

4. Noto H. Hara M. Karasawa K. Iso-O N. Satoh H. Togo M. Hashimoto Y. Yamada Y. Kosaka T. Kimura S. Tsukamoto K. Human plasma platelet activating factor-acetylhydrolase binds to all the murine lipoproteins, conferring protection against oxidative stress. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 23:829-835, 2003
5. Suzuki M. Iso-o N. Takeshita S. Tsukamoto K. Mori I. Sato T. Ohno M. Nagai R. Ishizaka N. Facilitated angiogenesis induced by heme oxygenase-1 gene transfer in a rat model of hindlimb ischemia. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 302:138-143. 2003
6. Hara M. Matsushima T. Satoh H. Iso-O N. Noto H. Togo M. Kimura S. Hashimoto Y. Tsukamoto K. Isoform-dependent cholesterol efflux from macrophages by apolipoprotein E is modulated by cell surface proteoglycans. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 23:269-274, 2003
7. Ishizaka N. Ishizaka Y. Takahashi E. Unuma T. Tooda E. Nagai R. Togo M. Tsukamoto K. Hashimoto H. Yamakado M. Association between insulin resistance and carotid arteriosclerosis in subjects with normal fasting glucose and normal glucose tolerance. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 23:295-301, 2003
8. Satoh H. Moriyama N. Hara C. Yamada H. Horita S. Kunimi M. Tsukamoto K. Iso-O N. Inatomi J. Kawakami H. Kudo A. Endou H. Igarashi T. Goto A. Fujita T. Seki G. Localization of Na⁺ - HCO₃⁻ cotransporter (NBC-1) variants in rat and human pancreas. *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 284:C729-C737, 2003
- Watanabe, Kazuhisa Tsukamoto Liver-directed gene transfer and lipoprotein-mediated protein delivery of plasma PAF acetylhydrolase ameliorates proteinuria in SHC rats: a novel therapeutic approach for glomerulosclerosis ASN 2003 San Diego
2. 磯尾直之、能登洋、原真純、東郷眞子、塚本和久 リポ蛋白の新しい役割：PAF-アセチルヒドロラーゼの輸送担体として 第35回日本動脈硬化学会 2003年9月 京都

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

2. 学会発表

1. Naoyuki Iso-O, Akihito Nakao, Masako Togo, Masumi Hara, Hiroshi Noto, Eisei Noiri, Tsuyoshi

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

C型肝炎と糖代謝異常に関する研究

分担研究者 森屋恭爾（東京大学医学部感染制御学）

研究要旨：疫学的研究によってC型慢性肝炎と2型糖尿病の関連性が示唆されているが、肥満、加齢、肝硬変といった要素の存在のため、HCVとDMの明確な関連性は示されていない。HCV遺伝子を導入したトランスジェニックマウス(TgM)を用いてこれらの関連性を検討した。コア遺伝子 TgM では、1—2ヶ月齢の若齢から正常マウスに比べて有意なインスリン抵抗性を示した。血糖値は正常マウスに比べて高めであったが有意差はなかった。しかし、高脂肪食負荷を加えることによってコア遺伝子 TgM は糖尿病を発症した。コア遺伝子 TgM におけるインスリン抵抗性は主として肝由来であり、インスリンによるインスリン受容体基質(IRS)-1 のチロシンリン酸化の抑制が認められた。抗 TNF- α 抗体の投与によってインスリン抵抗性は改善し、C型肝炎における TNF- α の高値が原因のひとつと考えられた。HCV 蛋白とインスリン抵抗性のダイレクトな関連性が示された。肝発がんを含めたC型慢性肝炎患者の病態解明において極めて重要な所見と考えられる。

A. 研究目的

疫学的研究によってC型慢性肝炎と2型糖尿病の関連性が示唆されているが、肥満、加齢、肝硬変といった要素の存在のため、HCVとDMの明確な関連性は示されていない。また、その発生機序については全く不明であり、ヒトでの臨床疫学的検討では機序解明に迫ることは難しい。我々はHCVコア遺伝子を導入したトランスジェニックマウス(TgM)を樹立し、C型肝炎における病態を検討してきている。このマウスモデルを用いてC型肝炎における糖代謝を検討し、C型肝炎と糖代謝異常との関連性を明らかにする。糖尿病は、現在、生活習慣病として社会的に大きな問題となっている

が、C型肝炎によるインスリン抵抗性・糖尿病発生の機序を明らかにすることで、その予防も可能となり厚生労働行政上の意義は極めて大きいと考えられる。

B. 方法

HCVのコア遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスを用いて、糖代謝に関して以下のような解析を行なった。

マウスはSPF下で通常の餌を与えられた。対照として正常littermateが用いられた。必要に応じて高カロリー（脂肪）食（Oriental Yeast Co, Ltd. Tokyo, Japan）を2ヶ月間与えた。カロリーは高カロリー食では4.70 kcal/g、普通食は3.56

kcal/g であった。グルコース負荷テスト、インスリン負荷テスト、骨格筋によるグルコースの取り込み試験、高インスリン正常血糖クランプ法がグルコース代謝の解析のために行われた。

なお、動物実験にあたっては、当施設のガイドラインに則り動物愛護上の配慮を十分に払い、倫理面で問題が生じないように行なった。

C. 結果

コア遺伝子 TgM においては、血糖値は正常マウスに比べて高めであったが有意差はなかった。しかし、1—2ヶ月齢の若齢から正常マウスに比べて有意な高インスリン血症を示し、インスリン負荷試験にて有意なインスリン抵抗性を示した。さらに、高脂肪食負荷を加えることによってコア遺伝子 TgM は糖尿病を発症した。

コア遺伝子 TgM におけるインスリン抵抗性は主として中心性（肝性）であり末梢性（筋性）の因子は認められなかった。肝においてインスリン受容体基質(IRS)-1 のインスリンによるチロシンリン酸化が抑制されていた。ヒト慢性 C 型肝炎患者と同様に、コア遺伝子 TgM の肝では TNF- α が高値を示した。抗 TNF- α 抗体の投与によってインスリン抵抗性は改善し、TNF- α の高値が C 型肝炎における原因のひとつと考えられた。

D. 考察

疫学的研究によって C 型肝炎と 2 型糖尿病の関連性が示唆されているが、肥満、加齢、肝硬変といった要素の存在のため、

HCV と DM の明確な関連性は示されていない。今回の私達の検討によって、HCV 蛋白とインスリン抵抗性のダイレクトな関連性が示された。最近の NASH(非アルコール性脂肪性肝炎)の研究などから、インスリン抵抗性が肝線維化に一定の作用をもつことが推定されている。また、慢性 C 型肝炎においてもインスリン抵抗性と肝線維化の間に関連性があるとする報告もあり、インスリン抵抗性と C 型肝炎の問題は病態に密接に関連した重要な事象と考えられる。肝発がんを含めた C 型慢性肝炎患者の病態解明において極めて重要な所見と考えられ、今後の更なる検討が待たれるところである。

E. 結論

HCV 感染症とインスリン抵抗性との直接的な関連性が示された。C 型肝炎の病態開明に極めて重要な発見といえる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Kimura S, Koike K. Serum Lipid Profile of Patients with Genotype 1b Hepatitis C Viral Infection in Japan. *Hepatol Res* 25: 369-374, 2003.

3) Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H,

- Matsuura Y, Koike K, Miyamura T. Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice. *Hepatology* 38:820-828, 2003.
- 4) Moriishi K, Okabayashi T, Nakai K, Moriya K, Koike K, Murata K, Chiba T, Tanaka K, Suzuki R, Miyamura T, Matsuura Y. PA28g-dependent nuclear retention and degradation of HCV core protein. *J Virol* 77:10237-10249, 2003.
- 5) Kitazawa T, Ota Y, Suzuki M, Morisawa Y, Shintani Y, Koike K, Kimura S. Acute hepatitis E with elevated creatine phosphokinase. *Intern Med* 42:899-902, 2003.
- 6) Ohno N, Ota Y, Hatakeyama S, Yanagimoto S, Morisawa Y, Tsukada K, Koike K, Kimura S. A patient with E. coli-induced pyelonephritis and sepsis who transiently exhibited symptoms associated with primary biliary cirrhosis. *Intern Med* 42:1144-1148, 2003.
- 7) Miyoshi H, Fujie H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Makuuchi M, Kimura S, Koike K. Methylation Status of Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS-1) Gene in Hepatocellular Carcinoma. *J Gastroenterol* 2004 in press.
- 8) Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Kimura S, Moriya K, Koike K. Hepatitis C virus and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 2004 in press.
2. 学会発表
- 1) Kohji Moriishi, Kyoji Moriya, Kazuhiko Koike, Ryosuke Suzuki, Tetsuro Suzuki, Tatsuo Miyamura, Yoshiharu Matsuura: PA28y-Dependent Nuclear Retention and Degradation of HCV Core Protein, p41, 10th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses, Kyoto, 2003
- 2) Kyoji Moriya, Ai Tajima, Takeya Tsutsumi, Kousei Ito, Toshiharu Horie, Kazuhiko Koike: Hepatitis C Virus Core Protein Insults Mitochondrial Function Through Reducing the ETS Complex 1 Activity, p73, 10th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses, Kyoto, 2003
- 3) Hideyuki Miyoshi, Hajime Fujie, Kyoji Moriya, Yoshizumi Shintani, Takeya Tsutsumi, Seiko Shinzawa, Kazuhiko Koike: Hepatitis C Virus Core Protein Selectively Exerts an Inhibitory Effect on Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS)-1 Gene Expression, p190, 10th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses, Kyoto, 2003
- 4) 小池和彦 シンポジウム HIV・HCV

重複感染症の治療 第17回日本エイズ
学会 2003年 神戸

- 5) 三好秀征、藤江 肇、森屋恭爾、新谷
良澄、堤武也、小池和彦、木村 哲. HCV
コア蛋白の SOC-1 遺伝子発現への関与
についての検討. 39 回日本肝臓学会総会
2003年 福岡
- 6) 藤江 肇、森屋恭爾、新谷良澄、三好
秀征、堤武也、小池和彦. C 型肝炎ウイ
ルスコア遺伝子によるインスリン抵抗性
の検討. 第 7 回日本肝臓学会大会 20
03年 大阪
- 7) 小池和彦. HCV による肝発がん機構. 62
回日本癌学会総会 2003年 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sacco R, Tsutsumi T, Suzuki R, Otsuka M, Aizaki H, Sakamoto S, Matsuda M, Seki N, Matsuura Y, Miyamura T, Suzuki T.	Antiapoptotic regulation by hepatitis C virus core protein through up-regulation of inhibitor of caspase-activated DNase.	Virology	317	24-35	2003
Brunetti CR, Amano H, Ueda Y, Qin J, Miyamura T, Suzuki T, Li X, Barrett JW, McFadden G.	Complete genomic sequence and comparative analysis of the tumorigenic poxvirus Yaba monkey tumor virus.	J Virol	77	13335-13347	2003
Aizaki H, Nagamori S, Matsuda M, Kawakami H, Hashimoto O, Ishiko H, Kawada M, Matsuura T, Hasumura S, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T.	Production and release of infectious hepatitis C virus from human liver cell cultures in the three-dimensional radial-flow bioreactor.	Virology	314	16-25	2003
Otsuka M, Aizaki H, Kato N, Suzuki T, Miyamura T, Omata M, Seki N.	Differential cellular gene expression induced by hepatitis B and C viruses.	Biochem Biophys Res Commun	300	443-447	2003
Iwahori T, Matsuura T, Maehashi H, Sugo K, Saito M, Hosokawa M, Chiba K, Masaki T, Aizaki H, Ohkawa K, Suzuki T.	CYP3A4 inducible model for in vitro analysis of human drug metabolism using a bioartificial liver.	Hepatology	37	665-673	2003
Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H,	Serum Lipid Profile of Patients with Genotype 1b Hepatitis C Viral Infection in Japan.	Hepatol Res	25	369-374	2003

Yasuda K, Iino S, Kimura S, Koike K.					
Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Matsuura Y, Koike K, Miyamura T.	Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice.	Hepatology	38	820-828	2003
Moriishi K, Okabayashi T, Nakai K, Moriya K, Koike K, Murata K, Chiba T, Tanaka K, Suzuki R, Miyamura T, Matsuura Y.	Proteasome activator PA28g-dependent nuclear retention and degradation of HCV core protein.	J Virol	77	10273-10289	2003
Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Kimura S, Moriya K, Koike K.	Hepatitis C virus and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance.	Gastroenterology	126	840-848	2004
Miyoshi H, Fujie H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Makuuchi M, Kimura S, Koike K.	Methylation Status of Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS-1) Gene in Hepatocellular Carcinoma.	J Gastroenterol		In press	2004
Kitazawa T, Ota Y, Suzuki M, Morisawa Y, Shintani Y, Koike K, Kimura S.	Acute hepatitis E with elevated creatine phosphokinase.	Intern Med	42	899-902	2003
Ohno N, Ota Y, Hatakeyama S, Yanagimoto S, Morisawa Y, Tsukada K, Koike K, Kimura S.	A patient with E. coli-induced pyelonephritis and sepsis who transiently exhibited symptoms associated with primary biliary cirrhosis.	Intern Med	42	1144-1148	2003
Noto H, Kawamura M, Hashimoto Y, Satoh H, Hara M, Iso-O N, Togo M, Kimura S, Tsukamoto K.	Modulation of HDL metabolism by probucol in complete cholesteryl ester transfer protein deficiency.	Atherosclerosis	171	131-136	2003

Hasegawa H. Fukushima T. Lee JA. Tsukamoto K. Moriya K. Ono Y. Imai K.	Determination of serum d-lactic and l-lactic acids in normal subjects and diabetic patients by column- switching HPLC with pre-column fluorescence derivatization.	Anal Bioanal Chem	377	886-891	2003
Noto H. Hara M. Karasawa K. Iso- O N. Satoh H. Togo M. Hashimoto Y. Yamada Y. Kosaka T. Kimura S. Tsukamoto K.	Human plasma platelet activating factor-acetylhydrolase binds to all the murine lipoproteins, conferring protection against oxidative stress.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	23	829-835	2003
Suzuki M. Iso-o N. Takeshita S. Tsukamoto K. Mori I. Sato T. Ohno M. Nagai R. Ishizaka N.	Facilitated angiogenesis induced by heme oxygenase-1 gene transfer in a rat model of hindlimb ischemia.	Biochem Biophys Res Commun	302	138-143	2003
Hara M. Matsushima T. Satoh H. Iso-O N. Noto H. Togo M. Kimura S. Hashimoto Y. Tsukamoto K.	Isoform-dependent cholesterol efflux from macrophages by apolipoprotein E is modulated by cell surface proteoglycans.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	23	269-274	2003
Ishizaka N. Ishizaka Y. Takahashi E. Unuma T. Tooda E. Nagai R. Togo M. Tsukamoto K. Hashimoto H. Yamakado M.	Association between insulin resistance and carotid arteriosclerosis in subjects with normal fasting glucose and normal glucose tolerance.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	23	295-301	2003
Satoh H. Moriyama N. Hara C. Yamada H. Horita S. Kunimi M. Tsukamoto K. Iso-O N. Inatomi J. Kawakami H.	Localization of Na ⁺ -HCO ₃ ⁻ cotransporter (NBC-1) variants in rat and human pancreas.	Am J Physiol - Cell Physiology	284	C729-737	2003

Kudo A. Endou H. Igarashi T. Goto A. Fujita T. Seki G.					
--	--	--	--	--	--

20031127

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。