

# 飼料ならびにプロセスの改善による ‘健康’乳製品開発に関する研究

京都大学大学院人間・環境学研究科教授 家 森 幸 男

## 研究目的

21世紀は先進工業国も開発途上国も共に心筋梗塞、脳卒中など循環器疾患が死因の第1位になるとWHOは予測している。特に、急速に高齢化が進みつつある我国では、循環器疾患の予防はすこやかな長寿の実現のため益々重要となって来ている。家森はかつて日本人に多かった脳卒中は血中のコレステロールが低すぎるのが原因となり、蛋白質、とりわけミルクなどを充分摂ることで予防できることを示したが、血中コレステロールが徐々に増加しつつある今日、脳卒中は減少しつつあるが心筋梗塞の増加が予測され、この予防対策の確立が焦眉の急となって来ている。そこで、これまでの研究で心筋梗塞の予防に有効であることを明らかにして来たn-3系多価不飽和脂肪酸や含硫アミノ酸、あるいは抗酸化作用などの動脈硬化予防に有効な微量元素などを多く含む牧草ないし飼料を開発し、さらに発酵のプロセスを改良することによって、有効な脂肪酸、アミノ酸や微量元素を一定割合以上に含む‘健康’乳製品を開発し、21世紀の日本人、あるいは人類のすこやかな長寿実現に寄与するのが研究の目的である。

## 研究の意義

牛乳中あるいはチーズなどの乳製品の蛋白質ならびにカルシウムが脳卒中や骨粗鬆症など高齢化社会に多い疾患の予防に有用であることをこれまでの実験的・疫学的研究は示している。我々が1983年以来、WHOの協力によりこれまで24カ国55地域で実施して来た「循環器疾患と栄養・国際共同研究(CARDIAC Study)」においても、コーカサスやシルクロードのウィグル族では牛乳と乳製品の利用が盛んで、これが長寿地域の共通した特色とも見なされているが、血清コレステロールは高くない。とり

わけ、マサイ族は1日3～10ℓの牛乳（ないし発酵乳）を飲み、その中には1g内外のコレステロールが含まれるが、血清コレステロールはむしろ低い。また血清コレステロールの増加は虚血性心疾患の死亡率の増加と相関するが、魚油や一部の植物油に由来するn-3系多価不飽和脂肪酸が一定の割合以上血中磷脂質脂肪酸に含まれていると虚血性心疾患の死亡率が少ない。このようなデータを参考にして血清コレステロール値を上げず、しかもn-3系の多価不飽和脂肪酸一定量摂取出来るよう、飼料や乳製品産生のプロセスを改善して健康によい牛乳ないし乳製品を開発することは、脳卒中・骨粗鬆症や虚血性心疾患を予防し、高齢化社会における健やかな長寿の実現に寄与するところが大きいといえる。

### 研究の方法

CARDIAC Studyで55地域調査した中で、マサイ族、コーカサス住民など、ミルクならびに発酵乳、チーズなどを多食している人々のコレステロールと血清磷脂質を分析した。

CARDIAC Studyは、Cardiovascular Diseases and Alimentary Comparison Studyの略称で、栄養摂取の生物学的マーカーと血圧および主要な循環器疾患（CVD）の関連を分析する。本研究は次の二本の柱よりなる。

中核研究（Core Study）：様々な食習慣を有する集団について、食塩自体の影響および食塩と関連なく、またはそれと関連して関与する種々の栄養因子の影響を客観的に評価するため、血圧を統一的方法で測定し、高血圧に関与する食餌性危険因子を分析する。

完全研究（Complete Study）：主要なCVDすなわち脳血管疾患（脳卒中）と冠動脈疾患（虚血性心疾患）に関連する血圧やその他の因子、特に食餌性因子との相互関係を分析する。

### 研究により検定される作業仮説

中核研究では、血圧に影響する食餌性因子と血圧との関連を調査対象集団間で分析

し、次の仮説を検定する。

- －食塩（ナトリウム）摂取量は、血圧と正相関する。
- －カリウムの摂取量は血圧と逆相関する。
- －カルシウムあるいはマグネシウム摂取量は血圧と逆相関する。
- －尿素窒素やメチルヒスチジンなどの尿中排泄量より推定される蛋白（ことに動物性蛋白）は血圧と逆相関する。

完全研究ではさらに食餌性因子と主要循環器疾患（脳卒中、虚血性心疾患）の死亡率との関連を調査集団間で分析し、次の仮説を検定する。

- －血清コレステロール値は、高いほど虚血性心疾患の死亡率は増加するが、脳卒中、とりわけ脳出血の死亡率は血清コレステロール値の比較的低い集団に多い。（即ち、脳出血の死亡率はその地域住民の血清コレステロール値と逆相関する。）
- －脳卒中、とりわけ脳出血は、食塩摂取量が多く蛋白質の摂取の少ない（または血清アルブミン値、または蛋白摂取量の生物学的指標の低い）集団に多い。
- －虚血性心疾患の死亡率は、血清の磷脂質中の脂肪酸の  $n-3$  と逆相関する。

#### 研究の必要性と特色

種々の食餌性因子ならびにそれに関連したリスクファクターと、CVDとの関係を、よく統一された方法で国際的に広い地域にわたって研究された例は、Keys、Blackburn、木村登等による“7カ国共同研究”以来、皆無であるといつてよい。とりわけ世界の各地域集団の高血圧や循環器疾患と食餌性因子との関係を総合的に調べた研究は未だない。従って、本研究の主旨の項で強調されているように、食餌性因子と高血圧や主要な循環器疾患との関係の分析を主目的として、国際比較研究を遂行することは、これらの疾患が高齢化社会の健康を阻んでいる今日、まさに緊急課題といえる。

食習慣とCVDについては、これまで多くの仮説が提唱されて来たが、これらの新旧様々な仮説はいずれもよく統一された比較研究で検証されることが待たれている。成人の循環器疾患の中でも最も多い高血圧に関して、Dahl等によって強調された食塩

説は、当時は十分な国際的比較基準もなく確証をされてもいない知見のよせ集めによっているため、今ではその根拠は極めて弱いとみなされている。又、最近とくに注目を浴びつつあるカリウム摂取がナトリウム摂取の悪影響に対し拮抗するという説も早急に検証されねばならない。さらに、主要CVDの共通の背景となる動脈硬化（アテローム硬化）については種々の脂肪酸の摂取が、血清の低比重リポ蛋白（LDL）や、高比重リポ蛋白（HDL）の変動を介して硬化を促進したり抑制したりするとみなされているが、広い地域にわたる多くの集団についての厳密な比較研究は未だなされていない。さらに、脳梗塞、心筋梗塞のいずれにも関係する血栓症については、 $n-3$ 脂肪酸など高度多価不飽和脂肪酸が抗血栓性に働くことが指摘され、最近のトピックスになっているが、循環器疾患の種類も頻度も大いに異なる世界中の様々な集団についてこれがあてはまるかどうか検証されねばならない。

一方、高血圧の動物モデル、高血圧自然発症ラット（SHR）や、ことに脳卒中易発症SHR（SHRSP）による最初の実験成績は(5,6)、高血圧や脳卒中をはじめとする典型的CVDが遺伝・環境相関によって発症するが、たとえ遺伝素因が強くとも食餌等の環境因子の制御でCVDの予防が可能であることを示している。中でも食餌中のナトリウム／カリウム比のみならず、蛋白、とりわけ含硫アミノ酸の多い動物性蛋白は高血圧の発症を抑制し、脳卒中を予防することが実証されてきた。

今回企画された国際共同研究では、以上の如き重要な諸仮説(7,8)を様々な食習慣を有する世界中の集団について、標準化された統一的方法を用いて検証することを特色としている。客観的な栄養調査法としては、国際比較では問題の多い従来聞き取り法にかわって、本調査では食事摂取の生物学的マーカーの検査に重点をおいている。即ち、24時間採尿による尿中ナトリウム、カリウム、尿素窒素、タウリン、メチルヒスチジンの排泄量からナトリウム、カリウム、蛋白それに動物性蛋白の摂取量を評価する(9-19)。又、脂肪酸の摂取については、血栓磷脂質の飽和や単価不飽和脂肪酸はじめ $n-3$ 、 $n-6$ など多価不飽和脂肪酸の摂取比を推定すると共に、血清総コレステロールを測定して、脂肪摂取状況の総合的評価を行なうものである(20,21)。さらに研究室間の測定に関する差をなくすために、尿と血液のサンプルは、すべて一つの分析センターでよく標準化された方法により測定する。又、血圧測定については、集

団間の比較に関して訓練や標準化の努力を払ってもなお聴診法で行なう測定には標準化の限界があるため、新たに開発されたコトコフ音を記録する自動記録血圧計を採用する。

本研究は基本的には断面調査（Cross-sectional study）であり、採尿採血を主としてランダム抽出で食餌性因子の調査と血圧測定を行なう“中核研究”と、中核研究を実施する対象者が選ばれた母集団での主要CVD（脳卒中、虚血性心疾患）の死亡率の調査を実施する“完全研究”の二本柱よりなる。

## 研究方法

### 検診方法

#### 1 ‘中核研究’のための検診

対象集団からランダムに抽出された検診対象者について、血圧の測定、24時間採尿、採血、身体計測や問診を行なった。検診は各対象集団について温度、湿度などの季節的要因ができるかぎり同じような条件で実施した。

採尿による検査（表1）比例採尿器（アリコートカップ）を用いて24時間尿を1回採取し次の項目を測定した。

ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、尿素窒素、タウリン及びメチルヒスチジン（総蛋白および動物性蛋白摂取の評価指標）、コチニン（喫煙の指標）、クレアチニン（24時間採尿の確認のため）

採血による検査（表1）採血を行ない、次の項目を測定した。

ナトリウム、カリウム、総コレステロール、リン脂質中の脂肪酸、総蛋白質、アルブミン

その他身体計測や問診 検診対象者については身長、体重測定のほか、問診としては性別、人種、喫煙、飲酒、経口避妊薬、意識的な食習慣の変化の有無、高血圧治療の有無、CVDの罹患歴、高血圧やCVDの家族歴、教育歴（最終学歴）、職種（職歴）、居住環境（市街地か否か）等を記載した。

#### 2 ‘完全研究’のための死亡率の確定

—主要CVDの死亡率は調査期間過去5年（1980—1984）とした。

－死亡率は中核研究の対象集団を含む地域内の、35から74才までの成人について死亡診断書の確認作業を行ない、5才毎に、又性別毎にICDの4ケタ数字のコードにもとづき死亡統計を算出した。

－虚血性心疾患については調査期間中の35才－74才の成人について診断基準を満足する死亡症例を全例登録した。

－脳卒中については調査期間中の35才－74才の成人について診断基準を満足する脳卒中例（脳出血、脳梗塞その他を分類する）を全例登録する。

## 調査対象集団

### 1. 選択基準

調査対象集団は食生活の様式や循環器疾患の発症について、各国内でもCVDが特に多い集団と特に少ないとみなされる集団を選んだ。この選択はこれまでに得られている可能な統計によるが、調査実施の容易さなどの現実的理由から対象集団が選ばれる際には以下の点に注意した。

－CVDと食餌性因子の関連を調査するのが主目標であるため、すでにCVDの予防や治療のための努力が強力にすすめられ、食生活が急速に変化しつつある集団は避ける。

－対象集団は地理的、又は行政的に規定されるものであることが望ましく、さらに中核研究の対象は完全研究の対象の中に含まれる。

－人口移動の大きい集団は避ける。又もし移動の大きい集団を対象とするなら、調査地域外での死亡を追跡出来るような方策を講ずる。

### 2. 対象集団のサイズ

完全研究に必要なCVDの死亡率について安定した情報を得るには、なるべく大きい母集団が望ましく、完全研究では35－74才の死亡率が必要であり、この年齢層で25万人あることが望ましいが、5年間の死亡率をとる際に対象集団は小さくてもよいとした。さらにCVDの死亡率調査の精度を上げるためには、もちろんその集団の主要CVDの死亡率にもよるが、種々の統計的な検討の結果、より限定されたサイズ、例えば2～4万人以上あれば実際的には適当と考えた。

### 3. 国際的対象集団

様々な食習慣を有し、CVDの種類と死亡率が異なると推定される集団を国際的対象集団として選択した。‘中核研究’のみならず主要CVDの死亡率の確認も行なえるような‘完全研究’の可能な集団が望ましいとしたが、開発途上国においては中核研究の実施しうる集団をもって選択の十分条件とした。

### 4. 各国内対象集団

国際的対象集団の比較では、常に民族という遺伝的差異が問題となる。そこで、可能な国では国内で人種が等しく、しかもCVD死亡率の異なる複数集団（高リスク集団、低リスク集団）を選び、中核および完全研究を行ない、国際比較で得られた結果の普遍性について検討した。ここでいうリスクの高低とは、その国の代表的なとなるCVDに関し、その死亡率（発症率）の高低を意味するが、疾病統計の完備されていない中核研究のみを行なう集団にあってはWHOの基準による高血圧症の頻度ないし集団の血圧平均の高低等で代用した。

## 中核研究のための検診

### 1. 検診対象集団

中核研究の対象集団は、前項でも述べられているような特色を配慮して選んだ。中核研究の200人は少なくとも市か市以上の行政単位から選んだ。

### 2. 検診対象

対象集団で利用しうる抽出枠（例えば選挙人名簿、誕生日、集団内地域分布の均等性など）から200人がランダム又は、等間隔抽出した。

対象は年齢の影響をのぞくため次の年齢層に限った。

年齢、48-56才。男女各100人、計200人。

調査対象集団全体からの純粋なランダム抽出は、調査担当者ならびに調査対象集団に負担と混乱を引き起こす可能性もあり、‘クラスターサンプル法’等により実施可能な抽出法も考慮したが、抽出によるバイアスをさけるよう努めた。（注：中核研究の抽出サンプルの必要数については、例えば血圧と食塩摂取量に関係についてM. G. MARMOT等による計画されているINTER-SALT研究で、各年齢、性について

て最小20、したがって50あれば統計的には充分であろうという推定に基づいている。) 各国の協力センターによっては、中核研究において集団間のみならず、個人の食塩摂取の評価を行なう場合には、数日にわたる24時間尿採取を年齢差のない限られた年齢階層別の集団を対象として実施した。

### 3. 検診項目と方法

#### 1) 血圧/脈拍

血圧測定に関して生ずる測定者の差による違いを最小にするため、十分に公正値を確認された記録装置付きの自動記録血圧計を用いることにする。いくつかの協力センターでは、他の研究 (INTER-SALTなど) との比較のためにも、ランダム '0' 法を併用または同時使用 (共通のマンシェットを使用) した。

#### 2) 身長/体重

身長 (H) と体重 (W) についてはMONICA研究と同じ条件で測定した。肥満度 ( $W/H^2$ :  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) は計算で求めた。

#### 3) 血液検査 (表1)

##### a) 採血法

- 採血についての詳細は本研究のプロトコールの検査手技便覧によった(1)。
- 採血法は空腹時 (3時間以上は食事をしていないという条件で) に行なった。
- 採血は同じ姿勢 (例えば座位) で行ない、各センター間で採血姿勢の差によるヘマトクリット、アルブミン値等の差を避けた。
- 採血量は最低10mlを指定の注射器を用い前腕静脈より徐々に行ない、注射筒の針をはずした後、指定の試験官内に管壁をつたわせるようにして血液を採取した。
- 血液はごく一部をヘマトクリット管にとってヘマトクリットとヘモグロビンを測定して1分間に3000回転、15分間遠沈し、血清は二分し、また赤血球も一部を指定の試験官内に入れ、 $-70^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。
- 血清分離後の赤血球は別の試験官に移し、 $-70^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。
- 凍結したサンプルは、以下の尿サンプルと同様、凍結状態のままドライアイスにつめて分析センター (循環器疾患の一次予防に関するWHO国際共同研究センター) に送付した。



#### 4) 尿検査 (表1)

##### a) 24時間尿採取

24時間尿は、本研究のため特別に開発された‘アリコートカップ’を用いて採取した。同カップは排尿毎にその一定量をカートリッジ内に貯めうる装置で、24時間採尿の場合は起床時の第一回は採取せず時刻(T)のみ記録し、第2回尿からすべての尿を採取し、翌朝の起床時第一回尿をTの時刻に採取した。アリコートカップによる採尿法については検診参加者に充分説明すること、24時間採尿中に主要な食事(3食)が含まれること、集団間の比較のためには採尿は特別な食習慣のある日(週末など)にかたよらぬよう週の中のいろいろな日に一様に行なわれるよう配慮した。

—採尿カートリッジ内にはあらかじめ防腐剤(6N塩酸500マイクロリットル)を入れた。

—24時間尿提出の際には、所定のプロトコールに従って採尿が完遂されたことを確認した。尚、24時間採尿が完遂されたかどうかを調べるため、尿中のクレアチニンを測定したが、以下の方法をもし検診参加者の了解が得られれば行なった。即ち、パラアミノ安息香酸(PABA)を毎食80mg、計3回経口的に摂り、24時間尿内にPABA量が205mg以下であれば個人の採尿検査の成績からは除外した。

—採尿後のカートリッジは、-20℃で凍結保存し、なるべく早い機会に凍結状態のまま分析センターに送付した。

##### b) 連日採尿(特別検尿)

年齢/性別で分けた検診対象の中の10~20%のランダム抽出された対象者については、可能な集団について24時間尿を数日間ないし3、4日おいてもう一度採取した。このことによって食塩などの個人のばらつきと共に、個人の摂取量の評価を可能とし、血圧に及ぼす食餌性因子の影響を集団間で比較するとともに、場合によっては、個人を分析単位とする多因子分析も可能となった。この際個人の摂取量を評価するために必要となる24時間尿サンプル数は食習慣の差によって集団により異なった。(3-5日間で良い集団もあれば、10~14日間必要な集団もあり、あらかじめ予備テストで必要な日数を決めておく必要があった。)

#### 5) その他

#### a) 問診

喫煙習慣や飲酒の習慣について、1日の量、ないし1週間の平均的摂取量を聞き取る問診のために必要なアンケートは、MONICA研究に準じて用意した。

#### b) 栄養の聞き取り調査と食品分析

調査対象集団で可能なところでは栄養の聞き取り調査を行なった。又、調査対象集団の摂取する典型的な食事については、現地でサンプルをホモゲナイズし、一部を凍結してセンターに集め、栄養の科学的分析もおこなった。

### 完全研究のための主要循環器疾患（CVD）死亡率の確定

主要CVDの死亡率は調査対象集団において循CVDがどの程度問題なのかを明らかにするため調査されたが、食餌性因子との関係、さらに血圧やその他の食餌に関連したリスクファクターとの関連性を分析するのが究極の目的である。勿論、死亡率のみならず、発症率を調べるのが対象集団の循環器疾患のリスクファクターの分析には理想的であるが、本研究では死亡率のみを調査した。（発症率の調査は診断の確認など、さらに複雑な研究計画を必要とするため、本研究のごとく生活習慣の異なる各国の集団の比較には適当ではないと判断した。）

#### 1. 必要とされる基礎データ

原因別の正確な死亡率を得るために、次の三種類の情報を得た。即ち、人口統計と死亡届、および付随的情報として死亡症例に関係した医学的記録である。

##### 1) 人口統計

年令／性別の人口構成は、年令／性別の死亡率が、年令によって標準化された訂正死亡率を求めるには勿論不可欠である。これらは、最近の人口調査によるべきであり、各集団の人口統計の専門家に助言を得た。完全研究と中核研究の対象となる集団の人口構成は、35から74才の間を5才間隔の年令階層別、性別に分けた。

##### 2) 調査対象集団

完全研究の集団は、死亡率が得られるのに十分な人口を有する郡、県、町村であって、中核研究の集団が死亡率をうるに十分に大きな集団でない限り、中核研究の調査対象は完全研究の中に含まれるようにした。

## 2. 死亡率

限定された完全研究の調査対象集団については、一定期間内の年齢／性別の次の死亡率を求めた。(i)全死亡率；(ii)CVD死亡率（ICD第9版390-459）；(iii)高血圧性疾患の死亡率（401-405）；(iv)急性心筋梗塞（410）；(v)心筋梗塞を含むすべての虚血性心疾患（410-414）；(vi)肺循環疾患（415-417）；(vii)その他の心疾患（420-429）；(viii)脳血管疾患（430-438）；(ix)その他の症状、徴候、診断の不確実な症例、などを区分した。診断不確定の症例は死亡率統計の質の判定の参考にした。

## 3. WHO MONICA研究との関連

CARDIAC Studyのセンターで同時にMONICA研究に参加するセンターでは死亡率についてのより確実なデータが得られ、死亡届の確認や発症率の調査も可能であった。これらの情報はその地域の死亡統計を裏付けるにも有用であった。

表1 血液、尿検査項目と方法

血液検査項目 検査項目	方法	備考
総コレステロール 尿薬窒素 クレアチニン、アルブミン 総蛋白	自動分析器	
ナトリウム、カリウム カルシウム、マグネシウム	蛍光分析	原子吸光または イオンクロマト グラフィー
脂肪酸：n-6(c-18-2, c-20- 3, c-20-4) n-3(c-20-5, c-22- 6)など	ガスクロマト グラフィー	
尿検査項目 検査項目	方法	備考
ナトリウム、カリウム マグネシウム、カルシウム	蛍光分析 原子吸光または イオンクロマト グラフィー	
タウリン、 メチルヒスチジン 尿薬窒素 クレアチニン	アミノ酸分析器 自動分析器	動物性蛋白摂取 の指標 総蛋白摂取の指 標

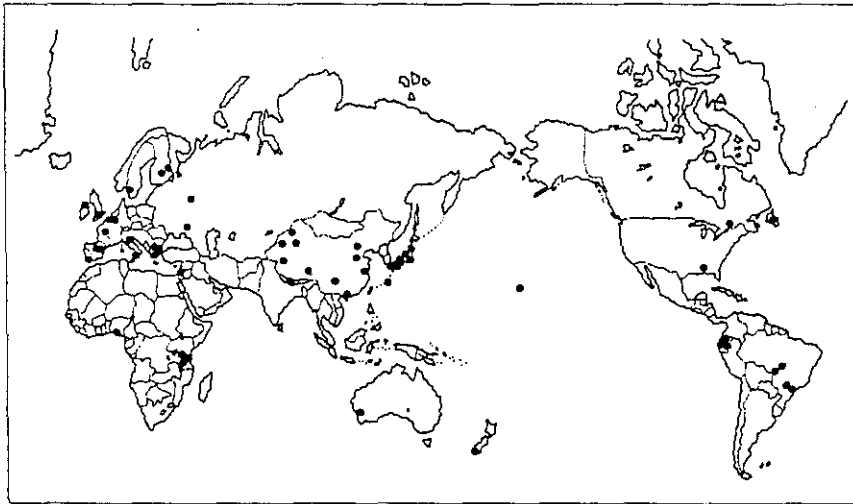


図1 循環器疾患と栄養国際共同研究参加センター23ヵ国54集団 (1993年現在).

## 研究結果

### 1 CARDIAC Study-中核研究

平成5年9月現在、世界24ヶ国55集団(図1)での調査が終了し、そのうち53集団についての血圧、肥満度(カウプ指数)、尿分析により尿中ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、尿素窒素、クレアチニン、アミノ酸(タウリン、メチルヒスチジン、1メチルヒスチジン、3メチルヒスチジン)および血清総コレステロールなどの生物学的指標についての分析結果を得た。

#### 1) 単回帰分析によるセンター間分析

調査参加者のうち、年齢が48-56歳の男女を対象者として、血圧や尿量、尿中電解質排泄に影響を及ぼす薬の服用者は除外し、さらに、尿中排泄量として得られる指標に関しては、クレアチニン排泄量を体重により補正した値により、24時間尿の採取に失敗したと判断された者も除外した上で、男女別の平均値を各項目について計算し、まず単回帰分析によってセンター間分析を行った。その際、交絡因子の調整は行わなかった。

#### a) 血圧と肥満度の関係

肥満度は、カウプ指数(体重/(身長)<sup>2</sup>; kg/m<sup>2</sup>)として求めた。肥満度は概し

て欧米諸国は高く、アジア、アフリカ諸国は低い傾向にあった。特に男女ともブラジル南リオグランデ州バジェ（男27.0+3.3、女27.9+3.8；平均+標準偏差）、アメリカ、ミシシッピ州ジャンクソン（男28.5+5.2、女29.9+6.4）では、著しい肥満傾向が認められた。男性において、肥満度と収縮期血圧（SBP）、拡張期血圧（DBP）両者との間で、有意な正の相関が認められた（SBP： $r=0.479$ 、 $p<0.001$ 、DBP： $r=0.502$ 、 $p<0.001$ ；図2）。また同様に女性においても、肥満度とSBP、DBP両者との間で、有意な正の相関が認められた（SBP： $r=0.324$ 、 $p<0.05$ 、DBP： $r=0.291$ 、 $p<0.05$ ）。

#### b) 血圧と血清総コレステロールの関係

49集団（中国の4集団の血液サンプルを得ることができなかった）の男性において血圧と血清総コレステロール（mg/dl）の間で、有意な正の相関が認められた（SBP： $r=0.125$ 、 $p<0.391$ 、DBP： $r=0.318$ 、 $p<0.05$ ；図3）。また同様に女性においても、血清総コレステロールとSBP、DBP両者との間で、有意な正の相関が認められた（SBP： $r=0.223$ 、 $p=0.123$ 、DBP： $r=0.318$ 、 $p<0.05$ ）。

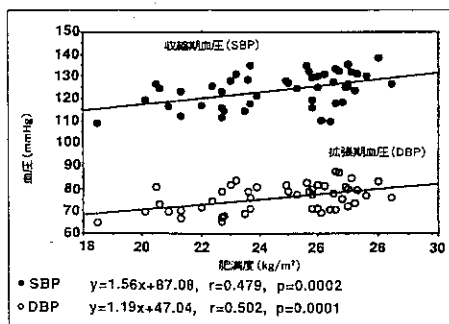


図2 血圧と肥満度の関係(男性).

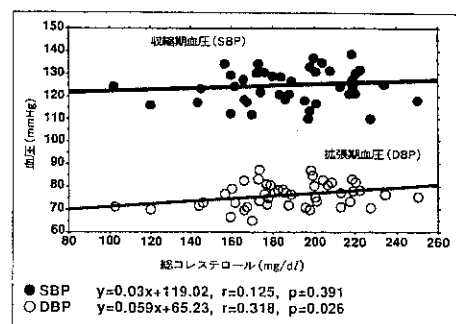


図3 血圧と血清総コレステロールの関係(男性).

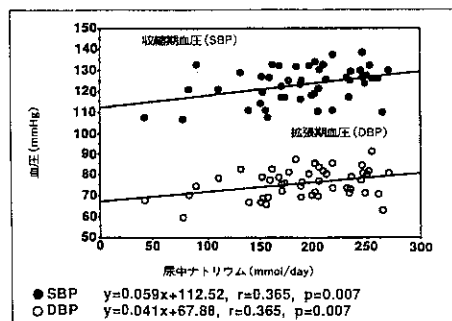


図4 血圧と24時間尿中ナトリウム排泄量の関係(男性).

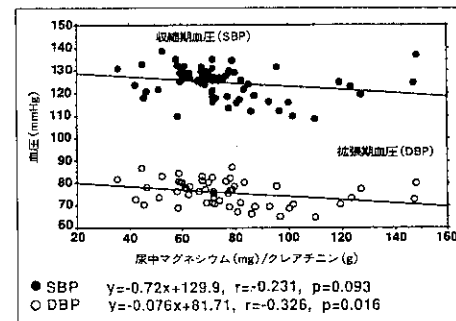


図5 血圧と24時間尿中マグネシウム排泄量(男性).

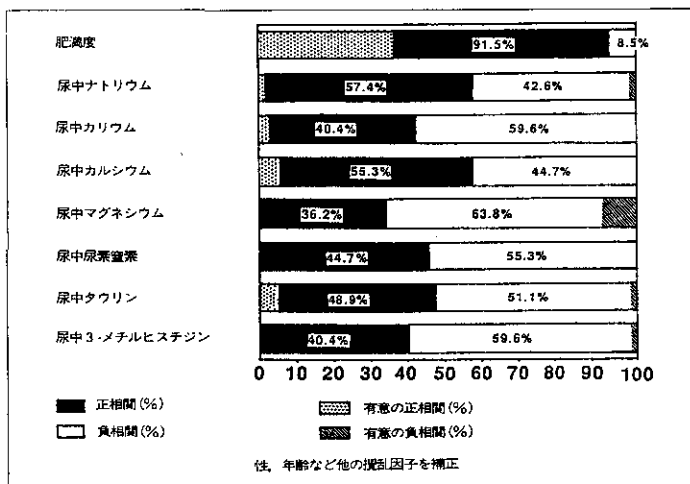


図6 収縮期血圧と各要因のセンター内重回帰分析.

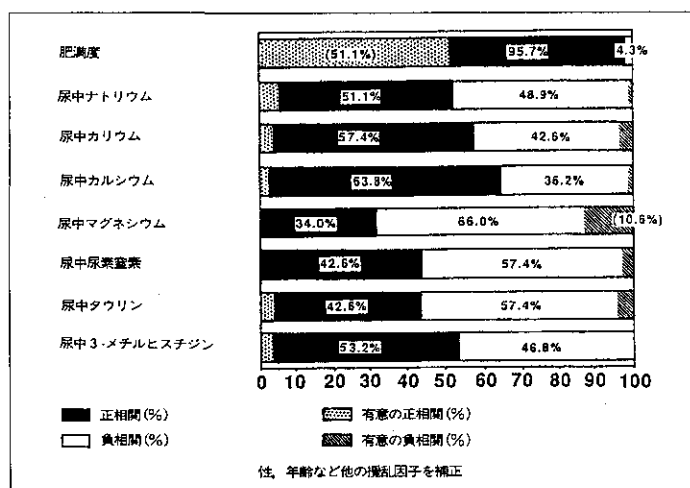


図7 拡張期血圧と各要因のセンター内重回帰分析.

表2 プールした回帰係数

	肥満度	尿中 ナトリウム	尿中 カリウム	尿中 マグネシウム	尿中 カルシウム	尿中 尿酸窒素
<b>収縮期血圧</b>						
プールした回帰係数	1.0694	0.0099	-0.0035	-0.0353	0.0190	-0.2348
標準誤差	0.0908	0.0053	0.0176	0.0088	0.0024	0.1459
Zスコア	11.7815***	1.8605	-0.1995	-4.0346***	7.8631***	-1.6090
<b>拡張期血圧</b>						
プールした回帰係数	0.9080	0.0102	0.0242	-0.0219	0.0067	-0.2120
標準誤差	0.0557	0.0032	0.0109	0.0053	0.0025	0.0879
Zスコア	16.2929***	3.1844**	2.2239*	-4.1527***	2.6293***	-2.4116*

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

### c) 血圧と尿中ナトリウム排泄量の関係

一日尿中ナトリウム排泄量は、日本、中国で高く、アフリカで低い傾向にあった。血圧と一日尿中ナトリウム排泄量の間には、男性において、SBP、DBPともに有意の正相関がみられた(SBP :  $r = 0.365$ ,  $p < 0.01$ , DBP :  $r = 0.365$ ,  $p < 0.01$ ; 図4)。

### d) 血圧と尿中マグネシウム排泄量の関係

一日尿中マグネシウム排泄量は、地中海地域、中国で高く、日本、アフリカで低い傾向にあった。血圧と一日尿中マグネシウム排泄量の間には、負の関係がみられ、男性において、尿中クレアチニン排泄量との比をとった場合にDBPとの間に有意な負の相関がみられ(SBP :  $r = 0.231$ ,  $p = 0.928$ , DBP :  $r = 0.326$ ,  $p < 0.05$ ; 図5)、女性においても同傾向であった。

### e) その他

上記以外の栄養マーカーでは、尿中カルシウム排泄量とSBP、DBPとの間に正の相関がみられたが、有意ではなかった。他の、尿素窒素排泄量、アミノ酸(タウリン、3メチルヒスチジン)なども、有意な相関はみられなかった。

## 2) 重回帰分析によるセンター内分析

各集団内での血圧と諸栄養マーカーとの関係の分析を重回帰分析を用いて行った。従属変数にSBP、DBPをとり、独立変数に性、年齢、肥満度、尿中ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、尿素窒素排泄量、およびアミノ酸(タウリン、3メチルヒスチジン)排泄量をとり、解析をおこなった。この結果について主な因子のSBP、DBPそれぞれとの関係の傾向をパーセントで表わし(図6、7)、さらに、各センターの重回帰分析の結果を全体的に評価するために、pooled regression coefficient(3)を算出し、全センターの集約された結果として検討した(表2)。

### a) 肥満度

SBP、DBPそれぞれと91.5%、95.7%のセンターで正の関係がみられ、そのうち36.2%、51.1%のセンターが有意な正相関を示した。また pooled regression coefficientにおいても独立した強い正相関を示した。

**b) 尿中ナトリウム排泄量**

SBP、DBPそれぞれと正の関係を示したセンターは57.4%、51.1%で明かな傾向はみられず、pooled regression coefficientではDBPとの関係は有意な正相関であった。

**c) 尿中カリウム排泄量**

SBP、DBPそれぞれと負の関係を示したセンターは59.6%、42.6%で明かな傾向はみられず、pooled regression coefficientではDBPとの関係が有意な正相関であった。

**d) 尿中マグネシウム排泄量**

SBP、DBPそれぞれと負の関係を示したセンターは63.8%、66.0%で、そのうち有意な負の関係をしめしたセンターはそれぞれ8.5%、10.6%で、負の関係を最も強く独立して示した。さらに、pooled regression coefficientではSBP、DBPと有意な強い負の関係を示した。

**e) 尿中カルシウム排泄量**

SBP、DBPそれぞれと正の関係を示したセンターは55.3%、63.8%でやや正の傾向にあり、pooled regression coefficientではSBP、DBPと有意な強い正の相関を示した。

**f) 尿中尿素窒素排泄量**

SBP、DBPそれぞれと負の関係を示したセンターは55.3%、57.4%でやや負の傾向にあり、pooled regression coefficientではDBPと有意な負の相関を示した。

**g) 尿中タウリン排泄量、尿中3メチルヒスチジン排泄量**

明らかな関係はみられなかった。



No	国	センター	虚血性心疾患		脳卒中	
			男性	女性	男性	女性
1	オーストラリア	Perth	485.7	169.4	91.0	60.9
2	ブルガリア	Sofia (urban)	241.6	76.5	396.8	317.7
3	中華人民共和国	Shanghai	65.8	20.8	373.3	183.9
4	中華人民共和国	Shijiazhuang	289.2	120.1	603.8	375.0
5	エクアドル	Quito	119.6	38.6	83.7	79.4
6	フィンランド	Kuopio (urban)	1,019.7	254.1	188.8	131.7
7	フィンランド	Kuopio (rural)	1,011.5	156.2	169.9	196.2
8	イスラエル	Tel Aviv	398.8	178.7	73.6	74.9
9	日本	Toyama	90.6	44.7	301.8	151.1
10	日本	Beppu	62.4	20.3	197.6	97.0
11	日本	Ohda	62.7	31.6	150.7	76.9
12	ニュージーランド	Dunedin	668.2	273.1	130.7	111.4
13	ポルトガル	Lisbon	203.4	99.8	304.8	212.3
14	スペイン	Madrid	171.5	37.1	86.6	47.4
15	スウェーデン	Goetheborg	575.0	143.1	88.6	63.0
16	イギリス	Belfast	778.9	254.2	162.7	106.1
17	イギリス	Stornoway	895.4	238.4	192.8	135.3
18	グルジア	Caucasus	189.3	168.8	468.6	158.8
19	ロシア	Moscow	480.2	84.3	233.6	54.4

表3 循環器疾患と栄養国際比較研究(CAR-DIAC Study)の完全研究に参加した14ヵ国19センター(年齢訂正死亡率[人口10万対, 45~74歳, 男女別]は世界人口を用い直接法で算出).

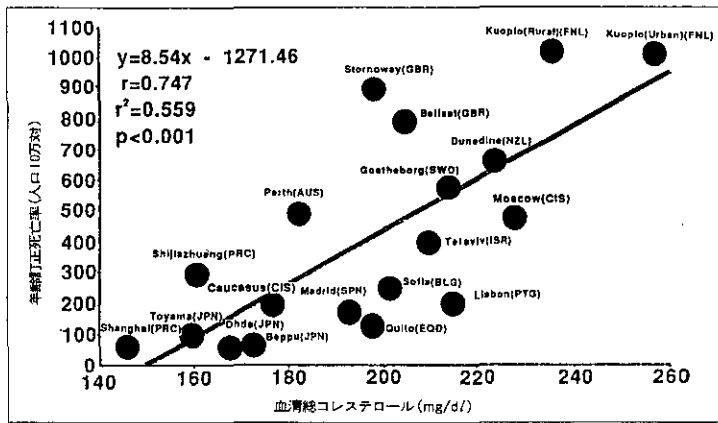


図8 血清総コレステロールと虚血性心疾患年齢訂正死亡率(男性).

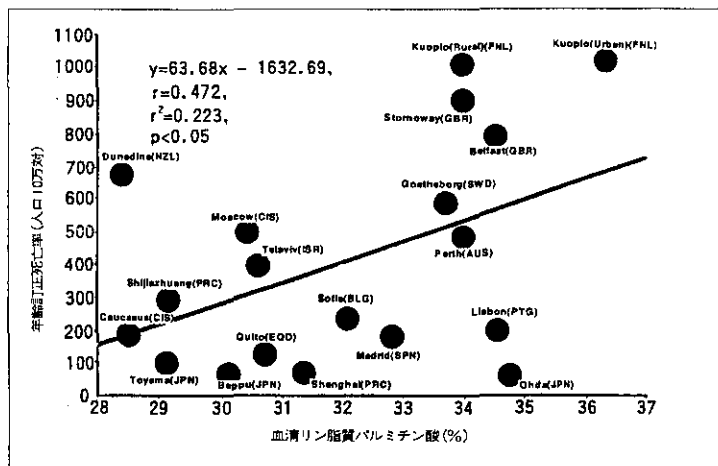


図9 血清リン脂質不飽和脂肪酸と虚血性心疾患年齢訂正死亡率(男性).

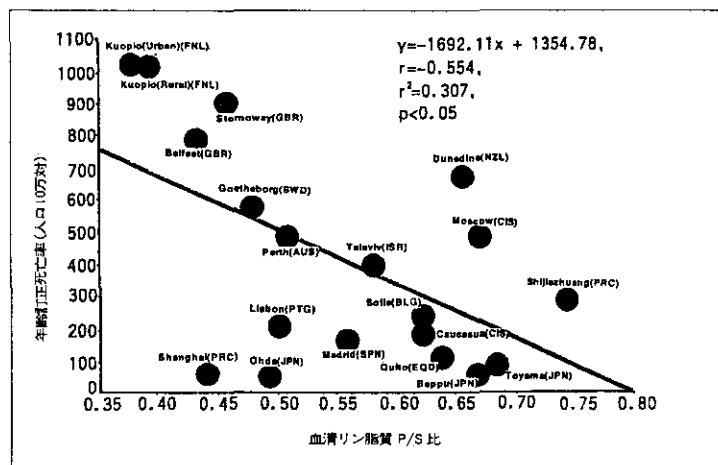


図10 血清リン脂質不飽和脂肪酸(P)/飽和脂肪酸(S)比と虚血性心疾患年齢訂正死亡率(男性).

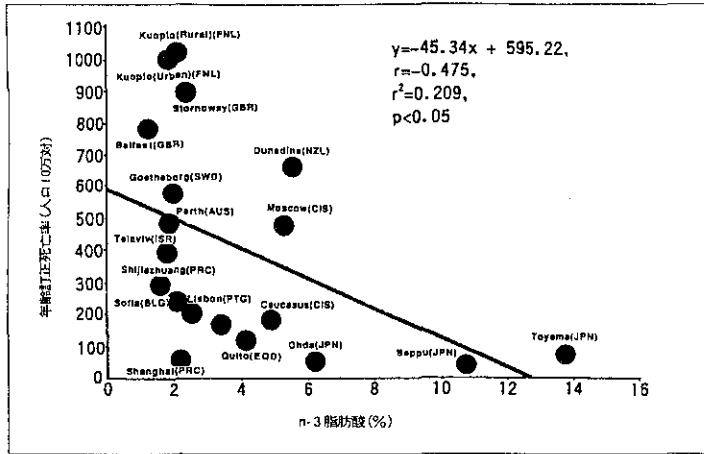


図11 血清リン脂質 n-3 多価不飽和脂肪酸と虚血性心疾患年齢訂正死亡率(男性).

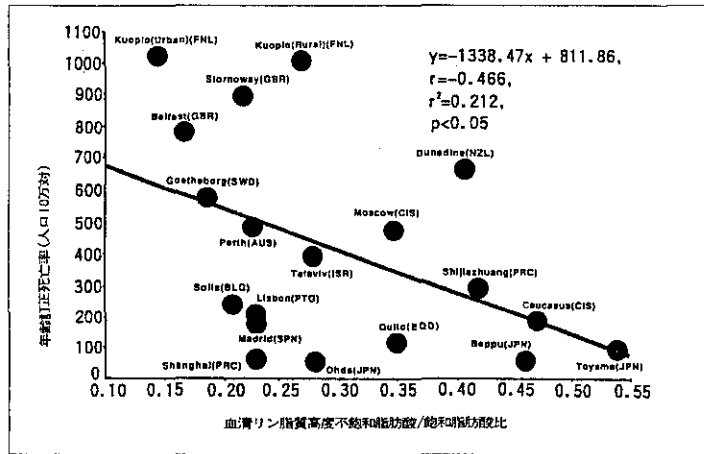


図12 血清リン脂質高度不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸比と虚血性心疾患年齢訂正死亡率(男性).

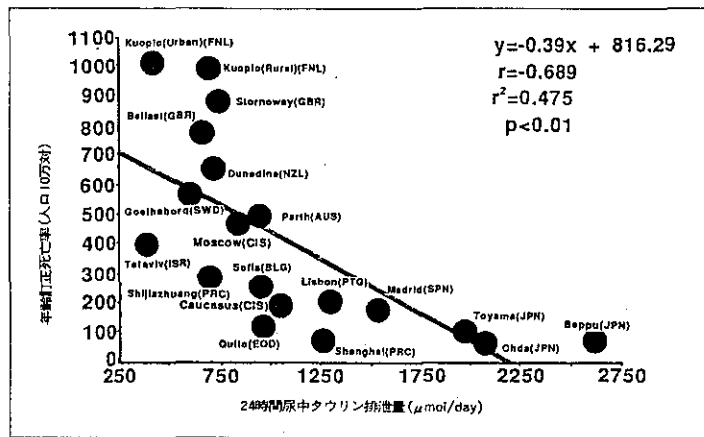


図13 24時間尿中タウリン排泄量と虚血性心疾患年齢訂正死亡率(男性).

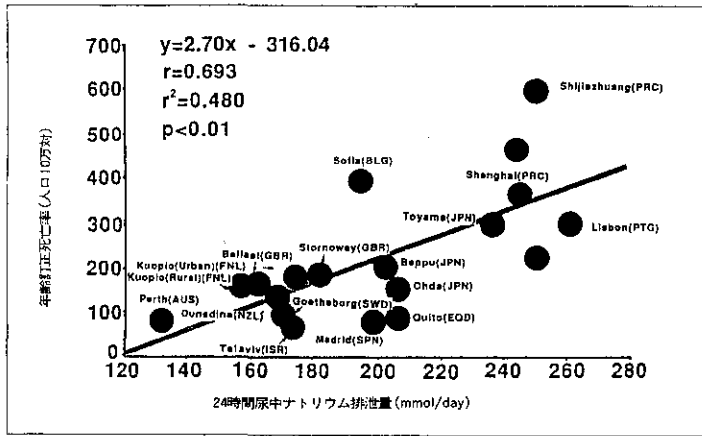


図14 24時間尿中ナトリウム排泄量と脳卒中年齢訂正死亡率(男性).

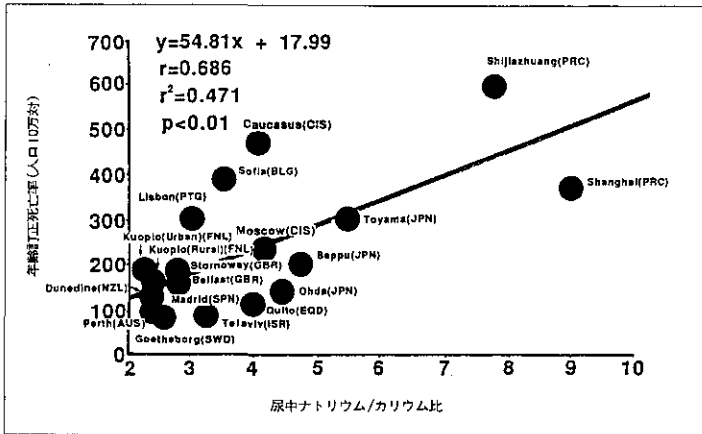


図15 24時間尿中ナトリウム/カリウム比と脳卒中年齢訂正死亡率(男性).

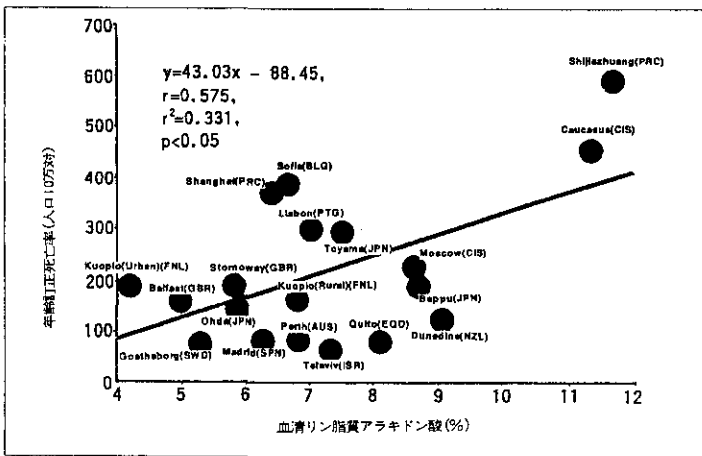


図16 血清リン脂質アラキドン酸と脳卒中年齢訂正死亡率(男性).

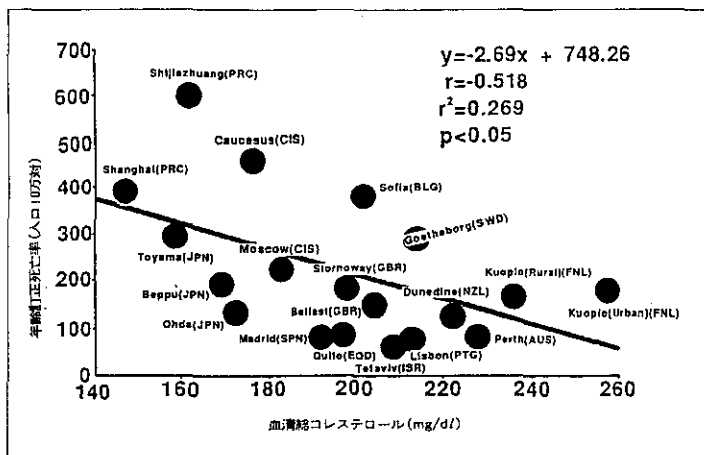


図17 血清総コレステロールと脳卒中年齢調整死亡率(男性)。

## 2 CARDIAC Study –完全研究

5歳階級の人口構成、疾患別死亡数に関する信頼度の高いデータを13ヶ国19集団から提供され、世界人口を用いた直接表により、45-79才の性別年齢調整死亡率を虚血性心疾患、脳卒中に関して算出し(表3)、各栄養マーカーとの関係を単回帰分析を用いて検討した。

### 1) 虚血性心疾患年齢調整死亡率

虚血性心疾患年齢調整死亡率との間に有意な正相関をしめした栄養マーカーは血清総コレステロール(図8)と血漿リン脂質脂肪酸中のパルミチン酸(図9)であった。一方、有意な逆相関をしめした栄養マーカーは血漿リン脂質脂肪酸中の多価不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸比(図10)、n-3系多価不飽和脂肪酸(図11)、高度不飽和脂肪酸(図12)、そして尿中タウリン排泄量(図13)であった。

### 2) 脳卒中年齢調整死亡率

脳卒中年齢調整死亡率との間に有意な正相関をしめした栄養マーカーは尿中ナトリウム排泄量(図14)、尿中ナトリウム/カリウム比(図15)および血漿リン脂質脂肪酸中のアラキドン酸(図16)であった。一方、有意な逆相関をしめした栄養マーカーは血清総コレステロール(図17)であった。

## 考 察

脳卒中、心筋梗塞、高血圧症など成人循環器疾患に対する一次予防の重要性が注目され、特に食事条件の改善が必要とされているが、その基礎的データは不足している。

食事条件を含む循環器疾患のリスクファクターは、国や民族において異なる可能性があり、同一条件で標準化された国際的な疫学調査の必要がある。CARDIAC Studyは、こうした必要性から実施されることになった国際共同研究である(1~4)。

#### CARDIAC Study – 中核研究

肥満度と血圧の関係は、センター間の単回帰分析および、センター内の重回帰分析にても強い正の相関が認められ、従来の疫学的、臨床的知見に確証を与えることとなった。また血圧と血清総コレステロールとの間にも、有意な正相関がみられ、従来の疫学研究(5,6,7)により明らかにされた虚血性心疾患のリスクファクター(高血圧、高脂血症、喫煙、糖尿病、肥満)のうち、少なくとも高血圧、高脂血症、肥満が重複して存在する可能性を示唆する重要なデータとなった。このコレステロールと血圧との正相関は、今後、肥満度の影響を調整して検討する必要がある。

食塩摂取量と血圧の関係については、古くから、食塩摂取が高血圧発症に重要な役割を果たすと考えられており、現在までもいくつかの疫学調査で検討されており(6~8)。またWHOも高血圧予防のために食塩摂取量を一日6g以下にするよう勧告している(1)。本研究では、Dahlが指摘した種々の民族における食塩摂取量と高血圧発症頻度との関係(4)を、標準化された方法により得た一日尿中ナトリウム排泄量と収縮期、拡張期血圧が強い正相関をもつという世界規模の集団間比較データで初めて証明することができた。

低マグネシウム状態が循環器疾患に悪影響を及ぼすことは多く報告されているが(9)、本研究は尿中マグネシウムが血圧と強い独立した逆相関を示すことを明らかにした世界で初めの大規模な疫学研究である。

マグネシウムの作用機序や尿中排泄におけるナトリウム、カリウム、カルシウムなどとの相互影響などさらに検討する必要がある。

経口カルシウム摂取量は血圧と負の相関を示すが、尿中排泄量においては、血圧と正の関係を示す傾向にあることが報告されている(10,11)。マグネシウム同様、尿中排泄におけるナトリウム、カリウム、マグネシウムなどとの相互影響などさらに検討する必要がある。

尿中尿素窒素は蛋白質摂取量の指標となりうると考えられ、センター内の重回帰分析により血圧と負の関係の傾向にあり、pooled regression coefficientにより拡張期血圧と有意な負の相関がみられたことは、SHR、SHRSPを用いた実験(5,6,24)で証明された蛋白投与の血圧上昇抑制作用を疫学研究においても示す貴重なデータである。

アミノ酸の中では、タウリンの降圧作用については、SHRSP(2,12)やタウリン欠乏状況にあるといえるネパールでの臨床実験(未発表)では確認しているが、尿中のタウリン排泄量は、血圧と明らかな関係を示さず、通常の摂取量での血圧への影響については更に検討が必要である。

### CARDIAC Study – 完全研究

7ヶ国研究以後(3)、大規模横断研究において、虚血性心疾患、脳卒中の年齢調整死亡率に関する新しい知見を見いだすことができた。コホート研究ではない制約はあるが、代表性のある集団の各栄養指標と母集団の死亡統計の検討により、妥当性の高い関係を提示した。

虚血性心疾患年齢調整死亡率との間においては、コレステロールが強いリスクファクターであることを示したほか、リン脂質脂肪酸の分析により、パルミチン酸との間の正相関、多価不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸比、n-3系多価不飽和脂肪酸、高度不飽和脂肪酸との間の強い逆相関を示した。本研究は、世界的規模ではじめて、n-3系多価不飽和脂肪酸のエイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸などの魚油由来の脂肪酸を含む各指標のほかに、尿中タウリン排泄量が虚血性心疾患年齢調整死亡率と有意な逆相関を示した。これは、魚介類摂取が虚血性疾患の予防に有益であることを疫学的に支持する成績で、我々は日本人と日系ブラジル人とを比較した移民研究でもこれを支持する成績を持っている(13)。

脳卒中年齢調整死亡率との間に尿中ナトリウム排泄量、尿中ナトリウム/カリウム比が有意な正相関を示し、SHRSP(2,12)の実験的知見がヒトへ外挿出来ることを示す疫学的データが得られた。今回の研究では、さらに血漿リン脂質脂肪酸中のアラキドン酸についても脳卒中に対する悪影響が示唆されており、脳血栓症との因果関係

の検討が必要である。一方、血清総コレステロールは有意な逆相関を示し、低コレステロールが脳卒中（特に脳出血）のリスクファクターであることを明らかにした。これはSHRSPの実験的結果(2,12)や、日本、米国における疫学的知見(14)をさらに世界的規模で確認する成績である。

総コレステロールについては、虚血性心疾患、脳卒中の相互の結果より、適的な値の設定が可能であることが示唆される。また、多価不飽和脂肪酸などの摂取量を増やすことも推奨される。

なお、コーカサスなど世界の長寿地域で血中のこれらの脂肪酸が比較的多い人々が必ずしも魚を摂っていないことからn-3を含む植物からの摂取、あるいはこれらの牧草を飼料とする牛の牛乳からの摂取であると推測される。また、マサイ族が1日1g以上もコレステロールをミルクないし発酵乳から摂取していても血清コレステロールが低いのは、コーカサ同様でかかる地域の発酵乳、乳製品はコレステロールの吸収を低くする機序が加わっていると推測される。

## まとめ

「健康」と「長寿」は人類永年の夢であり、世界の人々の共通の願いでもある。「人は血管と共に老いる」と言われるように、急速に高齢化が進みつつある現在、先進工業国も開発途上国でも共に増加しているのが、循環器疾患（CVD）すなわち、心筋梗塞や脳卒中、さらに脳血管性痴呆などの血管の病気で、21世紀にはすべての国でCVDが最大の死因になるとWHOが予測しているように、これらの成人病が健やかな長寿を阻んでいる。

今から20年前、CVDの中でも、脳卒中は日本人の死因の第一位であった。当時、脳卒中は老化に伴う避けがたい病気とみなされていたが、それが食事で予防出来ることが次々と証明された。それは、家森らが開発した遺伝的に脳卒中を例外なく発症してくるラット、脳卒中易発症ラット（SHRSP）の実験からである。このヒトと同じ脳卒中をおこすSHRSPは食塩を過剰に与えると、たったの3カ月で脳卒中を起こし全滅するが、食塩を制限したり、蛋白質を十分に与えたり、野菜・果物に多いカリウムや食物繊維、さらにミルクに多いカルシウム、海藻に多いマグネシウムを与え



ると脳卒中にならず、天寿を全うすることも可能だということが多くの実験で証明されてきた。

そこで、1982年、このモデル動物での研究成果が、ヒトの脳卒中などCVDの予防にも応用出来るのかどうかを確かめるため、様々な食生活をしている世界各国の人々の血管の病気や健康・長寿の関係の調査研究をWHOに提案し、その協力を得て、10年をかけ実施してきたのがCVDと栄養WHO国際共同研究、WHO CARDIAC Study (WHO-Cardiovascular Diseases and Alimentary Comparison Study) である。

この調査の特色は、血圧の測定も正確な自動血圧計を使用し、栄養調査も24時間の尿を集め、その尿中のナトリウム、カリウムなどミネラルや、アミノ酸など栄養摂取の生物学的マーカーを分析し、さらに採血してコレステロールのみならず色々な脂肪酸を分析し、採取している栄養素が体内で利用されている状況をなるべく正確に推定出来る点などである。

世界24カ国、55地域の48から56才の男女、それぞれ100人、合計約1万人の方々を調査した結果、まず、CVDの共通のリスクとなる高血圧は、カロリーの取り過ぎによる肥満と、食塩の取り過ぎ、それにマグネシウム、さらに蛋白質の摂取不足なども原因として関係する。この高血圧は脳卒中のリスクとなるので、脳卒中による死亡は、やはり食塩、すなわち、ナトリウムの摂取が多く、ナトリウムに比べてカリウム摂取が少ない地域、さらに血液中のコレステロールが低すぎる地域で多いということが明らかになった。

一方、虚血性心疾患は、今回の国際共同研究でも、血中コレステロールが高い地域程多いことが確認された。これが多い地域程寿命がはっきり短く、虚血性心疾患の原因となる動脈硬化が強ければ長寿になり得ないことを示している。日本人のコレステロール値が上昇し、虚血性心疾患の増加が懸念される現在、その予防のための栄養因子がこの国際研究でようやく解明されつつある。まず、アミノ酸の一種で血圧を下げる作用もあるタウリンが尿中に多い程虚血性心疾患が少なく、このタウリン量は魚介類の摂取量と比例し、国際比較で虚血性心疾患が最も少ない日本人は尿中タウリン排泄量が世界中で一番多いことがわかった。さらに、一部の植物油や主に魚油に豊富に

含まれるn-3系多価不飽和脂肪酸が血中のリン脂質に多い程、虚血性心疾患が少ないことも確かめられた。この代表的なものがエイコサペンタエン酸(EPA)や、ドコサヘキサエン酸(DHA)で、いずれも虚血性心疾患の発症段階で関与する血栓症を防ぐ効果がある。これらも日本人の血液には格段と多いことから、日本人が日常食べ慣れている魚介類こそが、虚血性心疾患を少なくし、さらにその原因となる動脈硬化を防いでいる大切な栄養であることがはっきりしてきた。

したがって、日本人が虚血性心疾患が少なく長寿である秘訣は、身近な日常の食事によるといえる。カロリーを主に‘米食’でとり、まずコレステロールが高くなりにくい上に、豊富な魚介類からの脂肪酸やタウリンを摂取して動脈硬化や血栓症を防いでいることが、これまで虚血性心疾患を少なく保ち、日本が世界一の長寿国になるのに大いに貢献したといえる。この日本食のメリットを本研究で得られたような新しい栄養学的知識をもって日本人が見直して大切にすると共に、世界の国々がそれぞれ風土に合った独自の食文化を生かしつつ、日本食のメリットを適切に取り入れて行けば、血管の病気を克服して健やかな長寿を世界中で実現することも可能だとこの国際共同研究の成果は示している。

謝辞：本研究のプロトコール作成、検診実施、データ解析にあたって数多くの研究者の方々の御協力を賜ったことに感謝の意を表わし、ここに氏名(敬省略、順不同)を挙げさせていただきます。

Strasser T (WHO), Stamler J (Chicago), Kagan A (Honolulu), Reed DM (Honolulu), Simpson FO (Dunedin)、篠野修一、佐々木直亮、上村一夫、鏡森定信、金沢武道、児玉俊一、戸嶋裕徳、三村悟郎、山木戸道郎、上島弘嗣、Beilin LJ (Perth), Amery A (Leuven)、DeBacker G (Ghent), Nicolov N (Sofia), Tomov I (Sofia), Moriguchi Y (Porto Alegre), Chockalingam A (Newfoundland), Hamet P (Montreal), Zhao GS (Shanghai), Del Pozo G (Vilcabamba), Tuomilehto J (Kuopio), Marie A (Paris), Dalakishvili SM (Gergia), Ioanidis A (Athens), Rosenthal T (Tel Hashomer), Cesana GC (Milano), Akinkungbe OO (Ibadan), Carrageta MO

(Lisboa), Oganov R G (Moscow), Fernandez-Cruz A (Madrid), Whilhelmsen L (Goteborg), Mutabaji J (Dares Salaam), Birt C A (Stornoway), Langford H G (Jackson)、上田真由美 (原稿準備)

## 文 献

1. CARDIAC Study Protocol. Izumo/Geneva : WHO Collaborating Center on Primary Prevention of Cardiovascular Diseases, and Cardiovascular Unit, WHO 1986.
2. Yamori Y, Strasser T(eds) .: New Horizons in Preventing Cardiovascular Diseases. Amsterdam : Elsevier 1989.
3. Yamori Y, Nara Y, Mizushima S, Mano M, Sawamura M, Kihara M, and Horie R. : International cooperative study on the relationship between dietary factors and blood pressure : a report from the cardiovascular diseases and alimentary comparison (CARDIAC) study. J. Cardiovasc. Pharmacol. 16 (Suppl 8): S43-S47, 1990.
4. Yamori Y, Nara Y, Mizushima S, Mano M, Sawamura M, Kihara M, and Horie R. : International cooperative study on the relationship between dietary factors and blood pressure : Preliminary report from the cardiovascular diseases and alimentary comparison (CARDIAC) study. Nutrition and Health, 8 : 77-90, 1992.
5. Report of a WHO Scientific Group : Primary prevention of essential hypertension. World Health Organization. Geneva 1983.
6. INTERSALT Cooperative Research Group : INTERSALT : an international study of electrolytes excretion and blood pressure. Br Med J, 297 : 319-28, 1988.
7. Marmot MG, Syme SL, Kagan A, et al : Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California : Prevalence of coronary and hypertensive heart disease and associated

- risk factors. *Am J Epidemiol.* 102 : 514-525, 1975.
8. Dahl LK : Salt and hypertension. *Am J Clin Nutr*, 25 : 231-244, 1972.
  9. Altura BM, Altura BT, Gebrewold A, et al. : Magnesium deficiency and hypertension : Correlation between magnesium deficient diets and micro circulatory change in site. *Science* 233, 1315-1317, 1984.
  10. MacCarron DA, Morris CD, Cole C : Dietary calcium in human hypertension. *Science* 217 : 267-269, 1982.
  11. Staessett C, Fagard R, Joosens JV, Lijnen P, Amery A : Four urinary cations and blood pressure : A population study in two Belgian towns. *Am J Epidemiol* 117 : 676-687, 1983.
  12. Yamori Y. : Environmental influences on the development of hypertensive vascular diseases in SHR and related models, and their relation to human disease. In *New Trends in Arterial Hypertension*. INSERM Symposium No. 17 (Worcester M, Bonvalet JP, Langer SA, Menard J, Sassard J, eds), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp 305-320, 1981.
  13. Mizushima S, Moriguchi EM, Yamori Y, et al : The relationship of dietary factors to cardiovascular diseases among Japanese in Okinawa and Japanese immigrants, originally from Okinawa, in Brazil. *Hypertens Res*, 15 : 45-55, 1992.
  14. Iso H, Jacobs DR, Wentworth D, Neaton JD, Cohen JD : Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350, 977 men screened for the multiple risk factor intervention trial. *N Eng J Med* 320 : 904-910, 1989.