

塩摂取量に影響する一塩基多型の探索

五十嵐 麻希¹, 相澤 清晴², 目加田 優子³, 小久保 友貴⁴,
長幡 友実⁵, 高柳 尚貴⁶, 齋藤 憲司^{1,7}, 林 直樹¹

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科健康栄養機能学社会連携講座,
² 東京大学大学院情報理工学系研究科電子情報システム学講座, ³ 文教大学健康栄養学部管理栄養学科
⁴ 愛知淑徳大学健康医療科学部, ⁵ 京都府立大学大学院生命環境科学研究科管理栄養学科,
⁶ 東海学園大学健康栄養学部管理栄養学科, ⁷ 株式会社ジーンクエスト

概要 慢性的な食塩摂取過剰は、高血圧や動脈硬化を誘発し、循環器疾患の発症リスクを上げる。和食は、醤油や味噌、漬物や干物など、比較的食塩の高い調味料や食材を用いることから、日本人における食塩摂取量は先進国でも高い。したがって、健康維持・増進を目的とした効果的な減塩指導が必要とされている。われわれは、遺伝的に食塩摂取量が多いヒトに対して減塩指導を行うことを目指し、食塩摂取量に関連する遺伝的領域の同定を目的として、4つの研究を実施した。

研究1では、日本人62人において食物摂取頻度法より測定された食塩摂取量および醤油摂取量と、アンケート調査により得られた塩味嗜好性および塩味感受性テストより得られた塩味感受性データを用いて、それらの関連性をパス解析にて検討した。その結果、食塩摂取量は醤油摂取量と塩味嗜好性からそれぞれ正と負の関連を受けていること、塩味感受性は食塩摂取量に有意な関連性が認められないことが明らかになった。

研究2では、日本人62人のデータを用いて、先行研究にて食物摂取行動と強く関連するアルコール脱水素酵素(*ALDH2*)遺伝子の一塩基多型(rs671)と食塩摂取量および醤油摂取量との関連解析を行った。この結果、rs671は醤油摂取量に有意に関連することを見出した。

研究3では、スマートフォンアプリケーションを用いた料理画像法を開発し、本法が食物摂取頻度法よりも食塩摂取量を正確に測定することを見出した。

研究4では、約3万9千人の日本人集団のゲノムデータおよび塩味嗜好性データを用い、ゲノムワイド関連解析を行った。この結果、関連の示唆される遺伝子領域(*ABO* 遺伝子, *CDC14A* 遺伝子, *ZNF516* 遺伝子, *SOX5* 遺伝子など)を同定した。

1. 研究目的

食塩の慢性的な摂取過剰は、高血圧や動脈硬化を誘発し、その結果として脳卒中や心筋梗塞などの循環器疾患の発症リスクを上げる^{1,2)}。和食は、醤油や味噌、漬物や干物など、比較的食塩の高い調味料や食材を用いることから、日本人における食塩摂取量は先進国でも高く、摂取目標値を上回っている³⁾。したがって、国民の健康維

持・増進を目的とした効果的な減塩指導が必要とされている。

われわれは、これまで1万2千人の日本人集団のゲノムワイド関連解析(GWAS)から、食行動と関連する遺伝的領域を同定してきた⁴⁻⁷⁾。特に、飲酒と深く関連する一塩基多型(rs671)が、様々な食嗜好・食行動と関連することを明らかとしてきた⁴⁻⁷⁾。しかしながら、上記GWASとの関

連では食物摂取頻度調査データを用いているため、食塩摂取量を推定することは不可能であった。また、これまでにナトリウム感受性血圧の低下に関連する一塩基多型の報告はあるが⁸⁾、食塩摂取量と GWAS との関連の検討は行われていない。

本研究は、遺伝的背景に基づいた個別化減塩指導のために、食塩摂取量に関連する遺伝的領域の同定を目的として研究を行った。

2. 研究方法

本研究は、東京大学の 2 研究室、管理栄養士養成校の 3 施設および(株)ジーンクエストとの共同研究として行った。

2.1 食塩摂取量と塩味嗜好性および塩味感受性の関連解析

大学生 62 名を対象に、簡易型自記式食事履歴質問票 (BDHQ) による食事調査を行い、食塩摂取量および醤油摂取量を算出した。食塩摂取量および醤油摂取量は、密度法によるエネルギー調整を行い、中央値(食塩摂取量 5.3 g/1000 kcal, 醤油摂取量 0.94 g/1000 kcal)を境として 2 群に分け、変数名を食塩摂取量および醤油摂取量とした。塩味感受性は食塩含浸濾紙を用いて測定し、感受性の低い群(スコア 3-5)、中程度の群(スコア 2)と高い群(スコア 1)をそれぞれ 1, 2, 3 の数値に変換した。また、塩味嗜好性は、Web アンケート調査により、塩加減が濃い味について「大嫌い、嫌い、普通、好き、大好き」をそれぞれ 1, 2, 3, 4, 5 の数値に変換して使用した。食塩摂取、醤油摂取、塩味感受性および塩味嗜好性は、それぞれ、Wilcoxon signed-rank 検定にて相関の有無を検定した。また、パス解析により食塩摂取量を規定するモデルを仮定した。

2.2 BDHQ を用いた 68 人における食塩摂取量と rs671 の関連解析

大学生 62 名を対象に、簡易型自記式食事履歴質問票 (BDHQ) による食事調査を実施した。また、対象者の唾液から採取したゲノム DNA を用い、飲酒および食物摂取と関連が知られている一塩基多型(rs671)の遺伝型解析をダイレクトシーケンシング法にて行った。密度法によるエネルギー調整を行った栄養素摂取量と食品群別摂取量の値を Shapiro-Wilk 検定で分布の確認を行った後、一元配置分散分析または Kruskal-Wallis 検定で rs671 遺伝子型との関連を検討した。

2.3 スマートフォンアプリケーションを用いた料理画像法の確立

管理栄養士養成課程に在籍する大学生 17 名を対象とした。参加者は、平日 2 日と休日 2 日の連続した 4 日間に摂取したすべての飲食物をスマートフォンのカメラで撮影し、共同研究者の相澤らによって開発された食事記録用スマートフォンアプリ FoodLog Athl にすべての写真、食事時間、料理名、食品名、残食状況等を登録した(料理画像法)。また、参加者は上記と並行して、秤量法による食事記録を行った。個々の栄養素摂取量は、料理画像法および秤量法で独立に算出した。栄養素摂取量のピアソン相関係数は、対数変換後の残差法に基づく粗値およびエネルギー調整値を用いて算出した。

2.4 アンケートデータによる塩味嗜好性のゲノムワイド関連解析

株式会社ジーンクエストと株式会社ユーグレナが収集した約 27,000 人と、ヤフー株式会社が収集した約 1,200 人の日本人データを用い、塩味嗜好性のゲノムワイド関連解析を行った。ゲノムデータは、唾液試料よりゲノム DNA を抽出し、SNP アレイによる遺伝型のタイピングとインピュテーションを行った。塩味嗜好性は、Web アンケート調査により、塩加減が濃い味について「大嫌い、嫌い、普通、好き、大好き」をそれぞれ 1, 2, 3, 4, 5 の数値に変換して使用した。塩味嗜好性の関連解析は、調整因子に年齢、性別および主成分分析によって得られた 5 つの主成分を用いて行った。さらにメタ解析を行い、 $P < 5.0 \times 10^{-8}$ をゲノムワイド有意水準、 $P < 5.0 \times 10^{-6}$ を関連が示唆される水準として、塩味嗜好性に関連する遺伝領域を探索した。

3. 研究結果

3.1 食塩摂取量と塩味嗜好性および塩味感受性の関連解析

食塩および醤油摂取量との相関は認められなかった($P = 0.86$)。塩味嗜好性と食塩もしくは醤油摂取量($P = 1.506e-15$, $p = 1.072e-15$)、塩味嗜好性と塩味感受性($P = 3.384e-13$)には、有意に相関が認められた。食塩および醤油摂取量は、どちらも塩味感受性との相関が認められなかった($P = 0.40$, $P = 0.49$)。パス解析により、適合度指標が高いモデル(SRMR = 0.000, RMSEA = 0.000, CFI = 1.000, TLI = 1.000)として図 1 が推測された。

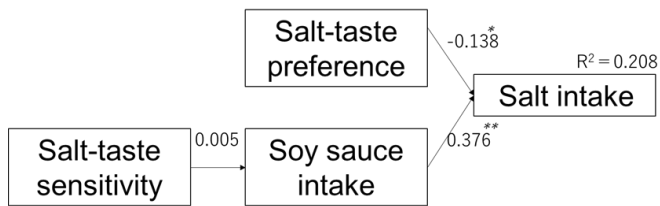


Figure 1. Pass analysis for salt intake

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, SRMR = 0.000, RMSEA = 0.000, CFI = 1.000, TLI = 1.000.

塩味嗜好性が高いほど食塩摂取量が低く、醤油摂取量が高いほど食塩摂取量が高いことが示された。一方、塩味感受性は食塩摂取量と関連する因子として有意性は認められなかった。

3. 2 BDHQを用いた 68 人における食塩摂取量と rs671 の関連解析

rs671 遺伝子型による被験者の年齢, BMI, 喫煙, 運動習慣に差は認められなかった。アルコールおよび醤油摂取量は、飲酒に対して強い遺伝的体質を有する rs671 の GG 型が、弱い体質である AA 型より有意に多かった (図 2)。コーヒー, 紅茶, 魚, 菓子の摂取量は、rs671 と各摂取頻度の関連をみた先行研究と同様の傾向を示した。

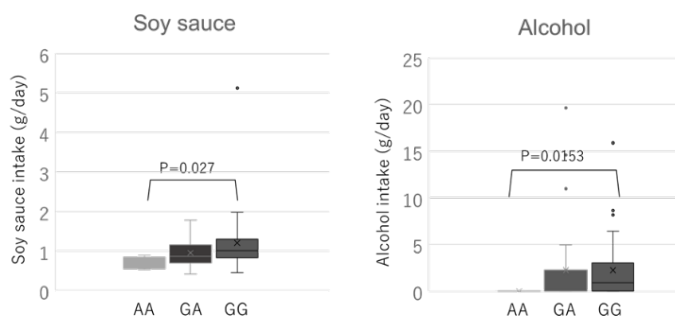


Figure 2. Food intakes identified to be associated with rs671 genotype.

Soy sauce intake and alcohol consumption differed significantly between AA and GG types of rs671. The rs671 genotypes, from left to right, showed AA, GA and GG types. The AA type rs671 has an inactive acetaldehyde degrading enzyme and therefore consumes less alcohol.

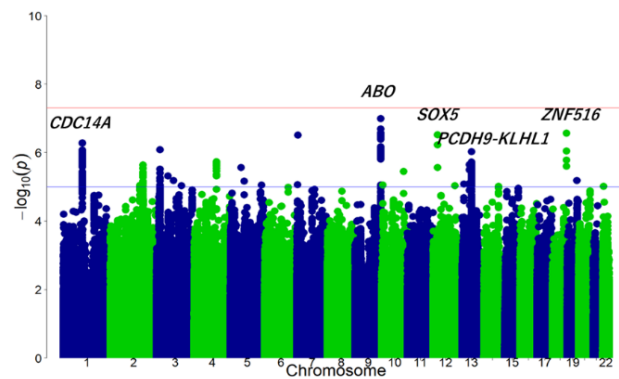


Figure 3. Manhattan plot of salty taste preferences.

Gene locus associated with salt-taste preference were identified. Vertical and horizontal axis show P-values ($-\log_{10}$) and chromosome numbers, respectively. The red line and blue line indicate the genome-wide significance and the suggested significance, respectively.

3. 3 スマートフォンアプリケーションを用いた料理画像法の確立

粗・エネルギー調整栄養素摂取量の相関係数は、各種栄養素摂取量において高い相関を示した(エネルギー(粗のみ): $r = 0.898$, タンパク質(粗・エネルギー調整): $r = 0.815, 0.752$, 総脂肪: $r = 0.880, 0.902$, 炭水化物: $r = 0.884, 0.762$, 総繊維: $r = 0.905, 0.869$, カルシウム: $r = 0.83, 0.824$, 鉄: $r = 0.821, 0.877$, ビタミン C: $r = 0.929, 0.944$ (各 $p < 0.001$)であった。一方、食塩摂取量とは中程度の相関を示した($r = 0.512, 0.705, p = 0.036, 0.002$)。

3. 4 アンケートデータによる塩味嗜好性のゲノムワイド関連解析

メタ解析の結果、ゲノムワイド有意水準を下回る塩味嗜好性との関連領域は同定されなかった。一方、染色体 9 番の ABO 遺伝子領域や 1 番染色体の CDC14A 遺伝子領域、染色体 18 番の ZNF516 遺伝子、染色体 11 番の SOX5 遺伝子など、いくつかの遺伝子領域が塩味嗜好性と関連が示唆される領域として同定された(図 3)。

4. 考察

われわれは、食塩摂取量に関連する遺伝子領域の同定を目指した。まず、研究 1 にて塩味嗜好性と食塩摂取量との関係を調べた結果、塩味嗜好性が低いと食塩摂取量が多くなることが示された。この結果は、塩味が好きなヒトが食塩を気にして摂取を控えている可能性を示しており、塩味嗜好性と実際の食塩摂取量が正の相関を示さない事を明確としている。研究 2 では、食物摂取行動に関連

する一塩基多型である rs671 の遺伝型と簡易型自記式食事歴質問票から求めた醤油摂取量との関連が認められた。一方、日本人集団約 4 万人のデータを用いた研究 4 では、塩味嗜好性と関連が示唆される遺伝子領域として rs671 領域が含まれていなかった。これらの研究により、塩味嗜好性と食塩摂取量では、関連する遺伝的背景が異なることが示唆される。

研究 1, 2 で用いた簡易型自記式食事歴質問票は、食物摂取頻度法である。この方法は習慣的な食事を簡易的に測定ができるため、多くの栄養疫学研究で用いられているが、食事調査のゴールドスタンダードである秤量法との相関性は低いことが知られている。そこで、研究 3 では習慣的な食事を詳しく調べるために、料理画像法の確立を目指した。秤量法との相関係数は、ほとんどの栄養素で非常に高く、一般的に低いと言われる食塩の妥当性も中程度と比較的高い値となった。よって、本法は食物摂取頻度法よりも正確性に優れていることが明確となった。このことは、食塩摂取量と関連する遺伝子領域の同定には、食物摂取頻度法よりも本法を使用することが有効であると考えられる。

研究 4 では、日本人集団約 4 万人を対象にして塩味嗜好性と関連する遺伝領域を探索したが、ゲノムワイド有意水準を満たす領域は同定できなかった。関連の示唆される領域上の遺伝子として同定された *ABO* 遺伝子、*CDC14A* 遺伝子、*SOX5* 遺伝子、*ZNF516* 遺伝子には、塩味嗜好性と関連する機能は現在報告がない。今後、文献的に関連メカニズムを検索するとともに、解析対象者を増やした解析が必要となる。

以上の成果は、rs671 が食塩摂取量と関連する一塩基多型である可能性を示している。一方、塩味嗜好性は食塩摂取量を推定し得ないことが判明した。本研究成果は、遺伝的背景として食塩摂取量の多い集団の推定に役立ち、減塩指導に対する個別化栄養に貢献することが期待できる。

5. 今後の課題

今後は食塩摂取量の推定精度が食物摂取頻度法よりも高い料理画像法で測定した食事調査データを用い、食塩摂取量における GWAS を行うことが有効であると考えられる。

6. 文献

1. Karppanen H, & Mervaala E. Sodium intake and hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*, 49, 59-75, 2006.
2. Wang YJ, Yeh TL, Shih MC, Tu YK, Chien KL. Dietary sodium intake and risk of cardiovascular disease: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Nutrients*, 12, 2934, 2020.
3. The Ministry of Health, Labour, and Welfare. The results of the 2017 National Health and Nutrition Survey in Japan.
4. Furukawa K, Igarashi M, Jia H, Nogawa S, Kawafune K, Hachiya T, Takahashi S, Saito K, Kato H. A genome-wide association study identifies the association between the 12q24 locus and black tea consumption in Japanese populations. *Nutrients*. 12, 3182-3182, 2020.
5. Igarashi M, Nogawa S, Kawafune K, Hachiya T, Takahashi S, Jia H, Saito K, Kato H. Identification of the 12q24 locus associated with fish intake frequency by genome-wide meta-analysis in Japanese populations. *Genes Nutrition*. 14;21, 2019.
6. Jia H, Nogawa S, Kawafune K, Hachiya T, Takahashi S, Igarashi M, Saito K, Kato H. GWAS of habitual coffee consumption reveals a sex difference in the genetic effect of the 12q24 locus in the Japanese population. *BMC Genomics*. 20;6, 2019.
7. Kawafune K, Hachiya T, Nogawa S, Takahashi S, Jia H, Saito K, Kato H. Strong association between the 12q24 locus and sweet taste preference in the Japanese population revealed by genome-wide meta-analysis. *J Hum Genet*. 65, 939-947, 2020.
8. Hachiya T, Narita A, Ohmomo H, Sutoh Y, Komaki S, Tanno K, Satoh M, Sakata K, Hitomi J, Nakamura M, Ogasawara K, Yamamoto M, Sasaki M, Hozawa A, Shimizu A. Genome-wide analysis of polymorphism × sodium interaction effect on blood pressure identifies a novel 3'-BCL11B gene desert locus. *Sci Rep*. 8;14162, 2018.

Exploration of Single Nucleotide Polymorphisms Associated with Salt Intake

Maki Igarashi¹, Tomomi Nagahata², Yuko Mekata³, Yuki Kokubo⁴, Naoki Takayanagi⁵,
Naoki Hayashi¹, Kenji Saito^{1,6}, Kiyoharu Aizawa⁷

¹ Laboratory of Health Nutrition, Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, ² Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, ³ Faculty of Health and Nutrition, Bunkyo University, ⁴ Department of Health and Nutritional Sciences, Aichi Shukutoku University, ⁵ Department of Nutrition, School of Health and Nutrition, Tokaigakuen University, ⁶ Genequest Inc., ⁷ Department of Information and Communication Engineering, The University of Tokyo

Summary

Chronic excess salt intake induces hypertension and atherosclerosis and increases the risk of developing cardiovascular disease. The salt intake in the Japanese population is among the highest in the industrialized world. Therefore, practical salt reduction guidance is needed to maintain and improve the population's health. Consequently, we conducted four studies to identify genetic regions associated with salt intake and salt-taste preference to find genetically high salt intakes.

In Study 1, a path analysis was conducted to examine the association between salt intake measured, salt-taste preference and salt-taste sensitivity data. The results showed that salt-taste preference was inversely related to salt intake, while salt-taste sensitivity was not significantly associated with salt intake. Study 2 found that a single nucleotide polymorphism (rs671) in the alcohol dehydrogenase (*ALDH2*) gene, which has been strongly associated with food intake behavior in previous studies, may be associated with salt intake. Study 3 developed a photographic dietary assessment utilizing a smartphone application and measured salt intake more accurately than the food frequency method. Finally, study 4 identified gene loci suggesting an association with salt taste preference by genome-wide association study.

These results suggest that it is challenging to utilize salt taste preference data to estimate salt intake and that salt intake and taste preference should be considered separately. Therefore, future genome-wide association analyses of the salt intake should be conducted the photographic dietary assessment, which is more accurate than the food frequency method in estimating salt intake. The results of this study are expected to provide a knowledge base for personalized salt reduction guidance that takes genetic constitution into account.