

ヒト塩分摂取量と食品摂取行動に関する感受性遺伝子多型の関連解析と国際比較

下川 和郎

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構医療情報 ICT 部門

概要 国の重要な食文化を形成する背景となる食の嗜好性とその構成員の持つ遺伝的背景との間の関連性について、大規模コホート調査によって収集された結果を用いて検証した。食の行動様式に関する情報についてはアンケート調査に基づいた自己申告による情報を用い、ヒトの食品摂取行動に関する傾向と遺伝子多型との間のゲノムワイド関連解析を行った。

本研究では始めに塩味の嗜好性について遺伝的な要素による影響が存在するかについて調査した。解析には、東北メディカル・メガバンク機構のコホート事業によってリクルートされた 20 歳以上の血縁関係のない男女およそ 3,500 人の参加者の調査票情報と、採血により抽出する事によって得られた生体試料から SNP アレイを用いてタイピングした遺伝子多型情報を用いた。これらのデータを用いてゲノムワイド関連解析を行ったところ、塩分嗜好性に強い関連を示すと考えられる遺伝子座を発見することができた。また、これらの解析の中で弱い相関が示唆される遺伝子多型リストに基づき代謝経路との関わりを調査したところ、その多くが糖質脂質代謝に関連した遺伝子にマップされることがわかった。またこれらの解析で明らかになった塩分嗜好性遺伝子多型の地域間アレル頻度差について、塩分摂取量の国際的比較データとの関連を認めることができた。今後は塩分嗜好性と摂取量など測定情報との関連や、食の行動様式に関わる関連遺伝子について代謝パスウェイなど分子レベルからメカニズムを明らかにしていくことが課題である。

1. 研究目的

近年において世界各国で進められている大規模ゲノムコホート研究とそこから派生的に広がる関連研究が、近年のビッグデータ解析研究の一つの流れとして今後極めて有力であると考えられる。

20 世紀の後半以後急速に発展したゲノム解読のテクノロジーは、21 世紀に入り次世代型高速シーケンサーの登場で加速度を増し、ヒトの全ゲノムを短時間に安価で読み出すことが可能になってきている。またこれに伴ってヒトゲノム地図などゲノム解析に関する情報が公的データベースに多数掲載され利用されている。ゲノム解析研究分野は、人種間のアレル頻度比較などその国際的な広がりが大きく、地域差の比較などヒトの研究のための多くの材料が提供されていると考えられる。またそれに加えてゲノム比較という観点では生物種間の類似性、多様性の研究の広がりも大きく、様々な生物種間での遺伝子の働きから表

現型、機能などについて様々な比較が可能になるなど極めて裾野の広い分野である。

一方、英国では 20 世紀半ばから出生コホート研究が始められている。このようなコホート研究はケースコントロール研究とは異なり、重要と考えられる因子の測定を研究の初期から正確に測定することが可能であるため、例えば食習慣のような日頃の行動様式など、後日になってからでは思い出すことが難しいような因子に関するデータ収集について特に重要な研究方法である。

東北メディカル・メガバンク機構ではゲノムコホート研究を推進しているが、前述のような行動様式に関する調査票や検体検査値に対してゲノム情報が付加された形でデータ収集されている。このため東北メディカル・メガバンク機構のデータは本研究で必要とされる食習慣に関する質の良い調査データを提供することができると考えられ、今後の情報分譲・公開が期待される。

本研究の主要な目的は、遺伝的及び社会的条件の下で習慣的に行われるようになった食における行動様式に関する調査であり、中でも特に注目しているのが塩分摂取に関する嗜好性と遺伝子多型との関係である。我々は、この嗜好性に関するゲノムワイド関連解析を行い、嗜好性に関連すると考えられる遺伝子多型情報を収集し代謝経路など既存の知識との照合を行うことで、行動様式との因果関係を解明することを目的とする。

ところで、塩分摂取については人体における様々な面での関わりが考えられる。最初に体内に摂取される段階では食嗜好、塩分嗜好性が大きく関与すると考えられる。これら要素の中には文化的、地理的な問題だけでなく、個人の味覚感受性や、汗を流すことの多い職業かどうかといった要因も、塩分の欠乏感や過剰感といった形で関係することが考えられる。また腎臓による塩分の排出や再吸収能力との関係も考えられる。これらを包括的にとらえるためには塩分嗜好に関連のある遺伝子多型やその分子的理解が必要となる。

味覚感受性については東北メディカル・メガバンク機構¹⁾の詳細二次調査において塩味に関する味覚感受性の調査を行っているが、今回の研究発表には情報公開が間に合わなかったため後日の解析に委ねる。同様に塩分摂取量との関係についても今後の課題とする。

またゲノムを用いた研究として、塩味を感じる受容体とされる上皮性ナトリウムチャンネル ENaC 及び他の味覚関連受容体周辺の遺伝子多型解析がひとつの有力な方法であると考えられるが、旨味／甘味／苦味受容体として知られる T1R, T2R ファミリー遺伝子^{2,3)}などと異なり、塩味受容体はターゲットがまだ不明確であることから現時点では味覚感受性細胞に関する変異については調査の対象外とした。

2. 研究方法

2.1 ゲノムワイド関連解析

我々は、宮城地域住民コホート参加者約 5 千人の中から近親者を除外し、食習慣の調査表に回答のあった参加者約 3,500 人について調査票とゲノム情報との間の関連解析を行った。SNP タイピングには Illumina マイクロアレイ Express Exome を用いた。調査票データは QA データであるが、頻度情報であるため量的データとして扱い、年齢、

性別に関する共変量を取り除いて QTL 解析を行った。SNP の QC 条件は、MAF > 0.01, HWE > 1×10^{-6} , MIND > 0.1, GENO > 0.001 である。

2.2 パスウェイ解析

2.1 によって明らかになった感受性遺伝子多型は、塩分嗜好性に関する質問項目に対して何らかの Effect を持つと考えられる。このためこのリストに基づいて、代謝パスウェイ、疾患パスウェイ、分子ネットワーク、生物学的プロセスなどについて Ingenuity Knowledge Base を用いた知識ベースデータ解析を行った。

2.3 アレル頻度の国際比較

2.1 節に遺伝子多型について、その地域別アレル頻度を塩分摂取量に関する世界分布図⁴⁾と照合し、各地域におけるアレル頻度差と塩分摂取量との関係を世界地図上に示した。

3. 結果

3.1 母集団の傾向と関連解析

最初にこの解析に用いた宮城地域住民コホート参加者約 5 千人の母集団に関する年齢分布と性別の統計情報を Fig. 1 a, b に示す。

この母集団の年齢の平均値は 61.8 歳であった。日本人の年齢の平均値は 40 代であるため母集団の平均年齢は比較的高いことがわかる。また Fig. 1b から母集団の男女比は男性 1 に対して女性はおよそ 2 であるが、日本人の男女比の年次統計がおよそ 95:100 であることから女性がかかり多い構成となっていると考えられる。

次に関連解析に関する結果を示す。解析の対象は、塩分嗜好性を示すと考えられる3つの調査票質問項目を利用した。この質問項目については、(1)ラーメン・うどん・そばの汁をどれくらい飲みますか？(回答項目:a. ほとんど飲まない b. 3分の1くらい食べる c. 半分くらい食べる d. 3分の2くらい食べる e. ほとんど全部食べる)、(2)食卓で料理に、塩をふる習慣がありますか？(回答項目:a. ない b. まれにふる c. ときどきふる d. たいていふる e. いつもふる)、(3)食卓で料理に、しょうゆをかける習慣がありますか？(回答項目:a. ない b. まれにかける c. ときどきかける d. たいていかける e. いつもかける)の3項目である。またそれぞれの質問項目に対して関連解析を行い、Manhattan-Plot を描いた (Fig. 2-4)。表中の赤線は P 値が

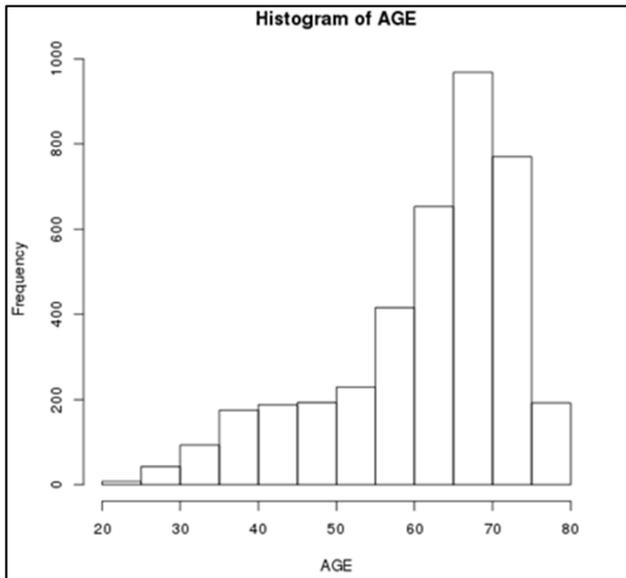


Fig. 1. a 母集団の年齢構成

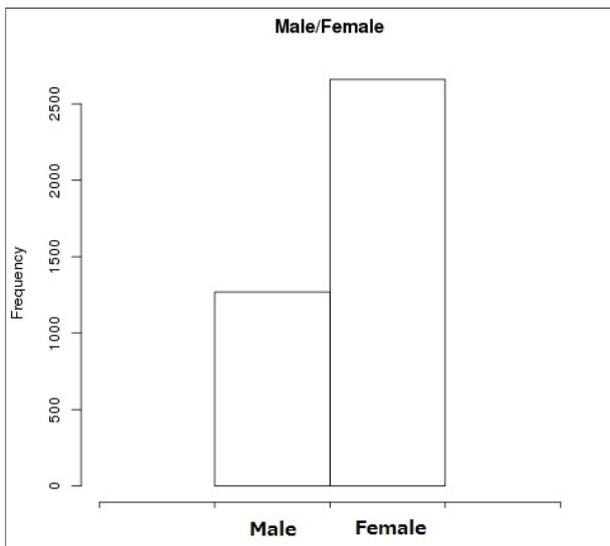


Fig. 1. b 母集団の性別構成

5.0×10^{-8} の位置を、青線は 1.0×10^{-5} の位置を示している。前者はGWASで有意と考えられる値、後者はこの線より上にあるSNPは弱い関連が示唆される値である。

Fig. 2 に示されるように、調査票質問項目(1)に対して13番染色体上に有意に高いと認める遺伝子座を見つけることができた。また弱い相関が示唆される10遺伝子座を認めることができた。また同様に調査票質問項目(2)について弱い相関を示す3遺伝子座を(Fig. 3)、調査票質問項目(3)については5遺伝子座を認めた(Fig. 4)。

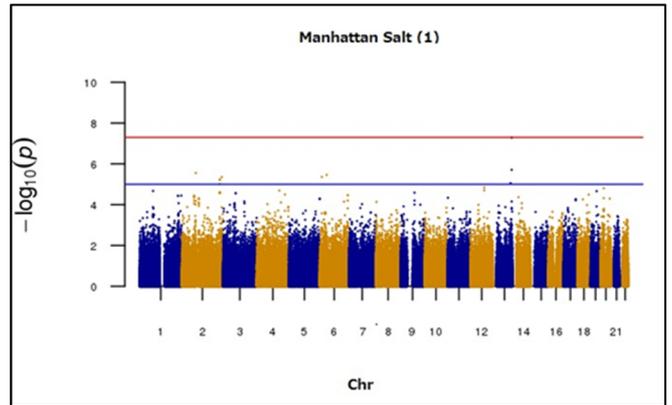


Fig. 2. 質問項目(1)に対応するManhattan Plot

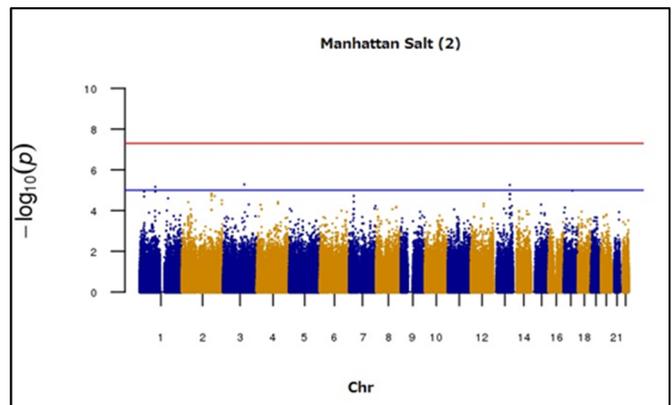


Fig. 3. 質問項目(2)に対応するManhattan Plot

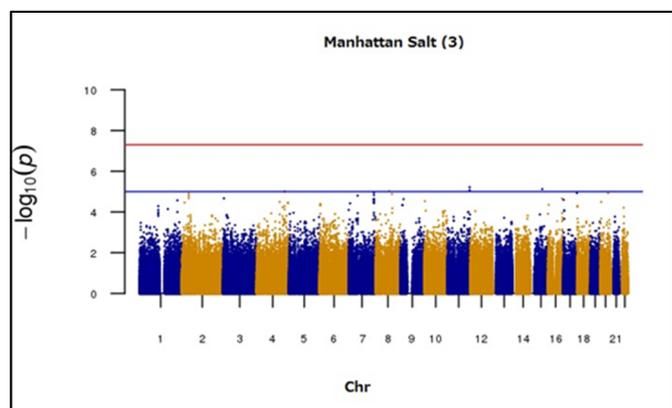


Fig. 4. 質問項目(3)に対応するManhattan Plot

3. 2 パスウェイ解析結果

2. 1節で得られた遺伝子多型リストから90遺伝子座をゲノム上の機能遺伝子にannotationすることができた。これらについて metabolic network への集積を調べると carbohydrate and lipid metabolism に集積傾向が見られた(Fig. 5)。またこれ以外に疾患パスウェイには Amyloid- β の産生に関わる遺伝子が得られた。

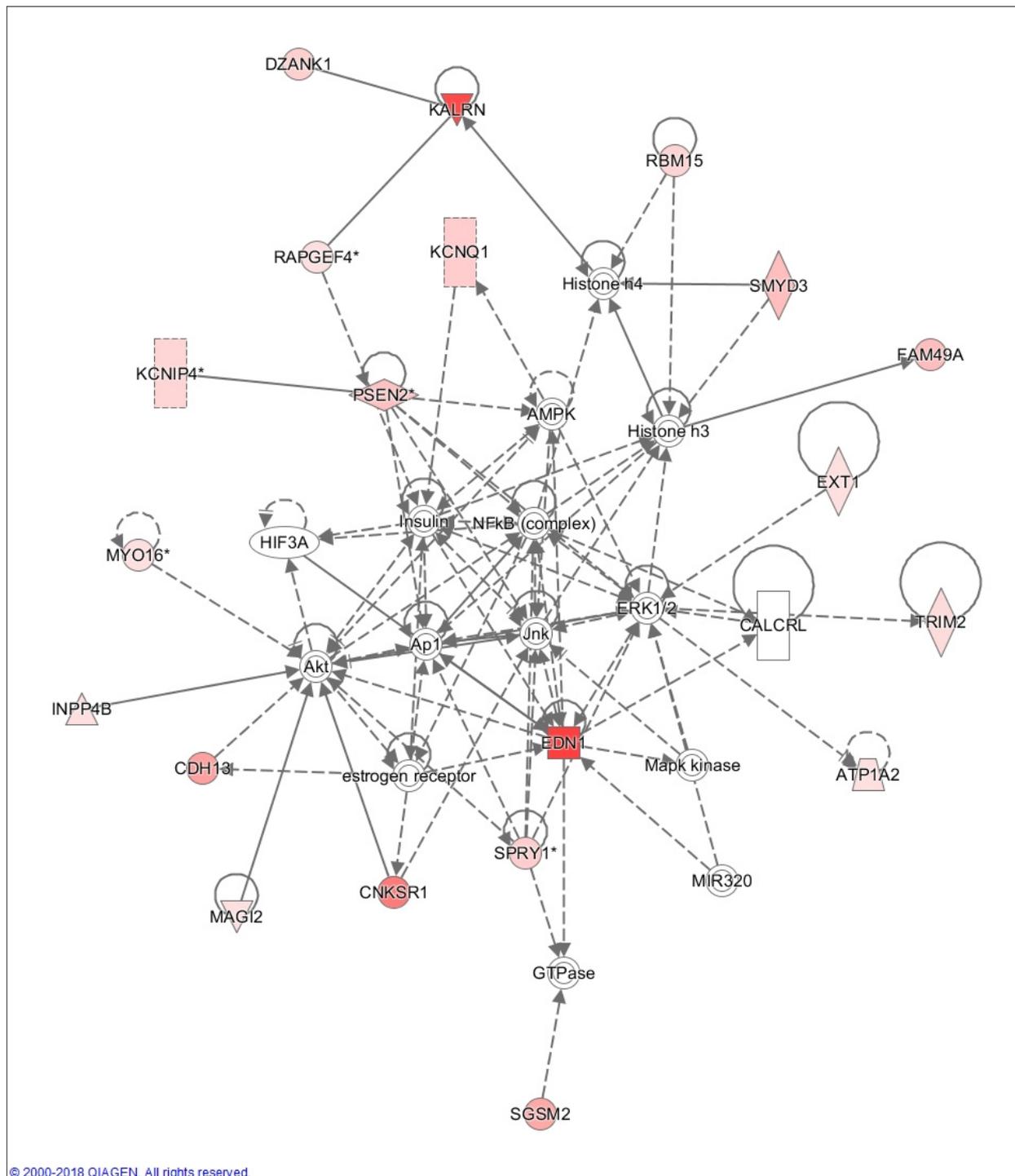


Fig. 5. 遺伝子産物制御関係 Map

3.3 アレル頻度の地域間比較

調査票質問項目(1)において、嗜好性に対して亢進的に働く最もP値の高い遺伝子多型のアレル頻度について地域差との関連を調べた⁵⁷⁾。この多型については、日本人(JPT)のMinor Allele頻度(MAF)=0.188程度で、塩分摂取量は12.4 g/dayである。また中国漢族(CHB)はMAF

= 0.126 に対して塩分摂取は 12.3 g/day, アフリカヨルバ族(YRI)はMAF = 0.056 塩分摂取は 7.1 g/day, 米国ユタ州人(CEU)はMAF = 0.015 塩分摂取は 9.1 g/dayと、およそアレル頻度が高い地域ほど塩分摂取量が高い傾向が見られた(Fig. 6)。

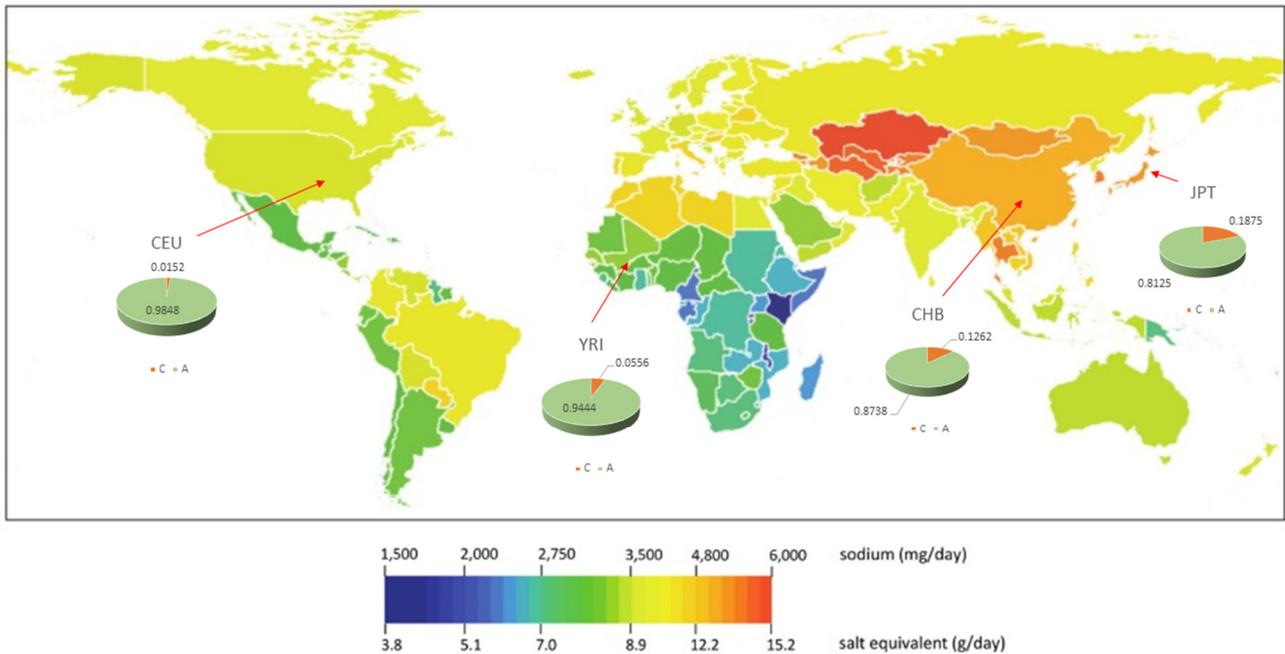


Fig. 6. 塩分嗜好性の高い SNP の地域別アレル頻度と世界各国の塩分摂取量
 J Powels et.al. (2013) のマップに塩分嗜好性遺伝子多型のアレル頻度を重ねている。

4. 考察および今後の課題

調査票質問項目に対してゲノムワイド関連解析を行うことにより 20 程度の塩分嗜好性関連遺伝子座を見つけることができた。またこれらと annotation の付けられる遺伝子について調査し、今回スクリーニングされた候補遺伝子の多くが糖質脂質代謝に関与することが明らかとなった。今後はこれら候補遺伝子と代謝について解析を進める予定である。また解析に用いた母集団は比較的年齢が高いため、味覚に関する傾向が平均的な集団と異なる可能性がある。この点については集団を変えて検証する必要がある。データは基本的に東北メディカル・メガバンク機構で情報公開が進められているものを使用しているため塩分摂取量とゲノムとの関係などいくつかの課題が残ったが、嗜好性と塩分摂取量、あるいは血圧などとの関係について今後順次明確にしていきたい。

5. 参考文献

1) Kuriyama S, Yaegashi N, Nagami F, Arai T, Kawaguchi Y, et al. The Tohoku Medical Megabank Project: Design

and Mission. *J Epidemiol* 2016; 26 (9): 493-511.

2) J.Chandrashekar, M.A.Hoon, N.J.P.Ryba, C.S.Zuker, "The receptors and cells for mammalian taste", *Nature* (2006) 444, pp288-294.

3) "感覚センサー", *細胞工学* (2007) 26, 8

4) J Powels, S Fahimi, R Micha, "Global, regional and national sodium intakes in 1990 and 2010: a systematic analysis of 24 h urinary sodium excretion and dietary surveys worldwide", *BMJ Open* (2013) 3:e003733. doi: 10.1136/

5) The International HapMap Consortium, The International HapMap Project. *Nature* 2003; 426: 789-796.

6) 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Altshuler D et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010; 467: 1061-73.

7) Powell JE, Visscher PM, Goddard ME. Reconciling the analysis of IBD and IBS in complex trait studies. *Nat Rev Genet.* 2010; 11:800-5.

Association Analysis and International Comparison of Responsible Gene Concerning Human Salt and Food Intake

Kazuro Shimokawa

Tohoku University, Tohoku Medical Megabank Organization, Department of Health Record Informatics

Summary

Various factors would be relate to the behavioral pattern of the food preferences. It might be explained that some examples are formed in the growth environment like the family, and others could mainly be decided by the genetic background such as sense of tastes and the constitutions. It is known to relate with the genome about some of articles of taste such as alcohol in the dining habit. We expanded the range of the investigation, to the nutrient intakes such as salinities and carbohydrate, based on the questionnaire data.

We used 5,000 or more questionnaire data of healthy people collected in the Cohort Study of Tohoku Medical Megabank Project, and investigated the relation between the food preference and the single nucleotide polymorphism, and also tried to explain these relation from the side of metabolism and epidemiology. We were able to discover the loci that showed a strong relation in the salinity preference, and have been understood that the minor allele frequency of the loci relates to the salinity intakes by an international comparison. Moreover, it was confirmed that a lot of related gene was mapped to the carbohydrate and lipid metabolizing, when relations with the metabolic pathway were investigated based on the loci.