

図3 減量教室開始前・終了後の主成分得点

食事群の第一主成分得点は、減量教室開始前 (-0.04 ± 0.9 点) から終了後 (1.56 ± 0.9 点) にかけて有意に改善したが、第二主成分得点は有意な改善が認められなかった。食事+運動群の第一主成分得点の開始前 (0.08 ± 1.0 点) と終了後 (1.65 ± 0.7 点)、第二主成分得点の

開始前 (0.08 ± 1.1 点) と終了後 (0.49 ± 0.8 点) はともに有意に改善した。運動群の第一主成分得点と第二主成分得点とはともに有意な改善が認められなかった。

第一主成分得点の変化量と体重の変化量との間に有意な相関関係が認められた ($r = -0.48$) が、第二主成分得点の

変化量と体重の変化量との間には有意な相関関係は認められなかった。

考察

1. 減量介入前における対象者の食行動意識と健康度の関係

本研究の対象者は肥満者であったことから、活力年齢が暦年齢より老いており、健康度が低かった。食行動意識の最も低いGroup Aの活力年齢は、他のグループよりも高(悪)い傾向にあり、健康度はGroup Cと比べて有意に低かったことから、食行動意識が低いと健康度も低下することが示唆された。活力年齢算出のための各測定項目においては、1秒量のみ有意差が認められ、その他の項目には有意差が認められなかったにもかかわらず、活力年齢および健康度にはGroup AとGroup Cとの間に有意な差が認められた。このことは、食行動意識の低下が特定の血液検査項目や体力測定項目の低下に与える影響は小さく、測定項目それぞれのわずかな差の積算効果が活力年齢を高(悪)くし、全体的、総合的に健康度を低下させることが示唆された。

2. 食行動意識の変化

食行動意識の低下が肥満および健康度の低下を引き起こすことが示唆されたことから、肥満者には食行動意識の改善を促す必要がある。本研究では食事制限プログラムに四群点数法を用いることで必要な栄養素を満たし、摂取エネルギー量は過不足なく毎食自己管理できるよう指導しており、過去同様の方法で平均8~9kgの減量に成功している¹⁵⁾。減量教室終了後には多くの対象者が減量でき、食行動意識も改善したことから、本研究で用いた減量プログラムは、食行動意識の改善にも有用であることが確認できた。

多くの研究者や企業、自治体が減量プログラムを肥満者に提供し、食行動

意識の改善を促すような教室を開いている。食行動意識の変化と減量効果との関係については、減量前の性格や行動意識をもとに減量幅を予測する研究¹⁰などがなされているが、本研究のように縦断的に減量と食行動意識の変化との関係を検討したものはほとんど見当たらない。本研究において、食行動意識の改善は第一主成分(食事内容・食べ方)の影響を受けていた傾向があり、第一主成分得点の変化量と体重の変化量との間に有意な相関が認められたことから、第一主成分が減量効果に影響を及ぼしていることが示唆された。李ら¹⁷⁾は、中年肥満女性を対象に減量介入の有用性を、食行動変容と遺伝的な観点から検討し、食事内容・食べ方を含む食行動異常に関連する因子が改善され、体重や体脂肪とも有意に減少したと報告している。本研究では、体重の変化量が第一主成分得点の変化量にのみ有意な相関関係が認められたことから、体重減量の効果は、食事内容・食べ方が改善したことによるものと考えられる。今後、減量教室では食事内容・食べ方の改善を見込まれるようなプログラムを立てることが、効率的な減量に貢献できると考えられる。第二主成分(食事の規則性)得点の変化量と体重の変化量に有意な相関関係を示さなかったのは、第一主成分よりも介入前後の変化が小さかったことが挙げられる。したがって、食事内容・食べ方と食事の規則性のどちらが減量に効果的かは明らかにできなかったが、食事の規則性を否定するものではない。食事の間隔が不規則だと肥満になりやすい¹⁸⁾ことから、食事の規則性と肥満との関連は深く、今後、減量プログラムに食事の規則性を改善する指導を加えていくことが望まれる。食事の規則性が変化しなかったもう一つの理由は、対象が中年男性で働き盛り

の者であったことが挙げられる。職を持つ男性は仕事中心の生活習慣になりやすく、食事の規則性だけでなく睡眠や運動の規則性も乱れる傾向にある¹⁹⁾。したがって、生活習慣を改善するといったアプローチが必要と思われる。図3に示したように食事+運動群の第二主成分が有意な改善を示していることから、日常生活に運動を取り入れ、継続したことで生活習慣が規則正しくなり、食事の時間や回数も規則正しくなったと推察できる。なお、運動群の第二主成分は、教室開始前から教室終了後にかけて若干の改善が見られたが、有意な変化ではなかった。対象者が11名と少なかったことが考えられ、今後対象者を増やして検討することが必要であろう。

謝 辞

本研究は筑波大学先端学際領域研究センター(TARA田中プロジェクト)、研究拠点形成費補助金(21世紀COEプログラム西平プロジェクト)の支援を受けて行ったものである。

文 献

- 1) 吉池信男, 西 信雄, 松島松翠ほか: Body Mass Indexに基づく肥満の程度と糖尿病, 高血圧, 高脂血症の危険因子との関連: 多施設共同研究による疫学的検討. 肥満研究 2000, 6: 4-17.
- 2) 健康・栄養情報研究会編: 国民栄養の現状 平成14年国民栄養調査結果. 東京: 第一出版, 2004.
- 3) 井上修二, 鳥飼陽子: 行動療法による肥満指導の考え方. 食生活 2004, 98: 22-27.
- 4) Tate DF, Wing RR, Winnett RA: Using internet technology to deliver a behavioral weight loss program. JAMA 2001, 285: 1172-1177.
- 5) Wylie-Rosett J, Swencionis C, Ginsberg M, et al.: Computerized weight loss intervention optimizes staff time:

the clinical and cost results of a controlled clinical trial conducted in a managed care setting. J Am Diet Asso 2001, 101: 1155-1162.

- 6) Ma Y, Bertone ER, Stanek EJ, et al.: Association between eating patterns and obesity in a free-living US adult population. Am J Epidemiol 2003, 158: 85-92.
- 7) Yao M, McCrory MA, Ma G, et al.: Relative influence of diet and physical activity on body composition in urban Chinese adults. Am J Clin Nutr 2003, 77: 1409-1416.
- 8) 田中喜代次, 中川 敬, 中塘二三生ほか: 中高年者における「肥満」「標準体重」の健康度に関する研究. 大阪ガスグループ福祉財団研究調査報告集 1989, 2: 125-131.
- 9) 池田順子, 永田久紀, 東あかねほか: 食生活診断・指導システムの一つの試み. 日公衛誌 1990, 37: 442-451.
- 10) 大隈和喜, 大隈まり, 吉松博信ほか: 質問表による肥満症患者の食行動異常抽出の試み. 日本肥満学会14回記録 1994, 316-318.
- 11) 宮武伸行, 東條光彦, 黒瀬深ほか: 岡山県南部健康づくりセンターにおける生活習慣尺度(ライフスタイルチェック)の作成. 保健の科学 2004, 46: 619-622.
- 12) 田中喜代次, 松浦義行, 中塘二三生ほか: 主成分分析による成人女性の活力年齢の推定. 体育学研究 1990, 35: 121-131.
- 13) 田中喜代次, 松浦義行, 中村栄太郎: 健康評価尺度としての活力年齢の問題点. 筑波大学体育科学系紀要 1992, 15: 245-251.
- 14) 田中喜代次: 壮年者の老化度診断のための指数の作成. 松浦義行編. 数理体力学. 東京: 朝倉書店, 1993, 76-83.
- 15) Tanaka K, Okura T, Shigematsu R, et al.: Target value of intraabdominal fat area for improving coronary heart disease risk factors. Obes Res 2004, 12: 695-703.
- 16) Wamsteker EW, Geenen R, Iestra J, et al.: Obesity-related beliefs predict weight loss after an 8-week low-

- calorie diet. J Am Diet Assoc 2005, 105:441-444.
- 17) 李 東俊, 田中喜代次, 坂根直樹ほか: 食事・運動療法と β 3-AR遺伝子多型における食行動の認知的変容.

- 肥満研究 2003, 9:323-329.
- 18) 福土 審, 本郷道夫: 食行動とその異常. 日内誌 1995, 8:1226-1230.
- 19) 厚生労働省大臣官房統計情報部編: 企業における健康対策の実態 労働者

健康状況調査報告 平成14年. J 労務行政, 2004.

(受付日:2005年9月
採択日:2006年3月)

食事制限と運動の実践による血清脂質の変化が血液流動性に及ぼす影響

—減量前後の変化に着目して

片山 靖富^{*1} 中田 由夫^{*2,3} 大河原一憲^{*4}
沼尾 成晴^{*1} 松尾 知明^{*1} 大藏 倫博^{*2,3}
田中喜代次^{*2,3}

^{*1}筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

^{*2}筑波大学大学院人間総合科学研究科

^{*3}筑波大学先端学際領域研究センター

^{*4}国立栄養研究所



「肥満研究」Vol.12 No.3 225-233 2006 別刷

原 著

食事制限と運動の実践による血清脂質の変化が血液流動性に及ぼす影響 —減量前後の変化に着目して—

片山 靖富^{*1}, 中田 由夫^{*2,3}, 大河原一憲^{*4}, 沼尾 成晴^{*1}, 松尾 知明^{*1}, 大藏 倫博^{*2,3},
田中喜代次^{*2,3}

^{*1}筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科 ^{*2}筑波大学大学院人間総合科学研究科 ^{*3}筑波大学先端学際領域研究センター

^{*4}国立栄養研究所

索引用語：血液流動性, 肥満, 減量介入, 血清脂質, 循環器系疾患リスクファクター

本研究は、肥満者および肥満傾向にある中年女性を対象に、食事制限または食事制限に運動の実践を併用した減量介入を実施し、介入前後における血清脂質の変化が血液流動性に及ぼす影響について検討した。対象者は、肥満または高血圧や高脂血症、糖尿病などの所見が認められた肥満傾向にある中年女性153名であり、3ヵ月間にわたって食事制限のみを受けた群(diet only group: DO群)72名、食事制限に運動実践を併用した群(diet + exercise group: DE群)81名に分けた。測定項目は体重、体脂肪率、体脂肪量、除脂肪量、内臓脂肪面積、皮下脂肪面積、血液細孔通過時間、血液検査であった。減量(DO群, -6.2 ± 3.2 kg; DE群, -7.7 ± 3.1 kg)に伴って、血液細孔通過時間(DO群, -4.7 ± 9.4 秒; DE群, -4.5 ± 6.4 秒)は両群とも有意に改善したが、介入方法の違いに有意な差は認められなかった。血液細孔通過時間の変化量と血清脂質(LDLコレステロールや中性脂肪)の変化量との間には有意な相関がみられず、赤血球($r=0.16$)やヘモグロビン($r=0.16$)、ヘマトクリット($r=0.17$)、総コレステロール($r=0.16$)、HDLコレステロール($r=0.19$)の変化との間に有意な相関がみられた。以上の結果から、血液細孔通過時間は減量に伴って短縮し、血液流動性が改善する可能性はあるが、その変化は血清脂質の改善だけでは説明できず、複数の血液成分の変化が関与していることが示唆された。

はじめに

動脈硬化や虚血性心疾患、脳梗塞といった循環器系疾患の発症には、血清脂質などが関与していることを分子・生化学的側面から明らかにされている¹⁾が、血流が血栓形成などの循環器系疾患の発症原因になる²⁾ことから、血液の物理・流体力学的性質と血液の流動挙動を研究する学問(hemorheology; ヘモレオロジー)的側面からの検討も必要である。血管内の血液の流れ(血

流)を理解する際に基本となるのは、Hagen-Poiseuilleの法則(円筒管内を流体が流量 Q で流れている時に、円筒管両端の圧力差 ΔP 、円筒管の半径 r 、円筒管の長さ l 、流体の力学的特性(粘度 η)の間に、 $Q = [(\pi r^4)/8\eta] \cdot [\Delta P/l]$ が成り立つ)である。つまり、血液の流れに必要な駆動力は、心臓の収縮力によるものであるが、駆動力が一定と仮定した場合、血液の流れは血液自身が持つ流体力学的性質によって変化する³⁾。ここでは、その血液の流体力学

的性質を血液流動性と定義する。

先行研究では、血管の状態(動脈硬化や血管狭窄など)や血圧については循環器系疾患との関係が明らかにされているものの、血液流動性に関する研究はそれほど進んでいない。血液流動性が悪化すると血流障害が生じ⁴⁾、血栓を形成する⁵⁾。さらに、長期間に及ぶ血液流動性の悪化は、循環器系疾患の罹患率や死亡率を高めることが報告されている⁶⁾。また、循環器系疾患患者の血液流動性は、健常者と比べて悪

表1 対象者の身体的特徴

	全体 n=153		DO group n=72		DE group n=81		t-test
	mean±SD	range	mean±SD	range	mean±SD	range	
年齢 (yr)	49.9±9.2	25-67	50.4±8.7	26-64	49.5±9.6	25-67	n.s.
身長 (cm)	154.1±5.7	136.3-169.3	153.5±6.3	136.3-169.3	154.5±5.1	140.7-167.0	n.s.
体重 (kg)	65.2±9.1	50.0-124.2	65.8±10.8	50.8-124.2	64.8±7.2	50.0-83.7	n.s.
BMI (kg/m ²)	27.4±3.1	23.2-48.9	27.9±3.8	23.4-18.9	27.1±2.3	23.2-33.5	n.s.

DO: diet only group (DO群), DE: diet + exercise group (DE群), BMI: body mass index, t-test: DO群とDE群との比較, n.s.: not significant

化している⁷⁾。これらの先行研究は、血液流動性が独立した循環器系疾患のリスクファクターであることを示唆しており、血液流動性を評価することは、血栓形成や循環器系疾患の予防や管理に貢献する可能性がある。

血液流動性は、血液成分の容積や機能によって変化する。血清脂質は血液流動性に影響を及ぼし⁹⁾、循環器系疾患のリスクファクターでもあることから、血清脂質が高い傾向にある肥満者は血液流動性が悪化していると考えられる。しかしながら、肥満者の血液流動性を測定した先行研究は非常に少なく⁹⁾、減量に伴う血液流動性の変化と血清脂質の変化との関連性については明らかにされていない。また、運動実践によって脂質代謝の改善が報告されている¹⁰⁾ことから、食事制限に運動実践を加えたほうが血液流動性の改善に効果的であると予想されるが、運動実践が血液流動性に及ぼす影響について一致した見解が得られていない¹¹⁾。そこで、本研究では肥満者および肥満傾向にある中年女性を対象に、食事制限または食事制限に運動実践を併用した減量介入をおこない、介入前後における血清脂質の変化が血液流動性に及ぼす影響について検討することとした。

対象と方法

1. 対象者

対象者は、自治体などの健康支援事業による減量教室に参加した、肥満ま

たは高血圧や高脂血症、糖尿病などの減量の必要がある所見が認められた中年女性153名であった。対象者の希望や生活状況、身体状況などを考慮し、食事制限のみを受けた群 (diet only group: DO群) 72名、食事制限に運動実践を併用した群 (diet + exercise group: DE群) 81名に分けた。各群の身体的特徴は表1に示したように、群間差は認められなかった。また、閉経状況においても群間差は認められなかった (DO群: 閉経前39名 (48.1%), 閉経期2名 (2.5%), 閉経後31名 (38.3%), 不明・未回答9名 (11.1%); DE群: 閉経前31名 (43.1%), 閉経期2名 (2.8%), 閉経後25名 (34.7%), 不明・未回答14名 (19.4%))。対象者には、研究目的や測定内容について十分に説明し研究協力の同意を得た。また、研究の実施にあたり、筑波大学倫理委員会の承認を得た。

2. 減量介入方法

1) 食事制限

DO群およびDE群ともに14週間にわたって食事制限をおこなった。本研究でおこなった食事制限は、1食あたり400kcal、1日1,200kcalを目標に、対象者自身で栄養バランスの良い食事の管理ができるよう四群点数法¹²⁾を用いた。四群点数法は、食品に含まれる栄養素によって食品を4つの群 (1群: 卵・乳製品, 2群: 肉類・魚介類・豆製品, 3群: 野菜類・芋類・海藻類・果実類, 4群: 穀類・油脂類・さとう

などの調味料・その他の嗜好品) に分類されており、80kcalを1点として栄養計算する方法であることと、摂取エネルギーを抑えながらも良好な栄養バランスを維持することができる。本研究では、1群から1点、2群から1点、3群から1点、4群から2点、合計5点 (400kcal) の範囲内で食品を選択し、摂取するよう指導した。指導方法は、毎日の食事記録を対象者に記録させ、管理栄養士がそれをもとに摂取エネルギー量と栄養バランスの確認やアドバイスなどの個別指導と、食事のとり方などについての集団指導を週に1回 (90分) おこなった。

2) 運動実践

DE群は、集団指導による監視型運動プログラムを週2~3回、14週間で合計30回おこなった。1回の運動内容は、15分間のウォーミングアップ、60分間の主運動、15分間のクーリングダウンで構成され、主運動ではウォーキング (歩行距離: 4~6 km) などの有酸素性運動を中心におこなった。運動強度は、脂質代謝機能の改善ができる無酸素性代謝閾値付近、自覚的運動強度が12~15あたり、無酸素性代謝閾値に相当する心拍数±20拍/分あたりとなることから、1回の教室での運動による消費エネルギー量は150~250kcal程度となる¹³⁾。また、介入中は介入前と比べて、日常生活の身体活動に変化がなかったことを運動日誌によって確認している。

3. 測定項目

1) 身体的特徴

身長と体重を測定し、body mass index (BMI) を算出した。体脂肪率や体脂肪量、除脂肪量は、オムロン社製インピーダンス計 (HBF-300) を用いて測定した。内臓脂肪面積と皮下脂肪面積は、computed tomography (CT) を用いて腹部断面画像を撮影し、内臓脂肪計測ソフト Fat Scan ver.2 (N2 システム) よりコンピュータ解析することで算出した。収縮期血圧と拡張期血圧は15分の安静座位後、ヤガミ社製水銀血圧計を用いて測定した。

2) 血液流動性と血液検査項目

参加者には、検査の前日の激しい運動を控えるよう指示し、測定当日は12時間以上の絶食状態で肘正中静脈より採血をおこなった。なお、測定当日に食事、服薬をした参加者は除外している。血液流動性は、microchannel array flow analyzer (MC-FAN; 日立原町電子工業)¹⁴⁾ を用い血液細孔通過時間を測定した。一般的に、血液粘度を測定することで血液流動性を評価する。最近では、粘度計に替わる新しい測定方法として、毛細血管をモデルとしたフィルター (細孔) に血液標本を通過させ、それに要する時間を測定することで血液流動性を評価する方法 (フィルター法) が開発され、MC-FANはその原理を用いた血液流動性測定機器である。MC-FANでは、血液標本0.1mlが7 μ mのフィルターを通過する時間 (血液細孔通過時間) を計測することで血液流動性を評価するものである。MC-FANを用いて血栓形成や梗塞状態の評価に貢献できる可能性を示した報告¹⁵⁾や、血液流動性が肥満度、血清総コレステロール、LDLコレステロールと有意に相関するという報告^{16, 17)}もあることから、臨床の場で血栓形成や梗塞など循環器系疾患の予防や管理など

に活用できる可能性を示唆している。血液検査項目は、赤血球数 (red blood cell count; RBC), ヘモグロビン (hemoglobin; Hb), ヘマトクリット (hematocrit; Hct), 白血球数 (white blood cell count; WBC), 血小板数 (platelets; Plt), 総コレステロール (total cholesterol; TC), 高比重リポ蛋白コレステロール (high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C), 中性脂肪 (triglycerides; TG), 空腹時血糖 (fasting plasma glucose; FPG), 糖化ヘモグロビン (hemoglobin A_{1c}; HbA_{1c}), フィブリノーゲン (fibrinogen; Fbg) であった。低比重リポ蛋白コレステロール (low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C) は、Friedewaldの式¹⁸⁾により算出した。

3) 冠危険因子

冠危険因子は、BMI 25以上、内臓脂肪面積100cm²以上、収縮期血圧140mmHg以上または拡張期血圧90mmHg以上、総コレステロール220mg/dl以上、HDL-C 40mg/dl未満、TG 150mg/dl以上、空腹時血糖110mg/dl以上またはHbA_{1c} 5.8%以上の7項目とした。

4. 統計処理

減量介入前の血液細孔通過時間、血液検査項目、身体的特徴、身体組成の群間差を検討するために、対応のない *t* 検定を用いた。また、血液細孔通過時間別にみた身体的特徴および血液成分の比較をおこなうために、血液細孔通過時間の四分位偏差から対象者を4つの群に分け、一元配置の分散分析を施した。統計的有意差が認められた項目については、Bonferroniの事後検定をおこなった。群内における減量介入前後の測定値の比較は、対応のある *t* 検定を用いた。介入前後の測定値の群間差を検討するために、時間 (介入前と介入後) と介入方法 (DO群とDE群)

を要因とする反復測定の実験配置分散分析を施した。二変量間の相関関係は、Pearsonの積率相関係数によって表した。測定項目の値は、平均値 \pm 1標準偏差で表し、統計的有意水準は5%未満に設定した。

結果

1. 血液細孔通過時間別にみた身体的特徴および血液成分の変化

介入前における血液細孔通過時間の四分位偏差から対象者を4つの群 (A群, 32.8~42.2秒; B群, 42.3~45.9秒; C群, 46.0~50.5秒; D群, 50.6~92.2秒) に分け、対象者の身体的特徴、肥満度、血液検査項目、冠危険因子数を比較した。その結果、有意な群間差が認められた項目は、WBC, RBC, Hb, Hct, HbA_{1c}, Fbg, 内臓脂肪面積であり、体脂肪率においては有意傾向 (A群vs B群, $p=0.07$; B群vs C群, $p=0.05$)、それ以外の測定項目には有意差が認められなかった (表2)。

2. 減量に伴う各測定項目の変化

体重, BMI, 体脂肪率, 体脂肪量, 除脂肪量, 内臓脂肪面積, 皮下脂肪面積, 収縮期血圧, 拡張期血圧は両群ともに介入前後で有意に減少した。また、体重, BMI, 体脂肪率, 体脂肪量, 拡張期血圧は、2群間に有意な交互作用が認められた (表3)。血液細孔通過時間は、両群ともに介入前後で有意に減少したが、介入前の血液細孔通過時間が早すぎた者は、介入後に遅くなり、全体として約40秒に近づく傾向にあった (図1)。DO群の血液検査項目はRBC, Hct, Plt, TC, TG, HbA_{1c}が介入前後で有意に減少し、DE群ではRBC, Hct, Plt, TC, LDL-C, TG, FPG, HbA_{1c}が有意に減少した。また、2群間に有意な交互作用が認められた項目はなかった。

表2 減量に伴う各測定項目の変化(血液細孔通過時間別)

		血液細孔通過時間				ANOVA	交互作用
		A)32.8~42.2秒 n=38	B)42.3~45.9秒 n=38	C)46.0~50.5秒 n=38	D)50.6~92.2秒 n=39		
年齢	(歳)	47.3 ± 8.8	50.8 ± 10.2	51.3 ± 7.8	50.4 ± 9.5	n.s.	
身長	(cm)	154.3 ± 6.2	154.0 ± 6.3	153.3 ± 5.6	154.6 ± 4.8	n.s.	
体重	(kg)	介入前 64.8 ± 7.7 変化量 -7.3 ± 3.4*	介入前 63.4 ± 6.5 変化量 -7.3 ± 3.2*	介入前 64.7 ± 8.0 変化量 -6.8 ± 3.1*	介入前 67.9 ± 12.5 変化量 -6.5 ± 3.2*	n.s.	n.s.
BMI	(kg/m ²)	介入前 27.1 ± 2.3 変化量 -3.1 ± 1.4*	介入前 26.8 ± 2.8 変化量 -3.0 ± 1.3*	介入前 27.5 ± 2.4 変化量 -2.6 ± 1.9*	介入前 28.3 ± 4.4 変化量 -2.7 ± 1.2*	n.s.	n.s.
体脂肪率	(%)	介入前 34.3 ± 2.7 変化量 -4.6 ± 2.5*	介入前 34.2 ± 4.0 変化量 -4.7 ± 2.4*	介入前 35.6 ± 3.0 変化量 -2.8 ± 6.0*	介入前 36.3 ± 4.1 変化量 -3.4 ± 2.0*	n.s.	<0.05
体脂肪量	(kg)	介入前 22.3 ± 3.8 変化量 -5.0 ± 2.4*	介入前 21.8 ± 4.2 変化量 -5.1 ± 2.4*	介入前 22.5 ± 5.7 変化量 -3.9 ± 4.4*	介入前 25.0 ± 7.6 変化量 -4.4 ± 2.3*	n.s.	n.s.
除脂肪量	(kg)	介入前 42.5 ± 4.6 変化量 -2.7 ± 3.7*	介入前 41.6 ± 3.6 変化量 -2.5 ± 1.6*	介入前 42.2 ± 5.8 変化量 -2.3 ± 1.3*	介入前 42.9 ± 5.4 変化量 -2.0 ± 1.6*	n.s.	n.s.
内臓脂肪面積	(cm ²)	介入前 74.7 ± 35.7 変化量 -22.0 ± 28.9*	介入前 93.4 ± 45.7 変化量 -27.9 ± 23.1*	介入前 93.4 ± 35.5 変化量 -24.4 ± 23.1*	介入前 106.3 ± 48.4 変化量 -22.6 ± 24.4*	n.s.	n.s.
皮下脂肪面積	(cm ²)	介入前 251.0 ± 42.6 変化量 -48.8 ± 63.4*	介入前 237.1 ± 77.6 変化量 -66.0 ± 48.9*	介入前 257.3 ± 56.0 変化量 -54.2 ± 38.5*	介入前 272.4 ± 97.8 変化量 -62 ± 62*	n.s.	n.s.
収縮期血圧	(mmHg)	介入前 130 ± 18 変化量 -12 ± 12*	介入前 133 ± 17 変化量 -11 ± 12*	介入前 135 ± 17 変化量 -10 ± 10*	介入前 139 ± 18 変化量 -10 ± 11*	n.s.	n.s.
拡張期血圧	(mmHg)	介入前 83 ± 11 変化量 -8 ± 9*	介入前 82 ± 10 変化量 -7 ± 11*	介入前 86 ± 11 変化量 -8 ± 9*	介入前 87 ± 11 変化量 -5 ± 8*	n.s.	n.s.
白血球	(/μl)	介入前 5097 ± 969 変化量 45 ± 1012	介入前 5368 ± 1375 変化量 147 ± 1093	介入前 5582 ± 1113 変化量 121 ± 1635	介入前 6205 ± 1640 変化量 226 ± 947	A<D	n.s.
赤血球	(10 ⁴ /μl)	介入前 431 ± 36 変化量 -13 ± 21*	介入前 447 ± 33 変化量 -4 ± 28	介入前 461 ± 30 変化量 -11 ± 29*	介入前 457 ± 33 変化量 -6 ± 21	A<C, D	n.s.
ヘモグロビン	(g/dl)	介入前 12.4 ± 1.2 変化量 -0.1 ± 0.5	介入前 13.2 ± 1.0 変化量 0.0 ± 0.8	介入前 13.8 ± 0.9 変化量 -0.2 ± 0.8	介入前 13.5 ± 1.1 変化量 -0.1 ± 0.6	A<B, C, D	n.s.
ヘマトクリット	(%)	介入前 38.2 ± 3.0 変化量 -1.0 ± 1.8*	介入前 40.3 ± 2.7 変化量 -0.2 ± 2.7	介入前 42.1 ± 2.2 変化量 -0.8 ± 2.5	介入前 41.7 ± 3.2 変化量 -0.8 ± 2.1*	A<B, C, D	n.s.
血小板	(10 ⁴ /μl)	介入前 28.2 ± 6.9 変化量 -2.4 ± 3.8*	介入前 25.9 ± 4.8 変化量 -1.2 ± 3.0*	介入前 25.5 ± 6.0 変化量 -1.2 ± 3.7	介入前 26.5 ± 5.7 変化量 -1.0 ± 4.2	n.s.	n.s.
総コレステロール	(mg/dl)	介入前 210 ± 38 変化量 -10 ± 21*	介入前 227 ± 33 変化量 -11 ± 28*	介入前 229 ± 30 変化量 -9 ± 28*	介入前 218 ± 29 変化量 -6 ± 17*	n.s.	n.s.
HDLコレステロール	(mg/dl)	介入前 62 ± 14 変化量 0 ± 9	介入前 64 ± 16 変化量 0 ± 10	介入前 59 ± 14 変化量 2 ± 8	介入前 62 ± 21 変化量 0 ± 8	n.s.	n.s.
LDLコレステロール	(mg/dl)	介入前 130 ± 33 変化量 -7 ± 20*	介入前 140 ± 33 変化量 -4 ± 27	介入前 145 ± 28 変化量 -5 ± 25	介入前 133 ± 33 変化量 -3 ± 18	n.s.	n.s.
中性脂肪	(mg/dl)	介入前 88 ± 44 変化量 -17 ± 33*	介入前 116 ± 120 変化量 -37 ± 110*	介入前 120 ± 67 変化量 -31 ± 61*	介入前 113 ± 58 変化量 -14 ± 52	n.s.	n.s.
血糖	(mg/dl)	介入前 94 ± 9 変化量 -5 ± 8*	介入前 101 ± 34 変化量 -11 ± 29*	介入前 99 ± 20 変化量 -4 ± 13	介入前 104 ± 24 変化量 -8 ± 19*	n.s.	n.s.
HbA _{1c}	(%)	介入前 4.9 ± 0.3 変化量 -0.1 ± 0.2	介入前 5.4 ± 1.0 変化量 -0.3 ± 0.7*	介入前 5.3 ± 0.9 変化量 -0.2 ± 0.5*	介入前 5.5 ± 1.1 変化量 -0.3 ± 0.7*	A<D	n.s.
フィブリノーゲン	(mg/dl)	介入前 256 ± 43 変化量 29 ± 50*	介入前 279 ± 51 変化量 24 ± 57*	介入前 312 ± 53 変化量 12 ± 73	介入前 328 ± 55 変化量 29 ± 47*	A<C, D	n.s.
冠危険因子数	(個)	介入前 2.1 ± 1.1 変化量 -1.2 ± 1.0*	介入前 2.5 ± 1.6 変化量 -1.2 ± 1.5*	介入前 2.8 ± 1.5 変化量 -1.4 ± 1.3*	介入前 3.0 ± 1.3 変化量 -1.2 ± 1.5*	A<D	n.s.
血液細孔通過時間	(秒)	介入前 39.6 ± 2.1 変化量 -0.7 ± 4.9	介入前 43.9 ± 1.1 変化量 -1.2 ± 6.4	介入前 48.0 ± 1.4 変化量 -3.8 ± 4.6*	介入前 56.9 ± 8.2 変化量 -12.5 ± 8.7*	A<B<C<D	<0.05

平均値 ± 1 標準偏差

BMI : body mass index, HbA_{1c} : hemoglobin A_{1c}, HDL : high-density lipoprotein, LDL : low-density lipoprotein

* : 介入前に比べて有意な変化(p<0.05)

n.s. : not significant

表3 減量に伴う各測定項目の変化(介入方法別)

			全体 n=153	DO group n=72	DE group n=81	f-test	交互作用
体重	(kg)	介入前	65.2 ± 9.1	65.8 ± 10.8	64.8 ± 7.2	n.s.	
		変化量	-7.0 ± 3.2*	-6.2 ± 3.2*	-7.7 ± 3.1*	DO<DE	<0.05
BMI	(kg/m ²)	介入前	27.4 ± 3.1	27.9 ± 3.8	27.1 ± 2.3	n.s.	
		変化量	-2.9 ± 1.5*	-2.6 ± 1.2*	-3.1 ± 1.7*	n.s.	<0.05
体脂肪率	(%)	介入前	35.1 ± 3.6	35.3 ± 3.9	35.0 ± 3.3	n.s.	
		変化量	-3.8 ± 3.6*	-3.4 ± 2.2*	-4.3 ± 4.5*	n.s.	<0.05
体脂肪量	(kg)	介入前	22.9 ± 5.7	23.4 ± 6.4	22.5 ± 4.9	n.s.	
		変化量	-4.6 ± 3.0*	-4.1 ± 2.2*	-5.1 ± 3.5*	DO<DE	<0.05
除脂肪量	(kg)	介入前	42.3 ± 4.9	42.3 ± 5.3	42.3 ± 4.5	n.s.	
		変化量	-2.4 ± 2.3*	-2.4 ± 2.9*	-2.4 ± 1.5*	n.s.	n.s.
内臓脂肪面積	(cm ²)	介入前	92.0 ± 42.9	93.3 ± 51.0	91.0 ± 35.4	n.s.	
		変化量	-24.2 ± 24.8*	-20.6 ± 24.5*	-27.2 ± 24.8*	n.s.	n.s.
皮下脂肪面積	(cm ²)	介入前	254.4 ± 72.4	255.4 ± 79.3	253.7 ± 66.7	n.s.	
		変化量	-57.8 ± 54.2*	-49.5 ± 41.2*	-64.6 ± 62.2*	n.s.	n.s.
収縮期血圧	(mmHg)	介入前	134 ± 18	136 ± 20	133 ± 16	n.s.	
		変化量	-11 ± 11*	-10 ± 11*	-11 ± 12*	n.s.	n.s.
拡張期血圧	(mmHg)	介入前	85 ± 11	85 ± 12	84 ± 10	n.s.	
		変化量	-7 ± 9.0*	-6 ± 9*	-8 ± 9*	n.s.	<0.05
白血球	(/ μ l)	介入前	5567 ± 1354	5468 ± 1406	5656 ± 1308	n.s.	
		変化量	-113 ± 1194	-60 ± 1080	-160 ± 1291	n.s.	n.s.
赤血球	(10 ⁴ / μ l)	介入前	449 ± 35	447 ± 36	451 ± 34	n.s.	
		変化量	-9 ± 25*	-8 ± 22*	-9 ± 27*	n.s.	n.s.
ヘモグロビン	(g/dl)	介入前	13.3 ± 1.2	13.2 ± 1.3	13.3 ± 1.0	n.s.	
		変化量	-0.1 ± 0.7	-0.1 ± 0.7	-0.1 ± 0.7	n.s.	n.s.
ヘマトクリット	(%)	介入前	40.6 ± 3.2	40.4 ± 3.6	40.7 ± 2.7	n.s.	
		変化量	-0.7 ± 2.3*	-0.6 ± 2.1*	-0.8 ± 2.5*	n.s.	n.s.
血小板	(10 ⁴ / μ l)	介入前	26.5 ± 5.9	26.2 ± 6.3	26.8 ± 5.6	n.s.	
		変化量	-1.4 ± 3.7*	-1.4 ± 3.3*	-1.5 ± 4.1*	n.s.	n.s.
総コレステロール	(mg/dl)	介入前	221 ± 33	217 ± 33	224 ± 33	n.s.	
		変化量	-9 ± 24*	-6 ± 23*	-12 ± 24*	n.s.	n.s.
HDLコレステロール	(mg/dl)	介入前	62 ± 16	63 ± 19	61 ± 14	n.s.	
		変化量	0 ± 9	0 ± 7	1 ± 10	n.s.	n.s.
LDLコレステロール	(mg/dl)	介入前	137 ± 32	134 ± 30	140 ± 34	n.s.	
		変化量	-5 ± 23*	-2 ± 22	-7 ± 23*	n.s.	n.s.
中性脂肪	(mg/dl)	介入前	109 ± 78	104 ± 52	114 ± 95	n.s.	
		変化量	-25 ± 70*	-18 ± 37*	-30 ± 90*	n.s.	n.s.
血糖	(mg/dl)	介入前	100 ± 24	99 ± 26	100 ± 22	n.s.	
		変化量	-7 ± 19*	-5 ± 21	-9 ± 17*	n.s.	n.s.
HbA _{1c}	(%)	介入前	5.3 ± 0.9	5.2 ± 0.8	5.3 ± 1.0	n.s.	
		変化量	-0.2 ± 0.6*	-0.2 ± 0.4*	-0.3 ± 0.7*	n.s.	n.s.
フィブリノーゲン	(mg/dl)	介入前	298 ± 58	303 ± 61	294 ± 55	n.s.	
		変化量	23 ± 58	27 ± 64	20 ± 52	n.s.	n.s.
冠危険因子数	(個)	介入前	2.6 ± 1.4	2.8 ± 1.4	2.4 ± 1.4	n.s.	
		変化量	-1.2 ± 1.3	-1.1 ± 1.2	-1.3 ± 1.4	n.s.	n.s.
血液細孔通過時間	(秒)	介入前	47.2 ± 7.7	47.4 ± 9.1	47.0 ± 6.3	n.s.	
		変化量	-4.6 ± 7.9*	-4.7 ± 9.4*	-4.5 ± 6.4*	n.s.	n.s.

平均値 ± 1 標準偏差

DO : diet only group (DO群), DE : diet + exercise group (DE群)

BMI : body mass index, HbA_{1c} : hemoglobin A_{1c}, HDL : high-density lipoprotein, LDL : low-density lipoprotein* : 介入前に比べて有意な変化 ($p < 0.05$)

f-test : DO群とDE群との比較

n.s. : not significant

3. 減量介入前における血液細孔通過時間と各測定項目との相関関係(表4)

対象者全体について介入前の血液細孔通過時間と各測定項目との相関関係を検討したところ、血液細孔通過時間と有意な相関関係を示した測定項目は、体脂肪率、内臓脂肪面積、収縮期血圧、拡張期血圧であった。血液検査項目においては、RBC、Hb、Hct、WBC、Fbgとの間に有意な相関関係がみられた。

4. 血液細孔通過時間の変化量と各測定項目の変化量との相関関係(表5)

減量に伴う各測定項目の変化に、DO群とDE群との間に有意な交互作用が認められなかったことから、血液細孔通過時間の変化量と各測定項目の変化量との相関は両群合わせて検討した。血液細孔通過時間の変化量と体重やBMI、体脂肪率、内臓脂肪面積の変化量との間に有意な相関関係はみられなかった。血液細孔通過時間の変化量とRBC、Hb、Hct、TC、HDL-Cの変化量との間に有意な相関関係がみられた。

考 察

本研究では、肥満者の血清脂質と血液流動性との関連性について検討した。一般に、LDL-CやTGは血液粘度を増加させる⁸⁾だけでなく、赤血球集合を亢進させる¹⁹⁾ことから、血液流動性の悪化に寄与すると考えられている。肥満者¹⁶⁾や高コレステロール患者、高脂血症患者¹⁷⁾の血液流動性は悪化していることが報告されており、その原因は、LDL-CやTG濃度の上昇によるものだと考えられている。本研究では、介入前における血液細孔通過時間の四分位偏差から対象者を4つの群(A群, 32.8~42.2秒; B群, 42.3~45.9秒; C群,

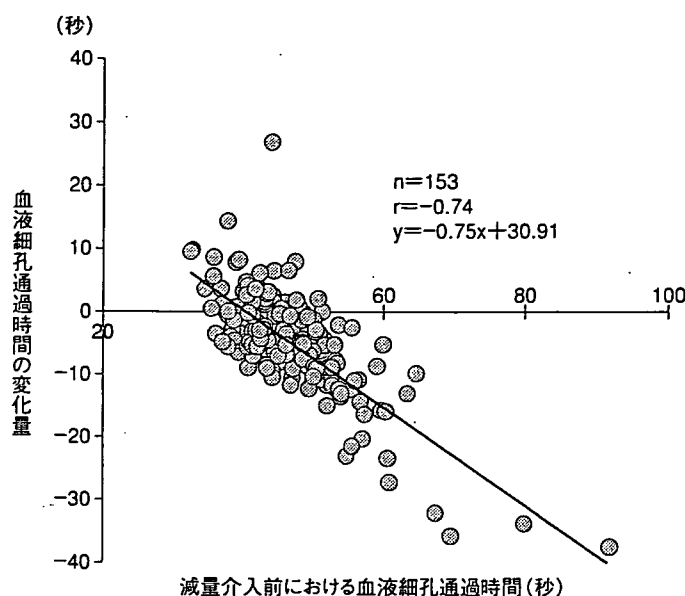


図1 減量介入前の血液細孔通過時間と減量介入後におけるその変化量との関係

表4 減量介入前における血液細孔通過時間と各測定項目との相関

		r	p
年齢	(yr)	0.11	0.19
身長	(cm)	-0.02	0.82
体重	(kg)	0.08	0.35
BMI	(kg/m ²)	0.10	0.20
体脂肪率	(%)	0.16	<0.05
体脂肪量	(kg)	0.12	0.16
除脂肪量	(kg)	0.02	0.79
内臓脂肪面積	(cm ²)	0.21	0.01
皮下脂肪面積	(cm ²)	0.11	0.18
収縮期血圧	(mmHg)	0.18	0.02
拡張期血圧	(mmHg)	0.21	<0.01
赤血球	(10 ⁴ /μl)	0.25	<0.01
ヘモグロビン	(g/dl)	0.33	<0.01
ヘマトクリット	(%)	0.36	<0.01
白血球	(/μl)	0.25	<0.01
血小板	(10 ⁴ /μl)	-0.14	0.09
総コレステロール	(mg/dl)	0.05	0.56
HDLコレステロール	(mg/dl)	-0.03	0.73
LDLコレステロール	(mg/dl)	0.03	0.71
中性脂肪	(mg/dl)	0.07	0.43
血糖	(mg/dl)	0.06	0.47
HbA _{1c}	(%)	0.12	0.14
フィブリノーゲン	(mg/dl)	0.31	<0.01

BMI : body mass index, HbA_{1c} : hemoglobin A_{1c}, HDL : high-density lipoprotein
LDL : low-density lipoprotein

表5 減量介入前から介入後における血液細孔通過時間の変化量と各測定項目の変化量との相関

		r	P
△体重	(kg)	-0.02	0.85
△BMI	(kg/m ²)	-0.03	0.71
△体脂肪率	(%)	-0.02	0.78
△体脂肪量	(kg)	-0.01	0.89
△除脂肪量	(kg)	0.09	0.27
△内臓脂肪面積	(cm ²)	-0.08	0.36
△皮下脂肪面積	(cm ²)	0.10	0.23
△収縮期血圧	(mmHg)	0.01	0.91
△拡張期血圧	(mmHg)	-0.01	0.91
△赤血球	(10 ⁴ /μl)	0.16	<0.05
△ヘモグロビン	(g/dl)	0.16	<0.05
△ヘマトクリット	(%)	0.17	0.03
△白血球	(/μl)	0.12	0.13
△血小板	(10 ⁴ /μl)	-0.06	0.45
△総コレステロール	(mg/dl)	0.16	<0.05
△HDLコレステロール	(mg/dl)	0.19	0.02
△LDLコレステロール	(mg/dl)	0.08	0.35
△中性脂肪	(mg/dl)	0.03	0.70
△血糖	(mg/dl)	0.10	0.21
△HbA _{1c}	(%)	0.08	0.33
△フィブリノーゲン	(mg/dl)	0.01	0.90

BMI : body mass index, HbA_{1c} : hemoglobin A_{1c}, HDL : high-density lipoprotein
LDL : low-density lipoprotein

46.0~50.5秒; D群, 50.6~92.2秒)に分け, 対象者の身体的特徴, 肥満度, 血液検査項目, 冠危険因子数を比較した結果, 内臓脂肪面積においては有意な群間差が認められ, 血液細孔通過時間が最も延長していたD群の内臓脂肪面積が大きく, 体脂肪率においては有意傾向(A群 vs D群, $p=0.07$; B群 vs D群, $p=0.05$)にあった。また, 介入前において血液細孔通過時間と体脂肪率, 内臓脂肪面積との間に有意な相関関係にあったことから, 血液細孔通過時間が延長している者は, 肥満とくに脂肪, 内臓脂肪の割合が多い傾向にあった。その血液細孔通過時間が延長している原因は, WBCやRBCなどの血球関係, Fbg, HbA_{1c}において有意な群間差が認められたことから, LDL-CやTGだけの影響でないことが示唆された。さらに, 介入前において血液細

孔通過時間が最も遅かったD群は, 介入後, 4群のなかで最も短縮したが, LDL-CやTGなどの血清脂質の変化量に群間差が認められなかったこと, 血液細孔通過時間の変化量とLDL-CやTGの変化量との間に有意な相関関係がなかったことから, LDL-CやTGの変化が血液細孔通過時間に及ぼす影響は小さく, RBCやHDL-Cが血液流動性に影響を与えたことが示唆された。Hctが増加すると血液粘度は指数関数的に増加する²⁰⁾ことから, RBCは血液流動性に影響を及ぼす重要な因子である。RBC増加の原因に極度の肥満やストレスがある²¹⁾が, 本研究における対象者のRBCは基準範囲内であった。しかしながら, 減量に伴ってRBCが減少したことから, 軽度の肥満によるRBCのわずかな増加が血液流動性を悪化させる可能性が示唆された。一方,

HDL-Cは赤血球集合を抑制する²²⁾ことから, 血液流動性を改善する方向に働くことが考えられる。しかしながら, HDL-Cは介入前後で有意な変化を示さなかったことから, 減量に伴う血液流動性の変化がHDL-Cだけで説明できるとは考えにくい。その他の因子として, 血漿蛋白質も血液流動性に関与する²³⁾。とくに, Fbgは血栓の形成を促し, 血液流動性を悪化させることから, 循環器系疾患のリスクファクターになりうる可能性が示唆されている²³⁾。本研究では, 介入前において血液細孔通過時間とFbgに有意な相関関係がみられたが, Fbgの変化量と血液細孔通過時間の変化量との間に有意な相関関係はみられなかった。Fbgは介入前後で変化しなかったことがその一因として考えられる。介入前において血液細孔通過時間と有意な相関関係がみられた項目や, 血液細孔通過時間の変化量と血液成分の変化量との間に有意な相関関係がみられた項目の相関係数はいずれも小さかった。このことから, 肥満者において血液流動性を悪化させると考えられているLDL-CやTGと血液細孔通過時間の関連性は大きくなく, 複数の血液成分が血液流動性に影響している可能性が示唆された。

減量に伴って血液細孔通過時間が短縮したが体重やBMI, 体脂肪率, 内臓脂肪面積の変化量と血液細孔通過時間の変化量との間に有意な相関関係がみられなかった。これは, 肥満者すべての血液細孔通過時間が遅延していたわけではなく, 図1が示すように介入前に血液細孔通過時間が早すぎた者は, 通過時間が遅延し, 健常女性の血液細孔通過時間の40秒前後²⁴⁾に近づいた結果と考えられる。貧血であれば40秒よりも早く, 赤血球が高値であれば遅くなる²⁴⁾ことから, 減量に伴って血液細孔通過時間が短縮したと考えられる。

また、血液成分は食品に含まれる栄養素や水分などの影響も受ける^{25, 26)}ことから、栄養バランスの良い食事をする²⁷⁾ことで、血液成分に変化が生じ、一過性に血液流動性が改善した可能性も考えられる。本研究では、栄養バランスの良い食事による一過性の影響と減量効果とを分けて検討することはできないことから、今後は食事内容と血液流動性の変化を経時的に検討していく必要がある。一方、運動の効果については、DE群のみ運動を実践した結果、体重やBMI、体脂肪率の減少には有意な交互作用が認められたことから、運動の効果と考えられるが、血液流動性および血液成分の改善には有意な交互作用は認められなかった。本研究の結果と同様に、Levine et al.²⁸⁾は虚血性心疾患患者を対象に、最大心拍数の60~80%の運動を1回30~40分、10週間おこなさせた結果、心機能の改善はみられたが血液流動性は変化せず、健康の維持・増進程度の運動実践では血液流動性に影響を及ぼさなかったと報告している。しかしながら、運動を習慣化している有疾患患者の血液流動性が良好であることや²⁹⁾、健康者を対象とした研究では、運動実践が血液流動性を改善する可能性を示唆する報告がある³⁰⁾ことから、必ずしも運動の効果は否定できない。運動効果に一致した見解が得られないのは、介入期間や対象者の違いによるものと考えられる³¹⁾。短期間の運動介入で効果が表れたのは健康者であることや、運動を習慣化している有疾患者は血液流動性が良い傾向にあることが先行研究から推察されるが、疾患の予防として重要となる肥満者を対象とした介入研究はほとんどなされていない。本研究で、高血圧や高脂血症、糖尿病、内臓脂肪が蓄積した循環器系疾患のリスクが高い肥満者および肥満傾向の者を対象とした知見を

提供できたことは、循環器系疾患を予防する上で重要であったといえよう。

血液流動性は、物理・流体力学的側面から循環器系疾患に影響を及ぼすことが明らかにされつつある。また、本研究や先行研究の結果³²⁾が示すように、血液流動性に関する血液成分は複数あり、ひとつの血液成分だけでは血液流動性を予測できない。血液流動性は、これまでの循環器系疾患のリスクファクターとは異なる独立したリスクファクターであると考えられ、血液流動性を測定する意義があるといえよう。

まとめ

肥満者および肥満傾向にある中年女性は減量することで、血液細孔通過時間の平均値は有意に短縮した。しかしながら、肥満者および肥満傾向にある者すべての血液細孔通過時間が遅延しているわけではなく、血液細孔通過時間が遅延していた者は短縮し、逆に血液細孔通過時間が早かった者は遅延する傾向にあったことから、健常女性の平均値に近づく結果となった。また、食事制限のみによる減量介入と食事制限に運動の実践を加えた減量介入の群間差は、血液流動性および血液流動性に関する血液成分のいずれの変化においても認められなかった。肥満者における血液細孔通過時間は、HDL-Cや赤血球関連など複数の血液成分が複合的に関与している可能性が示唆されたことから、循環器系疾患の独立した物理・流体力学的リスクファクターとして血液流動性を測定する意義が示された。

謝辞

本研究は、研究拠点形成費補助金(21世紀COEプログラム西平プロジェクト)、筑波大学先端学際領域研究センター(TARA田中プロジェクト)の支

援を受けておこなったものである。

文献

- 1) Liuba P, Pesonen E: Infection and early atherosclerosis: does the evidence support causation? *Acta Paediatr* 2005, 94: 643-651.
- 2) Hardeman MR: Clinical hemorheology, quo vadis? *Clin Hemorheol* 1996, 16: 11-13.
- 3) 前田信治: 血液のレオロジーと生理機能—血行力学の基礎と血液粘度. *日本生理学雑誌* 2004, 66: 234-244.
- 4) 貝原 真: 血流と血栓. *日本バイオレオロジー学会誌* 2001, 15: 26-28.
- 5) Woodward M, Rumley A, Tunstall-Pedoe H, et al.: Dose sticky blood predict a sticky end? Associations of blood viscosity, haematocrit and fibrinogen with mortality in the West of Scotland. *Br J Haematol* 2003, 122: 645-650.
- 6) Kumari M, Marmot M, Rumley A, et al.: Social, behavioral, and metabolic determinants of plasma viscosity in the Whitehall II study. *Ann Epidemiol* 2005, 15: 398-404.
- 7) Zannad F, Stoltz JF: Blood rheology in arterial hypertension. *J Hypertens* 1992, 10: suppl 5: S69-78.
- 8) Eterovic D, Pintaric I, Tochijl J, et al.: Determinants of plasma viscosity in primary hyperlipoproteinemia. *Clin Hemorheol* 1995, 15: 841-850.
- 9) 片山靖富, 中垣内真樹, 中田由夫ほか: 食事制限と運動実践による減量が肥満女性の血液流動性に及ぼす影響. *日本ヘモレオロジー学会誌* 2003, 6: 13-22.
- 10) Åstrand PO: "Why exercise?" *Med Sci Sports Exerc* 1992, 24: 153-162.
- 11) El-Sayed MS: Effects of exercise and training on blood rheology. *Sports Med* 1998, 26: 281-292.
- 12) 香川芳子: 五訂版食品80キロカロリーガイドブック. 東京: 女子栄養大学出版部, 2002.
- 13) 関 耕二, 角野博之, 村上正巳: MC-FANを用いて測定した血液流動性について. *臨床病理* 2003, 51:

- 770-775.
- 14) Kikuchi Y, Sato K, Ohki H, et al :
Optically accessible microchannels
formed in a single-crystal silicon
substrate for studies of blood rhe-
ology. *Microvasc Res* 1992, 44 : 226-
240.
 - 15) 片山靖富, 堀米仁志, 村上 卓ほか:
MC-FANを用いたチアノーゼ性先天
性心疾患における血液流動性の検討.
第7回成人先天性心疾患研究会抄録
集 2005, 45.
 - 16) Okura T, Nakata Y, Tanaka K :
Effects of exercise intensity on
physical fitness and risk factors for
coronary heart disease. *Obes Res*
2003, 11 : 1131-1139.
 - 17) Lee CYJ, Kim LI, Park HW, et al :
Rheological properties of erythro-
cytes from male hypercholesterole-
mia. *Microvasc Res* 2003, 67 : 133-
138.
 - 18) Friedewald WT, Levy RL, Fredrickson
DS. : Estimation of the concentration
of low-density lipoprotein cholesterol
in plasma, without use of the pre-
parative ultracentrifuge. *Clin Chem*
1972, 18 : 499-502.
 - 19) Rosenson RS, Shott S, Lu L, et al. :
Hypertriglyceridemia and other fac-
tors associated with plasma visco-
sity. *Am J Med* 2001, 110 : 488-492.
 - 20) 志賀 健: 赤血球のレオロジー. 日
本生理誌 1982, 44 : 187-198.
 - 21) 野村武夫, 古沢新平, 長尾 大: 赤
血球. 東京: 中外医学社, 1994,
140-147.
 - 22) 菅原基晃, 前田信治: 血液のレオロ
ジーと血流. 東京: コロナ社, 2003,
17-18.
 - 23) Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, et
al. : Fibrinogen and risk of cardio-
vascular disease. *JAMA* 1987, 258 :
1183-1186.
 - 24) 菊池祐二, 高橋千恵子, 磯野厚子:
MC-FAN全血通過時間の基準域一施
設間の比較と体内毛細血管流動速度
との整合性一. ヘモレオロジー研究
会誌 2001 : 4, 43-52.
 - 25) Ernst E : Effects of n-3 fatty acids
on blood rheology. *J Int Med* 1989,
225 : 129-132.
 - 26) Kurabayashi H, Kubota K, Tamura J,
et al. : A glass of water at midnight
for possible prevention of cerebral
infarction. *Stroke* 1991, 22 : 1326-
1327.
 - 27) Levine GN, O'Malley C, Balady GJ :
Exercise training and blood viscosity
in patients with ischemic heart dis-
ease. *Am J Cardiol* 1995, 76 : 80-81.
 - 28) 中垣内真樹, 岡崎和伸, 田中喜代次:
長期にわたる運動の実践が循環器系
疾患者の血液流動性に及ぼす影響.
アサントスポーツ科学 2002, 23 :
158-165.
 - 29) Coppola L, Grassia A, Coppola A, et
al. : Effects of moderate-intensity
aerobic program on blood viscosity,
platelet aggregation and fibrinolytic
balance in young and middle-aged
sedentary subjects. *Blood Coagul
Fibrinolysis* 2004, 15 : 31-37.

(受付日: 2006年4月25日)
(採択日: 2006年8月30日)

ORIGINAL ARTICLE

Preproghrelin Leu72Met variant contributes to overweight in middle-aged men of a Japanese large cohort

M Kuzuya¹, F Ando², A Iguchi¹ and H Shimokata²

¹Department of Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Showa-ku, Nagoya, Japan and ²Department of Epidemiology, National Institute for Longevity Sciences, Obu, Aichi, Japan

Objective: To investigate whether Leu72Met polymorphism of the preproghrelin gene is associated with overweight/obesity in middle-aged and older Japanese.

Design: Cross-sectional analysis.

Subjects: A total of 2238 community-dwelling middle-aged and older Japanese people (age: 40–79 years) who participated in the first wave of examinations in the National Institute for Longevity Sciences – Longitudinal Study of Aging from April 1998 to March 2000.

Measurements: The Leu72Met polymorphism of preproghrelin gene, anthropometric variables including body weight, body mass index (BMI), waist circumference, waist-to-hip ratio and whole-fat mass and biochemical variables including serum lipid levels, fasting plasma glucose, insulin and homeostasis model assessment for insulin resistance.

Results: The frequencies of the Leu72Leu, Leu72Met and Met72Met alleles were 63.4, 32.7 and 4.0%, respectively. No differences in the genotype distributions of the Leu72Met polymorphism were found between genders or age groups, and no significant associations were observed between polymorphism and anthropometric variables in women and older men. However, middle-aged men who were 72Met allele carriers showed a higher body weight change from body weight at 18 years of age, as well as a higher waist circumference and a tendency to a higher waist-hip-ratio than noncarriers. Although there were no significant differences in the genotype distribution according to BMI in women and older men, a significantly higher frequency of the 72Met allele was found in the higher BMI group (BMI \geq 25 kg/m²) of middle-aged men than in the normal-weight group. No significant associations were observed between polymorphism and serum lipid, glucose or insulin levels.

Conclusions: These results suggest that the 72Met allele of the preproghrelin gene is a contributing factor for midlife weight change in men.

International Journal of Obesity (2006) 30, 1609–1614. doi:10.1038/sj.ijo.0803296; published online 25 July 2006

Keywords: ghrelin; polymorphism; preproghrelin; lipid metabolism; glucose metabolism

Introduction

Ghrelin has been shown to be the natural ligand of the previously identified 'orphan' growth hormone secretagogue receptor.¹ Although widely expressed in many tissues, ghrelin is most abundantly produced by the stomach.¹ Ghrelin is much more than a mere natural growth hormone secretagogue, however: it has been found to have profound

growth hormone-independent weight- and appetite-increasing effects.² Ghrelin stimulates food intake in both rodents and humans,^{2,3} and is strongly involved in the regulation of energy homeostasis.⁴ This suggests that derangement in the ghrelin system could play a role in obesity. In addition, ghrelin may affect carbohydrate and lipid metabolisms.^{5,6}

Recently, three major polymorphisms in the human ghrelin gene were described.⁷ One of these nucleotide changes, a single-base substitution C214A with Met replacing Leu at codon 72 in the preproghrelin amino-acid sequence, seems to be associated with an earlier onset of obesity,^{7–9} but it has also been proposed that 72Met could provide protection against the accumulation of fat.¹⁰ Thus, previous studies on preproghrelin genetic variants have arrived at contradictory findings as to their role in

Correspondence: Dr M Kuzuya, Department of Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsuruma-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan.

E-mail: kuzuya@med.nagoya-u.ac.jp

Received 13 April 2005; revised 24 January 2006; accepted 4 February 2006; published online 25 July 2006

obesity. Additionally, most studies have had only child and adolescent subjects, whereas few studies have targeted the middle aged or elderly, or randomly sampled community-dwelling individuals.

The aim of the present study was to test whether genetic variants in the preproghrelin gene (Leu72Met) could play a role in predisposing carriers to overweight/obesity or be associated with anthropometric data, serum lipid levels and values related with glucose metabolisms in a middle-aged to elderly Japanese population.

Materials and methods

Subjects

The present study consisted of a cross-sectional analysis of 1110 women and 1128 men who participated in the first wave of examinations in the National Institute for Longevity Sciences – Longitudinal Study of Aging (NILS-LSA) from April 1998 to March 2000. The subjects of the NILS-LSA were male and female residents 40–79 years old. The population of Obu city and Higashiura town in the Aichi prefecture in central Japan was stratified by both age and gender, and randomly selected from resident registrations in cooperation with the local governments. The number of male and female participants was to be the same to test gender difference. Age at the base line is to be 40–79 years and the number of participants in each decade (1940s, 1950s, 1960s, 1970s) is to be the same. The examinations include various areas of gerontology and geriatrics such as medical examinations, anthropometry, body composition, physical functions, physical activities, psychological assessments, nutritional analysis and molecular epidemiology. The subjects will be followed up every 2 years. The details of the NILS-LSA have been described elsewhere.¹¹ Randomly selected men and women were invited by mail to attend an explanatory meeting. At that meeting, the procedures for each examination and the follow-up schedule were fully explained. Written, informed consent to the entire procedure was obtained from each participant. The study was approved by the Ethics Committee of the National Institute for Longevity Sciences.

Anthropometric variables

Body weight was measured to the nearest 0.01 kg using a digital scale, height was measured to the nearest 0.1 cm using a wall-mounted stadiometer and body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Waist circumference and waist-to-hip ratio (WHR) were used as the indices for body fat distribution in this study. Waist-to-hip ratio was calculated as the ratio of waist circumference measured at the mid-point between the anterior superior iliac crest and the lowest rib-to-hip circumference. Whole-body fat mass, assessed by dual-energy X-ray absorptiometry (QDR-4500; Hologic, Madison, OH, USA), was used as an index for determining body composition. The subjects'

weight at 18 years of age was obtained by questionnaire. Weight change was defined as the current weight minus the weight at 18 years of age.

Biochemical assays of blood

An antecubital blood sample was drawn from each subject after an overnight fast. Serum total cholesterol, triglycerides and low-density lipoprotein cholesterol were determined enzymatically, serum high-density lipoprotein cholesterol was measured by the heparin–manganese precipitation method and fasting plasma glucose was assayed by the glucose oxidase method. Lipoprotein (a) was measured in plasma using a commercially available ELISA. Plasma insulin was measured by radioimmunoassay. The homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) was calculated as fasting serum insulin ($\mu U/ml$) \times fasting plasma glucose ($mmol/l$)/22.5.¹²

Determination of preproghrelin genotypes

Genotypes were determined using a fluorescence-based allele-specific DNA primer assay system (Toyobo Tsuruga Gene Analysis, Tsuruga, Japan). The polymorphic regions (Leu72Met (C214A)) of preproghrelin were amplified by polymerase chain reaction with allele-specific sense primers labeled at the 5'-end with either fluorescein isothiocyanate (5'-CCG ACC CGG ACT TCC XTT-3') or Texas red (5'-GTA CCG ACC CGG ACT TCC XG-3') and with an antisense primer labeled at the 5'-end with biotin (5'-GGC TCC GCC CGG AAG ATG-3'). The reaction mixtures (25 μl) contained 20 ng of DNA, 5 pmol of each primer, 0.2 mmol/l of each deoxynucleoside triphosphate, 2.5 mmol/l $MgCl_2$ and 1 U of rTaq DNA polymerase (Toyobo Co., Ltd, Osaka, Japan) in polymerase buffer. The amplification protocol consisted of initial denaturation at 95°C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 95°C for 30 s, annealing at 60°C for 30 s and extension at 68°C for 30 s; a final extension was conducted at 68°C for 2 min. Further details are provided elsewhere.¹³

Data analysis

Quantitative data were compared among three groups by one-way analysis of variance and the Tukey–Kramer *post hoc* test, and between two groups by the unpaired Student's *t*-test. Allele frequencies were estimated by the gene-counting method, and the χ^2 test was used to identify any significant departure from Hardy–Weinberg equilibrium. In the analyses to examine the association between genotypes and lipid or glucose metabolisms, participants who were being treated with lipid-lowering medications or oral hypoglycemic agents or insulin were excluded. Unless indicated otherwise, a *P*-value of <0.05 was considered to be statistically significant. The data were analyzed with the Statistical Analysis System (SAS), release 8.2.

Results

Genotype frequencies for the preproghrelin Leu72Met polymorphism were CC (Leu72Leu) 0.634, CA (Leu72Met) 0.327 and AA (Met72Met) 0.04. These frequencies are consistent with those expected under Hardy–Weinberg equilibrium. There were no significant differences in the genotype distributions of preproghrelin Leu72Met polymorphism between men and women, or among the different age groups (Table 1).

As shown in Table 2, although there were no differences in current body weight and body weight at 18 years of age between genotypes, middle-aged men who were 72Met allele carriers showed both a higher body weight change from body weight at 18 years of age ($P=0.013$, CC vs CA/AA) and higher waist circumference ($P=0.038$, CC vs CA/AA) than noncarriers. Among the middle-aged men in the present study, the Leu72Leu genotype was associated with the lowest BMI (trend, $P=0.049$), and the 72Met allele carriers tended to have a higher WHR ($P=0.062$, CC vs CA/AA) than subjects with the Leu72Leu genotype. However, no differences in anthropometric measurements among Leu72Met

genotypes were observed in older men, or in female cohorts (Table 3).

In order to assess the association of the Leu72Met polymorphism with overweight or obesity, genotype and allele frequencies were compared among normal-weight ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) and overweight/obese ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) groups (Table 4). Although there were no significant differences in the genotype distribution according to BMI in women and older men, a significantly higher frequency of CA, AA or CA/AA was found in the higher BMI group than in the normal-weight group among middle-aged men.

No significant association was observed between the three genotypes and serum lipid, fasting glucose, insulin, HbA1c or HOMA-IR levels in men and women (Table 5). The preproghrelin Leu72Met genotypes showed similar allele frequencies in diabetic individuals and in non-diabetic controls (data not shown).

Discussion

We observed that the frequency of the 72Met allele of the present cohort was 36.6%. It has been demonstrated that

Table 1 Distribution of Leu72Met genotype of preproghrelin gene of the subjects

	n	CC		CA		AA		CA/AA	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Total	2228	1412	63.4	728	32.7	88	4.0	816	36.6
Men*†	1121	709	63.3	371	33.1	41	3.7	412	36.8
Women	1107	703	63.5	357	32.3	47	4.3	404	36.5
Age (years) ^{‡§}									
40–49	562	364	64.8	177	31.5	21	3.7	198	35.2
50–59	556	357	64.2	177	31.8	22	4.0	199	35.8
60–69	560	359	64.1	180	32.1	21	3.8	201	35.9
70–79	550	332	60.4	194	35.3	24	4.4	218	39.6

*CC, CA, AA, men vs women, $\chi^2=0.6159$, $P=0.7350$; †CC, CA/AA, men vs women, $\chi^2=0.0160$, $P=0.8995$; ‡CC, CA, AA, age groups, $\chi^2=2.9716$, $P=0.8124$; §CC, CA/AA, age groups, $\chi^2=2.9149$, $P=0.4049$.

Table 2 Anthropometric variable of men according to age group and Leu72Met polymorphism of preproghrelin gene

	Middle aged (n = 563)								Older (n = 556)							
	CC		CA		AA		CA/AA		CC		CA		AA		CA/AA	
	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.
Weight (kg)	64.6	0.5	65.6	0.7	67.5	2.0	65.8	0.6	59.7	0.5	59.1	0.6	57.2	1.9	58.9	0.6
Weight at 18 years (kg)	56.9	0.4	56.4	0.5	57.2	1.5	56.5	0.5	55.3	0.4	54.5	0.5	55.4	1.5	54.6	0.5
Weight change from 18 years (kg)	7.7	0.4	9.2	0.6	10.3	1.7	9.3	0.5 [*]	4.6	0.5	4.9	0.7	1.8	2.1	4.6	0.7
Height (cm)	167.0	0.3	167.2	0.4	166.3	1.4	167.2	0.4	162.0	0.3	161.9	0.4	161.7	1.2	161.9	0.4
BMI (kg/m ²)	23.1	0.1	23.4	0.2	24.4	0.6	23.5	0.2 [†]	22.7	0.2	22.5	0.2	21.9	0.6	22.4	0.2
Waist circumference (cm)	82.2	0.4	83.4	0.6	84.9	1.8	83.6	0.6 [‡]	82.4	0.5	82.1	0.6	80.5	1.9	81.9	0.6
Hip circumference (cm)	92.2	0.3	92.7	0.4	93.4	1.1	92.8	0.3	90.0	0.3	89.6	0.4	88.7	1.1	89.5	0.3
Waist-hip-ratio	0.891	0.003	0.899	0.004	0.907	0.012	0.899	0.004 [§]	0.913	0.003	0.914	0.005	0.904	0.014	0.913	0.004
Fat mass (kg)	20.6	0.2	21.2	0.3	20.8	1.0	21.2	0.3	21.9	0.2	22.0	0.3	22.1	0.9	22.0	0.3

Except for *, †, ‡ and §, no significant trends and differences were detected among three groups (CC, CA and AA) and between two groups (CC and CA/AA). * $P=0.013$ (CC vs CA/AA); † $P=0.049$ (trend); ‡ $P=0.038$ (CC vs CA/AA); § $P=0.062$ (CC vs CA/AA). Analysis of variance and the Tukey–Kramer *post hoc* test or the unpaired Student's *t*-test between two groups. BMI = Body mass index.

Table 3 Anthropometric variable of women according to age group and Leu72Met polymorphism of preproghrelin gene

	Middle aged (n = 553)								Older (n = 552)							
	CC		CA		AA		CA/AA		CC		CA		AA		CA/AA	
	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.
Weight (kg)	53.9	0.4	53.9	0.6	54.4	1.6	54.0	0.6	50.8	0.4	50.9	0.6	52.4	1.7	51.1	0.6
Weight at 18 years (kg)	48.8	0.3	49.1	0.4	49.2	1.2	49.1	0.4	47.9	0.4	47.7	0.5	49.2	1.4	47.8	0.5
Weight change from 18 years (kg)	5.2	0.4	4.8	0.6	5.2	1.6	4.9	0.5	3.0	0.5	3.2	0.7	3.1	1.9	3.2	0.7
Height (cm)	154.0	0.3	154.1	0.4	154.4	1.0	154.1	0.3	148.5	0.3	148.6	0.4	147.9	1.2	148.5	0.4
BMI (kg/m ²)	22.7	0.2	22.7	0.2	22.8	0.7	22.7	0.2	23.0	0.2	23.0	0.2	24.1	0.7	23.2	0.2
Waist circumference (cm)	73.5	0.5	73.4	0.6	73.4	1.7	73.4	0.6	76.4	0.5	77.5	0.7	77.8	2.0	77.5	0.7
Hip circumference (cm)	91.5	0.3	91.5	0.4	90.9	1.1	91.4	0.4	89.8	0.3	89.9	0.4	90.8	1.2	90.0	0.4
Waist-hip-ratio	0.802	0.003	0.801	0.005	0.806	0.012	0.802	0.004	0.849	0.004	0.860	0.005	0.855	0.014	0.860	0.005
Fat mass (kg)	30.7	0.3	30.3	0.4	30.5	1.0	30.3	0.3	32.3	0.3	32.7	0.4	33.3	1.1	32.7	0.4

No significant trends and differences were detected among three groups (CC, CA and AA) and between two groups (CC and CA/AA). Analysis of variance and the Tukey-Kramer *post hoc* test or the unpaired Student's *t*-test between two groups. BMI = Body mass index.

Table 4 Distribution of Leu72Met genotype of preproghrelin gene

	n	CC		CA		AA		CA/AA		P	P*
		n	%	n	%	n	%	n	%		
All age groups											
Men											
BMI < 25 kg/m ²	854	546	63.9	280	32.8	28	3.3	308	36.1	0.411	0.393
BMI ≥ 25 kg/m ²	267	163	61.1	91	34.1	13	4.9	104	39.0		
Women											
BMI < 25 kg/m ²	866	558	64.4	273	31.5	35	4.0	308	35.6	0.454	0.224
BMI ≥ 25 kg/m ²	241	145	60.2	84	34.9	12	5.0	96	39.8		
Middle ages (younger than 60 years)											
Men											
BMI < 25 kg/m ²	413	280	67.8	123	29.8	10	2.4	133	32.2	0.032	0.036
BMI ≥ 25 kg/m ²	151	88	58.3	54	35.8	9	6.0	63	41.7		
Women											
BMI < 25 kg/m ²	446	288	64.6	139	31.2	19	4.3	158	35.4	0.694	0.395
BMI ≥ 25 kg/m ²	108	65	60.2	38	35.2	5	4.6	43	39.8		
Older (60 years or older)											
Men											
BMI < 25 kg/m ²	441	266	60.3	157	35.6	18	4.1	175	39.7	0.692	0.394
BMI ≥ 25 kg/m ²	116	75	64.7	37	31.9	4	3.5	41	35.3		
Women											
BMI < 25 kg/m ²	420	270	64.3	134	31.9	16	3.8	150	35.7	0.604	0.389
BMI ≥ 25 kg/m ²	133	80	60.2	46	34.6	7	5.3	53	39.9		

P-value by the χ^2 analysis among groups CC, CA and AA. P*-value by the χ^2 analysis between groups CC and CA/AA. BMI = Body mass index.

the frequency of the 72Met allele of the preproghrelin gene is approximately 8% in the Caucasian population and approximately 2% in the black population in three different cohorts.¹⁰ Compared with these previous studies, the frequency of the 72Met allele in our Japanese cohort was much higher than that observed in Caucasian or African populations, probably reflecting genetic/ethnic heterogeneity.

The Leu72Met polymorphism of preproghrelin was previously found in a group of obese French children and

adolescents.⁹ In this case, a significant association was observed between the 72Met allele and earlier age of onset of obesity. Additionally, obese Italian children and adolescents with the preproghrelin 72Met allele have also been reported to become obese earlier than homozygous patients for the wild Leu72 allele, even though 72Met allelic frequency was similar between obese and control groups.⁸ These findings were not confirmed, however, in a group of extremely obese German children.¹⁴ In addition, one report

Table 5 Metabolic variables and Leu72Met polymorphism of preproghrelin gene

	Men								Women									
	n	CC		CA		AA		CA/AA		n	CC		CA		AA		CA/AA	
		Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.		Mean	s.e.	Mean	s.e.	Mean	s.e.		
Total cholesterol (mmol) ^a	1044	5.48	0.03	5.49	0.05	5.42	0.14	5.48	0.04	996	5.83	0.03	5.92	0.05	5.83	0.14	5.91	0.05
Triglyceride (mmol) ^a	1027	1.48	0.04	1.53	0.06	1.32	0.16	1.51	0.10	977	1.20	0.03	1.23	0.04	1.21	0.10	1.23	0.04
HDL-C (mmol) ^a	1044	1.49	0.01	1.48	0.02	1.49	0.06	1.48	0.02	996	1.71	0.02	1.71	0.02	1.71	0.06	1.71	0.02
LDL-C (mmol) ^a	1035	3.40	0.03	3.42	0.05	3.36	0.13	3.42	0.04	980	3.57	0.03	3.63	0.05	3.62	0.14	3.63	0.05
Lipoprotein (a) (mmol) ^a	1034	0.39	0.02	0.37	0.03	0.35	0.07	0.37	0.02	980	0.40	0.02	0.46	0.03	0.33	0.07	0.44	0.02
Glucose (mmol) ^b	1049	5.71	0.04	5.74	0.05	5.91	0.15	5.75	0.05	1051	5.51	0.03	5.52	0.05	5.20	0.13	5.49	0.04
Insulin (μ U/ml) ^b	1048	8.28	0.22	8.21	0.31	7.63	0.91	8.15	0.29	1050	8.23	0.19	8.57	0.27	8.02	0.74	8.51	0.25
HbA1c (%) ^b	1064	5.21	0.02	5.26	0.03	5.41	0.10	5.28	0.03	1071	5.16	0.02	5.15	0.03	5.06	0.07	5.14	0.02
HOMA-IR ^b	1048	2.20	0.08	2.13	0.11	2.06	0.33	2.13	0.11	1050	2.07	0.06	2.20	0.09	1.88	0.26	2.16	0.09

^aAnalysis of subjects who were not under lipid treatment. Adjusted for age. ^bAnalysis of subjects who were not on oral hypoglycemic agents or insulin. Adjusted for age. No significant differences were observed in any metabolic values among three different genotypes (CC, CA and AA) or between CC and CA/AA. Analysis of variance and the Tukey-Kramer *post hoc* test or the unpaired Student's *t*-test between two groups. Abbreviations: HDL, high-density lipoprotein; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; LDL, low-density lipoprotein.

suggests that preproghrelin 72Met carrier status may be protective against fat accumulation.¹⁰ A limited number of observations have been made on the relationship between preproghrelin Leu72Met polymorphism and overweight/obesity in middle-aged subjects, and no report has been published to date on older subjects. In a Swedish middle-aged female obese cohort, no difference of 72Met allele frequency was observed between obese subjects and controls.⁷ However, the self-reported age of onset of weight problems tended to be lower among 72Met allele carrier obese subjects than among those without this allele.

In the present study, we observed a significant effect of the preproghrelin variant on overweight/obesity only in middle-aged men, as the 72Met allele was more commonly observed among overweight/obese middle-aged men. We also demonstrated that body weight change from weight at 18 years of age is associated with Leu72Met variants, given that middle-aged men with the 72Met allele had a greater body weight change than Leu72 homologous subjects. Similar trends were also observed for BMI, waist circumference and WHR in middle-aged men, but not in older men or in women when our population was subdivided into three subgroups according to preproghrelin genotype. Consequently, the 72Met allele may contribute to body weight change from adolescence to middle age in men but not in women. We observed the absence of the effect of Leu72Met genotypes on the anthropometric measurements in older man. Although we do not know the exact reasons, the effects of aging or environmental influences may overcome the genetic influence on the anthropometric measurements. The limitation of our study is that the weight at 18 years was recalled by the participants in the present study, as the documented measurements of weight at 18 years of age were not available. Although several studies have observed that adults are able to recall their earlier weights fairly accurately,¹⁵ it is possible that the reported weight might not be accurate or under-reported. In fact, it has been reported that overweight

women underestimated their earlier weights and that lean men overestimated their earlier weight.¹⁶

Based on recent studies, it appears that ghrelin may play a role in the glucose and lipid metabolisms. However, only limited data are currently available with regard to the effect of ghrelin polymorphism on these metabolisms. It has been reported that Leu72Met polymorphism is associated with triglyceride or lipoprotein (a) levels.^{10,17} In the present study, however, we observed no association between serum lipid levels, fasting glucose, insulin, HbA1c or HOMA-IR levels and preproghrelin Leu72Met genotypes.

In the present study of a community-dwelling Japanese middle-aged to elderly cohort, we demonstrated that the 72Met allele of the preproghrelin gene is a contributing factor for midlife weight change in men but not in women or elderly men. However, Leu72Met polymorphism was not found to be associated with the metabolic variables studied.

Acknowledgements

This work was supported by Research Grants for Longevity Sciences (H15-Shi-02) from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan.

References

- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656–660.
- Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908–913.
- Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5992–5995.
- Inui A, Asakawa A, Bowers CY, Mantovani G, Laviano A, Meguid MM et al. Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging

- role of the stomach as an endocrine organ. *FASEB J* 2004; 18: 439–456.
- 5 Pöykkö SM, Kellokoski E, Hörkö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2546–2553.
 - 6 Purnell JQ, Weigle DS, Breen P, Cummings DE. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5747–5752.
 - 7 Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Snyder EE, Chagnon M, Sjöström L *et al*. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3996–3999.
 - 8 Miraglia del Giudice E, Santoro N, Cirillo G, Raimondo P, Grandone A, D'Aniello A *et al*. Molecular screening of the ghrelin gene in Italian obese children: the Leu72Met variant is associated with an earlier onset of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 447–450.
 - 9 Korbonits M, Gueorguiev M, O'Grady E, Lecoœur C, Swan DC, Mein CA *et al*. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4005–4008.
 - 10 Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Perusse L, Rankinen T, Tschöp M *et al*. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obes Res* 2002; 10: 782–791.
 - 11 Shimokata H, Ando F, Niino N. A new comprehensive study on aging – the National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging (NILS-LSA). *J Epidemiol* 2000; 10 (1 Suppl): S1–S9.
 - 12 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412–419.
 - 13 Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H. Association of polymorphisms of the osteoprotegerin gene with bone mineral density in Japanese women but not men. *Mol Genet Metab* 2003; 80: 344–349.
 - 14 Hinney A, Hoch A, Geller F, Schafer H, Siegfried W, Goldschmidt H *et al*. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2716–2719.
 - 15 Troy LM, Hunter DJ, Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. The validity of recalled weight among younger women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19: 570–572.
 - 16 Must A, Willett WC, Dietz WH. Remote recall of childhood height, weight, and body build by elderly subjects. *Am J Epidemiol* 1993; 138: 56–64.
 - 17 Ukkola O, Kesäniemi YA. Preproghrelin Leu72Met polymorphism in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Intern Med* 2003; 254: 391–394.

地域在住中高者年の骨代謝マーカーによる 骨量減少/骨粗鬆症予測

竹村真里枝¹⁾・松井康素¹⁾・原田 敦¹⁾・安藤富士子²⁾
下方浩史²⁾

はじめに

急速に高齢化が進む現在、骨粗鬆症による脆弱性骨折は、高齢者のQOL(quality of life)を著しく低下させるため、大きな社会問題の一つである¹⁾。

骨密度(BMD)は加齢で減少し、低骨密度は骨折危険因子の一つであることはよく知られている^{2,3)}。また、骨代謝マーカーは、骨粗鬆症や脆弱性骨折リスクの予測因子として期待される⁴⁾一方、日常臨床応用意義についてはまだ議論が多く、またわが国における長期縦断研究もまだ少ない。今回、我々は地域在住中高年者を対象にして、骨代謝マーカーが将来の骨粗鬆症の発症を予測できうるかについて検討した。

1 対象と方法

国立長寿医療センター研究所疫学研究部では、1997年11月からセンター周辺(愛知県大府市、知多郡東浦町)の地域住民から年齢、性別で層化して無作為抽出法で選出した、ベースライン調査時の年齢が40~79歳の男女計約2,400人を対象に、老化に関する包括的な疫学調査である『国立長寿医療センター研究所・老化に関する長期縦断疫学研究(NILS-LSA: National Institute for Longevity Sciences-Longitudinal

Study of Aging)』を縦断的(2年ごと)に実施している⁵⁾。

本研究では第1次調査(1997年11月~2000年4月)と、6年後の第4次調査(2004年6月~2006年7月、本研究では2006年3月までに調査完了した者について解析した)に参加した者のうち、骨代謝に影響する疾患治療歴、薬剤使用のある者は除外して、第1次調査と第4次調査ともに骨密度測定を受け、第1次調査時に骨代謝マーカーを測定した、男女計1,182名を対象とした。

調査項目として、dual energy X-ray absorptiometry(DXA: Hologic QDR 4500)にて、第2~4腰椎および右大腿骨頸部の骨密度測定を行った。日本骨代謝学会の原発性骨粗鬆症の診断基準⁶⁾に従い、骨密度が若年成人平均値80%未満である場合を骨量減少/骨粗鬆症と判定した。さらにベースライン調査時の血清、尿にて、骨形成マーカーとしてオステオカルシン(OC: EIA法)、骨型アルカリフォスファターゼ(BAP: EIA法)、骨吸収マーカーとして尿中I型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTX: ELISA法)、デオキシピリジノリン(DPD: EIA法)を測定した。

統計学的検討として、まず地域在住中高年者の骨代謝マーカー値の性別、年代別分布を求

Biochemical Markers of Bone Turnover Predict Osteoporosis in Middle Aged and Elderly Japanese Dwelling at community

Marie Takemura: National Center for Geriatrics and Gerontology, et al.

Key words: Biochemical markers of bone turnover, Osteoporosis, Epidemiology

¹⁾ 国立長寿医療センター整形外科, ²⁾ 国立長寿医療センター疫学研究部