

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業

(国際医学協力研究事業)

肥満関連疾患のアジアと米国における遺伝疫学的検討と
その対策に関する研究 (H23-国医一指定-005)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行物・別刷

研究代表者 川上 正舒

平成 24 年(2012)年 5 月

目次

I.	総括研究報告書	
	肥満関連疾患のアジアと米国における遺伝疫学検討とその対策に関する研究	… 1
	川上正舒	
II.	分担研究報告	
1	ベトナムにおけるメタボリックシンドローム構成要素の地域差	… 7
	河野幹彦・豊島秀男	
2	ベトナムでの遺伝子と肥満に関する研究 2-1	… 9
	カンボジア国立小児病院での病院給食に関する研究 2-2	…17
	山本 茂	
3	「メタボリックシンドロームの研究調査」	…22
	船橋 徹	
4	メタボリックシンドロームのアジアと米国における発生機序とその健康対策に関する研究	…24
	稲垣暢也	
5	骨格筋細胞内脂肪測定に関する基礎的検討	…27
	島野 仁	
6	一般住民におけるsdLDLコレステロールとその他の血清脂質との関連：JMSコホート研究	…33
	石川鎮清	
7	動脈硬化進展に対する脂質関連リスクと生活習慣の関連の検討	…36
	山下静也	
8	高齢者糖尿病患者のPhysical Activity（生活活動強度）による危険因子との関連 ーメタボリック・シンドロームにおける検討ー	…38
	大内尉義	
9	生活習慣病の発症リスクにおける血中アディポネクチンの意義	…44
	健常者における血中レベルと血圧との関連	
	松澤佑次	
10	肥満症の疫学研究調査	…46
	渡邊 昌	
11	レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ変異による病態と脂質異常の解析	…51
	齋藤 康・武城英明	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表（別冊）	
IV.	研究成果の刊行物 ・ 別刷（別冊）	

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金
地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）
総括研究報告書

肥満関連疾患のアジアと米国における遺伝疫学的検討とその対策に関する研究
研究代表者 川上 正舒 自治医科大学総合医学第 1 講座教授

研究要旨

本研究は、日本、米国および東南アジア諸国における栄養代謝に関わる諸問題について調査研究し、様々な問題の解決についての方策を立てることを目的とする。平成 24 年 2 月 4 日には当研究事業の日本班研究員 14 名による班会議を開催し、本年度の総括、研究成果発表と討論を行った。

日本班研究員の研究要旨を記載する。

1) ベトナムにおける肥満関連疾患の地域差と遺伝子の研究

(1) ベトナムにおけるメタボリックシンドローム (MetS) 構成要素の比較検討

ベトナムの 4 地域（都市部、農村部、山岳部、沿岸部）の 25～74 歳の男女において、メタボリックシンドローム (MetS) の構成要素について比較検討すると、都市部では他の 3 地域にくらべ MetS 構成要素が明らかに多かった。

(2-1) ベトナムにおける遺伝子と肥満との関連

閉経後ベトナム女性においてはエストロゲン受容体 1 など肥満関連遺伝子と肥満との関連について検討すると、エストロゲン受容体 1 とビタミン D 受容体 (VDR)、また脱共役たんぱく質 (UCP) 2-VDR ApaI 相互作用が過体重や肥満と関連していた。

(2-2) カンボジア国立小児病院での病院食に関する研究

カンボジア国立小児病院に入院中の小児患者対象に、病院給食システム構築による病院食の改善を行った。患者及び家族へのアンケートの結果、満足度の改善は得られたが、幼少児においては食事を残すものが見られ、食事量の増加及び食事の質の変化による可能性が示唆された。

2) 韓国における血中アディポネクチン (APN) 値と脂肪蓄積分布との関連

韓国人肥満者における血中 APN 濃度と腹部内臓脂肪面積 (VFA)、皮下脂肪面積 (SFA) との関係では、血中 APN 濃度は BMI、SFA とは相関を認めず、VFA と逆相関を認め、肥満の中でも内臓脂肪蓄積が低 APN 血症に関わることが示された。

3) 基礎エネルギー代謝量 (BEE) に影響を及ぼす因子の検討

食事及び薬物療法を受けた 58 人の 2 型糖尿病患者の BEE に寄与する因子を評価すると、除脂肪量、脂肪量、内因性インスリン分泌能、インスリン治療、脈拍数の項目が BEE を規定する独立因子であることが判明した。特に内因性インスリン分泌能とインスリン投与は、BEE を抑制する独立した因子であることが示唆された。

4) 異所性脂肪蓄積とインスリン抵抗性との関連

骨格筋細胞内脂肪蓄積 (IMCL) とインスリン抵抗性との関係を MRI により検討すると、IMCL は BMI、体脂肪量、インスリン抵抗性指数と正の相関が認められた。

5) 動脈硬化の発症進展における代謝異常の影響

(1) 一般住民における small dense LDL (sdLDL) と他の血清脂質との関連

糖尿病 (DM) の有無では、HDL コレステロール (HDL-C)、総コレステロール (TC)、LDL コレステロール (LDL-C) は男女とも DM(-)の方が DM(+)より高値であったが、sdLDL コレステロール (sdLDL-C) は、男性で DM(-)が DM(+)より高く、女性では逆であった。一方、MetSの有無では、HDL-C は男女とも MetS(-)が MetS(+)より高値であったが、LDL-C と sdLDL-C は男女とも MetS(+)が MetS(-)より高値であった。

(2) 動脈硬化進展に対する脂質関連リスクと生活習慣との関連

初期動脈硬化の指標としての頸動脈中内膜厚 (IMT) を検討すると、アポ蛋白 B48 が早期頸動脈硬化の有意なリスクであり、特に正脂血症者において有用なマーカーとなると考えられた。また、喫煙と LDL-C が独立した危険因子であった。IMT 値に有意な人種差は認めなかった。

6) 高齢者糖尿病における生活活動強度と MetS 危険因子との関連

高齢者糖尿病患者における MetS の危険因子を検討すると、摂取カロリー量よりも身体活動度の低下が大きく関与していることが明らかとなった。

7) アディポネクチンと MetS

血中アディポネクチンは正常血圧内でも収縮期、拡張期血圧にも影響することが明らかとなった。

8) 肥満関連疾患に対する予防法・治療法の探索

人間ドックを反復受診している一般住民のデータから境界型耐糖能異常からの糖尿病発症にはインスリン分泌不全が先行し、インスリン抵抗性が加わることでリスクが7倍に上昇することが示された。

新規治療法開発のための病態解析と薬効評価の検索のために、LCAT 遺伝子異常とその病態やリポ蛋白異常との関連をゲルろ過により分画とその脂質組成を解析した。その結果、超低比重リポ蛋白、低比重リポ蛋白分画領域に LCAT 欠損症に伴う腎機能障害と関連する異常蛋白が存在し、蛋白制限食ではなく脂質制限食がその病態を改善することが示された。

分担研究者

齋藤 康（千葉大学学長）、松澤佑次（財団法人住友病院病院長）、渡邊 昌（国立健康・栄養研究所客員研究員）、大内尉義（東京大学教授）、稲垣暢也（京都大学教授）、武城英明（千葉大学教授）、山本 茂（お茶の水女子大学教授）、島野 仁（筑波大学教授）、山下静也（大阪大学准教授）、船橋 徹（大阪大学准教授）、石川鎮清（自治医科大学准教授）、豊島秀男（自治医科大学准教授）、河野幹彦（自治医科大学教授）

A. 研究目的

本研究事業は、1966年に発足した日米医学協力計画事業の1つとして、東南アジア諸国における栄養代謝に関わる調査研究を目的に設立されたものである。当初は栄養異状部会として、当該地域におけるビタミン欠乏等の低栄養に伴う健康障害の調査とその改善が重要課題であった。しかし、1990年代から東南アジア諸国においても過栄養に起因する肥満関連疾患や動脈硬化性疾患が急増し社会的問題となっていることから、1997年に栄養・代謝部会と改名された。栄養代謝に関わる諸問題には、分子生物学的な病態解明の研究とともに、食習慣を含めた生活習慣、経済的背景などを把握し各地域の特徴に沿った対策を確立する必要がある。平成22年度もこれまでと同様、栄養学、代謝学に関わる米国の代表的研究者と密接な交流を図るとともに、疫学共同研究を通して東南アジアの政府機関と太いパイプを構築してきた。外国における疫学調査、特に本研究で計画している遺伝子解析を含む研究は現地の研究機関の積極的な協力を必要とするが、本研究申請者および分担研究者は、ベトナム厚生省、政府研究機関および医科大学と20年以上の協力関係にある。また、申請者は、大学院生や研究生としてベトナム人留学生を受け入れて教育にも寄与しており、既に5名が我が国の医学博士や家政学博士を取得し、ベトナム国立栄養研究所やホーチミン栄養センターの要職を得て活動し、本研究の円滑な遂行に貢献している。

B. 研究方法

栄養疫学的調査研究および臨床病態学的研究を中心として行い、これに分子遺伝学、細胞生物学的手法による検討を加え、多施設による分担で行った。本年度に行われた研究について研究結果として記載する。

（倫理面への配慮）

本研究における倫理面に対する配慮は、臨床研究に関する倫理指針（平成20年厚生労働省告示第415号）、疫学研究に関する倫理指針（平成20年文部科学省・厚生労働省告示第1号）、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成20年文部科学省・厚生労働省告示第1号）を遵守し、主任および分担研究者所属各施設の倫理委員会で承認された倫理規定を遵守するとともに、あらかじめ当該研究機関の長等への承認、届出、確認のもとに行われた。ベトナムやカンボジア、韓国においては国の基準を留意した当該研究施設の倫理規定を遵守した。

C. 研究結果

1) ベトナムにおける肥満関連疾患の地域差と遺伝子の研究

（1）ベトナムにおけるメタボリックシンドローム（MetS）構成要素の地域差

ベトナムの4地域（都市部、農村部、山岳部、沿岸部）の住民を対象として、各地域の調査人数および男女数、年齢構成をほぼ同数とした25～74歳の男女において、MetSの構成要素について比較検討すると、都市部では他の地域に比べ、BMI、腹囲、空腹時血糖、総及びLDL-コレステロール、中性脂肪が高値であった。収縮期血圧は沿岸部で低く、拡張期血圧は山岳部で高かった。HDL-コレステロールには地域差は認められなかった。全地域のMetSの頻度は18.4%（男性14.0%、女性22.6%）であり、年齢が高くなるに従い増加した。都市部では他地域に比べMetSの頻度が明らかに高かった。さらなる解析を進めることにより各地域の保健行政への貢献が期待できる（河野、豊島、川上論文）。

（2-1）ベトナムにおける遺伝子と肥満との関連

閉経後ベトナム女性140名においてエストロゲン受容体1などの遺伝子とBMIとの関連を検討すると、エストロゲン受容体1のTC genotypeを有する者はTT genotypeを有する者より有意に体脂肪が高かった。ビタミンD受容体（VDR）遺伝子のBsmIとApaIのSNPsは有意に過体重と肥満に関連していた。また、脱共役たんぱく質（UCP）2-VDR ApaI相互作用は過体重と肥満になりやすかった（山本論文）。

(2-2) カンボジア国立小児病院での病院食に関する研究

カンボジア国立小児病院（プノンペン市）入院中の小児患者 409 名を対象に、病院給食システム構築による病院食の改善を行った。改善前の 1 日 2 食（10 円）、1 食 73kcal、蛋白 6g、脂質 1g、糖質 9g を、改善後は 1 日 3 食（80 円）、1 食 551kcal、蛋白 38g、脂質 19g、糖質 47g とした。患者及び家族へのアンケートの結果、満足度の改善は得られたが、幼少児においては食事を残すものが見られ、食事量の増加及び食事の質の変化による可能性が示唆された。給食部門職員などの院内スタッフの指導および人材育成、導、献立や給食システムの改善が必要である（山本論文）。

2) 韓国における血中アディポネクチン（APN）値と脂肪蓄積分布

糖尿病、高血圧、脂質異常などの投薬治療を受けていない BMI 25 以上の韓国人肥満者（男性 13 名、女性 55 名、年齢 33.4±8.4 歳）を対象に血中高分子アディポネクチン（HMW-APN）濃度と CT スキャンにより評価した腹部内臓脂肪面積（VFA）、皮下脂肪面積（SFA）との関係を検討した。その結果、血中 APN 濃度、血中 HMW-APN 濃度は、VFA と正相関を認めたが、BMI や SFA とは有意な相関は認めなかった。今回の検討で血中 APN 濃度、血中 HMW-APN 濃度の低下も BMI より内臓脂肪蓄積と関連することが明らかになった。肥満度より内臓脂肪の過剰蓄積が脂肪細胞機能異常に関係する可能性が考えられ、この観点からも蓄積した内臓脂肪を減少させることは重要と思われる（船橋論文）。

3) 基礎エネルギー代謝量（BEE）に影響を及ぼす因子の検討

食事療法には適切な必要エネルギー量の設定が重要である。BEE は、総エネルギー代謝の 60～75% と多くを占めるが、それに寄与する因子の検討はなされていない。本研究では、日本人 2 型糖尿病患者 58 名を対象に入院 7 病日以後に間接熱量計を用いて BEE を測定し、それに寄与する因子の検討を行った。二重 X 線吸収測定法と生体電気インピーダンス法を用いて除脂肪体重（FFM）、脂肪量（FM）を評価した。入院中の HbA1c、グルカゴン負荷試験、BMI、脈拍数、糖尿病治療薬内容、糖尿病罹病期間、入院中の摂取食事カロリーなどのデータを収集し、BEE に寄与する因子を多変量解析で評価した。その結果、BEE を規定する独立

した因子として FFM ($P < 0.001$) と FM ($P < 0.006$) に加えて、グルカゴン負荷 6 分後の C ペプチド値 ($P < 0.015$)、インスリン治療 ($P = 0.012$)、脈拍数 ($P = 0.011$) が認められた。これらの項目による説明変数は 83.4% であった。特に内因性インスリン分泌能（グルカゴン負荷 6 分後の C ペプチド）とインスリン投与は、BEE を抑制する独立した因子であることが示唆された。内因性インスリン分泌能とインスリン治療が基礎代謝量を低下させる理由としては、エネルギー消費の高い糖新生を抑制するためと推測された（稲垣論文）。

4) 異所性脂肪蓄積とインスリン抵抗性との関連

骨格筋細胞内脂肪蓄積（IMCL）とインスリン抵抗性との関係を 20 名を対象として MRI により検討すると、同一筋肉内においても部位により IMCL 値のばらつきは大きかったが、同一部位での測定値においての精度は良好であった。IMCL 値は BMI、体脂肪量、インスリン抵抗性指数と正の相関が認められたが、体脂肪量とは相関が認められなかった。また、肝酵素 ALT はインスリン抵抗性指数と正の相関が認められた（島野論文）。

5) 動脈硬化の発症進展における代謝異常の影響

(1) 一般住民における small dense LDL (sdLDL) と他の血清脂質との関連

JMS コホート研究のデータを用いて一般住民 2,340 名（男性：1,117 名、平均年齢 64.8 歳、女性：1,223 名、平均年齢 63.7 歳）における sdLDL コレステロール（sdLDL-C）を含めた血清脂質との関連を、糖尿病（DM）またはメタボリックシンドローム（MS）の有無で検討した。DM の有無では、HDL コレステロール（HDL-C）、総コレステロール（TC）、LDL コレステロール（LDL-C）は男女とも DM(-)の方が DM(+)より高値であったが、sdLDL-C は、男性で DM(-)の方が DM(+)より高かった（38.2mg/dL vs 36.9mg/dL）が、女性では逆（34.7mg/dL vs 36.6mg/dL）であった。一方、MS の有無では、HDL-C は男女とも MS(-)の方が MS(+)より高値であったが、LDL-C、sdLDL-C は逆に MS(+)の方が MS(-)より高値であった（sdLDL-C；男性：35.7mg/dL vs 45.8mg/dL、女性：34.2mg/dL vs 42.4mg/dL）。また、sdLDL-C は中性脂肪と TC と正の相関が、HDL-C と負の相関が認められた（石川論文）。

(2) 動脈硬化進展に対する脂質関連リスクと生活習慣との関連

職員健診約 6,000 名(うち、東アジア人 101 名、その他の外国人 85 名)を対象に、頸動脈中内膜厚(IMT)と、外因性リポ蛋白マーカーとしてアポ蛋白 B48、酸化ストレスマーカーとして TBARS、生活習慣の関連、人種差の影響を検討した。その結果、アポ蛋白 B48 は早期頸動脈硬化の有意なリスクであり、特に正脂血症者において有用なマーカーとなると考えられた。TBARS は早期動脈硬化のマーカーとはならなかったが、腹部肥満に伴うメタボリックシンドロームのリスクの集積に関与した。また、IMT は 2 年間で有意に進行し、喫煙と LDL-C が独立した危険因子であった。IMT 値には有意な人種差は認めなかったが、IMT に関連する危険因子には差違が見られ、動脈硬化進展のリスクには人種差があり、アポ B48 と喫煙を中心としたリスクの検討が必要であると示唆された(山下論文)。

6) 高齢者糖尿病における生活活動強度とメタボリックシンドローム危険因子

J-EDIT(Japanese elderly diabetes intervention trial)に登録されている高齢者 2 型糖尿病患者 846 名(男性:408 名、平均年齢 71.5 歳、女性:438 名、平均年齢 72.2 歳)を対象にアンケートにより得られた生活活動強度をスコア化した。男女とも後期高齢者では前期高齢者にくらべスコアが低かった。スコアは空腹時血糖値とインスリン値、BMI、腹囲、たんぱく質および脂質摂取量と有意な負の相関を、HDL コレステロール値と正の相関を示したが、血圧や炭水化物および総カロリー摂取量とは相関がなかった。また、高齢者 2 型糖尿病患者のメタボリックシンドロームには摂取カロリー量よりも身体活動度の低下が大きく関与していることが明らかとなった。(大内論文)。

7) アディポネクチンとメタボリックシンドローム危険因子との関連

人間ドック受診者の中で、明らかな疾患を持っていない男性 12,363 名、女性 8,737 名を対象に血中アディポネクチンを測定し血圧との関連を検討すると、血中アディポネクチン値が高値を示す群では血圧が低く、血中アディポネクチン値は正常範囲の血圧でも肥満度や血糖値などの他の因子とは独立して血圧低下作用を示した。アディポネクチンの内皮機能改善作用、塩分負荷に対する防御作用以外などの作用を有する可能性が示唆された(松澤論文)。

8) 肥満関連疾患に対する予防法・治療法の探索 (1) 肥満症の疫学研究調査

2006 年度(ベースライン)人間ドック受診者の中から以後反復受診している 30~69 歳で 75gOGTT が非糖尿病型を呈する 3,039 名を対象に糖尿病発症リスクを検討した。対象者の 554 名(18.2%)が IGT、317 名(10.4%)が空腹時高血糖(IFG)、300 名(9.8%)が HbA1c(NGSP)6.0~6.4%であった。境界型耐糖能異常から糖尿病を発症する例のインスリン分泌指数はベースライン時に最も低く、最終受診時にはさらに低下していた。また、インスリン抵抗指数はベースライン時には他の群と差はなかったが、最終受診時には最も高かった。境界型耐糖能異常のままであった例のインスリン分泌指数はベースライン時にやや低かったが、最終受診時には最も上昇していた。また、インスリン抵抗指数はベースライン時には最も高かったが、最終受診時にはやや低下していた。境界型耐糖能異常から正常となった例のインスリン分泌指数はベースライン時に最も高く、最終受診時にはさらに上昇していた。また、インスリン抵抗指数はベースライン時には最も低く、最終受診時にはさらに低下していた。糖尿病発症リスクは、正常者に比べ、IGT では約 6 倍、IFG では約 13 倍、IGT+IFG では約 15 倍であった。また、糖尿病発症リスクは、インスリン分泌不全で約 5 倍、インスリン抵抗性で約 3 倍、その両方で約 7 倍であった。糖尿病発症リスクの早期発見と生活習慣の改善による減量が重要であった(渡邊論文)。

(2) 脂肪細胞移植による代謝性疾患新規治療法開発

糖尿病をはじめとする肥満関連疾患は世界中とりわけアジアで患者数が増加傾向にあり、その予防と治療は医療現場における最も重要な課題の一つである。本研究の最終目的はインスリンや酵素などの蛋白の遺伝子を導入した脂肪細胞を患者に自己移植することによる蛋白欠乏症に対する新規治療法の開発である。その臨床導入を目指すため、治療用組換え蛋白の存在しない稀な常染色体劣性遺伝性疾患である家族性レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)欠損症を対象とした治療法の開発に着手した。なお、低 HDL-コレステロール血症を呈する患者の約 30%が LCAT 遺伝子のヘテロ接合体と報告されている。本年度は、LCAT 遺伝子異常とその病態およびリポ蛋白異常との関連をゲルろ過による分画

とその脂質組成により解析した。その結果、超低比重リポ蛋白、低比重リポ蛋白分画領域に LCAT 欠損症に伴う腎機能障害と関連する異常蛋白が存在し、蛋白制限食ではなく脂質制限食がその病態を改善することが示された。低 HDL-コレステロール血症の治療法の開発と薬効評価には LCAT 遺伝子変異とリポ蛋白異常の検索が重要であることが示唆された（齋藤・武城論文）。

平成23年度厚生労働科学研究費補助金
地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）
分担研究報告書

ベトナムにおけるメタボリックシンドローム構成要素の地域差

研究分担者 河野 幹彦 自治医科大学 総合医学第1講座教授
研究分担者 豊島 秀男 自治医科大学 総合医学第1講座准教授
研究分担者 川上 正舒 自治医科大学 総合医学第1講座教授

研究要旨

ベトナムの4地域（都市部、農村部、山岳部、沿岸部）の25～74歳の男女において、メタボリックシンドローム（MetS）の構成要素について比較検討した。

4地域で25～74歳の住民をほぼ同数、ほぼ同比率の男女比、またほぼ同じ年齢構成を対象とした。BMI、腹囲、空腹時血糖、総およびLDL-コレステロール、中性脂肪は都市部で他の3地域に比べ高値であった。収縮期血圧は沿岸部で低く、拡張期血圧は山岳部で高かった。平均HDL-Cには地域差は認められなかったが、低HDL-C血症の割合は都市部と農村部で高かった。全地域におけるMetSの頻度は18.4%（男性14.0%、女性22.6%）であり、年齢が高くなるに従い頻度も増加した。都市部では他の地域よりMetSの頻度が明らかに高かった。

なお、この研究はベトナム国立栄養研究センターTruong Tuyet Mai博士らとの共同研究である。

A. 研究目的

ベトナムは経済を含めた地域差が大きく、住民の栄養状態も大きく異なる。今回、ベトナムの都市部、農村部、山岳部、沿岸部の4地域におけるメタボリックシンドローム（MetS）の構成要素を比較検討した。

B. 研究方法

ベトナムの都市部（ハノイ、ホーチミン）1,219名（男性596名、女性604名）、農村部（Red River Delta, Mekong River Delta）1201名（男性587名、女性614名）、山岳部（North Mountain, High Land Mountain）1,200名（男性575名、女性644名）、沿岸部（North Coast, South Coast）1,125名（男性539名、女性586名）を対象とした。年齢構成は、25～34歳910名（男性439名、女性471名）、35～44歳951名（男性444名、女性507名）、45～54歳986名（男性468名、女性518名）、55～64歳961名（男性474名、女性487名）、65～74歳937名（男性472名、女性465名）で、BMI、血圧、空腹時血糖、総コレステロール（TC）、LDL-コレステロール（LDL-C）、HDL-コレステロール（HDL-C）、中性脂肪（TG）を測定した。

（倫理面への配慮）

本研究はベトナム国における共同研究施設の倫理規定に従い、被健診者の同意を得て行った。

C. 研究結果

1) BMI（表1）

平均BMIは全体で21.4、都市部＞農村部＞山岳部＞沿岸部の順に高かった。BMI18.5未満は全体で16.2%、都市部で8.4%と最も少なく、沿岸部で21.6%と最も多かった（都市部＜農村部＜山岳部＜沿岸部）。また、BMI25.0以上は全体で10.3%、都市部で18.4%と最も多く、沿岸部で6.7%と最も少なかった（都市部＞農村部＞山岳部＞沿岸部）。

表1. Vietnam Study
- BMI -

BMI	n	Urban	Rural	Mountain	Coast	Total
Mean	4745	22.7	21.3	21.0	20.7	
<18.5	771	8.4	15.9	18.6	21.6	16.2
18.5-22.9	2,747	51.3	58.9	60.9	60.0	57.9
23.0-24.9	738	21.8	15.5	13.7	11.6	15.6
25.0-29.9	446	16.2	9.3	6.2	6.3	9.4
≥30.0	43	2.4	0.3	0.6	0.4	0.9

(%)

2) 腹囲、血圧。空腹時血糖、脂質（表2）

(1) 腹囲：男性の平均腹囲は全体で75.5cm、都市部＞農村部＞沿岸部＞山岳部の順に、女性の平均腹囲は全体で72.5cm、

男性と同様に都市部>農村部>沿岸部>山岳部の順に大であった。

表2. Vietnam Study
- Waist, BP, FBG, Lipids -

	Urban	Rural	Mountain	Coast	Total
Waist (cm) M	81.4	74.6	72.0	73.1	75.5
F	78.0	72.0	68.7	70.1	72.5
SBP (mmHg)	125.7	127.2	126.2	120.5	125.4
DBP (mmHg)	76.9	76.5	80.9	75.5	77.5
FBG (mmol/L)	5.5	5.1	5.1	5.0	5.2
TC (mmol/L)	5.3	4.9	4.7	4.7	4.9
LDL-C (mmol/L)	3.3	2.9	2.7	2.8	2.9
TG (mmol/L)	2.1	1.8	1.5	1.4	1.7
HDL-C (mmol/L)	1.2	1.2	1.3	1.2	1.2

(Mean)

最も多く、農村部>沿岸部>山岳部の順に多かった。

表3. Vietnam Study
- Waist, FBG, Lipids -

	Urban	Rural	Mountain	Coast	Total
Waist ≥ 90 cm F ≥ 80 cm	26.8	9.6	6.9	6.4	12.2
FBG ≥ 6.1 mmol/L	11.8	5.9	6.7	6.5	7.7
TC ≥ 5.2 mmol/L	44.3	27.3	24.8	21.1	29.1
LDL-C ≥ 3.38 mmol/L	43.5	21.4	19.9	20.5	26.0
TG ≥ 2.26 mmol/L	49.3	39.3	25.9	23.4	34.2
HDL-C < 0.9 mmol/L	34.8	33.3	23.5	26.1	29.3

(%)

(2) 血圧：平均収縮期血圧は全体で125.4mmHg、山岳部>農村部>都市部>沿岸部の順に、平均拡張期血圧は全体で77.5mmHg、山岳部>都市部>農村部>沿岸部>の順に高かった。

(3) 空腹時血糖：平均空腹時血糖は全体で5.2mmol/L、都市部>農村部=山岳部>沿岸部の順に高かった。

(4) 脂質：平均TCは全体で4.9mmol/L、都市部>農村部>山岳部=沿岸部の順に高かった。平均LDL-Cは全体で2.9mmol/L、都市部>農村部>沿岸部>山岳部の順に高かった。平均TGは全体で1.7mmol/L、都市部>農村部>山岳部>沿岸部の順に高かった。平均HDL-Cは全体で1.2mmol/L、山岳部>都市部=農村部=沿岸部の順に高かった。

3) 腹囲、空腹時血糖、脂質の異常頻度 (表3)

(1) 腹囲 (男性>90cm、女性>80cm)：平均異常頻度は12.2%、都市部で26.8%と著明に多く、農村部>山岳部>沿岸部の順に多かった。

(2) 空腹時血糖 (>6.1mmol/L)：平均異常頻度は7.7%、都市部で11.8%と著明に多く、山岳部>沿岸部>農村部の順に多かった。

(3) 脂質：TC (>5.2mmol/L)の平均異常頻度は29.1%、都市部で44.3%と著明に多く、農村部>山岳部>沿岸部の順に多かった。LDL-C (>3.38mmol/L)の平均異常頻度は26.0%、都市部で43.5%と著明に多く、農村部>沿岸部>山岳部の順に多かった。TG (>2.26mmol/L)の平均異常頻度は34.2%、都市部で49.3%と著明に多く、農村部>山岳部>沿岸部の順に多かった。HDL-C (<0.9mmol/L)の平均異常頻度は29.3%、都市部で34.8%と

D. 考察

ベトナム人においては都市部で他の地域に比べMetS構成要素を有する頻度が著明に増加している現状が明らかとなった。

E. 結論

都市部においてはMetSの頻度が西欧諸国と同頻度であること、さらに、経済発展が見込める他の地域においても今後MetSが急増する可能性があることから、国家的な対策が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特になし

研究報告書 2-1

平成23年度厚生労働科学研究費補助金
地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

ベトナムでの遺伝子と肥満に関する研究

Correlations between genetic variance and adiposity measures, and gene x gene interactions for obesity in postmenopausal Vietnamese women.

研究分担者 山本 茂 十文字学園女子大学大学院教授（国際栄養学）

研究要旨

(Background) Although environmental factors are important, there is considerable evidence that genes also have a significant role in the pathogenesis of obesity. In Hanoi and Ho Chi Minh City (Vietnam), the prevalence of overweight and obesity was about 30% in both sexes, and generally increased with age. Obesity and being overweight are also major risk factors for a number of chronic diseases and mental health problems, and these chronic health conditions become more prevalent in postmenopausal women. Thus, obese postmenopausal women stand at a crossroads between living the remainder of their lives in essential good health or facing the likely onset of chronic diseases that might have been prevented.

As a complex disorder, obesity includes both genetic and environmental factors in its pathogenesis. It is estimated that 40%-70% of the variation in body mass index (BMI) is heritable, which cultural and social factors may explain at least 30% of the variation. However, association studies have given inconsistent results due to population specificity and possible genetic effects masked by different gene x gene and gene x environment interactions. Thus, studies in different population are needed to confirm these relations. In addition, there is still a dearth of data on the genetic factors of obesity in Vietnam.

(Objective) we performed a population-based study to investigate the potential association of candidate genes with adiposity measures in postmenopausal Vietnamese women. In terms of individual gene and gene x gene interaction in models unadjusted and adjusted for covariates, we conducted a population-based study to investigate the relationship between candidate genes for obesity and adiposity measures).

(Methods) One hundred and forty healthy postmenopausal women were randomly selected from the rural population of Hai Duong province, Vietnam. All participants completed a structured questionnaire. Anthropometric measurements were collected. Peripheral blood samples were obtained from each woman and genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes, using amp DNA blocked kit (Qiagen GmmbH, Hilden, Germany). Genotypes were coded as 0, 1, and 2, depending on the number of copies of the risk alleles. Genotype frequencies were compared and tested for Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) by Pearson's χ^2 test or Fisher's exact test, as appropriate. A pairwise $|D^*|$ value (the absolute value for the disequilibrium parameter) that range from 0 (complete linkage equilibrium status) to 1.0 (complete LD status) among SNPs was measured using the software program SNP status (Sole *et al.* 2006). Haplotype frequencies for multiple loci were estimated by the expectation-maximization method, by use of the same software program SNP status.

Quantitative variables were checked for normal distribution and compared using one-way ANOVA or independent-sample t-test.

(Results) Postmenopausal women with TC genotype of ESR1 gene had higher body fat percentage than those with TT genotype in the models unadjusted and adjusted for the covariates ($P = 0.006$ in adjusted model).

In multiple logistic regression analysis, BsmI and ApaI SNPs of VDR genes were significantly associated with overweight and obesity.

The UCP2-VDR ApaI interaction to susceptibility of overweight and obesity was first observed from logistic regression analysis, and then confirmed in the multifactor dimensionality reduction method unadjusted and adjusted for the covariates. This interaction had 69.09% prediction accuracy for overweight and obesity ($P = 0.001$, sign test).

(Conclusion) The study suggests the significant association of ESR1 and VDR genes with adiposity measures and the UCP2-VDR ApaI interaction to susceptibility to being overweight and obesity in postmenopausal Vietnamese women.

分担者氏名：山本 茂
所属機関：十文字学園女子大学大学院
所属機関における職名：教授

A. 研究目的

Introduction

Obesity, which result from an imbalance between energy intake and expenditure, is an important cause of morbidity and mortality in developed countries, and is also becoming increasingly prevalent on the developing world. In Hanoi and Ho Chi Minh City (Vietnam), the prevalence of overweight and obesity was about 30% in both sexes, and generally increased with age (Walls *et al.* 2009). Obesity and being overweight are also major risk factors for a number of chronic diseases, including diabetes, cardiovascular diseases, osteoarthritis, cancer and mental health problems, and these chronic health conditions become more prevalent in postmenopausal women. Thus, obese postmenopausal women stand at a crossroads between living the remainder of their lives in essential good health or facing the likely onset of chronic diseases that might have been prevented (Comuzzie and Allison 1998).

As a complex disorder, obesity includes both genetic and environmental factors in its pathogenesis. It is estimated that 40%-70% of the variation in body mass index (BMI) is heritable, which cultural and social factors may explain at least 30% of the variation (Hill and Peter 1998; Dennis 2007). Environmental factors, including increased food intake and inactive lifestyle, play important role in the increase of body weight and obesity (Swinburn *et al.* 2009). Genetic factors affecting obesity are categorized by differed progress such as: appetite stimulating group (e.g. neuropeptide Y, leptin receptor, P proopiomelanocortin); energy expenditure group (e.g. uncoupling proteins); metabolism regulating group (e.g. beta-2 adrenergic receptor, beta-3 adrenergic receptor); and adipogenesis (e.g. peroxisome proliferator-activated receptor, vitamin D receptor, retinoid X receptor) (Bell *et al.* 2005). However, association studies have given inconsistent result due to population specificity and possible genetic effects masked by different gene \times gene and gene \times environment interactions (Cooper 2003). Thus, studies in different population are needed to confirm these relations. In addition, to the best of our knowledge, there is still a dearth of data on the genetic factors of obesity in Vietnam. Therefore, we performed a population-based study to investigate the potential association of common candidate genes with adiposity measures in postmenopausal Vietnamese women.

This is an initial study from Vietnam investigating: (i) the genotype distribution of the candidate genes

including uncoupling protein 1 (UCP1), uncoupling protein 2 (UCP2), alpha-2B adrenergic receptor (ADRA2B), beta-3 adrenergic receptor (ADRA3B), leptin receptor (LEPR), vitamin D receptor (VDR), and estrogen receptor 1 (ESR1) in the postmenopausal women; (ii) relationship between the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the selected genes and adiposity measures; and possible gene \times gene interaction for being overweight and obesity.

B. 研究方法

Materials and Methods

Subjects

One hundred and forty healthy postmenopausal women were randomly selected from the rural population of Hai Duong province, Vietnam. Of the 140 subjects in the study, 137 (98%) were farmer and manual workers, and the others were office clerks. All subjects were healthy women who did not smoke or drink alcohol. The mean (\pm SD) of age, age at menarche and age at menopause of the study group were 55.6 ± 3.8 , 16.7 ± 2.1 , and 47.7 ± 3.4 years, respectively. (倫理面での配慮)

The Ethic Committee of the National Institution of Nutrition, Vietnam, and the Ethic Committee of Tokushima University, Japan, approved the study. All participants provided written informed consent before entering the study.

Measurements

All participants completed a structured questionnaire. Data were collected on current age, age at menarche, age at menopause, ethnicity, educational level, occupation, medical and reproductive history, dietary, smoking and drinking history. Lifelong occupation was defined as the occupation that the subject changed most frequently in their life. Educational level was categorized in three groups, by number of years of schooling: low level (≤ 5 years), medium level (6-8 years), and high level (≥ 9 years). Dietary intake was measured by previous 24 h dietary recall method on three consecutive weekdays (Witschi 1998).

Anthropometric measurements including weight, height, waist and hip circumference, body fat percentage were collected. Body weight and height were measured in light clothing and without shoes to the nearest 0.1 kg and 0.1 cm respectively. Body mass index (BMI) was calculated as weight per square of height (Kg/m^2). Body fat percentage was measured by bioelectrical impedance method by using OMRON scale (HBF-351, Kyoto, Japan). Overweight and obesity were classified by the BMI-value recommendations of the World Health Organization (WHO Expert Consultation 2004) and the International Obesity Task Force for Asian a

nd Pacific Island populations, which corresponds to the BMI cutoffs of 23 and 25kg/m²(International Obesity Task Force 2002).

Genotyping

Peripheral blood samples were obtained from each woman and genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes, using amp DNA blood kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). PCR protocols and primers used for genotyping *UCP1*(rs1800592), *UCP2*(rs659366), *ADRA2B*(12Glu9), *ADRA3*(rs4994), *LEPR*(rs1137101), *ESR1*(*PvuII* and *XbaI*), and the common single nucleotide polymorphisms(SNPs), of *VDR* gene (*FokI*, *BsmI*, *Apal* and *TaqI*) were as described previously (Kadowaki *et al.* 1995; Sivenius *et al.* 2001; Nagai *et al.* 2003; Sesti *et al.* 2003; Binh *et al.* 2006; Mitra *et al.* 2006) with some modification (table 1).

Table 1. PCR protocols and primers for typing the polymorphisms of VDR genes

Gene	dbSNP ^a	Primers	Temp	Restriction enzyme	Allelesize(bp)
<i>FokI</i>	rs222870	5'-aggctggcctggcctgctctgctc-3' 5'-atgggacactgtctcttctcct-3'	60°C	<i>FokI</i>	C(F): 265bp T(F): 196bp+69bp
	OT				A(B): 822bp
<i>BsmI</i>	rs154410	5'-cacacagctacagatggctcagga-3' 5'-aacacagggagagcagcagc-3'	54°C	<i>BsmI</i>	C(b): 646bp+176bp
	GA				A(A): 746bp
<i>Apal</i>	rs797522	5'-cagcctggcagggcagc-3' 5'-gactctctatgctgagctca-3'	62°C	<i>Apal</i>	C(a): 532bp+214bp
	CA				T(T): 746bp
<i>TaqI</i>	rs731236	5'-cagcctggcagggcagc-3' 5'-gactctctatgctgagctca-3'	62°C	<i>TaqI</i>	C(t): 497bp+249bp
	TC				

^a Accession number of each polymorphism to dbSNP at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Statistical analysis

We coded genotypes as 0, 1, and 2, depending on the number of copies of the risk alleles. Genotype frequencies were compared and tested for Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) by Pearson's χ^2 test or Fisher's exact test, as appropriate. A pairwise |D'| value (the absolute value for the disequilibrium parameter) that range from 0 (complete linkage equilibrium status) to 1.0 (complete LD status) among SNPs was measured using the software program SNP status (Sole *et al.* 2006). Haplotype frequencies for multiple loci were estimated by the expectation-maximization method, by use of the same software program SNP status.

Quantitative variables were checked for normal distribution and compared using one-way ANOVA or independent-sample t-test. We used a general linear model (GLM) for one variate to evaluate the relationships between candidate genes and adiposity measures. The raw variables were adjusted by regression for covariates of age, years since menopause, educational level and total energy intake.

Gene × gene interactions were checked for normal distribution and compared using both the logistic regression model and the multifactor dimensionality reduction analysis, with and without controlling for the covariates. In the logistic regression, interactions were assessed using a likelihood-ratio test. Here, data are presented as odds ratios with 95 per cent confidence intervals (CI). The above statistical procedures were performed using SPSS version 16.0 (SPSS, Chicago, USA). Multifactor dimensionality reduction (MDR) analysis was used to detect gene × gene interaction

s to obesity and overweight. A detailed explanation on MDR has been provided elsewhere ((Hahn *et al.* 2003; Moore *et al.* 2006; Lou *et al.* 2007). Briefly, MDR is a genetically model-free and nonparametric alternative to logistic regression. MDR acts by reducing a set of multilocus genotypes to one dimension with two groups: a high-risk and a low-risk set of genotypes. A particular multilocus genotype can be declared to be high-risk if the ratio of number of cases to controls exceeds the expected proportion of cases in the total sample. By grouping the high-risk multilocus genotypes together and the low-risk genotypes together, the model is reduced to one dimension, i.e., essentially one variable with two possible values: high or low risk 2-locus genotypes. Models are evaluated on the testing balanced accuracy statistic (TBA), the cross-validation consistency (CVC), and the statistical significance of the model. The TBA measures how often individuals are correctly classified. We used 10000 permutations to determine the statistical significance of the best models. These data were analyzed using an extension of the MDR algorithm that includes adjustment for covariates, the generalized multifactor dimensionality reduction (GMDR, v. 0.7) software package (Lou *et al.* 2007).

C. 研究結果

Results

Genotype distribution of the candidate genes

Genotype frequency of the selected SNPs in the postmenopausal women is shown in Table 2. All SNPs were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.31$, except for *ADRB3*, $P = 0.076$). In the *UCP* gene, SNP rs1800592 (*UCP1*) and SNP rs659366 (*UCP2*) were in different LD block ($D' = 0.21$, $P = 0.001$). From four SNPs of the *VDR* gene, the polymorphisms at the 3' end of the gene (*BsmI*, *Apal* and *TaqI*) exhibited a strong linkage disequilibrium (with D' ranged from 0.91 to 0.99, $P < 0.001$), forming three frequent haplotypes: baT (66.6%), bAT (24.5%), Bat (5.7%), which jointly represent nearly 98% of all haplotypes. SNP rs222870 (*FokI*) was separated from the others in *VDR* gene by over 33 kb, with D' ranged from 0.014 to 0.096. In *ESR1* gene, the *PvuII* (rs2234693) and *XbaI* (rs9340799) polymorphisms are 45 bp apart and locate approximately 400 bp upstream of exon 2, and the two polymorphisms were in the same LD block ($D' = 0.99$, $P < 0.001$).

Correlations between genetic variance and adiposity measures

Table 2 shows the comparison of adiposity measures among genotypes of each candidate genes. No significant association was observed between the polymorphisms of the selected SNPs and weight, BMI, body fat percentage, waist circumference and waist-hip ratio, except for the *PvuII* polymorphism of *ESR1* gene (women with TC genotype had higher body fat percentage than those with TT genotype, $P = 0.036$). Moreover, the significant association between the *ESR1 PvuII* polymorphism and body fat percentage was consistently found after adjustment for age, years since menopause, educational level and total energy intake ($P = 0.006$, TC vs. TT) (Table 3). The significant associations were

Possible gene-gene interaction in predisposition of overweight and obesity

Table 5 summarizes the potential pairwise gene-gene interactions for overweight and obesity by logistic regression analysis. The *UCP2-VDR ApaI* interplay was the most significant interaction among all possible pairwise gene-gene interactions in the models unadjusted and adjusted for covariates (Table 5).

Table 6 presents the potential gene-gene interaction in predisposition of obesity and overweight among 11 polymorphisms, using GMDR analysis. From all possible pairwise interaction, the most significant gene-gene interplay was the *UCP2-VDR ApaI* interaction, which had 69.09% prediction accuracy for both overweight and obesity ($P = 0.001$, Sign test), and a maximum prediction accuracy increased up to 75.36% ($P = 0.0054$, on the basis of 10,000-fold permutation testing). The CVC (10/10) indicated consistency in the cross validation measures. This interaction remained essentially unchanged in the model adjusted for the covariates (age, years since menopause, educational level and total energy intake). The other possible interactions listed in Table 5 were not confirmed in MDR analysis. We could not detect significant gene-gene interaction in models for obesity with and without adjustment for the covariates.

Table 5. The possible pairwise gene-gene interactions for overweight and obesity by logistic regression analysis

Interacting SNPs	Model	CR(95%CI)	P-value for interaction	P-value for model fit(*)
<i>UCP2-VDR ApaI</i>	Unadjusted	0.10(0.02-0.42)	0.002	0.001
	Adjusted	0.09(0.02-0.39)	0.001	0.003
<i>ESR1 PvuII-VDR FokI</i>	Unadjusted	3.37(1.36-8.39)	0.009	0.006
	Adjusted	3.38(1.32-8.63)	0.011	0.023
<i>ESR1 XbaI-VDR ApaI</i>	Unadjusted	0.14(0.03-0.66)	0.013	0.004
	Adjusted	0.13(0.03-0.65)	0.013	0.017
<i>ESR1 XbaI-VDR FokI</i>	Unadjusted	0.37(0.15-0.96)	0.041	0.027
	Adjusted	0.35(0.13-0.95)	0.039	0.052
<i>ADRB3-VDR ApaI</i>	Unadjusted	0.14(0.02-0.83)	0.020	0.046
	Adjusted	0.10(0.01-0.65)	0.016	0.068

CR, odds ratio; CI, confidence interval.

Adjusted for age, years since menopause, educational level, and total energy intake.

(*) Omnibus tests of model coefficients: Model adequately fits the data if P -value < 0.05.

TABLE 6. Gene-gene interaction models for overweight and obesity

Interacting SNPs	Testing BA	CVC	P-value
Models for overweight and obesity ^a			
<i>UCP2-VDR ApaI</i>	0.6909	10/10	0.001
<i>UCP1-ADRA2B-ESR1 PvuII</i>	0.4564	3/10	0.623
Models for overweight and obesity ^b			
<i>UCP2-VDR ApaI</i>	0.6965	10/10	0.011
<i>UCP2-VDR ApaI-ESR1 XbaI</i>	0.4783	5/10	0.377

P -value was from the Sign test. BA, balanced accuracy; CVC, cross validation consistency.

^a Unadjusted; ^b Adjusted by age, years since menopause, educational level, and total energy intake.

D. 考察

Discussion

As obesity is polygenic disorder, we included in the study the candidate genes from different pathways composed of appetite stimulating gene (*LEPR*), energy expenditure group (*UCP1* and *UCP2*), metabolism re-

gulating group (*ADRA2B* and *ADRB3*), and adipogenesis (*VDR* and *ESR1*). Although the selected SNPs have been widely investigated in developed countries, it is the first report of the relationship between genetic factors and obesity, overweight in Vietnam. Among 11 SNPs studied, we observed the significant association of *ESR1* and *VDR* with adiposity measures and the *UCP2-VDR ApaI* interaction to susceptibility of overweight and obesity.

With regard to *ESR1* gene, postmenopausal women with TC genotype of had higher body fat percentage than those with TT genotype in our study. This significant association also remained essentially unchanged in the models unadjusted and adjusted for the covariates (age, years since menopause, educational level and total energy intake). Although it is not in line with previous reports that the *ESR1 PvuII* C allele and its associated genotypes and haplotypes were inversely associated with obesity in white postmenopausal women (Alessandra *et al.* 2009) and *ESR1 PvuII* polymorphism was not associated with body fat distribution and obesity in Japanese postmenopausal women (Okura *et al.* 2003), our observation can be explained by the report suggesting that the *ESR1 PvuII* C allele was associated with increased transcription of *ESR1* when compared with the common allele and thus presumably associated with higher relative levels of functional *ESR1* protein (Herrington *et al.* 2002). Further haplotype analysis showed that carriers with 1 px haplotype had higher body fat percentage than those with 2 px-haplotype in models unadjusted and adjusted for the covariates. This is consistent with the findings that plasma estradiol level decreased by 1.9 pmol/l per copy number of px haplotype in postmenopausal women (Schuit *et al.* 2005), since the effect of low estrogen on increased obesity has been linked to *ESR1* gene (Ohlsson *et al.* 2000). Furthermore *ESR1* plays a pivotal role in the regulation of food intake and energy expenditure by estrogens. The ventromedial nucleus (VMN) of the hypothalamus has a high density of estrogen-binding sites (Pfaff *et al.* 1973), and the neurons in this nucleus express *ESR1* at high levels (Li *et al.* 1993). The VMN lesion or ovariectomy both lead to increased food intake and body weight, suggesting that *ESR1* expressed in VMN neurons is an important player in the central control of body weight by estrogens. In addition, after *ESR1* silencing in the VMN, the mice displayed a higher increase in food consumption as early as 2 weeks after surgery, especially suppression of *ESR1* levels in the VMN of adult female animals triggered the development of metabolic syndrome marked by a profound increase in body weight and excess visceral fat (Musato *et al.* 2007).

In terms of *VDR* gene, no significant association was observed between the polymorphism of individual SNPs and BMI, which is consistent to a previous report in Caucasian postmenopausal women (Tworowska-Bardzińska *et al.* 2008). However, the significant associations were found in the *BsmI* and *TaqI* polymorphisms with BMI after adjustment for the covariates. In addition, the multiple logistic regression analysis indicated that the *BsmI* and *ApaI* polymorphisms were statistically significant associated with overweight and obesity

in both unadjusted and adjusted model, taken into account effect of the other SNPs. This points the limitation of single SNP-based association study.

One of the major findings of the present study is to detect the most significant *UCP2-VDR ApaI* interaction to susceptibility of overweight and obesity among all possible pairwise gene-gene interactions. This interaction was first observed from logistic regression analysis, and then confirmed in the MDR method unadjusted and adjusted for the covariates (age, years since menopause, educational level and total energy intake). This interesting observation can explain partly for the possible genetic effects masked by different gene-gene interaction leading to the controversial results in association studies. Although the molecular mechanisms underlying the interaction between *UCP2* gene and *VDR* gene remain to be explored, a prior study has reported suppression of *UCP2* expression by 1,25(OH)₂D₃ in human adipose tissues via the nuclear *VDR* (Shi *et al.* 2002) and a recent work has indicated that 1,25(OH)₂D₃ suppresses *UCP* expressions through direct gene regulation and that basal *UCP* expression is upregulated in the brown fat of *VDR* (-/-) mice. Thereby *VDR* interacts with UCPs in the pathogenesis of obesity, whereas the food intake is not significantly different between *VDR*-null mice and wild-type mice (Wong *et al.* 2009).

Because obesity is known as a lifestyle-related disorder, we took into account the analysis of both genetic factors and environmental factors, including: (1) reproductive status: age and years since menopause; (2) lifestyle factors: total energy intake, educational level and occupation. As all subjects were healthy women who did not smoke and drink alcohol and most of them (98%) were farmers and manual workers, we could eliminate the confounding factors of these variables in the all analysis models.

In the present study, we used the classification of overweight and obesity according to the recommendations of the World Health Organization (WHO Expert Consultation 2004) and the International Obesity Task Force for Asian and Pacific Island populations, which corresponds to the BMI cutoffs of 23 and 25 kg/m² (International Obesity Task Force 2002). These recommendations were based on the presence of excessive body fat and adverse effects on health (mortality and morbidity). Studies in Indonesia, Singapore, Japan and Hong Kong demonstrated that for the same BMI, Asians living in these countries had higher body fat percentage compared to age- and sex-matched Caucasians with the same BMI (Guricci *et al.* 1998; Deurenberg *et al.* 2000; Gallagher *et al.* 2000; Ko *et al.* 2001), while a recent study did not support it (Ho-Pham *et al.* 2010). Although there has been disagreement on this classification, many studies have supported the use of these cutoffs to classification of overweight and obesity for Asian populations (He *et al.* 2008; Yamada 2008; Ko *et al.* 2007). Further researches are required to derive a more appropriate BMI threshold for defining obesity and overweight for Asians.

The present findings must be interpreted in the context of several potential limitations. First, the most important limitation was the small sample size. Although

statistically significant genetic associations were indeed identified, the sample was underpowered to detect other potential associations. Next, using the bioelectrical impedance method to measure body fat percentage is not known as a "gold standard", but rather the dual-energy X-ray absorptiometry method. However, in the context of study in developing countries at the public health level, the bioelectrical impedance method has been proposed as an alternative method for noninvasive assessment of body fat percentage, which is especially usefulness for pregnant women, low cost, portable tools and feasibility for a large population study.

E. 結論

In conclusion, the present study showed the association of *VDR* and *ESR1* with adiposity measures and the significant *UCP2-VDR ApaI* interaction to susceptibility of overweight and obesity. For future investigations on the association between adiposity measures and genes, use of larger sample sizes, prospective study designs, and additional markers would enhance the findings.

謝辭

Acknowledgement

We are grateful to Dr. Masako Sei, Miss Yukiko Yoshida, Mrs. Isoko Nomura and Mrs. Hiroko Goda for kindly helps and supports. We wish to thank Assoc. Prof. Toshikatsu Shinka, Dr. Takuro Nakano, and Dr. Masayo Nakamori for helpful technique instructions and discussions. This study was supported in part by Grant-in-Aid for COE Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan.

参考文献

References

1. Alessandra C. Goulart, Robert Y.L. Zee, Kathryn M. Rexrode (2009) Estrogen receptor 1 gene polymorphisms and decreased risk of obesity in women. *Metab. Clin. Exp.* **58**, 759-764
2. Bell C.G., Walley A.J., Froguel P. 2005 The genetics of human obesity. *Nat. Rev. Genet.* **6**, 221-234.
3. Binh T.Q., Shinka T., Khan N.C., Hien V.T., Lam N.T., Maile B., Nakano T., Sei M., Yamamoto S., Nakamori M., Nakahori Y. 2006 Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms and lifestyle factors with calcaneal quantitative ultrasound and osteoporosis in postmenopausal Vietnamese women. *J. Hum. Genet.* **51**, 1022-1029.
4. Comuzzie A.G., Allison D.B. 1998 The search for human obesity genes. *Science* **280**, 1374-1377.
5. Deurenberg-Yap M., Schmidt G., van Staveren W.A., Deurenberg P. 2000 Paradox of low BMI and high body fat percent among Singaporeans. *Int. J. Obes.* **24**, 1011-1017.
6. Gallagher D., Heymsfield S.B., Heo M., Jebb S., Murgatroyd P.R., Sakamoto Y. 2000 Healthy percentage fat ranges: an approach for developing

- guidelines based on body mass index. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**, 694–701.
7. Guricci S., Hartriyanti Y., Deurenberg P., Hautvast JGAJ 1998 Relationship between body fat and body mass index: differences between Indonesians and Caucasians. *Eur. J. Clin. Nutr.* **52**, 779–783.
 8. Hahn L.W., Ritchie M.D., Moore J.H. 2003 Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. *Bioinformatics* **19**, 376–382.
 9. He K., Zhao L., Daviglus M.L., Dyer A.R., Van Horn L., Garside D., Zhu L., Guo D., Wu Y., Zhou B., Stamler J., INTERMAP Cooperative Research Group 2008. Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study. *Obesity* (Silver Spring) **16**, 1875–1880.
 10. Herrington D.M., Howard T.D., Brosnihan K.B., McDonnell D.P., Li X., Hawkins G.A., Reboussin D.M., Xu J., Zheng S.L., Meyers D.A., Bleecker E.R. 2002 Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein. *Circulation* **105**:1879–1882
 11. Hill J.O., Peters J.C. 1998 Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science* **280**, 1371–1374.
 12. Ho-Pham L.T., Lai T.Q., Nguyen N.D., Barrett-Connor E., Nguyen T.V. 2010 Similarity in percent body fat between white and Vietnamese women: implication for a universal definition of obesity. *Obesity* (Silver Spring).
 13. International Obesity Task Force (on behalf of the Steering Committee) (2002) The Asia-Pacific Perspective: Redefining obesity and its treatment. Western Pacific Region. Health Communications Australia, Sydney, 2002.
 14. Kadowaki H., Yasuda K., Iwamoto K., Otabe S., Shimokawa K., Silver K., Walston J., Yoshinaga H., Kosaka K., Yamada N., et al. 1995 A mutation in the beta 3-adrenergic receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **215**, 555–560.
 15. Karen E. Dennis 2007 Postmenopausal women and the health consequences of obesity. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal. Nurs.* **36**, 511–519.
 16. Ko G.T., Tang J.S. 2007 Waist circumference and BMI cut-off based on 10-year cardiovascular risk: evidence for "central pre-obesity". *Obesity* (Silver Spring) **15**, 2832–2839.
 17. Ko G.T.C., Tang J., Chan J.C.N., Sung R., Wu M.M.F., Wai H.P.S., et al. 2001 Lower BMI cut-off value to define obesity in Hong Kong Chinese: an analysis based on body fat assessment by bioelectrical impedance. *Brit. J. Nutr.* **85**, 239–242.
 18. Li H.Y., Blaustein J.D., De Vries G.J., Wade G.N. 1993 Estrogen-receptor immunoreactivity in hamster brain: preoptic area, hypothalamus and amygdala. *Brain Res.* **631**, 304–312.
 19. Lou X.Y., Chen G.B., Yan L., Ma J.Z., Zhu J., et al. (2007) A generalized combinatorial approach for detecting gene-by-gene and gene-by-environment interactions with application to nicotine dependence. *Am. J. Hum. Genet.* **80**, 1125–1137.
 20. Mitra S., Desai M., Ikram Khatkhatay M. 2006 Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas* **55**, 27–35.
 21. Moore J.H., Gilbert J.C., Tsai C.T., Chiang F.T., Holden T., et al. 2006 A flexible computational framework for detecting, characterizing, and interpreting statistical patterns of epistasis in genetic studies of human disease susceptibility. *J. Theor. Biol.* **241**, 252–261.
 22. Musatov S., Chen W., Pfaff D.W., Mobbs C.V., Yang X.J., Clegg D.J., Kaplitt M.G., Ogawa S. 2007 Silencing of estrogen receptor α in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 2501–2506.
 23. Nagai N., Sakane N., Ueno L.M., Hamada T., and Moritani T. 2003 The -3826 A→G variant of the Uncoupling protein-1 gene diminishes postprandial thermogenesis after a high fat meal in healthy boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 5661–5667
 24. Ohlsson C., Hellberg N., Parini P., Vidal O., Bohlooly Y.M., Bohlooly M., Rudling M., Lindberg M.K., Warner M., Angelin B., Gustafsson J.A. 2000 Obesity and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor-alpha-deficient male mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **278**, 640–645.
 25. Okura T., Koda M., Ando F., Niino N., Ohta S. and Shimokata H. 2003 Association of polymorphisms in the estrogen receptor α gene with body fat distribution. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **27**, 1020–1027.
 26. Pfaff D., Keiner M. 1973 Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *J. Comp Neurol* **151**, 121–158.
 27. Richard S. Cooper 2003 Gene-Environment Interactions and the Etiology of Common Complex Disease. *Ann. Intern. Med.* **139**, 437–440.
 28. Schuit S.C., de Jong F.H., Stolk L., Koek W.N., van Meurs J.B., Schoofs M.W., et al. 2005 Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with estradiol levels in postmenopausal women. *Eur. J. Endocrinol.* **153**, 327–334
 29. Sesti G., Cardellini M., Marini M.A., Frontoni S., D'Adamo M., Del Guerra S., Lauro D., De Nicolais P., Sbraccia P., Del Prato S., Gambardella S., Federici M., Marchetti P., Lauro R. 2003 A common polymorphism in the promoter of UCP2 contributes to the variation in insulin secretion in glucose-tolerant subjects. *Diabetes* **52**, 1280–1283
 30. Shi H., Norman A.W., Okamura W.H., Sen A., Zemel M.B. 2002 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits uncoupling protein 2 expression in human adipocytes. *Faseb. J.* **16**, 1808–1810.
 31. Sivenius K., Lindi V., Niskanen L., Laakso M. and Uusitupa M. 2001 Effect of a three-amino acid deletion in the α 2B-adrenergic receptor gene on long-term body weight change in Finnish non-diabetic and type 2 diabetic subjects. *Int. J. Obes.* **25**, 1609–1614.
 32. Swinburn B., Sacks G., Ravussin E. 2009 Increased food energy supply is more than sufficient to explain the US epidemic of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**, 1453–1456.

33. Tworowska-Bardzińska U., Lwow F., Kubicka E., Łaczmański Ł., Jedrzejuk D., Dunajska K., Milewicz A. 2008 The vitamin D receptor gene BsmI polymorphism is not associated with anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome in postmenopausal women. *Gynecol. Endocrinol.* **24**, 514–518
34. Walls H.L., Peeters A., Son P.T., Quang N.N., Hoai N.T., Loi do D., Viet N.L., Khai P.G., Reid C.M. 2009 Prevalence of underweight, overweight and obesity in urban Hanoi, Vietnam. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* **18**, 234–239.
35. WHO Expert Consultation 2004 Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet* **363**, 157–163.
36. Witschi J.C. 1998 Short-term dietary recall and recording methods. In Willet W (ed): "Nutrition epidemiology," 2nd ed. Oxford University Press, New York, pp 52–68
37. Wong K.E., Szeto F.L., Zhang W., Ye H., Kong J., Zhang Z., Sun X.J., Li Y.C. 2009 Involvement of the vitamin D receptor in energy metabolism: regulation of uncoupling proteins. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **296**, E820–E828.
38. Xavier Sole, Elisabet Guino, Joan Valls, Raquel Iniesta, and Victor Moreno 2006 SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* **22**, 1928–1929.
39. Yamada H., Kojima K., Inokuchi M., Kawano T. and Sugihara K. 2008 Outcomes of laparoscopy-assisted distal gastrectomy-comparison with open distal gastrectomy. *J. Gastrointest. Surg.* **12**, 997–1004.
6. Correlations between genetic variance and adiposity measures, and gene x gene interactions for obesity in postmenopausal Vietnamese women. Binh TQ, Nakahori Y, Hien VT, Khan NC, Lam NT, Mai le B, Yamamoto S. *J Genet.* 2011 Apr;90(1):1-9.
7. Prospective ultrasonographic prediction of sentinel lymph node metastasis by real-time virtual sonography Prospective ultrasonographic prediction of sentinel lymph node metastasis by real-time virtual sonography constructed with three-dimensional computed tomography-lymphography in breast cancer patients. Yamamoto S, Maeda N, Tamesa M, Nagashima Y, Yoshimura K, Oka M. *Breast Cancer.* 2012 Jan;19(1):77-82. Epub 2011 May

G. 研究発表

1. 論文発表 (2011–2012)
1. Study on the necessary survey days for energy intake in school children assessed by 7 day survey. Yamaguchi A, Tanaka N, Eguchi Y, Kuno K, Wakikawa N, Sarukura N, Fukinbara M, Yamamoto S. *J Med Invest.* 2012 Feb;59(1-2):111-5.
2. IUNS Workshop on Capacity and Leadership Development in Nutritional Sciences held in Tokyo 2010. Yoshiike N, Yamamoto S, Tokudome S, Shimizu M. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2011;57(4):313-5.
3. Dietary zinc intake and its effects on zinc nutrition in healthy Japanese living in the central area of Japan. Sarukura N, Kogirima M, Takai S, Kitamura Y, Kalubi B, Yamamoto S, Takeda N. *J Med Invest.* 2011 Aug;58(3-4):203-9.
4. Effects of dietary zinc deprivation on zinc concentration and ratio of apo/holo-activities of angiotensin converting enzyme in serum of mice. Sarukura N, Takai S, Ikemoto S, Korin T, Ueda Y, Kitamura Y, Kalubi B, Yamamoto S, Takeda N. *Auris Nasus Larynx.* 2011 Aug 20.
5. Vitamin A deficiency during pregnancy of HIV infected and non-infected women in tropical settings of Northwest Ethiopia. Mulu A, Kassu A, Huruy K, Tegene B, Yitayaw G, Nakamori M, Van Nhien N, Bekele A, Wondimhun Y, Yamamoto S, Ota F. *BMC Public Health.* 2011 Jul 15;11:569.

研究報告書 2-2

平成23年度厚生労働科学研究費補助金
地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

カンボジア国立小児病院での病院給食に関する研究

研究分担者 山本 茂 十文字学園女子大学大学院教授（国際栄養学）

研究要旨

【背景】

カンボジアでは過酷なポルポト政権時代や内戦を経て、現在は経済、社会の再構築が進んでいるが、国公立病院に来る患者の多くを占める、貧困層、農村部の人々の栄養状態は今だに悪く、エネルギー・タンパク質不足はよくみられる。カンボジアと周辺諸国の状況の比較では、カンボジアは栄養不良の5歳未満児の低体重の割合、エネルギー供給量、タンパク質供給量、脂質供給量などを見ても他国と比べていまだに状況があまりよくないことが知られている。

カンボジア人の食事については、都市部・農村部、また収入等でかなり差がある。都市部では、ファストフードの店やレストランなどが多く出来、それらを利用する人々も増えてきているが、農村部では多くの人々が農業を主な仕事としており、少量の塩辛い食材で米飯を食べる形が多く見受けられる。そのように農村部の食事では顕著であるが、カンボジアの食事は総じて脂質や特に動物性のタンパク質の摂取が少なく、エネルギーの多くを糖質（穀類=米）からとっているという事が言える。具体的には、具の入ったスープとご飯の一汁一菜が基本で、もし魚や肉などが手に入った場合、焼き魚（添え物の漬物）や炒め物などがつくというような、昔の日本の農村部の食事と考えるとイメージしやすい。

カンボジア国立小児病院では、食事が一日2回（昼食としてスープと米飯・夕食として米飯のみ）が、約30%程度の入院患者とその付添い者に提供されていたが、医療職関係者も栄養について学んでいないため、患者の食事についても関心が薄く、栄養についての配慮はほとんどなかった。

【目的】

カンボジア国立小児病院で提供される給食を価格、栄養価、患者の嗜好・食文化に配慮し、病院食事基準を満たすメニューとして作成していくことを目的とした。

【方法】

献立の作成を始めるにあたって、まず、2006年の給食開始前に提供されていた食事の栄養価の計算を行った。次に、一般食献立作成の指針として病院食事基準を作成し、その栄養素の必要量を満たしながら価格も許容範囲にあるメニューの開発を2007-2009年にわたり行った。

2009年には職員・患者の付添者に対してアンケート・聞き取り調査を実施し、給食の評価を得た。

【結果】

病院食事基準を作成し、サイクルメニューに沿って発注から配膳までの流れを作り、また、職員のトレーニングを行った結果、調理員が衛生にも気をつけて調理し、患者の名前を確認しながら病棟まで配膳できるようになったため、患者一人一人に給食が届くようになった。提供給食の内容も1日2食から3食の提供へ、栄養価も給食基準を満たすような内容のものが提供できるようになるなど大きく変化した。価格は1日3食提供で約80円前後であった。

患者への給食評価の聞き取り調査の結果、給食の量については、90%以上、質について80%以上の患者付添者が十分であるとの回答を得た。

【結論】

国立小児病院において新しく開発したメニューは、価格は適正で栄養価も高くはなりませんが、今後、特に低年齢患児の摂取率を十分には高めるためには軟菜食、特別食、個別対応なども視野に入れ給食部門職員、院内の医療スタッフへのさらなる指導、そして患者（付添者）への教育も含めた献立・システム、両方の改善が必要であるという事が示唆された。

分担者氏名：山本 茂
所属機関：十文字学園女子大学大学院
所属機関における職名：教授

緒言；

2009年時の国立小児病院の入院患者の平均年齢は4.1歳、中央値は1.9歳であった。入院患児の疾病状況は多岐にわたっている。2006年で最も多いデング熱は年によってその発生状況が異なり、また、症状も軽症から重篤なものまで段階がある。2009年時には、下痢症22.3%、気管支炎13.5%、デング熱12.9%、咽頭炎3.3%、呼吸器疾患2.8%、低栄養と肺炎が各2%、腸チフス1.3%、赤痢1%(そのほか25%)となっている。

カンボジアの病院で働く医師や看護師等の栄養に関する知識は低く、栄養士や調理師という資格制度がないため、提供する食事は非専門家を作っていた。国立小児病院も例外ではなく、食事は一日2回(昼食としてスープと米飯・夕食として米飯のみ)が、約30%程度の入院患者とその付添い者に提供されてはいたものの栄養的配慮はほとんどなかった。

A. 研究目的

カンボジア国立小児病院で提供される給食を価格、栄養価、患者の嗜好に配慮し、病院食事基準を満たすメニューとして作成していくことを目的とした。同時にカンボジア人給食部門スタッフの手で給食・栄養管理の一環として献立作成が行えるように作成工程・実施作業を共有し、自律的かつ継続的に栄養価と価格が適正な給食が患者に提供されることを念頭に置いた。

B. 研究方法；

献立の作成を始めるにあたって、まず、2006年の給食開始前に提供されていた食事の栄養価の計算を行った。次に、一般食献立作成の指針として病院食事基準を作成し、その栄養素の必要量を満たしながら価格も許容範囲にあるメニューの開発を2007-2009年にわたり行った。

2009年には職員・患者の付添者に対してアンケート・聞き取り調査を実施し、給食の評価を得た。給食評価のための患者付添者への聞き取り調査の概要は以下の通りである。

実施日：2009年11月から12月

方法：聞き取り

対象者：患者の年齢が6か月以上かつインタビューが行われる前に入院してから2日以上たった患者の付添者のみ

サンプルサイズ：409、

有効回答数：394

調査期間中の患者の病院滞在期間：最短3日間、最大27日間、中央値4日

本研究は「給食を価格、栄養価、患者の嗜好に配慮し、病院食事基準を満たすメニューとして作成することですが、カンボジア人給食部門スタッフの手で給食管理が行えるように作業を共有していくことは病院給食を自律的に行う事を根付かせるために非常に重要であり実際には、このようにさまざまな作業を並行して行いながら献立作成とその改正作業を実施した。一連の作業は特に、人材育成1の部分、医師1名と看護師2名からなる給食部門職員への指導と作業の共有も重要なポイントとなった。

C. 研究結果：

写真1・2は、2006年の給食配膳と調理の様子である。昼食に御飯とスープ、夕食に御飯を炭火コンロで約30-40人分を調理し、扉の外で待っていた患者の付添者に食事を配給するというスタイルであった。



写真1 炭を使用しての調理風景



写真2 給食室に殺到する患者付添者