臓血管系疾患危険因子の1つとして、近年大きな注目を浴びている。ビタミン B₆ や B₁₂、葉酸（folic acid）を摂取することで血漿ホモシステイン濃度を低下させ、心疾患の発症を抑える可能性が示唆されているが、遺伝的要因（人種の違いや遺伝子の多型）によって血漿ホモシステイン濃度には多様性が見られるという。また、継続的な運動トレーニングや減量の効果に関する情報はほとんど得られておらず、高ホモシステイン血症患者に対する運動適用の有効性は未だ不明である。

そこで本研究の目的は、14-20 週間の有酸素性運動を中心としたトレーニングプログラムを実施し、その前後で血漿ホモシステイン濃度、体組成、体脂肪分布、血清脂質、ホルモン、ホモシステイン代謝に関連する酵素等を測定し、運動トレーニングやそれに伴う減量がホモシステインに与える効果を評価すると同時に、人種の違い（日本人、白人、黒人）や関連酵素の遺伝子多型との関連性も併せて詳細に検討することとした。

なお、本研究では日米共同研究体制をとったことから、本報告書は、米国（白人と黒人）における研究の成果と日本（日本人）における研究の成果の二部構成とし、最後にまとめを述べることで最終的知見および結論とした。

第 1 部 米国人データからみたトレーニングプログラムの効果と遺伝的要因との関連

ここでは、米国籍をもつ白人と黒人を対象として 20 週間の有酸素性運動トレーニングが homocysteine 濃度に与える影響を明らかにするとともに、homocysteine 代謝に関わる酵素の遺伝子多型との関連を検討することを目的とした。そこで、第 1 部をさらに 2 章に分割し、第 1 章（有酸素性運動トレーニングが homocysteine 濃度に与える影響）と第 2 章（homocysteine 代謝に関わる酵素の遺伝子多型との関連）について結果を報告する。

第1章 有酸素性運動トレーニングが homocysteine 濃度に与える影響

緒言

過剰に高い血清 homocysteine 濃度は冠動脈硬化性疾患のリスク増大と密接かつ独立に関連することが知られている。しかし、継続的な有酸素性運動が血清 homocysteine 濃度に与える影響に関する報告はほとんど見当たらず、性や人種との関連についてはこれまでのところ存在しない。そこで、本研究では、運動トレーニングが血清 homocysteine 濃度に与える効果および性や人種との関連性について詳細に検討することを目的とした。

対象と方法

健康な黒人男性 111 名（平均年齢 33 歳）、黒人女性 191 名（同 33 歳）、白人男性 254 名（同 36 歳）、白人女性 260 名（同 35 歳）が本研究に参加した。なお、被験者に対しては本研究の目的と方法などについて十分な説明をおこなった後、書面にて研究参加への同意を得た。

被験者は週 3 回（1 回 30 分から 50 分）のトレーニング（室内における固定式自転車運動）に 20 週間（全 60 回）継続的に参加した。運動強度は、参加初期のころは最大酸素摂取量の 55% とし、回数を重ねるごとに強度を上げていった。最後の 6 週間は最大酸素摂取量の 75% でおこなった。

測定項目は、年齢、身長、体重、体脂肪率、血清 homocysteine、葉酸、ビタミン B₆、B₁₂ 濃度、最大酸素摂取量などとした。

結 果

20 週間の運動トレーニングを遂行した被験者は、黒人男性 90 名、黒人女性 159 名、白人男性 236 名、白人女性 245 名であった。

全被験者でみると、血清 homocysteine 濃度はトレーニング期間の前後で有意な変化は見られなかった（前 $8.8 \pm 4.4 \mu\text{mol/L}$ → 後 $8.9 \pm 3.6 \mu\text{mol/L}$ ）。黒人に限ってみると、男性 ($-0.5 \pm 3.7 \mu\text{mol/L}$) と女性 ($0.0 \pm 2.2 \mu\text{mol/L}$) のいずれも有意な変化が見られなかったが、白人では男性 ($0.3 \pm 1.7 \mu\text{mol/L}$) と女性 ($0.3 \pm 1.6 \mu\text{mol/L}$) の両方で有意に増加していた (Table 1)。男性についてみると、黒人と白人の間で血清 homocysteine の変化量に有意差がみられた。

血清 homocysteine 濃度の変化量は、トレーニング前の血清 homocysteine 濃度と強く関連していた (Figure 1, $r = -0.60$, $p < 0.0001$)。そこで、トレーニング前の血清 homocysteine 濃度が $15 \mu\text{mol/L}$ 以上だった者を高値群（高 homocysteine 血症、31 名）、 $15 \mu\text{mol/L}$ 未満の者を低値群（699 名）と定義したところ、高値群ではトレーニング前後で血清 homocysteine 濃度に有意な減少（前 $23.3 \pm 11.9 \mu\text{mol/L}$ → 後 $19.8 \pm 7.6 \mu\text{mol/L}$ ）が見られたのに対し、低値群ではほとんど変化しない（前 $8.2 \pm 2.2 \mu\text{mol/L}$ → 後 $8.5 \pm 2.4 \mu\text{mol/L}$ ）ことがわかった (Figure 2)。

結 論

男性では、血清 homocysteine 濃度のトレーニング効果に人種差があることがわかった。また、運動トレーニングは高 homocysteine 血症者に対して有効であり、血清 homocysteine 濃度が正常範囲内にある者に対してはほとんど影響を与えない。

第2章 血清 homocysteine 濃度のトレーニング効果と homocysteine 代謝に関わる酵素の遺伝子多型との関連

緒言

本研究の目的は、homocysteine 代謝に関わる 5 つの酵素の遺伝子内にある一塩基多型 (SNP) と homocysteine のトレーニング効果との関係を明らかにすることとした。さらに、葉酸、ビタミン B₆、B₁₂ 濃度が homocysteine のトレーニング効果に与える影響についても併せて検討した。

対象と方法

健康な黒人男性 106 名 (平均年齢 33 歳)、黒人女性 182 名 (同 33 歳)、白人男性 243 名 (同 36 歳)、白人女性 248 名 (同 35 歳) が本研究に参加した。なお、被験者に対しては本研究の目的と方法などについて十分な説明をおこなった後、書面にて研究参加への同意を得た。

被験者は週 3 回 (1 回 30 分から 50 分) のトレーニング (室内における固定式自転車運動) に 20 週間 (全 60 回) 継続的に参加した。運動強度は、参加初期のころは最大酸素摂取量の 55% とし、回数を重ねるごとに強度を上げていった。最後の 6 週間は最大酸素摂取量の 75% でおこなった。

測定項目は、年齢、身長、体重、体脂肪率、血清 homocysteine、葉酸、ビタミン B₆、B₁₂ 濃度、最大酸素摂取量などとした。

Homocysteine 代謝に関わる 5 つの酵素および検討した SNP (8 つ) は、米国 National Center for Biotechnology Information の情報に基づき Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C/T (rs1801133)、MTHFR 1298A/C (rs1801131)、methyltransferase (MTR) 2756A/G (rs1805087)、cystathionine β synthase (CBS) 699C/T (rs234706)、CBS 1080C/T (rs1801181)、folate hydrolase 1 (FOLH1) 868C/T (rs182169)、methyltransferase reductase (MTRR) 147A/G (rs1801394)、MTRR 1326C/T (rs2287780) とし、FP-TDI 法にて解析した。

結 果

トレーニング前の血清 homocysteine 濃度は、黒人と白人ともに、MTHFR 677C/T (黒人 $p = 0.02$ 、白人 $p = 0.01$) と MTR 2756A/G (黒人 $p = 0.04$ 、白人 $p = 0.03$) と有意に関連した (Table 2)。トレーニングによる homocysteine 濃度の変化量は、黒人の場合 MTRR 147A/G ($p = 0.04$) と、白人では MTRR 1326C/T ($p = 0.02$) と有意に関連した (Table 3)。

また、黒人と白人ともに、ビタミン B₁₂ 濃度が低い (黒人 331 pmol/L 未満、白人 287 pmol/L 未満) 場合においてのみ、MTR 2756A/G はトレーニングによる homocysteine 濃度の変化量と有意 (黒人 $p = 0.03$ 、白人 $p = 0.03$) に関連した (Figure 3)。

結 論

我々のデータから、黒人と白人ともに MTRR および MTR 遺伝子の多型が、トレーニングによる homocysteine 濃度の変化と関連することが明らかにされた。また、ビタミン B₁₂ 濃度が homocysteine 濃度のトレーニング効果に関与している可能性が示唆された。

第2部 日本人データからみた減量トレーニングプログラムの効果

緒言

血清 homocysteine 濃度が種々の冠動脈疾患危険因子と関連することはこれまで述べてきたとおりであるが、対象が日本人である場合の検討はあまりなされていない。特に、減量トレーニング（食事と運動の組み合わせ）による血清 homocysteine 濃度への影響は世界的にみてもほとんど報告されていない。そこで本研究では、減量トレーニングによって血清 homocysteine 濃度がどのように変化するかを明らかにすると同時に、トレーニング（介入）方法（食事のみによる減量 vs. 食事と運動による減量）の違いが血清 homocysteine 濃度の変化に与える影響を検討した。

対象と方法

被験者の募集には、肥満の基準値である body mass index (BMI) 25 以上を条件とし、地方紙（新聞の折込）を用いて、電話にて受け付けた。応募した男性 50 名のうち重篤な糖尿病症状（空腹時血糖 180 mg/dL 以上）を呈した 1 名を除く 49 名（平均年齢 49 歳）を被験者とし、これらの者を無作為に 2 群（食事のみ群 24 名、食事+運動群 25 名）に分けた。なお、被験者に対しては本研究の目的と方法などについて十分な説明をおこなった後、書面にて研究参加への同意を得た。

全被験者に対して食事指導をおこなった。1 日の摂取エネルギー量を 1680 kcal に設定した。4 群点数法に基づく食事日誌を毎日記入するよう指示した。週 1 回、栄養士による栄

養指導や個別相談をおこなった。

食事＋運動群では食事制限に加えて、週3日の専門指導員による教室参加型指導を受けるよう指示した。主な運動内容は、屋外でのウォーキング（速歩）および室内での徒手体操、筋力トレーニング、ストレッチングなどであった（1回のエネルギー消費量は約200-300 kcal）。また、教室以外の日にも可能な限り運動（ウォーキングなど）をおこなうよう指導した。

測定項目は、年齢、身長、体重、体脂肪率、体脂肪分布（内臓脂肪面積、皮下脂肪面積）、血圧、コレステロール、血糖、インスリン、ヘモグロビン A1c、血清 homocysteine、葉酸、ビタミン B₆、B₁₂濃度、最大酸素摂取量などとした。

結 果

被験者個人の理由により、減量期間中に食事のみ群は3名が脱落し、食事＋運動群では2名が脱落した。したがって、本研究における減量効果に関する検討では、食事のみ群の21名と食事＋運動群の23名の合計44名を用いた。

減量前における食事のみ群の血清 homocysteine 濃度は $14.2 \pm 2.5 \mu\text{mol/L}$ であったが、減量介入中に $0.3 \pm 2.7 \mu\text{mol/L}$ 減少した（Table 4）。食事＋運動群では、減量前の $14.4 \pm 5.8 \mu\text{mol/L}$ から $2.3 \pm 5.0 \mu\text{mol/L}$ 減少した。血清 homocysteine 濃度の減少量に有意な群間差は見られなかった。

減量前の血清 homocysteine 濃度および減量にともなう変化量をそれぞれ目的変数とした重回帰分析をおこなったところ（Table 5）、減量前の血清 homocysteine 濃度はインスリン

濃度、現在のタバコの本数、ビタミン B6 濃度により全分散の 48.2%が説明されることがわかった。減量にともなう血清 homocysteine 濃度の変化量は、体重の減少量によってのみ有意に説明された（全分散の 13.4%を説明）。

高 homocysteine 血症者（減量前の血清 homocysteine 濃度が 15 $\mu\text{mol/L}$ 以上）と正常者に分けて検討したところ（Figure 4）、高 homocysteine 血症者では減量前の 18.3 ± 5.1 $\mu\text{mol/L}$ から減量後 14.7 ± 2.7 $\mu\text{mol/L}$ へと有意（ $p < 0.01$ ）に減少したのに対し、正常者では有意な変化がみられなかった。Table 6 では、血清 homocysteine 濃度の変化の傾向をグループごとに検討したが、群間に有意な違いはなかった。

結 論

体重減少によって血清 homocysteine も減少する可能性が示唆された。この傾向は、高 homocysteine 血症者で顕著であった。介入方法の違いは、血清 homocysteine の減少に影響を与えないことがわかった。

結 語

本研究により明らかとされた知見は以下のとおりである。

1. 運動トレーニングは米国人の高 homocysteine 血症者に対して有効であり、血清 homocysteine 濃度が正常範囲内にある者に対してはほとんど影響を与えない。
2. 米国人男性では、血清 homocysteine 濃度のトレーニング効果に人種差があることがわかった。
3. 黒人と白人ともに MTRR および MTR 遺伝子の多型が、トレーニングによる homocysteine 濃度の変化と関連することが明らかにされた。また、ビタミン B₁₂ 濃度が homocysteine 濃度のトレーニング効果に関与している可能性が示唆された。
4. 体重減少によって日本人の血清 homocysteine が減少する可能性が示唆された。この傾向は、高 homocysteine 血症者で顕著であった。
5. 減量介入方法の違い(食事制限のみ vs. 食事制限+運動)は、日本人の血清 homocysteine の減少に影響を与えないことがわかった。

今後の課題

研究期間と予算の理由により、日本人の遺伝子解析はできなかったため、遺伝的要因と血清 homocysteine の変化量との関連は依然不明である。また、被験者数も 49 名（トレーニング実施者は 44 名）と米国人データに比べて少ないことから、今後、さらに日本人のデータを増やすとともに、遺伝子解析を進める必要がある。