

卵摂取でコレステロール値が上がる体質とは？ －「佐久コホート」に於ける遺伝疫学解析

独立行政法人国立健康・栄養研究所・上級研究員 山田 晃一

■ 緒 言

卵摂取でコレステロール値が上がるかを調べる人体実験は多数行われている。その結果は、大部分の人は食物からコレステロールを摂取しても、それで直ぐにコレステロール値が上がることはないというものである¹⁾。しかし、一部にコレステロール値が上がる人もいる(コレステロール感受性)。東海大学、本間康彦氏らの実験²⁾では、毎日卵黄3個分のコレステロールを2週間摂取し続けた人の内、65%の人はLDLコレステロール値が変化しないかむしろ低下し、残りの35%は上昇したという。この違いは、体質因子(遺伝性要因)+生活習慣因子によるものと思われるが、詳細は不明である。

私達の研究グループは「佐久コホート」を対象に、まず鶏卵等の摂取量とコレステロール値等との関連を検証する。次に脂質代謝関連遺伝子多型を解析し、多型と鶏卵等の摂取量、各種コレステロール値の相関を調べ、コレステロール値が上昇しやすい遺伝子多型を探索すると共に、コレステロール値上昇を抑える食生活を疫学的に検討する。

■ 方 法

1. コホートの設定と介入指導(佐久肥満克服プログラム)^{3,4)}

佐久総合病院において人間ドック検診を受けた受診者の中から、BMI値28.3以上の介入研究参加者235名を募り、対象とした。減量のための栄養指導、運動指導としては、1年間(開始時、1, 3, 6, 9, 12か月後に成果判定)の継続的な個人指導を行った。運動指導:3次元加速度計を手渡して、現状より一律に1,000歩多く歩く目標を提示する。食事指導:栄養士との個人面談で、下記のDHQと食行動アンケートから各肥満者の問題は何かを話し合い、「ゆっくり嚼んで食べよう」「間食をやめよう」「野菜をもっと多く食べよう」などの目標を決め、毎日、体重や食事記録の日記を各自付けて、セルフモニタリングする。カロリー制限を目標に掲げることはしない。

2. データベースの作成

介入研究参加者の、介入研究開始時、及び開始1～3年後のデータから、身体測定や血液検査等の結果(身体測定値、CTで測定した腹腔内脂肪面積、糖負荷試験結果、血液生化学検査結果、尿検査結果、アディポネクチン等測定値、エネルギー代謝測定値や運動量、食事量等調査結果等)を得て、データベースを作成した。

3. 遺伝子多型解析^{5,6)}

全血からのDNA精製はキアゲン社のQIAamp DNA blood kitを用いて行った。これらのDNAをサンプルとして、肥満及び糖尿病・高血圧・高脂血症関連遺伝子の多型を解析中である。検出の方法はPCR-RFLP法を用い、DNA bandの検出は、島津製作所MultiNAにより、マイクロチップ電気泳動法にて行っている。現在迄に27遺伝子50多型の解析が終了している。

4. データ・マネジメント

解析は、SPSSデータベースを作成して、遺伝子型と、介入開始時のデータ、及び開始1～3年後の差との相関を解析する。食事、各栄養素、栄養成分の摂取量はDHQ(Diet History Questionnaire)から、食行動の傾向は坂田式食行動アンケートからデータを得、SPSSを用いて相関を検出した。

5. 対象者の人権と利益保護への配慮

「佐久健康長寿プログラム」、「佐久肥満克服プログラム」、両プロジェクト共に、国立健康・栄養研究所の倫理委員会および佐久総合病院倫理委員会の審査を受け、既に承認済みであり、また「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して行っている。

■ 結 果

1) 鶏卵等の摂取量とコレステロール値等との関連について

総コレステロール(以下T-Cho、と略記)、LDLコレステロール(LDL)、HDLコレステロール(HDL)、中性脂肪(TG)に対する、卵類等の各種食品群の摂取量との関係と、卵類の摂取量とBMI等の体格指標、生化学的指標等との関係を把握するため、まず回帰分析を行なった。T-Cho値と卵類摂取量は負

の相関になっている上に、関連性が最も強く出た($r=-0.222$ $p=0.001$)。これは単純に考えると、卵類を多く摂取すると T-Cho 値が下がることになるが、散布図(図 1A)を書いてみると、卵類を 1 日に 50 g 以上摂取していて、T-Cho 値が 220mg/dl 以上の肥満者(グループ I)が非常に少ない(11 人)。これは、T-Cho 値が高い人達は、意識的に卵を 1 個以下程度に控えているためと思われる。同様に、LDL 値と卵類摂取量は負の相関になっており($r=-0.207$ $p=0.001$)、その散布図もやはりグループ I の人数が少ない(図 1B)。HDL 値と卵類摂取量も負の相関になっているが、関連性は弱い($r=-0.095$ $p=0.087$)、大部分の被験者の HDL 値は正常範囲である(図 1C)。TG 値と卵類摂取量は相関関係が無い(図 1D)。

その他、理由は不明だが、T-Cho 値と果実類の摂取量が正の相関になっている($r=0.144$ $p=0.014$)。

卵類の摂取量とレプチン値、アディポネクチン値が負の相関になっており(夫々、 $r=-0.186$, $p=0.004$; $r=-0.156$, $p=0.012$)、また、卵類の摂取量と、タニタ社体重計で測定した体脂肪率、CT で精密に測定した皮下脂肪面積がいずれも負の相関になっている(夫々、 $r=-0.172$, $p=0.007$; $r=-0.100$, $p=0.076$)。この相関については、次節で考察する。

2) 脂質代謝関連遺伝子多型の解析と、多型と鶏卵等の摂取量、各種コレステロール値の相関について(コレステロール値が増減しやすい遺伝子多型)

脂質代謝関連遺伝子として新規に ApoB と HMGCoA リダクターゼ(HMGCR)の多型を解析した。脂質輸送に関与する ApoB⁷ は大変大きな遺伝子で、多数の多型があるが、NCBI で、欧米人を対象とした GWAS 研究等で著しく有意だった 8 多型⁸)を選択した。FourGamet 法で LD plot を描かせると、2 つの LD ブロック(連鎖不平衡領域)に分かれる(HaploView 解析)(図 2)。プロモーター領域(ブロック 2)には高コレ値と相関するアリル、ハプロタイプは検出できないが、コーディング領域(ブロック 1)には T-Cho 値、TG と相関するアリル、ハプロタイプが存在した(表 1)。例えば、図 2 中の多型 2、3、4 の各々 A、T、G アリル(いずれも少数型)は TG が正常値を越えている肥満女性群に存在頻度が有意に高い。またブロック 1 の TGGGG ハプロタイプは T-Cho 値が正常値を越えている群に、TGGGG 及び TATGA ハプロタイプは TG 値が正常値を越えている群にそれぞれ存在頻度が有意に高い。

コレステロール代謝の生合成経路に於ける律速酵素である HMGCR⁹)についても同様に 8 多型を選択し、HaploView 解析を行った(図 3、表 2)。ブロック 1 が TGAT ハプロタイプを持つ肥満男性は LDL が有意に高く、ブロック 2 が GT ハプロタイプを持つ肥満男性は LDL と TG が高かった。

今迄に解析した 50 個以上の遺伝子多形の中から、卵類の摂取量と相関があり、コレステロール値そのものと相関がある多形や、食事と運動の介入指導を行って 1 年後に有意に増減が見られる多型をピックアップした。その結果、グレリン受容体遺伝子(GHSR)477GA では、この多型が少数型ホモの肥満女性(AA 型)は、卵類を多く摂取していて、1 年後介入指導によって、TG が減少しやすい(つまり改善しやすい)ことが判明した(表 3)。

3) コレステロール値上昇を抑える食生活について

上記の様に、佐久コホートの被験者は、減量のための介入指導(食事指導、運動指導)を受けている。介入指導を継続して、1 年後のコレステロール値と卵摂取量の相関関係も調べた。卵摂取が 1 日 1 個以下で、T-Cho 値(LDL 値)が異常に高い数人については、介入によって T-Cho 値(LDL 値)の改善が見られたものの、散布図のプロファイルは基本的に変わらなかった。佐久コホートでは大きな減量効果がみられているが、一般的な減量指導ではコレステロール値の改善に繋がらないと考えられる。

上述の回帰分析で、HDL 値ときのご類、海藻類の摂取量の間には正相関があり(夫々、 $r=0.147$, $p=0.013$; $r=0.133$, $p=0.021$)(図 4)、きのご類、海藻類を多く摂取すると、HDL 値が上がる(改善する)可能性がある。

また卵類摂取量の少ない肥満男性の中に HDL が正常値より少ない人が散見されたことから、この人達には卵類の摂取が HDL 値を改善することが期待される。

■ 考 察

私自身も「コレステロール値が上がるので、卵類は 1 日 1 個まで」を実行してきたが、この課題を通して、それに根拠が無いことを再認識した。T-Cho 値(或いは LDL 値)に対する卵類の摂取量は、強い負の相関になっている(図 1A)。対象者は肥満者であり、過食の傾向が強く、また高コレステロールの者も多いので、1 日 1 個以上の卵類を摂取していて T-Cho 値が 220mg/dl 以上の者(グループ I)が多いと予想していたが、結果は異なった。おそらく人間ドック等で「卵類を控える」栄養指導を受けているためと考えられる。LDL 値についても同様な傾向で、1 日 1 個以上の卵類を摂取していて LDL 値が 140mg/dl 以上の被験者(グループ I)は少ない。

卵類の摂取量とレプチン値、アディポネクチン値、また、卵類の摂取量と体脂肪率、皮下脂肪面積

がいずれも負の相関になっていることについて、「卵黄リン脂質はレプチン遺伝子(ob)の存否にかかわらず、脂肪細胞の肥大化を抑制する」というマウス実験の報告¹⁰⁾があり、佐久コホートでも卵成分の摂取が脂肪細胞の肥大化を抑制していると考えれば、アディポサイトカインであるレプチン量やアディポネクチン量の減少、体脂肪率や皮下脂肪面積の低下(改善)とも符合する。卵を食べれば、皮下脂肪を減らすことができるかもしれない。

HDL 値ときのご類、海藻類の摂取量の間には正相関があったが、これら以外にも豆類やその他の野菜類でも HDL 値との間に正相関がある(夫々、 $r=0.123$, $p=0.031$; $r=0.100$, $p=0.064$)ので、食物繊維を多く摂取すると、HDL 値が改善できる可能性がある。因みに、穀類、肉類、卵類、乳類はいずれも HDL 値との間に負の相関がある(夫々、 $r=-0.101$, $p=0.063$; $r=-0.131$, $p=0.023$; $r=-0.119$, $p=0.034$; $r=-0.114$, $p=0.042$)。

■ 要 約

卵摂取でコレステロール値が変動する遺伝性要因と(食)生活習慣を調べるため、私達は「佐久コホート」を対象に、まず鶏卵等の摂取量とコレステロール値等との関連を検証し、次に ApoB と HMGCoA レダクターゼ遺伝子多型を解析し、多型と鶏卵等の摂取量、各種コレステロール値の相関を調べ、コレステロール値が上昇しやすい遺伝子多型を探索すると共に、コレステロール値上昇を抑える食生活を疫学的に検討した。その結果、総コレステロール値と卵類摂取量は強い負の相関になったが、これは、T-Cho 値が高い人達は、意識的に卵を控えているためと思われる。

卵類の摂取量とレプチン値、アディポネクチン値、また、卵類の摂取量と、体脂肪率、皮下脂肪面積がいずれも負の相関になり、卵成分の摂取が脂肪細胞の肥大化を抑制していると考えられ、卵を食べれば効果的に皮下脂肪を減らせる可能性が示唆された。また、HDL 値ときのご類、海藻類、豆類、その他の野菜類の摂取量の間には正相関があり、食物繊維を多く摂取すれば HDL 値が改善できるかもしれない。

脂質輸送に関与する ApoB の 8 多型を解析し、HaploView 解析を行った。コーディング領域(ブロック 1)には T-Cho 値、TG 値と相関するアレル、ハプロタイプが存在した。コレステロール代謝の生合成経路に於ける律速酵素である HMGCR についても同様に 8 多型を選択し、HaploView 解析を行った。

今迄に解析した遺伝子多型に於いて、卵類の摂取量と相関があり、食事と運動の介入指導を行うとコレステロール値の有意な増減が見られる多型を探索したところ、グレリン受容体遺伝子(GHSR) 477GA の少数型ホモの肥満女性(AA 型)が卵類を多く摂取していて、1 年後介入指導によって TG が減少しやすい(つまり改善しやすい)ことが判明した。

■ 文 献

- 1) 「コレステロール研究所」(<http://homepage3.nifty.com/takakis2/col.htm>)
- 2) Honma Y.(2001) Apolipoprotein-E phenotype and basal activity of low-density lipoprotein receptor are independent of changes in plasma lipoprotein subfractions after cholesterol ingestion in Japanese subjects. *Nutrition* 17:310-314.
- 3) Watanabe S, Morita A, Aiba N.(2007) Study design of the Saku control obesity program(SCOP). *Anti-Aging Medicine* 4:70-73.
- 4) Morita A, Ohmori Y, Suzuki N, Watanabe S.(2008) Anthropometric and clinical findings in obese people in Saku control obesity program(SCOP). *Anti-Aging Medicine* 5:13-16.
- 5) Yamada K, Takezawa J, Morita A, Matsumura Y, Watanabe S.(2007) DNA polymorphism of obese people in Saku Control Obesity Program(SCOP). *Anti-Aging Medicine* 4:63-69.
- 6) Takezawa J, Yamada K, Morita A, Aiba N, Watanabe S.(2009) Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese: Association with diabetes mellitus in men and with metabolic syndrome parameters in women. *Obes Res Clin Prac* 3:179-191
- 7) Kathiresan S, et al.(2008) Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events. *N Engl J Med.* 358:1240-9.
- 8) Boekholdt SM, et al.(2012) Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis. *JAMA* 307:1302-9.
- 9) Burkhardt R, et al.(2008) Common SNPs in HMGCR in micronesians and whites associated with LDL-cholesterol levels affect alternative splicing of exon13. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 28:2078-84.

10) 青江誠一郎 「卵、大豆および乳由来のリン脂質素材がレプチン遺伝子欠損ヘテロマウス (ob/+) の内臓脂肪蓄積に及ぼす影響」平成 18 年度 旗影会報告書

表 1. 佐久肥満女性における ApoB 多型と総コレステロール値(A)、中性脂肪値(B)の相関について

A					B				
APOB	Case: Total-Chol>220 女性				APOB	Case: TG>149 女性			
Name	Assoc Allele	Case	Control	Frequencies P value	Name	Assoc Allele	Case	Control	Frequencies P value
1 rs4971516	T	0.863	0.784	0.1186	1 rs4971516	T	0.869	0.789	0.1295
2 rs693	A	0.049	0.045	0.8782	2 rs693	A	0.083	0.026	0.0466
3 rs10199768	G	0.961	0.948	0.6382	3 rs10199768	T	0.083	0.026	0.0466
4 rs679899	G	0.167	0.104	0.1612	4 rs679899	G	0.214	0.086	0.0051
5 rs1367117	A	0.088	0.075	0.7035	5 rs1367117	A	0.107	0.066	0.2636
6 rs515135	C	0.902	0.896	0.8712	6 rs515135	T	0.143	0.079	0.1199
7 rs1429974	A	0.255	0.239	0.776	7 rs1429974	A	0.262	0.237	0.6685
8 rs754524	G	0.108	0.082	0.5002	8 rs754524	G	0.119	0.079	0.3104

Block	Haplotype	Freq.	Case	Control	Frequencies P Value	Block	Haplotype	Freq.	Case	Control	Frequencies P Value
Block 1	TGGAG	0.686	0.696	0.679	0.7807	Block 1	TGGAG	0.686	0.655	0.704	0.4355
	CGGAG	0.178	0.127	0.216	0.0752		CGGAG	0.178	0.131	0.204	0.1617
	TGGGG	0.051	0.089	0.022	0.0219		TGGGG	0.051	0.095	0.027	0.0217
	TATGA	0.038	0.039	0.037	0.9449		TATGA	0.038	0.071	0.020	0.0478
	TGGGA	0.029	0.029	0.030	0.9639		TGGGA	0.029	0.036	0.026	0.6799
Block 2	CCT	0.669	0.661	0.675	0.8267	Block 2	CCT	0.669	0.630	0.691	0.3451
	CAT	0.136	0.133	0.138	0.8978		CAT	0.136	0.108	0.151	0.3493
	CAG	0.093	0.108	0.082	0.5002		CAG	0.093	0.119	0.079	0.3104
	TCT	0.085	0.084	0.086	0.9442		TCT	0.085	0.108	0.072	0.3515
	TAT	0.017	0.014	0.018	0.8176		TAT	0.017	0.035	0.006	0.1002

表 2. 佐久肥満男性における HMGR 多型と中性脂肪値(A)、LDL コレステロール値(B)の相関について

A					B				
HMGR	Case: TG>149 男性				HMGR	Case: LDL Cho>139 男性			
Name	Assoc Allele	Case	Control	Frequencies P value	Name	Assoc Allele	Case	Control	Frequencies P value
1 rs4704200	T	0.658	0.629	0.651	1 rs4704200	T	0.673	0.635	0.613
2 rs10056811	G	0.623	0.612	0.867	2 rs10056811	G	0.673	0.601	0.348
4 rs3843481	T	0.579	0.517	0.347	4 rs3843481	A	0.462	0.449	0.877
6 rs12654264	T	0.553	0.526	0.684	6 rs12654264	T	0.577	0.528	0.534
7 rs3846662	G	0.579	0.517	0.347	7 rs3846662	G	0.577	0.539	0.632
8 rs12916	T	0.614	0.517	0.139	8 rs12916	T	0.654	0.539	0.143

Block	Haplotype	Freq.	Case	Control	Frequencies P Value	Block	Haplotype	Freq.	Case	Control	Frequencies P Value
Block 1	TATT	0.35	0.323	0.376	0.393	Block 1	TATT	0.35	0.286	0.368	0.277
	GGAA	0.326	0.295	0.357	0.322		GGAA	0.326	0.305	0.333	0.705
	TGTT	0.153	0.193	0.113	0.094		TGTT	0.153	0.230	0.130	0.077
	TGAA	0.098	0.106	0.090	0.672		TGAA	0.098	0.078	0.104	0.589
	TGAT	0.018	0.009	0.026	0.342		TGAT	0.018	0.058	0.006	0.012
	TATA	0.013	0.026	0.000	0.081		TATA	0.013	0.019	0.011	0.652
Block 2	GGTA	0.01	0.009	0.011	0.867	Block 2	GGTA	0.01	0.000	0.013	0.424
	AT	0.433	0.419	0.446	0.679		AT	0.433	0.421	0.436	0.845
	GC	0.415	0.384	0.446	0.339		GC	0.415	0.344	0.436	0.236
	GT	0.133	0.195	0.071	0.006		GT	0.133	0.233	0.103	0.015
	AC	0.019	0.002	0.037	0.057		AC	0.019	0.002	0.025	0.305

表 3. グレリン受容体遺伝子 +477GA 多型と肉類、卵類の摂取量、および介入一年後の中性脂肪低減効果との関係

GHSR +477GA 肥満克服プログラム 初年度 女性										
	食事摂取重量 (g)		芋類 (g)		肉類 (g)		卵類 (g)		TG (mg/dl)	TG 一年後の増減
GG 43人	3437 ±	1259	32.8 ±	27.5	58.0 ±	38.4	34.6 ±	20.5	137.0 ± 66.6	-5.46 ± 71.2
GA 58人	3259 ±	844	32.6 ±	29.7	42.2 ±	34.4	27.5 ±	22.4	156.7 ± 81.7	-10.14 ± 59.2
AA 17人	3808 ±	1471	61.2 ±	102.1	80.1 ±	64.6	44.8 ±	21.4	148.9 ± 93.7	-40.89 ± 99.9
ANOVA	p = 0.199		p = 0.070		p = 0.003		p = 0.013		p = 0.459	
Bonferroni	GA ⇔ AA		p = 0.085		p = 0.003		p = 0.013		p = 0.049	
	GG ⇔ AA								p = 0.034	

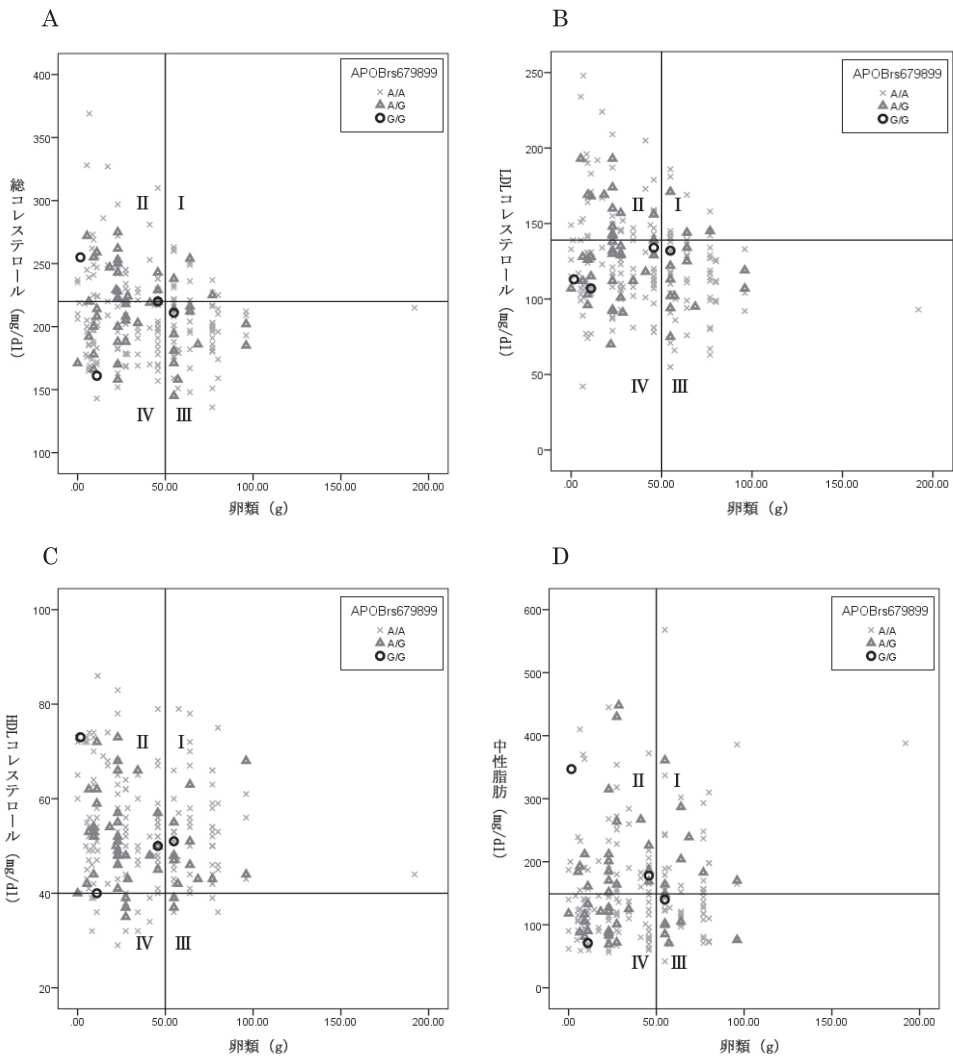


図1. 卵類の摂取量とコレステロール値等との関連について
 (図中には各被験者が持つ ApoB 遺伝子 rs679899 多型の結果を含めてマークしている)

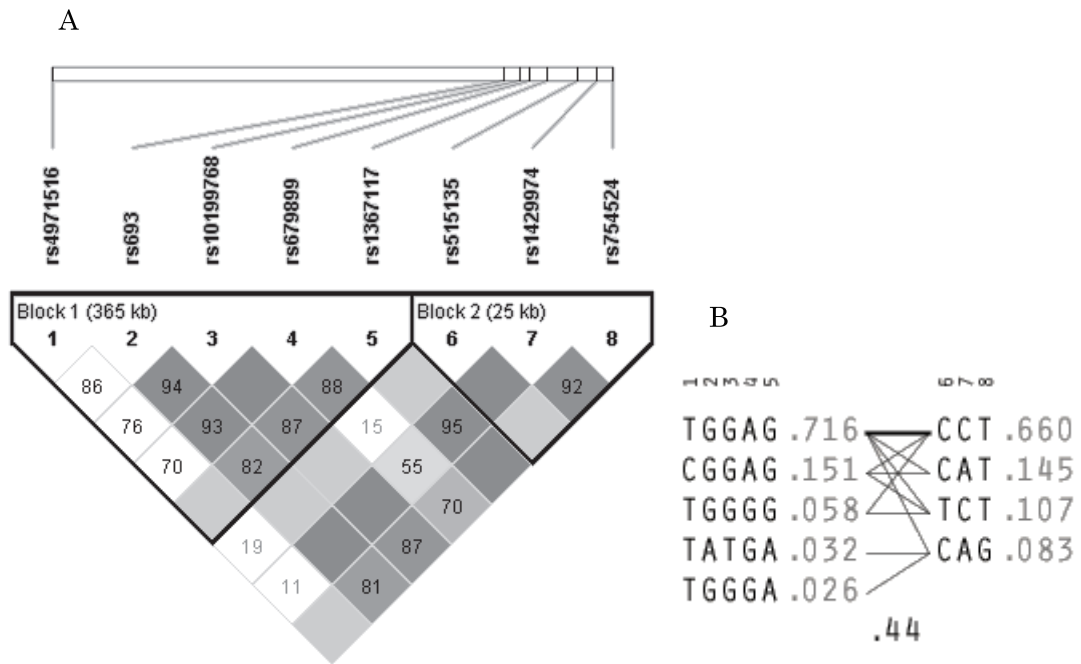


図 2. ApoB 遺伝子の連鎖不平衡ブロック構造(A)と佐久肥満コホートにおける各ハプロタイプの存在頻度(B)

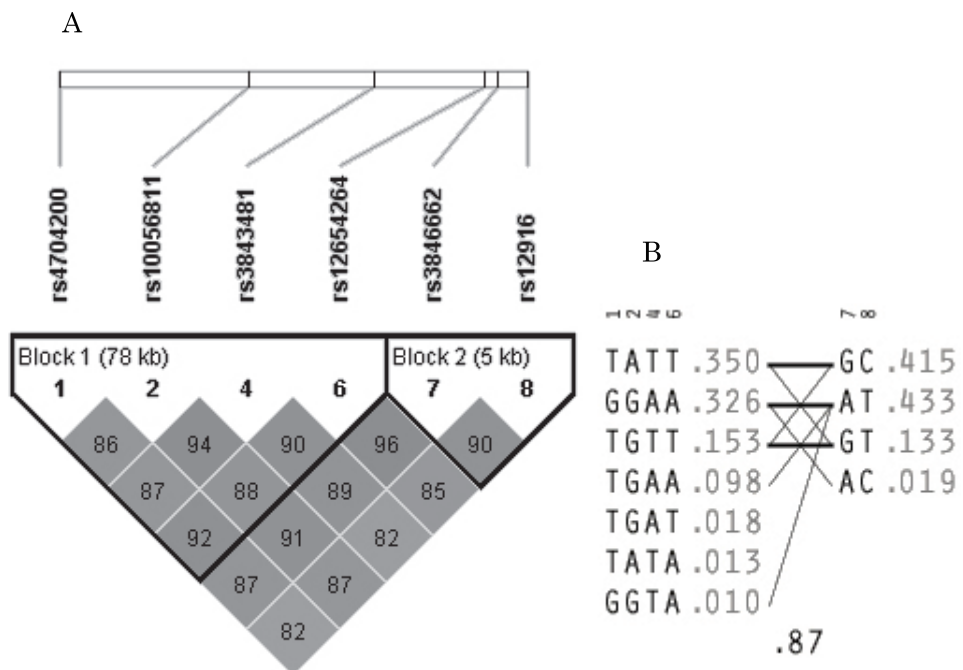


図 3. 佐久肥満男性における HMGCR 遺伝子の連鎖不平衡ブロック構造(A)と各ハプロタイプの存在頻度(B)

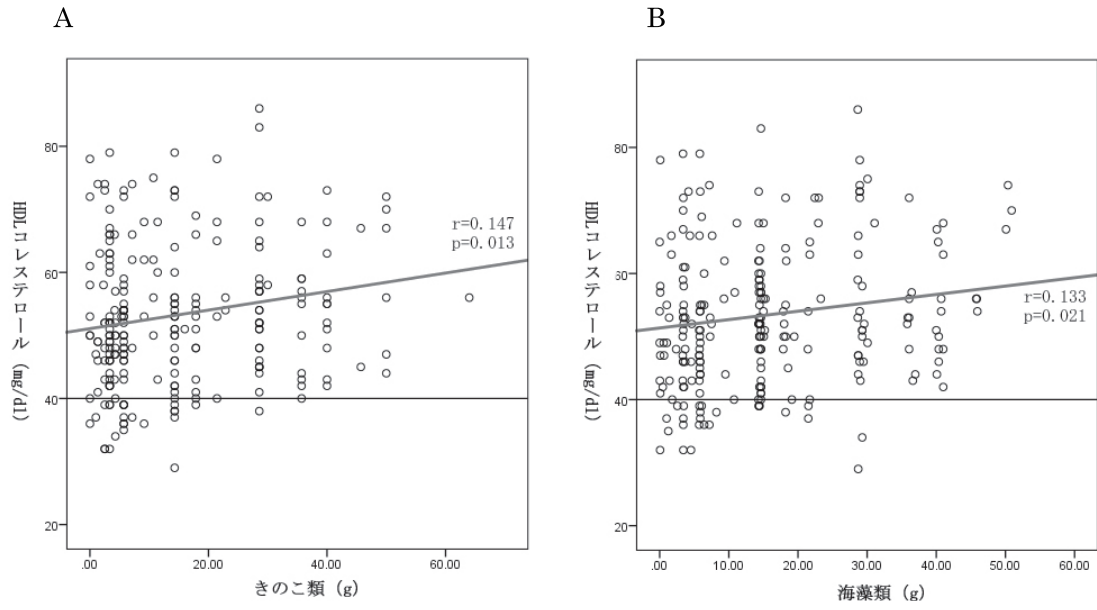


図 4. きのこ類、海藻類の摂取量と HDL コレステロール値の関係について