

報文

女子学生における体型、体質および食行動の意識調査

瀧井幸男、中根三貴野、奥野輝子、上原千明、西村沙矢香、矢野めぐむ
 武庫川女子大学生生活環境学部食物栄養学科 (〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46)

著者連絡先 E-mail: takii@mukogawa-u.ac.jp

(受取日: 2008年8月5日、受理日: 2008年8月19日)

要旨: 新規に開発したアルカリプロテアーゼ溶解法により、爪検体から遺伝子DNAを調製した。B3 アドレナリン受容体遺伝子、アポリポタンパク質遺伝子を肥満関連遺伝子として選択し、女子学生56名(平均年齢20.8歳)について、その分布を調べた結果、肥満しにくいタイプすなわち「両方とも正常型」群が59%、肥満傾向を示す「いずれか一方が変異型」群が34%および、「両方とも変異型」群が7%であった。身体計測やBMI調査では、正常・変異型とも70%が理想体重よりもさらに低い体重を好み、痩せ型志向が多い結果を示した。ダイエットに関する調査では、減量に成功し現在も維持できているケースは、両方とも正常型群に多く、1つでも変異型の群では少ない傾向がみられた。肥満遺伝子群と減量の結果について、満足のいく結果が得られた割合は、変異型をもつより両方とも正常型のタイプで多かった。

キーワード: 遺伝子診断、BMI (Body mass index)、SNP (Single nucleotide polymorphism)、B3AR (B3 adrenalin receptor)、アポリポタンパク質: Apolipoprotein E (APO-E)

1. はじめに

近年、食習慣の乱れや運動不足などの生活習慣が主な原因で引き起こされる生活習慣病が増加している。同年齢の男性とは違って、初潮、閉経という節目以外に、妊娠、出産を経験する可能性が多い女性にあっては、できるだけ早い時期に自己の体質を認識し、それに見合ったライフスタイルを身につけておくことが望ましい。厚生労働省は、2001年より21世紀における国民健康づくり運動として、特に若年層の肥満抑制を目指している[1]。文部科学省は、未成年者飲酒の抑制と学童期の肥満児の減少を目指し、中等・高校教育における飲酒防止の啓発と食教育を奨励し、2005年に「栄養教育基本法」を設置した[2]。一方、小学生、中学生における痩身傾向児は2倍に増加してい

る(平成14年国民栄養調査)[3]。

食育基本法の骨子は、経験を通じて食に関する知識と食を選択する力を習得し、健全な食生活を実践できる人間を育てることであり、常に個人が遺伝体質を自覚することで意識改革できれば、より効果的な食育が行なえる[2]。現在、中学、高校、大学などの教育機関で実施されている健康診断は、血液成分の生化学的検査、尿内物質の同定が中心で、体外に現れた状態を測定している。しかし個人の特性、体質を決定しているのは、疾患感受性の遺伝子型である。唯一つの塩基変異により発現される遺伝子多型SNP (Single nucleotide polymorphism)を体質判定に加えれば、生活習慣病発症のリスク低減につながる。

現在、肥満関連遺伝子として報告されている

遺伝子は 200 種にのぼり、そのうち白色脂肪細胞における脂肪代謝に関係するシグナル伝達分子 β 3-アドレナリン受容体 (β 3-AR) は、日本人 3 人に 1 人の高頻度で存在するといわれている [4, 5]。その変異型は、アミノ酸配列、64 番目のトリプトファンがアルギニンに置き換わったもの (TGG から CGG への SNP) で、変異型は正常型に比べ、基礎代謝量が約 200kcal/day 減少し、肥満細胞にエネルギーをためやすくなる働きがあるため、肥満につながるものと考えられる。

アポリポタンパク質 (APO-E) は VLDL、LDL、HDL を構成しているが、遺伝子は第 19 番染色体上にコードされている。APO-E は主として肝細胞で産生され、他の臓器へのコレステロールや脂肪酸の運搬に関与している [6]。細胞外に排出された APO-E は、細胞表面の受

容体に結合し、細胞からコレステロールやリン脂質などを引き抜く作用を有する。APO-E 遺伝子には対立遺伝子 E2、E3、E4 の 3 つがあり、それぞれに対応する 3 つのアイソフォームが存在する。この相違は、E2 は 112 位と 158 位がシステインで、E3 は 158 位がアルギニンに、E4 は両方ともシステインになったアミノ酸変換に基づいている。この対立遺伝子の組み合わせにより 6 種の遺伝子型があり、変異による脂質代謝への影響で肥満との関連が示唆されている [7]。

本研究では、簡便で被験者の同意が得られやすい爪遺伝子診断法をいすることで、若年女性の食環境を改善する意識を高めようとした。さらにアンケートによる生活環境調査を行い、遺伝子体質と食習慣・運動習慣等の現状を比較した。

表 1. 被験者の体型基礎データ

	度数	最小値	最大値	平均値	標準偏差
年齢	56	20.0	22.0	20.8	0.7
身長 (cm)	56	147.6	171.4	158.4	4.8
現在の体重 (kg)	56	40.0	61.3	51.2	4.8
現在のBMI	56	17.5	24.7	20.4	1.6
標準体重 (kg)	56	47.9	64.6	55.3	3.4
理想のBMI	56	17.2	21.7	19.2	1.2
理想体重と現在の体重の差	56	-9.8	7.0	-3.0	3.0
理想BMIと現在のBMIの差	56	-4.0	2.9	-1.2	1.2
理想体重と標準体重の差	56	-12.1	-0.8	-7.1	3.1

2. 方法

1) 検体試料

インフォームドコンセントが得られた本学学生 56 名 (平均年齢 20.8 歳) を被験者とした (表 1)。爪ケラチン溶解には、5mg 爪試料につき 50 U の微生物由来アルカリプロテアーゼで、pH11.0、70°C で 30 分反応させる方法を採用した [8]。従来は、市販の溶解キット (主成分 proteinase K) を用いて調製され

ていたが [9]、本法は、それに比べ 3 倍抽出効率が高い。得られたゲノム DNA の精製は既報に従った [9, 10]。PCR 産物あるいは、それを制限酵素で切断した反応産物について、3%アガロースゲルを用いて電気泳動終了後、エチジウムブロマイドで染色し、遺伝子型タイプを判定した [9]。

2) 遺伝子検出

①β3-アドレナリン受容体

正方向プライマー

5'-CGCCCAATACCGCCAACAC-3',

逆方向プライマー

5'-CCACCAGGAGTCCCATCACC-3'

上記のプライマーを用いて 94℃、5分熱変性後、94℃、20秒の熱変性、60℃、20秒のアニーリング、72℃、20秒の伸長反応、72℃、7分の伸長反応を1サイクルとし、合計35サイクルの反応を行い、得られたPCR産物を10℃で保存した。制限酵素 *MvaI* を用いて、37℃で24時間反応させた後、表現型（正常型、変異型）の検出を行なった（図1）。

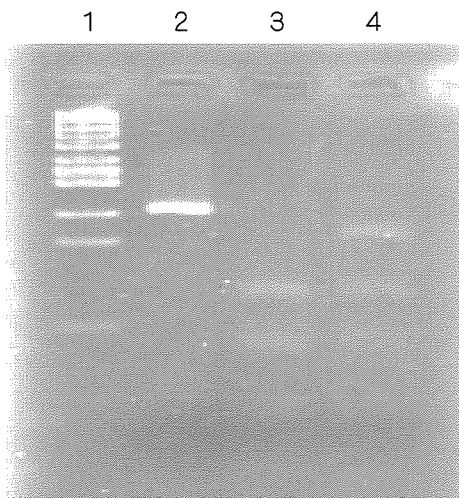


図1 β-3ARのPCR産物および制限酵素 *MvaI* で切断後の電気泳動パターン

レーン1は、φX174を制限酵素 *HincII* で切断したもので、サイズマーカーとして使用した。レーン2は、β-3ARのPCR産物(210bp)。レーン3, 4はレーン2のPCR産物を *MvaI* で切断したもの。レーン3、正常型(97bp p、67bp)：レーン4、変異型(ヘテロ)(158bp、97bp、67bp)。ホモ変異型は制限酵素で反応させても切断されない。

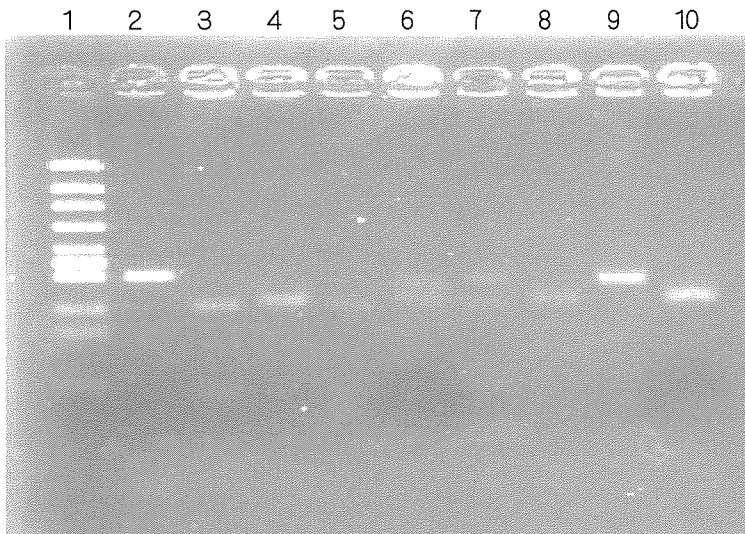


図2 APO-EのPCR産物および制限酵素 *Afl*III・*Hae*II 切断後の電気泳動パターン

レーン1は図1と同じである。レーン2は、APO-EのPCR産物で、292bpにバンドが確認される。レーン3～10は、PCR産物を制限酵素 *Afl*III、*Hae*IIで各々反応させたものである。正常型 E3/E3型は213bp、217bp、変異型 E2/E3型は213bp、277bp、217bp、E3/E4型は289bp、213bp、217bp、E4/E4型は289bp、217bpにバンドが現れる。E2/E2型は *Afl*IIIで切断後、213bpに、*Hae*IIで切断後、289bpに、E2/E4型は *Afl*IIIで切断後277bpと213bpに、*Hae*IIで切断後、289bpと217bpに各々バンドが出るが、今回の調査では検出されなかった。

レーン1	マーカーφX174/ <i>Hinc</i> II				
レーン2	APO-E PCR産物 (292bp)				
レーン3	<i>Afl</i> III (213bp)	}	E3/E3	正常型	
レーン4	<i>Hae</i> II (217bp)				
レーン5	<i>Afl</i> III (213bp)	}	E2/E3	}	
レーン6	<i>Hae</i> II (277bp、217bp)				
レーン7	<i>Afl</i> III (289bp、213bp)	}	E3/E4		変異型
レーン8	<i>Hae</i> II (217bp)				
レーン9	<i>Afl</i> III (289bp)	}	E4/E4		
レーン10	<i>Hae</i> II (217bp)				

②APO-E

正方向プライマー

5'-ACTGACCCCGGTGGCGGAGGAGACGCGTGC-3'

逆方向プライマー

5'-TGTTCCACCAGGGGCCCCAGGCGCT

CGCGG-3'を用いた。94℃、3分熱変性後、94℃、10秒の熱変性、65℃、30秒のアニーリング、72℃、30秒の伸長反応、72℃、7分の伸長反応を1サイクルとし、合計30サイクルのPCR反応を行い、PCR産物を10℃で保存した。PCR産物を制限酵素 *Hae*IIと *Afl*IIIを用い、各々37℃で24間反応させた後、表現型(正常型、変異型)の検出を行なった(図2)。

3)アンケートは、以下の5項目で実施した。

1. 基礎調査………身体状況等
2. 生活基礎調査………食生活習慣の把握
3. 遺伝子意識調査………遺伝子診断を行う際の指標

4. 運動調査………β3-ADR、APO-E

5. ダイエット調査………β3-ADR、APO-E

基礎調査では、身体状況や栄養について興味があるかどうか、ある場合は情報をどこから入手しているかなど5項目。生活基礎調査は、食事の回数、間食についてなど普段の食習慣を把握するための設問で11項目、遺伝子意識調査は、遺伝子診断に対するイメージと、診断を受けてみたいと思うかの2項目、また対象遺伝子ごとの項目として、運動調査は運動習慣などについて3項目、最後にダイエット調査では、体重へのこだわりや適正体重の知識の有無、理想体重、ダイエットの経験についてなど、11項目の設問をした。

3. 結果

1) 肥満遺伝子型の分布

表1の被験者について、β3AR遺伝子の正常型・変異型およびAPO-E遺伝子の正常型・

変異型分布を調べた結果、ε3AR・APO-E が両方とも正常型群、どちらか一方が変異型の群、どちらも変異型の群は、それぞれ 59%、34%、7%となった。APO-E 遺伝子変異型 (22%) については、E3/E4 型 13%、E2/E3

型 7%、E4/E4 型 2%に別れていた。

以下の研究では、肥満遺伝子型で、「両方とも正常型」、「どちらか片方が変異型」、「両方とも変異型」の3つのグループに分けて考察した。

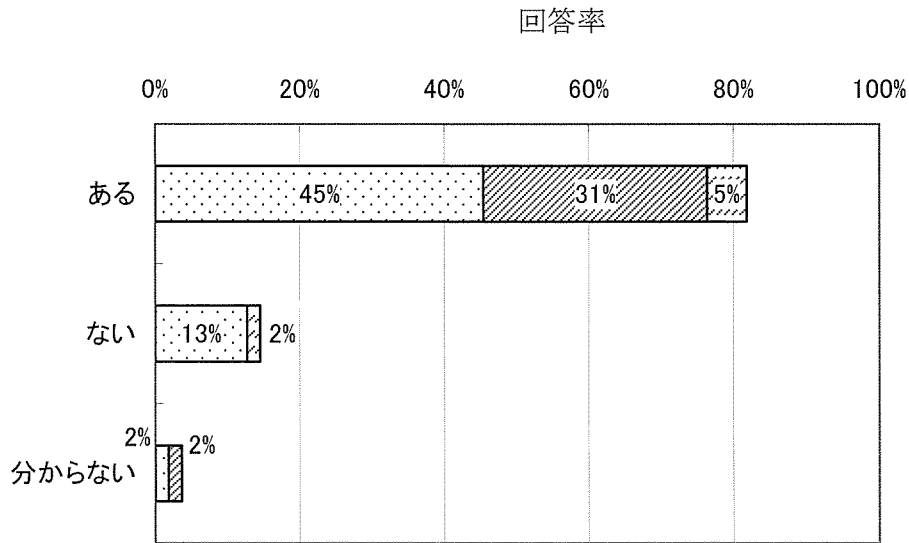


図3 肥満遺伝子群と体重へのこだわり

□ 両方とも正常型 : ▨ どちらか片方が変異型 : ▩ 両方とも変異型

2) 体型・体質に対する意識

現在の体重に対する意識では、重いと答えた被験者が 24%、やや重いと答えたものが 49%で、全体の 73%を占めた。次に重いと考えている場合その体重は本当に重いのかどうかをみるために、現在の BMI および理想とする BMI の平均を肥満遺伝子型 3 群で比較したと

ころ、「両方とも正常型」群では、20.3、19.2% 「どちらか片方が変異型」群では 20.7、19.2%、「両方とも変異型」群では 20.3、19.3%となった。すなわちいずれの群も現在の BMI が標準の範囲内であるにもかかわらず、痩せ型を理想とする傾向がみられた。

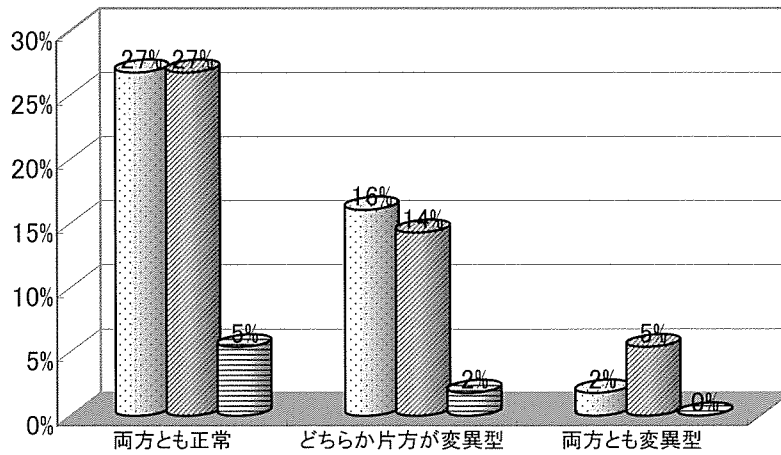


図4 遺伝子型群と自分の栄養状態についての意識

□ 良い： ▨ 良くない： ▤ 判らない

体型に関する意識については、「体重へのこだわりがある」の答えが81%と多かったが、遺伝子型でみると、「体重へのこだわりのない」グループに変異型の割合が少なかった(図3)。

普段、意識している栄養状態では、「両方とも正常型」では「良い」「良くない」と答えた人は同程度で、「どちらか片方が変異型」では「良い」と答えた人が若干多かった。「両方とも変異型」では「良くない」と答えた人の割合が高い傾向にあった(図4)。現在の生活習慣病になる人の生活スタイルと両方とも変異型の人とで関連性があるのかどうか、さらに人数を増やして調査を行う必要がある。

間食の摂取頻度では、ほとんど毎日食べるが39%、週4-5日が15%で、それぞれ遺伝子型による差はみられなかった(図5)。そのうち変異型をもつグループは40%ずつで、遺伝子型による差はなかったが、週4-5日食べる人を合わせると、遺伝子型とは関係なく、約半数の被験者に間食の習慣がみられる。

運動調査では、対象者の73%に、現在継続している運動がないことが分かった。週1-2日の運動頻度は21%、週4-6日では5%に過ぎなかった。このような状態では、エネルギー過剰や、見かけは細くても筋肉量が少なく脂肪が多い隠れ肥満などが起こりやすいと考えられる。

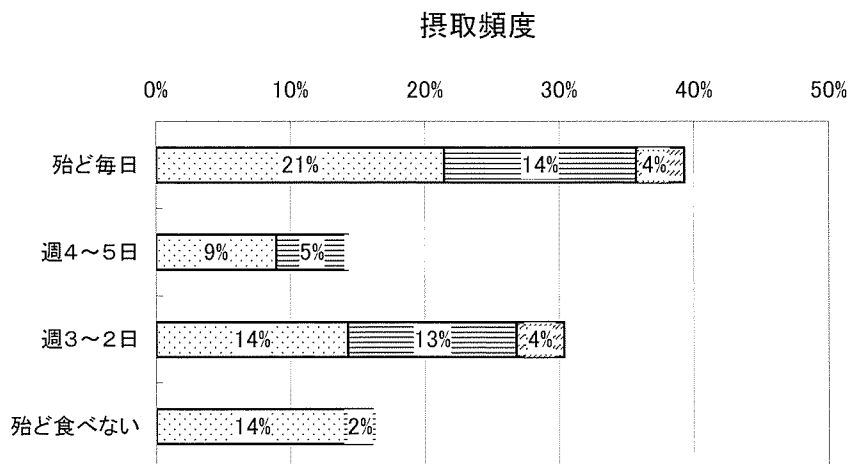


図5 肥満遺伝子群と間食の摂取頻度

□ 両方とも正常型 : ▤ どちらか片方が変異型 : ▨ 両方とも変異型

3) 減量の経験と効果

現在の体型に対する満足度調査では、「両方とも正常型」グループで34%が満足し、23%が不満であった。「どちらか片方が変異型」では満足と不満が30%ずつを占め、「両方とも変異型」では90%が不満であった。しかし、満足・不満のいずれでもないという回答がそれぞれの遺伝子型グループに30%みられたため、設問事項の検討を要すると考えられる。

減量方法(複数回答可)については、「間食・夜食を控える」が57%、「運動をする」が54%、「食事の量を減らす」が43%、「ダイエット食品を利用する」が14%であった。ダイエット経験の有無では、遺伝子型のすべてのグループに経験が有るという回答が見られた。減量の結果では、「両方とも正常型」で、減量に満足する結果が得られ、現在もそれを維持している割合が37%と多かった。一方、「どちらか片方が変異型」では、その4分の1、「両方とも変異型」では、ゼロ回答という結果であった。さらに変異型をもつグループでは、体重がどうしても減らない、減量を止めると少し太ったという記述が自由欄にあった。これは正常型に比べ、経験的にやせにくいということを示しているのかもしれない。

4. 考察

遺伝子診断を受けてみたいと思うかという設問に対して98%が「思う」、2%が「思わない」であった。遺伝子診断に対してプラスイメージの回答が多い理由としては、80%以上が自分自身について知るきっかけになると答えており、遺伝子診断が健康保持意識レベルの上昇や、生活習慣を改善するきっかけとなりうるのではないかと考えられる。どのような疾病の遺伝子を調べてみたいかという設問に対して、もっとも多い回答は肥満で、ついでアルコール代謝、アレルギー関連、骨密度、

糖尿病、高血圧の順で、肥満に対する関心はきわめて高い。中性脂肪代謝におけるアポリポタンパク質遺伝子の役割に関する評価は、今後その重要性が増していくであろう[11, 12]。

肥満遺伝子群(B3ADR・APO-E)とBMIの比較では特に差はみられないが、対象者の多くは適性体重でありながら、さらにやせたいという「やせ願望」があることが特徴的であった。痩せていることが美であるという風潮に流されず、健康を考えられるような栄養教育が求められる。さらにBMIは年を経るごとに上昇するので、年齢にみあった食育を行っていくことが大切であると思われる。また、少人数ではあるが、現在の体重より増やしたいという回答があった。これに対応していくためには、 β -2アドレナリンレセプターやUCP2など、今回選択した遺伝子と逆の働きをもつ遺伝子について調査する必要性がある。

骨量形成に関する基礎調査では、カルシウム摂取を心がけていない人の割合が高かった。食事内容のほかに運動習慣をつける、骨量を定期的に測定する、などを栄養指導に盛り込んでいけば、生活改善への1歩をふみだす手助けとなるのではないだろうか。

若年女性の「痩せ願望」は、少子化を抑制し将来の国勢を保持する上で、肥満とは別の形で深刻な問題を提示している。WHOの警告「やせ過ぎ女性に生まれる低体重児は、生活習慣病になりやすい」を意識し、生活習慣病リスクの検出に関心をもち、食環境を改善することを続けなければならない。いつでも、どこでも、誰からでも容易に遺伝子DNAを取得できる爪遺伝子診断法は、より効果的な食育を実践する場合、もっともふさわしい手段の一つとなるであろう。

今回の調査により、食習慣や運動習慣など、

女子学生の生活習慣において様々な問題点があることが分かった。これらは遺伝子型にかかわらず改善の余地のある項目である。そのためできるだけ、早期の食育が不可欠であり、その中で実施が簡便で、受け入れられやすい爪遺伝子診断法の位置が確立されていけばよいと考える。

5. 文献

- 1) http://www.kenkounippon21.gr.jp/kenkou_nippon21/about/tsuuchibun/-1.html
- 2) http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H17/H17_HO063.html
- 3) 平成 14 年度国民栄養調査 (厚生労働省資料)
- 4) J.Watson et al. Time of onset of non-insulin dependent diabetes meliitus and genetic variation in the β 3-adrenergic receptor gene.: *New Engl. J. Med.* 333 343-347 (1995)
- 5) T.Yoshida et al. Mutation of β 3-adrenergic receptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet* 345 1433-1434 (1995)
- 6) M. Boemi et al. Apolipoprotein E polymorphism as a risk factor for vascular disease in diabetic patients.: *Diabetes Care* 18 504-508 (1995)
- 7) J.R. Long et al. APOE and TGF- β 1 genes are associated with obesity genotypes.: *J. Med. Genet.* 40 918-924 (2003).
- 8) 奥野輝子：好アルカリ性細菌由来アルカリプロテアーゼによる爪ケラチンの分解と遺伝子診断への利用；武庫川女子大学学士論文 (2006)
- 9) 矢野めぐむ、戸矢崎満美、瀧井幸男；女子大生におけるアルデヒド脱水素酵素遺伝子分布と体質判定法の検討；日本食品化学学会会誌: 12; 145-151 (2005)
- 10) Toyasaki M, Yano M, Takii Y. Detection of aldehyde dehydrogenase 2 gene fragment using nail clippings and saliva. *J Biol Macromol*; 2; 91-94 (2002)
- 11) W. T. Wright et al. SNPs at the APOA5 gene account for the strong association with hypertriglyceridaemia at the APOA5/A4/C3?A1 locus on chromosome 11q23 in the Northern Irish Population.: *Atherosclerosis* 185 353-360 (2006).
- 12) J. Wang et al. Resequencing genomic DNA of patients with severe hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 27 2450-2455 (2007)

責任編集者： 小城 勝相