

D. 考察

今回のⅡb型高脂血症患者に対するEzetimibeの投与により、空腹時TC、LDL-C、apoBのみならずTG、apoB-48、RemL-Cも減少を認めた。さらに脂肪負荷後TG、FFA、RemL-CおよびapoB4-8の濃度上昇はezetimibeの投与により有意に抑制されており、コレステロールの吸収抑制が主な作用機序であるEzetimibeが食後のTG運搬にかかわるCMとその代謝産物であるCMレムナントを抑制する可能性が考えられた。脂肪負荷後血清のHPLC解析でEzetimibe投与によりCM及びVLDL粒子のTC、TG濃度が低下していた。しかし、それぞれの分画における脂肪負荷に伴うTC・TG濃度の増加はCM分画では抑制されているがVLDLでは変化がなく(VLDLの抑制は空腹時VLDLの抑制を反映したものと考えられる)、Ezetimibeは脂肪負荷後のCM及びCMレムナントの増加を抑制していることが推察された。以上のことから、EzetimibeはLDL-Cの抑制と食後高脂血症(食後高レムナント血症)の双方に有効であり、動脈硬化性の改善に有効

な薬剤である可能性が示唆された。

E. 結論

Ⅱb型高脂血症患者において、ezetimibeは食後カイロミクロンの増加抑制を通じて食後高脂血症を改善し、さらに空腹時のVLDL、LDLも減少させた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

現在海外医学雑誌に投稿中

2. 学会発表

第40回日本動脈硬化学会学術集会(H20)

第74回日本循環器学会学術集会(H21)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

平成20年度厚生労働科学研究費補助金
社会保障国際協力推進研究事業（国際医学協力研究事業）
研究分担報告書

「メタボリックシンドロームの研究調査」

研究分担者 船橋 徹（大阪大学内分泌・代謝内科 准教授）

研究要旨 睡眠時無呼吸症候群はメタボリックシンドロームにしばしば合併し、夜間の心血管疾患発症に関係するとされている。40名の2型糖尿病症例において、睡眠時無呼吸症候群の合併について検討し、内臓脂肪蓄積や血中アディポネクチン濃度との関係を検討した。2型糖尿病症例の78%に睡眠時無呼吸症候群が認められた。無呼吸低呼吸指数は内臓脂肪量が多い症例ほど高く、また睡眠時無呼吸を有する例では夜間睡眠中の血中アディポネクチン濃度低下がみられた。2型糖尿病症例では高頻度に睡眠時無呼吸症候群を合併し、内臓脂肪蓄積、夜間アディポネクチン低下と関連することが示された。

A. 研究目的

世界的なインターネット、携帯電話などの通信手段や、車、バイクなどの移動手段の普及により、わが国を含む東アジア各国においても、内臓脂肪が蓄積して糖代謝異常、血圧上昇、脂質異常などの動脈硬化性疾患のマルチプルリスクファクターを合併するメタボリックシンドロームが大きな健康対策課題となっている。その分子メカニズムとして、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの分泌不全、血中濃度低下があることを報告してきた。睡眠時無呼吸症候群は、メタボリックシンドロームにしばしば合併し、夜間睡眠障害による日中の居眠り、事故だけでなく、インスリン抵抗性や高血圧などの発症とも関係するといわれ、さらに夜間の突然死、心血管疾患発症の重要な要因とされてその対策がもためられている。本研究では、入院中の2型糖尿病症例について、睡眠時無呼吸症候群の合併を検討し、内臓脂肪蓄積との関係、血中アディポネクチン濃度の変化について解析した。

B. 方法

対象は当院内分泌・代謝内科に入院した2型糖尿病症例40例（男性31例、女性9例、平均年齢 58.7 ± 2.1 才）で、同意を得て睡眠呼吸検査をおこない、無呼吸低呼吸指数、酸素飽和度低下指数、最低酸素飽和度などの評価を行った。本研究では、胸郭運動もなく10秒以上気流が認められない場合を中枢性無呼吸、胸郭運動はあるが10秒以上気流が認められない場合を閉塞性無呼吸とし、一時間あたりの中枢性無呼吸指数5未満、閉塞性無呼吸指数5以上を閉塞性無呼吸優位型、中枢性無呼吸指数5以上、閉塞性無呼吸指数5未満を中枢性無呼吸優位型、中枢性無呼吸指数5以上、閉塞性無呼吸指数5以上を混合型とした。内臓脂肪面積は、腹部インピーダンスによる内臓脂肪測定装置を用いて、血中アディポネクチン濃度はサンドウィッチELISA法で測定した。14例においては睡眠前と起床後の2回アディポネクチン濃度を測定した。本研究は大阪大学倫理委員

会で承認されており、インフォームドコンセントを得て施行した。

データは one-way または two-way analysis of variance (ANOVA)、Student's t-test、Mann-Whitney U-test で検討した。

C. 研究結果

一時間に10秒以上の無呼吸が5回以上ある睡眠時無呼吸を、78%と高頻度に認めた。無呼吸低呼吸指数(AHI)と腹部インピーダンスで測定した内臓脂肪面積の間に、 $r=0.80$, $p<0.001$ の正相関関係を認めた。

睡眠時無呼吸を有する2型糖尿病症例では、睡眠前から起床後にかけて、血中アディポネクチン濃度は $-3.4\pm 1.8\%$ と減少を認めた。これに対し睡眠時無呼吸を有さない2型糖尿病症例では、血中アディポネクチン濃度の変化は $4.7\pm 2.6\%$ で、両群には有意な差を認めた。

睡眠時無呼吸を有する2型糖尿病症例の中で、本研究で定義した中枢性無呼吸優位型と混合型をあわせると32.3%であった。

D. 考察

本研究において、1) 2型糖尿病症例には高頻度に睡眠時無呼吸を認めること、2) 無呼吸低呼吸指数は内臓脂肪量が多い症例ほど高く、また無呼吸低呼吸指数が高い例では夜間睡眠中の血中アディポネクチン濃度低下すること、を明らかにした。

メタボリックシンドロームは、内臓脂肪蓄積を上流として、動脈硬化性疾患のマルチプルリスクを合併する心血管疾患の易発症状態である。私達は、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの低下など、アディポサイトカイン異常が心血管疾患発症に

直接関わる可能性を示してきた。最近、睡眠時無呼吸症候群が心臓突然死の要因として注目されている。私達はこれまで肥満者の中でも内臓脂肪蓄積型肥満が睡眠時無呼吸症候群を伴いやすいことを報告してきた。また高度睡眠時無呼吸症候群例で、夜間血中アディポネクチン濃度が低下すること、動物実験、細胞実験で、低酸素暴露により血中アディポネクチン濃度や脂肪細胞からのアディポネクチン分泌が低下することを明らかにしてきた。

今回の検討により、2型糖尿病症例は高率に睡眠時無呼吸を伴うが、無呼吸低呼吸指数は内臓脂肪量と正相関すること、無呼吸の程度が著しくなくとも夜間のアディポネクチン低下がみられることを示した。2型糖尿病症例における心血管疾患予防において、問診を十分行い睡眠時無呼吸の評価を行うことは重要であると考えられた。

E. 結論

2型糖尿病症例では高頻度に睡眠時無呼吸症候群を合併し、内臓脂肪が蓄積するメタボリックシンドローム型に多く、無呼吸低呼吸指数が高い例は夜間のアディポネクチン低下率が高いことが示された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

平成20年度厚生労働科学研究費補助金
社会保障国際協力推進研究事業（国際医学協力研究事業）
研究分担報告書

一般住民におけるメタボリック・シンドロームと脳卒中：JMS コホート研究

研究分担者 藤原真治（自治医科大学 地域医療学センター 助教）
石川鎮清（自治医科大学 地域医療学センター 准教授）

研究要旨

近年メタボリックシンドロームと脳卒中との関連についての研究がいくつか出てきているが、日本人での研究はまだ少ない。今回、JMS コホート研究のデータを用いてメタボリックシンドロームと脳卒中との関連を検討した。対象者は2,286人で、データ収集は1992年から1995年までで行った。メタボリックシンドロームの日本の診断基準を満たすものは104人で、男性9.0% 女性1.7%と男性の割合が多かった。11.2年の観察期間中に96の脳卒中（男性54、女性42）の発症が確認された。年齢、喫煙、飲酒で調整した脳卒中に対するハザード比（95%信頼区間）は、男性1.89（0.88- 4.08）、女性7.24（2.82 - 18.58）であった。一般住民に対して日本の基準を用いたMSは脳卒中の発症を増加させており、特に女性では、統計的に有意であった。

A. 研究目的

メタボリックシンドローム（MS）は、中心性肥満、高血圧、脂質異常症、耐糖脳障害などの複数のリスクの集積で定義され、心血管疾患の発症や死亡と関係があるとされる（1,2）。米国では、2001年に米国のNational Cholesterol Education Program（NCEP）がAdult Treatment Panel III（ATP III）の中でMSの基準を発表した（3）。2005年には日本の基準（4）、および国際糖尿病学会（IDF）で国別での基準が発表され（5）、IDFの基準は2007年に日本での腹囲基準が盛り込まれた（6）。また、2005年にはAmerican Heart Association / National Heart, Lung, and Blood Instituteから修正NCEP基準が発表されている（7）。

日本では、2008年より特定健診および特定保

健指導が始まり、慢性疾患の予防により医療費削減を目標としている（8）。日本人の一般住民におけるMSのエビデンスが早急に求められる。これまでのMSと脳卒中発症の研究はあるが、日本の基準で検討を行った研究は少ない（9, 10）。我々は、以前、日本の基準を用いたMSと総死亡との関係について有意な関連がないことを発表した（11）。今回、日本人の一般住民に対して日本の基準を用いたMSと脳卒中との関連を検討した。

B. 研究方法

対象者

JMS コホート研究は、1992年に始まった住民を対象とした脳卒中および心筋梗塞の発症を追跡調査するコホート研究である。今回は、そ

の一環として12地区12,490人の全対象者の中から、ベースラインデータ収集時に腹囲を測定していた3地区2,286人を対象とした。JMSコホート研究は住民健診を利用しており、今回の参加者は住民健診受診対象者のうち56%となる(12-14)。

測定

腹囲測定は、腸骨上端で測定しており適正であった。身長、体重も測定し、BMIは、 $BMI = \text{体重(kg)} / \text{身長(m)}^2$ で計算した。血圧は、血圧は自動血圧計(日本コーリンBP203RV-II)を用いて、座位5分安静の後に右腕で測定した。問診にて、喫煙歴、飲酒歴および身体活動について情報収集した。血液検査では、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、空腹時血糖を測定した。

メタボリックシンドローム

メタボリックシンドロームについては、2005年に合同8学会で発表された日本の基準を用いた。腹囲：男性で85cm以上、女性で90cm以上、を必須項目とし、脂質：中性脂肪 $\geq 150\text{mg/dL}$ and/or HDLコレステロール $< 40\text{mg/dL}$ 、血圧：収縮期血圧(SBP) $\geq 130\text{mmHg}$ and/or 拡張期血圧(DBP) $\geq 85\text{mmHg}$ 、血糖：空腹時血糖 $\geq 110\text{mg/dL}$ 、3項目のうち2項目以上該当するものとした(4)。

追跡調査

対象者については、毎年、心血管疾患の発症に関する追跡調査を行った。追跡調査で発症が疑われた場合、研究者である医師もしくは保健師が受診した医療機関へ確認し、脳卒中の発症登録票および頭部CT検査もしくは頭部MRI検査のフィルムを事務局へ送付してもらう。脳卒中の発症は、24時間持続する神経学的欠損を持って発症とした(15)。登録された脳卒中症例

について、独立した症例検討委員会で発症判定を行った。症例検討委員会は、放射線科医、神経内科医で構成されている(12)。

解析

統計解析はSPSS version 11.5を用いた。データは、平均値 \pm SDで示した。平均値の比較には、unpaired t-testを用い、喫煙習慣、飲酒習慣及び既往歴に関しては χ^2 検定を行った。有意水準は $p < 0.05$ とした。

Coxの比例ハザードモデルを用いて総死亡及び心血管疾患死亡のハザード比を算出した。粗発症率は1,000人年あたりで示した。

(倫理面への配慮)

今回の検討は、JMSコホート研究の一環として行っており、JMSコホート研究としては、平成15年に自治医科大学疫学研究倫理審査委員会にて承認を得ている。また、対象者には、書面にて同意を得ている。

C. 研究結果

追跡は、平均 11.2 ± 2.4 年で、合計で24,653人年であった。ベースライン時の平均年齢は 56.2 ± 12.2 歳(男性 56.5 ± 12.4 歳、女性 56.0 ± 12.1 歳)であった。

Table 1では、男女別のMSの有無について示している。日本の基準では、MSは、男性9.0%、女性1.7%であった。男女とも、MS群と非MS群とでは喫煙率、飲酒率には有意差はなかった。女性では、MS群で非MS群より年齢が高かったが、男性では年齢に差はなかった。

Table 2では、非MS群を基準としてMSのハザード比をCox比例ハザードモデルを用いて解析した。全部で新規の脳卒中発症は96(男性54(5.9%)、女性42(3.3%))であった。年齢調整したハザード比は男性で、1.93(0.94-3.96)、女性で6.85(2.68-17.47)であった。年齢に喫

煙、飲酒を加えて調整したハザード比では、男性 1.89 (0.88- 4.08)、女性 7.24 (2.82- 18.58) であった。

さらに、対象者を男女別に中心性肥満の有無で、それ以外にメタボリック因子を 0 ヶ、1 ヶ、2 ヶもつもので分けた (Table 3, 4)。Table 3 は、男女別で中心性肥満の有無での、脳卒中の粗発症率、および、非 MS 群を基準としたメタボリック因子の数で計算したハザード比である。年齢、喫煙、飲酒で調整したハザード比は、男性では、中心性肥満の有無にかかわらずメタボリック因子が 2 ヶ以上で脳卒中のハザード比が上昇していたが、女性では、中心性肥満があった場合のみメタボリック因子が 2 ヶ以上で脳卒中のハザード比が上昇していた。男性では、メタボリック因子があっても中心性肥満がなければ脳卒中のリスクの上昇は見られなかった。一方、女性では中心性肥満があったとしてもメタボリック因子が 2 ヶ未満であれば脳卒中のリスクの上昇は見られなかった。

Table 4 は、中心性肥満の有無でメタボリック因子が 2 ヶ以上の場合の脳卒中のハザード比を計算し、また、腹囲のカットオフ値を 80cm、85cm、90cm に変えてみてそれぞれのハザード比を計算した。それによると、中心性肥満の有無でハザード比が 1 以上上昇しているカットオフ値は男性で 90cm、女性で 85cm であった。

D. 考察

我々は、MS と脳卒中の関係について日本の MS 基準を用いて検討した。今回の結果では、日本の基準では女性では MS が脳卒中のリスクになるものの、男性では有意な差は見られなかった。

これまでも日本で MS と脳卒中の検討がなされてきた (9, 10, 16, 17)。久山研究では、修正した NCEP-ATP III 基準を用いているが、脳卒中を含む心血管疾患の発症のリスクは上昇し

ていた (17)。NIPPON DATA 80 では、腹囲を BMI で置き換えて使用した修正した NCEP-ATP III 基準を用いているが、虚血性脳卒中および虚血性心疾患の死亡のリスクが上昇していた (16)。しかし、斎藤らは、MS では脳卒中のリスクの上昇は見られなかった、と報告している (9)。それによると、日本の基準では腹囲は入れるべきとしながらも、腹囲があることで他のリスク因子の影響が弱くなるであろうとの意見であった。高橋らは、MS の日本基準を用いているが、女性では脳卒中のリスクは上昇するが、男性では上昇しなかったとしており (10)、我々の結果と同様であった。最近になり、MS と心血管疾患との関係について、WHO 基準もしくは NCEP-ATP III 基準を用いての 2 つのメタアナリシスが報告された (18, 19)。

腹囲が心血管疾患と関連があったとする報告もある (20, 21)。今回の結果では、男性では、中心性肥満だけでは、脳卒中のリスクの上昇は見られず、女性でも、メタボリック因子が 2 ヶ未満の場合は、中心性肥満の影響は見られなかった。中心性肥満だけでなく、メタボリック因子が 2 ヶ以上あるときに脳卒中の発症リスクが上昇していた。しかし、腹囲のカットオフ値については、まだ議論が定まっていない (22)。

腹囲を MS の必須項目にしているのは、日本の基準と IDF 基準であるが、一方で、WHO 基準と NCEP-ATP III 基準では腹囲は他の因子と同様に一つの因子として扱っている。曾根らは、Japan Diabetes Complication Study の中で WHO 基準と NCEP-ATP III 基準とを用いて心血管疾患のリスクを検討しているが (23)、IDF 基準では心血管疾患リスクの上昇はなかった (24)。このことは、同じ集団であったも、使用する基準により心血管疾患リスクが異なることを示している。

米国糖尿病学会および欧州糖尿病学会はともに心血管疾患は、高血圧、脂質異常症、耐糖能

障害を治療することで予防可能としている (25, 26)。Reaven は、患者に MS という疾患のラベリングをしないように注意しながら、それぞれのリスクを評価し治療を積極的に行うように推奨している (27)。同様に小田らは、MS の定義が定まるまで安易にラベリングをするべきでないとしている (22)。

今回の研究の特徴は、(1) 住民ベースの前向き調査であり、脳卒中を含む心血管疾患の発症の捕捉をほぼもれなく行っていること、さらに、長期間の追跡調査であることなどがあげられる。一方、研究の限界としては、サンプル数が 2000 強と比較的小さいことが挙げられるが、現在の日本では長期間追跡した前向き調査は少ないのが原状である。別の限界としては、腹囲を細い部分で測定していること、対象地区が非都市部の 3 地区であること、脂質に対する治療については質問票では拾い上げられなかったことなどが挙げられるが、本研究が行ったベースライン調査時である 1992 年から 1995 年では、腹囲の測定が現在ほど厳密ではなかったことによる。

E. 結論

日本人の一般住民では、日本の基準を用いた MS は脳卒中の発症を増加させており、特に女性では、統計的に有意であった。MS の心血管疾患の発症に関して、今後更なる大規模コホート研究による検討が必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Niwa Y, Ishikawa S, Gotoh T, Kayaba K, Nakamura Y, Kajii E. Stroke Incidence and Metabolic Syndrome in a Population-Based

Cohort Study: Jichi Medical School (JMS) Cohort Study. J Epidemiol (submission)

H. 知的財産権の出願、登録状況

該当なし

参考文献

1. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med. 1998; 15: 539-53.
2. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 1988; 37: 1595-607.
3. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001; 285: 2486-97.
4. Definition and the diagnostic standard for metabolic syndrome—Committee to Evaluate Diagnostic Standards for Metabolic Syndrome. Nippon Naika Gakkai Zasshi. 2005; 94: 794-809. (*in Japanese*)
5. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. Lancet. 2005; 366: 1059-62.
6. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. available from: http://www.idf.org/webdata/docs/MetS_def_update2006.pdf. [cited 2008 Nov 24]
7. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the

- metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005; 112: 2735-52.
8. Yamamoto H. Health Checkups and Healthcare Advice with a Particular Focus on the Metabolic Syndrome in the Health Care System Reform. *J Natl Inst Public Health*. 2008; 57: 3-8. (*in Japanese*)
 9. Saito I, Konishi M, Watanabe K, Kondo H, Fujimotos K, Okada K. The metabolic syndrome and risk of stroke in a rural community in Japan. *Nippon Koshu Eisei Zasshi*. 2007; 54: 677-83. (*in Japanese*)
 10. Takahashi K, Bokura H, Kobayashi S, Iijima K, Nagai A, Yamaguchi S. Metabolic syndrome increases the risk of ischemic stroke in women. *Intern Med*. 2007; 46: 643-8.
 11. Niwa Y, Ishikawa S, Gotoh T, Kayaba K, Nakamura Y, Kajii E. Metabolic syndrome mortality in a population-based cohort study: Jichi Medical School (JMS) Cohort Study. *J Epidemiol*. 2007; 17: 203-9.
 12. Ishikawa S, Kayaba K, Gotoh T, Nago N, Nakamura Y, Tsutsumi A, et al. Incidence of Total Stroke, Stroke Subtypes, and Myocardial Infarction in the Japanese Population: The JMS Cohort Study. *J Epidemiol*. 2008; 18: 144-50.
 13. Ishikawa S, Gotoh T, Nago N, Kayaba K. The Jichi Medical School (JMS) Cohort Study: design, baseline data and standardized mortality ratios. *J Epidemiol*. 2002; 12: 408-17.
 14. Ishikawa S, Kayaba K, Gotoh T, Nakamura Y, Kajii E. Metabolic syndrome and C-reactive protein in the general population: JMS Cohort Study. *Circ J*. 2007; 71: 26-31.
 15. Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993; 24: 35-41.
 16. Iso H, Sato S, Kitamura A, Imano H, Kiyama M, Yamagishi K, et al. Metabolic syndrome and the risk of ischemic heart disease and stroke among Japanese men and women. *Stroke*. 2007; 38: 1744-51.
 17. Ninomiya T, Kubo M, Doi Y, Yonemoto K, Tanizaki Y, Rahman M, et al. Impact of metabolic syndrome on the development of cardiovascular disease in a general Japanese population: the Hisayama study. *Stroke*. 2007; 38: 2063-9.
 18. Galassi A, Reynolds K, He J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med*. 2006; 119: 812-9.
 19. Li W, Ma D, Liu M, Liu H, Feng S, Hao Z, et al. Association between metabolic syndrome and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Cerebrovasc Dis*. 2008; 25: 539-47.
 20. de Koning L, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur Heart J*. 2007; 28: 850-6.
 21. Hu G, Tuomilehto J, Silventoinen K, Sarti C, Mannisto S, Jousilahti P. Body mass index, waist circumference, and waist-hip

- ratio on the risk of total and type-specific stroke. *Arch Intern Med.* 2007; 167: 1420-7.
22. Oda E, Abe M, Veeraveedu PT, Watanabe K. Considerable disagreement among definitions of metabolic syndrome for Japanese. *Circ J.* 2007; 71: 1239-43.
23. Sone H, Mizuno S, Fujii H, Yoshimura Y, Yamasaki Y, Ishibashi S, et al. Is the diagnosis of metabolic syndrome useful for predicting cardiovascular disease in asian diabetic patients? Analysis from the Japan Diabetes Complications Study. *Diabetes Care.* 2005; 28: 1463-71.
24. Sone H, Tanaka S, Ishibashi S, Yamasaki Y, Oikawa S, Ito H, et al. The new worldwide definition of metabolic syndrome is not a better diagnostic predictor of cardiovascular disease in Japanese diabetic patients than the existing definitions: additional analysis from the Japan Diabetes Complications Study. *Diabetes Care.* 2006; 29: 145-7.
25. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28: 2289-304.
26. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. Joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia.* 2005; 48: 1684-99.
27. Reaven GM. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr.* 2006; 83: 1237-47.

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）
研究分担報告書

膵 B 細胞増加作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパク CF266 の機能解析

研究分担者 豊島秀男（自治医科大学附属さいたま医療センター 准教授）
河野幹彦（自治医科大学附属さいたま医療センター 教授）

研究要旨

近年 GLP-1 を始めとした消化管ホルモンは臨床において糖尿病治療にも応用されつつあり、エネルギー代謝や摂食など生活習慣病との関連を含め、消化管の内分泌器官としての役割が注目されている。こうした中、我々は独自に開発した Oligo-cap SST 法により機能未知な消化管特異的分泌タンパクとして CF266 を同定し解析を進めた。今回、CF266 にインスリン分泌促進作用があり、さらに STZ 投与 1 型糖尿病モデルマウスに対して血糖改善効果および B 細胞の増加作用が見られることなどを明らかにした。CF266 は膵 B 細胞の増加促進作用を持つ新規消化管ホルモンと考えられたために、我々はこれを IBCAP (intestine derived beta-cell augmenting promoter) と命名しさらに解析を進めている。IBCAP はこれまでに明らかにされている他の消化管ホルモンとは有意な相同性を持たないため、新しい制御系の解明につながると考えられる。今後、膵臓移植や膵臓再生医療への応用も含め、糖尿病、特に 1 型糖尿病の治療薬になり得る可能性があり期待される。

A. 研究目的

日本人のライフスタイルの欧米化により、糖尿病、高脂血症、高血圧や肥満といった生活習慣病がクローズアップされており、その患者数が増加の一途をたどっていることから、そのメカニズムの解明、より有効な治療法の確立が世界的にも急務となっている。

近年、GLP-1 アナログや DPP-IV 阻害薬などの消化管ホルモンに対する薬物が糖尿病治療薬として成功し、今後の糖尿病の治療を大きく変える可能性が注目されている。消化管ホルモンはインスリン分泌の誘導や肥満との関連

も示唆されていることから、詳細な検討はエネルギー代謝や摂食行動などにおいて、生活習慣病の成因の新しいメカニズムの解明および、治療法の開発につながる。我々は、これまでに、未知の消化管ホルモンを探索し、新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子 CF266 の同定に成功し、これを IBCAP (intestine derived beta-cell augmenting promoter) と命名してその解析を進めている。本研究では、この IBCAP の生理的意義を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

HEK293T細胞にIBCAPを強制発現させた培養上清を用いてグルコース応答性インスリン分泌 (GSIS) を行った。IBCAP発現アデノウイルスを用いて、マウスに強制発現させ、その表現型を解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子組み換え実験および動物実験については、自治医科大学において決められた倫理基準を遵守し行った。

C. 研究結果

1) マウス単離ラ氏島に対する IBCAP の効果

HEK293T細胞にIBCAPを強制発現させた培養上清を用いてグルコース応答性インスリン分泌 (GSIS) を行った。その結果、マウス単離ラ氏島に培養上清を添加すると、低グルコースおよび高グルコースの両方においてインスリン分泌を刺激することが示唆された。

2) IBCAP 発現組み換えアデノウイルスにおける 1 型糖尿病モデルマウスへの影響

IBCAP発現アデノウイルスを用いてSTZ投与 1 型糖尿病マウスに強制発現させると、コントロール GFP 発現群と比べ IBCAP 発現群では、有意に HbA1c が低下し血糖コントロールの改善が見られ、さらに、膵臓ラ氏島に作用しインスリン陽性膵β細胞の割合が多く、β細胞の比率が有意に高いことが示され、形態学変化を起こすことが明らかとなった。

D. 考察

最近、特に注目されている消化管ホルモン、インクレチンと総称される GLP-1 は糖尿病治療薬として期待されている。GLP-1 は小腸下部に存在する L 細胞において生成される生理活性ペプチドであり、膵臓ランゲルハンス

島β細胞からのインスリン分泌を促進や、β細胞を再生することが知られている。GLP-1 アナログや GLP-1 分解酵素である DPP-IV の阻害薬など、インクレチンやその関連因子は、糖尿病治療薬として期待されており、糖尿病治療の新たな選択肢として注目を集めている分野である。

IBCAP は腸管特異的に発現する分泌タンパク質であり、GSIS の結果から低グルコースにおいてもインスリン分泌を刺激することが示唆されたために、新規のインクレチンであり、これまでのインクレチンとは異なる新たな作用もある可能性が考えられる。また、IBCAP 遺伝子およびその活性体候補ペプチドはこれまでに知られている消化管ホルモンとは有意な相同性を持たないことから新たな可能性をもつインクレチン様因子と考えられた。

アデノウイルス投与 STZ 処理 1 型糖尿病マウスの解析から、この IBCAP をマウスに強制発現させると、ラ氏島、β細胞の増加が見られたことから、IBCAP はβ細胞の再生増殖に関与している可能性が示唆された。

E. 結論

我々は、新規消化管特異的分泌タンパク質遺伝子 IBCAP を同定し、IBCAP 遺伝子産物がインクレチン様作用を有する新規の消化管ホルモンと考えられること、さらにβ細胞の増加促進作用を持つことを明らかにした。IBCAP は、これまでに明かされている他の消化管ホルモンとは有意な相同性を持たないため、新しい制御系の解明につながると考えられる。

IBCAP の治療薬としての有用性を検討することで、その結果は、直接的に臨床へとつ

ながら、糖尿病、特に1型糖尿病の治療薬あるいは膵臓再生医療への応用が期待される。

このように、IBCAPは抗糖尿病創薬のターゲットとなり得る可能性を秘めることや、既存の研究とは違った斬新な角度から糖尿病・肥満に対してアプローチをおこなうために、今まで知られていなかった生活習慣病の成因の新しいメカニズムの解明につながり、糖尿病、肥満に対する新たな治療法の開発へ発展する可能性が考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Watanabe K, Okamoto F, Yokoo T, Iida KT, Suzuki H, Ishikawa S, Kawakami M, Shimano H, Oshika T, Yamada N, Toyoshima H., SPARC is a major secretory gene expressed and involved in the development of proliferative diabetic retinopathy., *J Atheroscler Thromb.*, in press

2) Inoue N, Yahagi N, Yamamoto T, Ishikawa M, Watanabe K, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Hasty AH, Toyoshima H, Yamada N, Shimano H., Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21WAF1/CIP1, is involved in adipocyte differentiation and hypertrophy, linking to obesity, and insulin resistance., *J Biol Chem.*, 283(30): 21220-9. (2008)

2. 学会発表

1) 横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、

島野仁、石川三衛、山田信博、豊島秀男；インスリン分泌作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパク CF266 の機能解析；第51回日本糖尿病学会年次学術集会（東京）2008.5

2) 大木真也、渡邊和寿、横尾友隆、鈴木浩明、高橋昭光、矢藤繁、小林和人、島野仁、石川三衛、山田信博、豊島秀男；ピオグリタゾン結合タンパク mitoNEET の機能解析；第51回日本糖尿病学会年次学術集会（東京）2008.5

3) Tomotaka Yokoo, Kazuhisa Watanabe, Kaoruko Tada Iida, Hiroaki Suzuki, Hitoshi Shimano, San-e Ishikawa, Nobuhiro Yamada and Hideo Toyoshima.; Identification of CF266, a novel intestine-specific secretory protein with incretin-like activity.; The 68th Scientific Sessions of America Diabetes Association (San Francisco, USA), 2008.6

4) Kazuhisa Watanabe, Fumiki Okamoto, Tomotaka Yokoo, Kaoruko Tada Iida, Hiroaki Suzuki, Hitoshi Shimano, Tetsuro Oshika, Nobuhiro Yamada and Hideo Toyoshima.; Oligo-cap SST screen revealed that SPARC may represent a majority of the secretory genes expressed in proliferative diabetic retinopathy.; The 68th Scientific Sessions of America Diabetes Association (San Francisco, USA), 2008.6

5) Tomotaka Yokoo, Kazuhisa Watanabe, Kaoruko Tada-Iida, Hiroaki Suzuki, Hitoshi Shimano, San-e Ishikawa, Masanobu Kawakami, Nobuhiro Yamada and Hideo Toyoshima.; Identification of CF266, a Novel Intestine-specific Secretory Protein with Incretin-like Activity.; The 40th Annual Scientific Meeting of Japan

Atherosclerosis Society (Tsukuba), 2008.7

6) 渡邊和寿、大木真也、横尾友隆、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、豊島秀男；ピオグリタゾン結合タンパク

mitoNEET の機能解析；第 40 回日本動脈硬化学会総会・学術集会（つくば）2008.7

7) 横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、豊島秀男；インスリン分泌作用を持つ新規消化

管特異的分泌タンパク CF266 の機能解析；第 45 回日本臨床分子医学会学術集会（神戸）

2008.7

8) 渡邊和寿、大木真也、横尾友隆、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、豊島秀男；ピオグリタゾン結合タンパク

mitoNEET の機能解析；第 45 回日本臨床分子医学会学術集会（神戸）2008.7

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

1) 国際特許出願番号 PCT/JP2007/064357、インスリン分泌誘導剤及び膵臓 B 細胞増加促進剤（申請中）

2) 特許出願番号 2006-029965、インスリン分泌誘導剤、インスリン分泌誘導組成物及びその製造方法、遺伝子治療用ウイルスベクター（申請中）

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金
社会保障国際協力推進研究事業
(国際医学協力研究事業)

メタボリックシンドロームのアジアと米国における
発症機序とその健康対策に関する研究
(H20-国医一指定-005)

平成20年度 総括・分担研究報告書 (2/2)

- | |
|---|
| <p>Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷</p> |
|---|

研究代表者 川上 正舒

平成21(2009)年4月

Ⅲ. 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
Aoi Nabata, Masatoshi Kuroki, Hiroto Ueba, Shigemasa Hashimoto, Tomio Umemoto, Hiroshi Wada, Takanori Yasu, Muneyasu Saito, Shin-Ichi Momomura, Masanobu Kawakami.	C-reactive protein induces endothelial cell apoptosis and matrix metalloproteinase-9 production in human mononuclear cells: Implications for the destabilization of atherosclerotic plaque.	Atherosclerosis	196	129-135	2008
Akihiro Kakehashi, Shigeru Inoda, Chiho Mameuda, Masatoshi Kuroki, Tadashi Jono, Ryuji Nagai, Seikoh Horiuchi, Masanobu Kawakami, Yasunori Kanazawa.	Relationship among VEGF, VEGF receptor, AGEs, and macrophages in proliferative diabetic retinopathy.	Diabetes Research and Clinical Practice	79	438-445	2008
Nahoko Ikeda, Takanori Yasu, Norifumi Kubo, Tomohiro Nakamura, Yoshitaka Sugawara, Shin-ichiro Ueda, San-e Ishikawa, Muneyasu Saito, Masanobu Kawakami, Shin-ichi Momomura.	Daily Exercise and Bone Marrow-Derived CD34+/133+Cells After Myocardial Infarction Treated by Bare Metal Stent Implantation.	Circ J	72	897-901	2008
Kenichi Sakakura, Satoshi Hoshide, Joji Ishikawa, Shin-ichi Momomura, Masanobu Kawakami, Kazuyuki Shimada and Kazuomi Kario.	Association of Body Mass Index With Cognitive Function in Elderly Hypertensive Japanese.	American Journal of Hypertension	Vol.2 1-6	627-632	2008
Kenichi Sakakura, Norifumi Kubo, Shigemasa Hashimoto, Nahoko Ikeda, Hiroshi Funayama, Taishi Hirahara, Yoshitaka Sugawara, Takanori Yasu, Junya Ako, Masanobu Kawakami, Shin-ichi Momomura.	Determinants of in-hospital death in left main coronary artery myocardial infarction complicated by cardiogenic shock.	Journal of Cardiology	55	24-29	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takako Saito, Tomoyuki Saito, Keizo Kasono, Hiroyuki Tamemoto, <u>Masanobu Kawakami</u> , Sei Sasaki and San-e Ishikawa.	Hypotonicity reduces the activity of murine aquaporin-2 promoter induced by dibutyryl cAMP.	Exp Physiol	93.1	1147-1156	2008
川上正舒	動脈硬化の発症機序	日本アフェレシス学会誌	27(1)	9-14	2008
阿部泰宣、川上正舒	可溶性VCAM-1	日本臨床	66(4)	366-371	2008
川上正舒	メタボリックシンドロームと高コレステロール血症	The Lipid	19(3)	229	2008
川上正舒	動脈硬化の基礎—炎症と動脈硬化	心臓	40(10)	908-909	2008
Jiang M, <u>Bujo H</u> , Ohwaki K, Unoki H, Yamazaki H, Kanaki T, Shibasaki M, Azuma K, Harigaya K, Schneider WJ, <u>Saito Y</u> .	AngII - stimulated migration of vascular SMC is dependent on LR11 in mice.	J. Clin. Invest	118	2733-2746	2008
Kawamura T, Murakami K, <u>Bujo H</u> , Unoki H, Jiang M, Nakayama T, <u>Saito Y</u> .	Matrix metalloproteinase-3 enhances the free fatty acids-induced VEGF expression in adipocytes through toll-like receptor 2.	Exp. Biol. Med (Maywood)	233	1213-1221	2008
Unoki H, <u>Bujo H</u> , Jiang M, Kawamura T, Murakami K, <u>Saito Y</u> .	Macrophages regulate tumor necrosis factor-alpha expression in adipocytes through the secretion of matrix metalloproteinase-3.	Int. J. Obes	32	902-911	2008
<u>Matsuzawa Y</u>	The role of fat topology in the risk of disease.	Int J Obes (Lond)	32 Suppl 7	S83-92	2008
Funahashi T, <u>Matsuzawa Y</u>	Metabolic syndrome: clinical concept and molecular basis.	Ann Med	39(7)	482-94	2007
Okauchi Y, Nishizawa H, Funahashi T, Ogawa T, Noguchi M, Ryo M, Kihara S, Iwahashi H, Yamagata K, Nakamura T, Shimomura I, <u>Matsuzawa Y</u>	Reduction of visceral fat is associated with decrease in the number of metabolic risk factors in Japanese men.	Diabetes Care	30(9)	Apr-92	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Morita A, Ohmori Y, <u>Watanabe S</u> , et al.	Anthropometric and clinical findings in obese Japanese.	Anti-Aging Med	5	13-16	2008
Aiba N, <u>Watanabe S</u> , Morita A, et al.	Nutritional education and exercise treatment based on cognitive behavioral treatment in the Saku Control Obesity Program (SCOP).	Anti-Aging Med	5	39-45	2008
Ohmori Y, Suzuki N, <u>Watanabe S</u> , et al.	Association of personality (NEO-five factor inventory) with eating behaviors and physical activity levels in obese subjects in the Saku Control Obesity Program (SCOP).	Anti-Aging Med	5	43-50	2008
Miyachi M, Ohmori Y, <u>Watanabe S</u> , et al.	The use of a uniaxial accelerometer to assess physical activity-related energy expenditure in obese men and women.	Anti-Aging Med	5	1-5	2008
Tanaka S, Ohkawara K, <u>Watanabe S</u> , et al.	Accuracy of predictive equations for basal metabolic rate and contribution of abdominal fat distribution to basal metabolic rate in obese Japanese people.	Anti-Aging Med	5	17-21	2008
Melby M, Utsugi M, Miyoshi M, <u>Watanabe S</u> .	Overview of nutrition reference and dietary recommendations in Japan: application to nutrition policy in Asian countries.	Asia Pacific J Clin Nutr	17	394-398	2008
<u>Watanabe S</u> .	Obesity and the risk of lifestyle related diseases.	ILSI			in press
渡邊 昌	栄養学原論	南江堂	東京	1-312	2009
渡邊 昌	食事療法ABC	医歯薬出版			2008
Ota H, Eto M, Kano MR, Ogawa S, Iijima K, Akishita M, <u>Ouchi Y</u> .	Cilostazol inhibits oxidative stress-induced premature senescence via upregulation of Sirt1 in human endothelial cells.	Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol	28(9)	1634-9	2008
Son BK, Akishita M, Iijima K, Kozaki K, Maemura K, Eto M, <u>Ouchi Y</u> .	Adiponectin antagonizes stimulatory effect of tumor necrosis factor- α on vascular smooth muscle cell calcification: regulation of growth arrest-specific gene 6-mediated survival pathway by adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase.	Endocrinology	149(4)	1646-53	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yu J, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Okabe T, <u>Ouchi Y.</u>	Raloxifene analogue LY117018 suppresses oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis through activation of ERK1/2 signaling pathway.	Eur J Pharmacol	589(1-3)	Jun-32	2008
Funakoshi S, Fujimoto S, Hamasaki A, Fujiwara H, Fujita Y, Ikeda K, Hamamoto Y, Hosokawa M, Seino Y, <u>Inagaki N.</u>	Analysis of factors influencing pancreatic b-cell function in Japanese patients with type 2 diabetes: association with body mass index and duration of diabetic exposure.	Diabetes Res Clin Pract	82	353-358	2008
Harada N, Fukushima M, Toyoda K, Mitsui R, Izuka T, Taniguchi A, Nakai Y, Yamada Y, Seino Y, <u>Inagaki N.</u>	Factors responsible for elevation of 1-h postchallenge plasma glucose levels in Japanese men.	Diabetes Res Clin Pract	81	284-289	2008
Sassa M, Yamada Y, Hosokawa M, Fukuda K, Fujimoto S, Toyoda K, Tsukiyama K, Seino Y, <u>Inagaki N.</u>	Glycemic instability in type 1 diabetic patients: Possible role of ketosis or ketoacidosis at onset of diabetes.	Diabetes Res Clin Pract	81	190-195	2008
Hien VT, Khan NC, Lam NT, Phuong TM, Nhung BT, Nhien NV, Nakamori M, <u>Yamamoto S.</u>	Effect of community-based nutrition education intervention on calcium intake and bone mass in postmenopausal Vietnamese women.	Public Health Nutr	31-Jul	1-6	2008
Sano A, Le DS, Tran MH, Pham HT, Kaneda M, Murai E, Kamiyama H, Oota Y, <u>Yamamoto S.</u>	Study on factors of body image in Japanese and vietnamese adolescents.	J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)	Apr;54(2)	169-75	2008
Hsu TF, Kise M, Wang MF, Ito Y, Yang MD, Aoto H, Yoshihara R, Yokoyama J, Kunii D, <u>Yamamoto S.</u>	Effect of pre-germinated brown rice on blood glucose and lipid levels in free-living patients with impaired fasting glucose or type 2 diabetes.	J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)	Apr;54(2)	163-8	2008
Shimano H, Arai H, Harada-Shiba M, Ueshima H, Ohta T, Yamashita S, Gotoda, T, Kiyohara Y, Hayashi T, Kobayashi J, Shimamoto K, Bujo H, Ishibashi S, Shirai K, Oikawa S, Saito Y, Yamada N.	Proposed guidelines for hypertriglyceridemia in Japan with non-HDL cholesterol as the second target.	J Atheroscler Thromb	Jun;15(3)	116-21	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato T, <u>Shimano H</u> , Yamamoto T, Ishikawa M, Kumadaki S, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yahagi N, Nakakuki M, Hasty AH, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Yamada N.	Palmitate impairs and eicosapentaenoate restores insulin secretion through regulation of SREBP-1c in pancreatic islets.	Diabetes	Sep;57(9)	2382-92	2008
Inoue N, Yahagi N, Yamamoto T, Ishikawa M, Watanabe K, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Hasty AH, Toyoshima H, Yamada N, <u>Shimano H</u> .	Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21 WAF1/CIP1, is involved in adipocyte differentiation and hypertrophy, linking to obesity, and insulin resistance.	J Biol Chem	Jul 25;283(30)	21220-9	2008
K.Tsubakio-Yamamoto, F.Matsuura, M.Koseki, H.Oku, J.C.Sandoval, M.Inagaki, H.Nakaoka, R.Kawase, M.Yuasa-Kawase, D.Masuda, T.Ohama, Y.Nakagawa-Toyama, M.Ishigami, M.Nishida, S.Kihara, I.Shimomura, <u>S.Yamashita</u>	Adiponectin prevents atherosclerosis by increasing cholesterol efflux from macrophages	Biochem Biophys Res Commun	375(3)	390-394	2008
D.Masuda, K.Hirano, H.Hirano, J.C.Sandoval, R.Kawase, M.Yuasa-Kawase, Y.Yamashita, M.Takada, K.Tsubakio-Yamamoto, Y.Tochino, M.Koseki, F.Matsuura, M.Nishida, T.Kawamoto, M.Ishigami, M.Hori, I.Shimomura, <u>S.Yamashita</u>	Chylomicron remnants are increased in the postprandial state in CD36 deficiency	J Lipid Res			2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
S.Yamashita, H.Bujo, H.Arai, M.Harada-Shiba, S.Matsui, M.Fukushima, Y.Saito, T.Kita, Y.Matsuzawa for the investigators of the Probuocol Observational Study Illuminating Therapeutic Impact on Vascular Events (POSITIVE)	Long-term probuocol treatment prevents secondary cardiovascular events; a cohort study of patients with heterozygous familial hypercholesterolemia in Japan	J Atheroscler Thromb	15(6)	292-303	2008
Nakagawa Y, Kishida K, Kihara S, Sonoda M, Hirata A, Yasui A, Nishizawa H, Nakamura T, Yoshida R, Shimomura I, Funahashi T.	Nocturnal reduction in circulating adiponectin concentrations related to hypoxic stress in severe obstructive sleep apnea hypopnea syndrome.	Am J Physiol Endocrinol Metab	294	E778-E784	2008
Dekker JM, Funahashi T, Nijpels G, Pilz S, Stehouwer CD, Snijder MB, Bouter LM, Matsuzawa Y, Shimomura I, Heine RJ.	Prognostic value of adiponectin for cardiovascular disease and mortality.	J Clin Endocrinol Metab	93	1489-1496	2008
Ohara T, Kim J, Asakura M, Asanuma H, Nakatani S, Hashimura K, Kanzaki H, Funahashi T, Tomoike H, Kitakaze M.	Plasma adiponectin is associated with plasma brain natriuretic peptide and cardiac function in healthy subjects.	Hypertens Res	31	825-831	2008
Ishikawa S, Kario K, Kayaba K, Gotoh T, Nago N, Nakamura Y, Tsutsumi A, Kajii E.	Continued high risk of stroke in treated hypertensives in a general population: The jichi medical school cohort study.	Hypertens Res	31	1125-1133	2008
Ishikawa S, Kayaba K, Gotoh T, Nago N, Nakamura Y, Tsutsumi A, Kajii E.	Incidence of total stroke, stroke subtypes, and myocardial infarction in the japanese population: The JMS cohort study.	J Epidemiol	18	144-150	2008