

2016 年度研究助成 研究成果報告書（HP掲載用）

研究課題名：心血管病予防の為の新規栄養指導プログラムの開発

－時間栄養学に基づく効果的な魚類摂取法の検討－

京都医療センター臨床研究センター

内分泌代謝高血圧研究部

北野 隆司

【研究要旨】

本研究では、肥満者を対象とし、時間栄養学に基づく効果的な魚類摂取法の検討を通じた心血管病予防の為の新規栄養指導プログラムの開発を目的に、栄養素摂取状況、食習慣（魚食）等と概日リズム指標・メラトニン分泌能、さらには動脈硬化指標との関連を解析し、動脈硬化症の発症・進展に関わる最大関連指標を横断的に検討した。その結果、日々の摂取栄養素や魚食の摂取習慣がメラトニン分泌能と密接に関連するだけでなく、動脈硬化指標は、魚食の種類やメラトニン分泌能との関連を認めた。従って、肥満者を対象とした時間栄養学に基づく効果的な魚類摂取法の検討により、心血管病予防の為の新規栄養指導プログラムの開発が期待される。

【研究目的】

近年、肥満など生活習慣病の増加に伴い、心血管病が急増している本邦において、その効果的な予防法・包括的治療法の確立は急務である。疫学的に心血管病リスク軽減には魚食が効果的であることが報告されるなか、概日リズムの乱れが心血管病に影響することが示唆され、概日リズム形成における食事の内容・時刻の重要性が明らかになりつつある。しかし、肥満において、心血管病予防の為の概日リズムも考慮した多面的かつ効果的な魚類摂取法（魚食法）の詳細は確立されていない。

本研究では、我々の研究グループが構築した国内初の肥満症・糖尿病コホートを基盤に、個別栄養指導における簡易型自記式食事歴法質問票（brief-type self-administered diet history questionnaire; BDHQ）と簡易食物摂取調査票から肥満の食習慣の特徴を詳細に調査し、魚食関連摂取状況、概日リズム指標（メラトニン）、糖脂質代謝能、さらには心血管病リスク因子（動脈硬化指標）の横断・縦断解析より、心血管病リスク軽減の最大関連因子を同定する。それに基づき、心血管病予防において時間栄養学も加味した効果的な魚食プログラムの開発を目的とする。

【研究方法】

京都医療センターの肥満外来患者（BMI ≥ 25 kg/m²）を対象に、体組成（BMI、腹囲）、血圧（systolic blood pressure; SBP, diastolic blood pressure; DBP）糖脂質代謝指標 [fasting blood sugar; FBS, HbA1c, total cholesterol; TC, triglyceride; TG, high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C, アディポカイン（レプチン・アディポネクチン）]、炎症指標（高感度 CRP）及び動脈硬化指標（Cardio-ankle vascular index; CAVI; Fukuda Denshi Co., Ltd.,

Tokyo, Japan) を測定した。倫理委員会承認後、2017年3月より症例登録を開始し2017年11月時点にて192例の症例登録が完了している。その中で、データクリーニング・固定が完了した72例を対象に検討を行った。更に、本報告書作成にむけた中間解析として20例(男性10例、女性10例、平均年齢58.2歳、平均BMI 30.8 kg/m²)を対象に、個別栄養指導の下、簡易型自記式食事歴法質問票(BDHQ)と魚類の摂取状況に焦点を当てた簡易食物摂取調査票を用い、総カロリー・食事内容・各栄養摂取量をはじめ、炭水化物・蛋白質・脂質の摂取量(率)、脂肪酸バランス(飽和脂肪酸:一価不飽和脂肪酸:多価不飽和脂肪酸の比率)等を算出し、特に魚類関連摂取状況に関し詳細な解析[摂取量(率)・摂取時刻(朝昼夜)・摂取順序(炭水化物・たんぱく質・脂質)・種類(赤身・青身・白身)]を施行した。さらに、概日リズム指標・メラトニンの血清濃度をELISA(Melatonin ELISA Kit; Enzo Life Sciences, NY, USA)にて測定し、メラトニン分泌能に対するBDHQ(栄養素摂取状況)及び簡易食物摂取調査(魚類摂取状況)、肥満度(BMI)、さらには、糖脂質代謝指標及び炎症指標等との関連解析を実施した。さらに、登録時のCAVIに対し、メラトニン分泌能を含めた各種指標との横断解析から最大関連指標を検討した。記述統計として、連続量変数については正規性を確認の上、平均値と標準偏差を算出した。また、関連性の解析についてはSpearmanの順位相関係数を算出し評価を行った。全ての検定において $P < 0.05$ を統計学的有意として扱い、解析はSPSS ver23.0(IBM Japan, ltd., Tokyo, Japan)を用いて行った。尚、本研究は京都医療センターの倫理委員会の承認を受け、個人のプライバシーを最大限に尊重すると共に、被験者には、目的、方法、予想される利益、可能性のある危険について十分に説明し、被験者の自由な意志による同意(インフォームド・コンセント)の下に実施した。

【研究結果】

(1)食事摂取とメラトニン分泌の関係

①体組成・代謝指標とメラトニン分泌

本研究において、肥満患者の年齢とメラトニン分泌の間に有意な相関は認められなかった一方で、BMIとメラトニン分泌には負の相関(相関係数 $r = -0.585$, $P = 0.007$)が認められた。次に、メラトニン分泌と糖脂質代謝指標との関連を解析した。その結果、メラトニン分泌は、糖代謝指標(FBS, HbA1c)ではなく、脂質代謝指標のうち特にHDL-C値と正の相関を示した(相関係数 $r = 0.520$, $P = 0.019$)。

②BDHQ(栄養素摂取状況)とメラトニン分泌

対象とした肥満患者(20例)のBDHQより得られた栄養素摂取状況から、3大栄養素の摂取がメラトニン分泌に及ぼす影響を解析した。その結果、たんぱく質(動物性たんぱく質・植物性たんぱく質含む)及び炭水化物の摂取とメラトニン分泌には有意な相関は認められなかった。一方で、摂取した脂質のうち、特に植物性脂質の摂取がメラトニン分泌と正の相関を示す傾向が認められた(相関係数 $r = 0.432$, $P = 0.057$)。そこで次に、摂取脂肪酸がメラトニン分泌に及ぼす影響を調べた。その結果、飽和脂肪酸や一価

不飽和脂肪酸の摂取とメラトニン分泌には有意な相関は認められなかった一方で、多価不飽和脂肪酸のうち、n-6系脂肪酸の摂取が、メラトニン分泌と正の相関を示す傾向が認められた（相関係数 $r = 0.438$, $P = 0.054$ ）。

③食習慣(魚食)とメラトニン分泌

対象とした肥満患者（20例）の簡易食物摂取調査より得られた魚類摂取状況から、魚食の摂取習慣がメラトニン分泌に及ぼす影響を解析した。青魚の摂取については、朝及び昼食での摂取ではなく、夕食で摂取し、かつ摂取日数が多い人程、メラトニン分泌量が増加する傾向が認められた。また、赤身魚の摂取については、昼及び夕食での摂取ではなく、朝食での摂取が多い人程、有意なメラトニン分泌量の増加が観察された（相関係数 $r = 0.462$, $P = 0.040$ ）。一方、白身魚の摂取については、朝、昼及び夕食での摂取状況に関わらず、メラトニン分泌量との間に有意な相関は認められなかった。尚、魚類と他の栄養素（炭水化物・たんぱく質・脂質）との摂取順序は、メラトニン分泌量に影響を及ぼさなかった。

④アディポサイトカインとメラトニン分泌

血清アディポカイン（レプチン・アディポネクチン）とメラトニン分泌の関連を解析した。その結果、メラトニン分泌量は、血清レプチン濃度と負の相関を示す一方、血清アディポネクチン濃度とは正の相関を示す傾向が認められた。

⑤高感度 CRP とメラトニン分泌

同様に、炎症指標・高感度 CRP とメラトニン分泌の関連を解析したところ、メラトニン分泌量は、高感度 CRP と負の相関を示す傾向が認められた。現在、末梢血単球の機能（炎症性 M1/抗炎症性 M2 バランス：M1 マーカー TNF α , M2 マーカー IL-10 等）とメラトニン分泌の関連についても解析を進めている。

(2)食事摂取と CAVI

対象とした肥満患者（20例）に関して、動脈硬化指標・CAVI と摂取栄養素及び食習慣（魚食）との関連を解析した。その結果、年齢と CAVI 値との間には正の相関が認められた（相関係数 $r = 0.685$, $P = 0.002$ ）。一方で、BMI と CAVI 値の間には本集団において負の相関が認められた（相関係数 $r = -0.701$, $P = 0.001$ ）。

次に、摂取栄養素ならびに食習慣（魚食）と CAVI 値との関連について調べた。BDHQ より得られた栄養素摂取状況[炭水化物、たんぱく質（動物性たんぱく質・植物性たんぱく質含む）、脂質（動物性脂質・植物性脂質含む）]と CAVI 値との間に有意な相関は認められなかった。一方、簡易食物摂取調査より得られた魚類の摂取習慣と CAVI との関連を解析した。その結果、「脂がのった魚」の摂取が多い人程、CAVI 値と正の相関を示す一方（相関係数 $r = 0.117$ ）、「脂が少ない魚」を摂取が多い人程、CAVI 値と負の相関を示す傾向（相関係数 $r = -0.250$ ）が認められた。

(3)CAVIとメラトニン分泌の関係

対象とした肥満患者 (20 例) に関して、CAVI とメラトニン分泌との関連を解析した。単変量解析においては、メラトニン分泌量と CAVI 値との間には正に相関する傾向が示されたが (相関係数 $r = 0.398$, $P = 0.082$)、有意な関連を認めた背景因子である年齢、BMI を交絡因子として調整した偏相関係数を算出したところ、有意な関連性は認められなかった (相関係数 $r = 0.038$, $P = 0.874$)。

【考察】

メラトニンは、松果体から夜間に多量に分泌されることで概日リズムの形成に寄与するだけでなく抗酸化作用や抗腫瘍効果等を示すことが、これまでも多数報告されてきた。近年、それらの多様な生理調節機能に加え、メラトニンは、インスリン分泌制御、あるいは肝臓の脂質代謝制御による総コレステロール値の抑制に関与するなど、エネルギー代謝調節や糖尿病等の内分泌・代謝性疾患にも直接関与することが示唆されている (JAMA 2013)。

本研究での肥満患者 (登録時) の横断解析においても、BMI とメラトニン分泌量には有意な負の相関が認められただけでなく、脂質代謝指標のうち特に HDL-C 値と有意な正の相関を示したことから、肥満や内分泌・代謝性疾患におけるメラトニンの測定意義が実証された。また、メラトニン分泌は、加齢とともに減少することが知られていることから、加齢に伴い増加する生活習慣病の素因の一つと考えられる。ところが、今回の肥満患者を対象とした解析においては、年齢とメラトニン分泌量に有意な相関は認められなかったことから、非肥満者と肥満者では、加齢に伴うメラトニン分泌に差異が生じている可能性が推察された。

上記のような患者背景の下、BDHQ ならびに簡易食物摂取調査 (魚類摂取状況) から得られた日々の食事摂取とメラトニン分泌との関連解析を実施した。BDHQ から得られた摂取栄養素のうち、特に脂質、なかでも植物性脂質の摂取が多く、加えて、多価不飽和脂肪酸 (n-6 系脂肪酸) の摂取が多い人程、メラトニン分泌量が多いことが認められた。実際に、植物性脂質 (サフラワー油、大豆油、コーン油等) の中には、n-6 系脂肪酸 [リノール酸 (必須脂肪酸)、γ リノレン酸等] の含有量が多いことが知られていることから、脂質及び脂肪酸の摂取状況とメラトニン分泌量との間には、蓋然性が認められた。また、松果体でのメラトニン分泌には、松果体に存在する多価不飽和脂肪酸 (n-3 系脂肪酸及び n-6 系脂肪酸) の存在バランスが重要であることが報告されている

(BBA-Mol Cell Biol L 2010)。従って、メラトニンの分泌制御には、食事による多価不飽和脂肪酸の摂取が密接に関与することが推察される。一方、簡易食物摂取調査より得られた魚類摂取状況とメラトニン分泌との関連を調べたところ、大変興味深いことに、朝食で赤身魚を、さらに夕食で青魚を摂取し、かつ摂取日数が多い人程、メラトニン分泌量が増加する傾向が認められた。魚食の種類や時期によりメラトニン分泌量が変動する可能性を示唆しており、時間栄養学に基づく効果的な魚類摂取法の検討を通じた、肥満・心血管病予防の為の新規栄養指導プログラムの開発に向けた大変重要なエビデンス

であると考えている。

我々の研究グループでは、これまでにレプチン/アディポネクチン比が動脈硬化指標（pulse wave velocity; PWV）と有意に関連し、有用な生化学指標となること（Diabetes Care 2004）、さらに、生活習慣病薬により、酸化LDL、血中アディポネクチン、炎症指標やPWV・CAVI等の心血管病リスク因子が改善することを認めてきた（Diabetes Care 2003; Metabolism 2006; Diabetes Care 2007; Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007, 2008; Hypertension Res 2009）。そこで本研究において、血清アディポカイン（レプチン・アディポネクチン）とメラトニン分泌との関連について解析したところ、有意に関連し、メラトニン分泌能を評価する上で、血清アディポカインは、有用な生化学指標となることが示唆された。また、炎症指標・高感度CRPとメラトニン分泌との関連について解析したところ、メラトニン分泌量は、高感度CRPと負の相関を示す傾向が認められた。以上の結果から、魚類摂取による脂肪組織における慢性炎症の抑制が正常なアディポカインの分泌を維持し、メラトニン分泌を促進する可能性が推察される。現在、末梢血単球の機能（炎症性M1/抗炎症性M2バランス：M1マーカーTNF α , M2マーカーIL-10等）とメラトニン分泌の関連についても解析を進めている。

CAVIと魚類の摂取習慣との関連解析から、摂取する魚の種類と動脈硬化指標とが関連する可能性が示唆された。加えて、CAVIはメラトニン分泌能と正の相関を示す可能性が認められたことから、「魚食-メラトニン分泌-動脈硬化症」には何らかの関連が示唆されるが、詳細なメカニズムについては現在、サブ解析を中心に検討を進めている。また、今回の集団の特徴としてCAVIがBMIと逆相関を示していることが挙げられる。これによりCAVIとの関連性解析の結果が困難になっている。このBMIとCAVIとの逆相関は肥満集団においては散見される事例であり、若年層で高度肥満が多い傾向にあることや機器のカフ等の設定により高度肥満ではCAVI値が低い傾向を示すことが考えられている。今後、症例数を増やすことで十分な多変量解析を行う際には、BMIでの調整が必須であることが示唆された。

本研究による登録時の横断解析の結果を鑑み、現在、追跡6ヶ月、12ヶ月後の患者の登録作業、各種データの集計・解析を進めている。今後、縦断解析より得られたエビデンスから、時間栄養学に基づく効果的な魚類摂取法による肥満・心血管病予防の為の新規栄養指導プログラムの開発が期待される。

【結論】

肥満症におけるメラトニンの測定意義が実証されただけでなく、日々の摂取栄養素や魚食の摂取習慣がメラトニン分泌能と密接に関連する可能性が示唆された。さらに、メラトニン分泌能を評価する上で、アディポカインや炎症指標が有用な生化学指標になることが示唆された。加えて、動脈硬化指標oCAVIは、魚食の種類やメラトニン分泌能と関連を認めた。従って、肥満者を対象とした時間栄養学に基づく効果的な魚類摂取法の検討により、心血管病予防の為の新規栄養指導プログラムの開発が期待される。

