

ORIGINAL ARTICLE: BIOLOGY

Downregulation of *klotho* gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats

Nobukazu Ishizaka,¹ General Matsuzaki,¹ Kan Saito,¹ Kyoko Furuta,¹ Ichiro Mori² and Ryoza Nagai¹

¹Department of Cardiovascular Medicine, the University Tokyo Graduate School of Medicine, Tokyo, and ²Department of Pathology, Wakayama University School of Medicine, Wakayama, Japan

Objective: The expression of *klotho*, which may function as an anti-aging hormone, is most abundant in the kidney. We have investigated the regulation of *klotho* expression in the kidneys of diabetic rats.

Methods: Diabetes was induced by a single i.v. injection of streptozotocin (STZ) at a dose of 60 mg/kg. Renal *klotho* expression was investigated 8 weeks post-STZ injection. Some rats were given losartan or deferoxamine from 5 weeks post-STZ injection until sacrifice. *Klotho* expression was examined by Western blot analysis and quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.

Results: Expression of *Klotho* protein was reduced by approximately a third in the kidneys of diabetic rats compared to that of the untreated control rats. This downregulation was suppressed by either losartan or deferoxamine; these drugs also decreased the albuminuria. Histological study showed that, in the kidneys of the STZ-induced diabetic rats, mRNA expression of *klotho*, albeit less intense than in the untreated control, was observed in the tubular epithelial cells, and was co-localized with heme oxygenase-1, an oxidative stress-sensitive gene.

Conclusion: Expression of *klotho* was downregulated in the kidneys of diabetic rats. An activation of the renin-angiotensin system, altered iron homeostasis, and presumably enhanced oxidative stress, may play a role in this phenomenon.

Keywords: aging, AT₁ receptor, diabetes, *klotho*, oxidative stress.

Introduction

It was discovered approximately a decade ago that the deletion of the *klotho* gene results in phenotypes resembling those of human aging-associated disorders.^{1,2} Although transcripts of this gene are expressed predominantly in the kidney, choroids plexus and

parathyroid gland, the *Klotho* protein affects many other organs by acting as a circulating hormone and modulating the signals of insulin and insulin-like growth factor (IGF)1.^{3,4} It has been shown that, in human and animal models, the expression of the *klotho* gene is regulated in response to various metabolic and hemodynamic alterations.⁵⁻⁷ We have reported that renal *klotho* expression is markedly downregulated in the kidneys of rats that have been made hypertensive by the continuous administration of angiotensin II.^{8,9} Interestingly, the introduction of exogenous *klotho* into this hypertension animal model ameliorated renal injury. Therefore, it has been suggested that the downregulation of renal *klotho* expression in various disease

Accepted for publication 22 April 2007.

Correspondence: Nobukazu Ishizaka MD PhD, Department of Cardiovascular Medicine, University of Tokyo, Graduate School of Medicine, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan. Email: nobuishizaka-tyku@umin.ac.jp

conditions may, in turn, enhance renal damage, an hypothesis which is supported by the recent findings from other laboratories.¹⁰ In the current study, we have investigated whether the expression of the *klotho* gene is downregulated in a rat model of diabetes, and, if so, whether the blockade of the AT₁ receptor would suppress this phenomenon.

Materials and methods

Animals

The experiments were performed in accordance with the guidelines for animal experimentation approved by the Animal Center for Biomedical Research, University of Tokyo Graduate School of Medicine. Eight-week-old male Sprague-Dawley rats (body-weight, 230–280 g) were injected i.v. with streptozotocin (STZ) at a dose of 60 mg/kg in citrate buffer (pH 4.5) to induce diabetes after an overnight fast. At 8 weeks after the STZ injection, rats were sacrificed and renal *klotho* expression was investigated unless stated otherwise. From 3 weeks before sacrifice, some rats were given losartan via their drinking water at a dose of 20 mg/kg/day, and some rats were given s.c. injection of deferoxamine (a kind gift of Novartis, Basel, Switzerland) at a dose of 200 mg/kg/day. Rats were kept fasted overnight before sacrifice in the metabolic cages. Blood pressure was measured by the tail-cuff method.

RNA isolation and quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction

Total RNA was isolated by the acid guanidinium thiocyanate-phenol chloroform method. After first-strand cDNA was synthesized with 2 µg of total RNA as a template using a SuperScript First-Strand Synthesis System (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), quantitative polymerase chain reaction (PCR) with gene-specific hybrid probes was performed by LightCycler (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). The sense and antisense primer used for rat *klotho* were 5'-TGA GTC AGG ACA AGG AGT T-3' and 5'-TAA ACT GAG AGA GAG TGG G-3', respectively. The *klotho* mRNA expression was normalized to the expression of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA.

Histological and immunohistochemical analyses

Prussian blue staining was used for iron staining. Immunohistochemistry was performed as described previously.¹¹ Antibodies against rat heme oxygenase-1 (HO-1; SPA895, StressGen, Victoria, Canada) and

monocytes/macrophages (ED-1, Chemicon, Temecula, CA, USA) were used at dilution of 1:200 and 1:100, respectively.

In situ hybridization

Rat cDNA fragment was obtained by reverse transcription (RT)-PCR method: sense primer, 5'-GCG ACT ACC CAA AGA GTA T-3'; antisense primer, 5'-CTT GGC TAC AAC CCC GTC TA-3'. cDNA was subcloned into pGEM-T vector (Promega, Madison, WI, USA), and the orientation was confirmed by DNA sequencing. After the linearization of the plasmid, antisense and sense cRNA riboprobes were transcribed *in vitro* by using a digoxigenin (DIG) RNA labeling kit SP6/T7 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Hybridization was performed by using In Situ Hybridization Reagents (Nippongene, Tokyo, Japan) as described previously.¹²

Protein purification and Western blot analysis

Protein was isolated by homogenizing samples in the lysis buffer (50 mmol/L 4-[2-hydroxyethyl]-1-piperazineethanesulfonic acid [HEPES], 5 mmol/L ethylene diamine tetra acetate [EDTA], and 50 mmol/L NaCl; pH 7.5) containing protease inhibitors. Equal amounts of protein were loaded onto 15% sodium dodecyl sulfate (SDS) polyacrylamide gels and subsequently blotted onto Immobilon-P polyvinylidene difluoride membranes (Millipore, New Bedford, MA, USA). Antibodies against rat ferritin (Panapharm, Kumamoto, Japan), HO-1 and *klotho* (a kind gift from Kyowa Hakko) were used at a dilution of 1:200. The ECL Western blotting system (Amersham Life Sciences, Arlington Heights, IL, USA) was used for detection. Bands were visualized using a lumino-analyzer (LAS-1000; Fuji Photo Film, Tokyo, Japan). Band intensity was calculated using the image analysis software, NIH Image (NIH, Research Service Branch), and was expressed as a percentage of the control value.

Statistical analysis

Data were expressed as the mean ± SEM. Results were presented as a percentage of the control value. A value of $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Results

Physiological parameters and laboratory data

Compared to the age-matched untreated rats, rats that had been made diabetic by a single STZ injection weighed less and had higher systolic blood pressure, serum glucose and hemoglobin A_{1c} (Table 1). In

Table 1 Physiological data

Variables	Untreated (n = 6)	STZ (n = 12)	STZ + LOS (n = 12)	STZ + DFO (n = 9)
Bodyweight (g)	401 ± 4*	238 ± 14	251 ± 16	255 ± 7
Systolic blood pressure (mmHg)	111 ± 5*	121 ± 7	121 ± 5	115 ± 2
Kidney weight (g)	1.38 ± 0.02*	1.60 ± 0.1	1.58 ± 0.06	1.59 ± 0.06
Serum fasting glucose (mg/dL)	154 ± 7*	529 ± 90	481 ± 98	501 ± 51
Hemoglobin A1c (%)	2.7 ± 0.1*	8.0 ± 0.6	8.1 ± 0.8	7.8 ± 0.4

**P* < 0.05 vs streptozotocin (STZ) treatment alone group. DFO, deferoxamine; LOS, losartan.

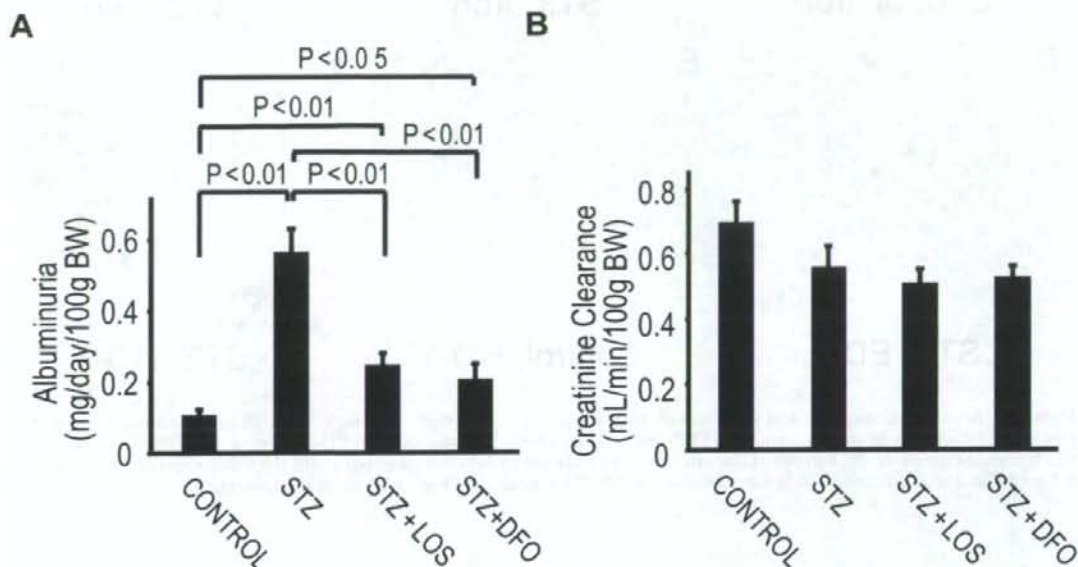


Figure 1 Effects of losartan (LOS) and deferoxamine (DFO) on the urinary excretion of albumin, and on creatinine clearance. (A) Urinary excretion of albumin. (B) Creatinine clearance. Bar graphs summarize data from 6–8 animals in each group.

diabetic rats, neither the AT₁ receptor blocker nor the iron chelator significantly affected these parameters. However, albuminuria was suppressed, although not completely, by either losartan or deferoxamine (Fig. 1a), although neither drug affected the creatinine clearance in diabetic rats (Fig. 1b).

Accumulation of iron

Prussian blue staining showed that iron deposition was not obvious in the kidneys of untreated rats (Fig. 2a), whereas the prominent deposition of iron could be observed in the tubular epithelial cells of STZ-induced diabetic rats (Fig. 2b). Furthermore, in these diabetic rats, iron accumulation was also found in the interstitial

cells of the renal medulla, which were identified as ED-1-positive monocytes/macrophages (Fig. 2c,d). Expression of HO-1, a marker gene of oxidative stress, was also increased in the tubular epithelial and glomerular cells of the diabetic rats (Fig. 2e,f).

Effects of AT₁ receptor blockade and iron chelation

Both losartan and deferoxamine inhibited the accumulation of iron in the kidneys of diabetic rats (Fig. 3a–c). Protein expression of ferritin was markedly enhanced in the kidneys of diabetic rats, and was also found to be suppressed by losartan and deferoxamine (Fig. 3d,e).

Western blot analysis showed that the expression of Klotho protein was reduced, whereas that of HO-1

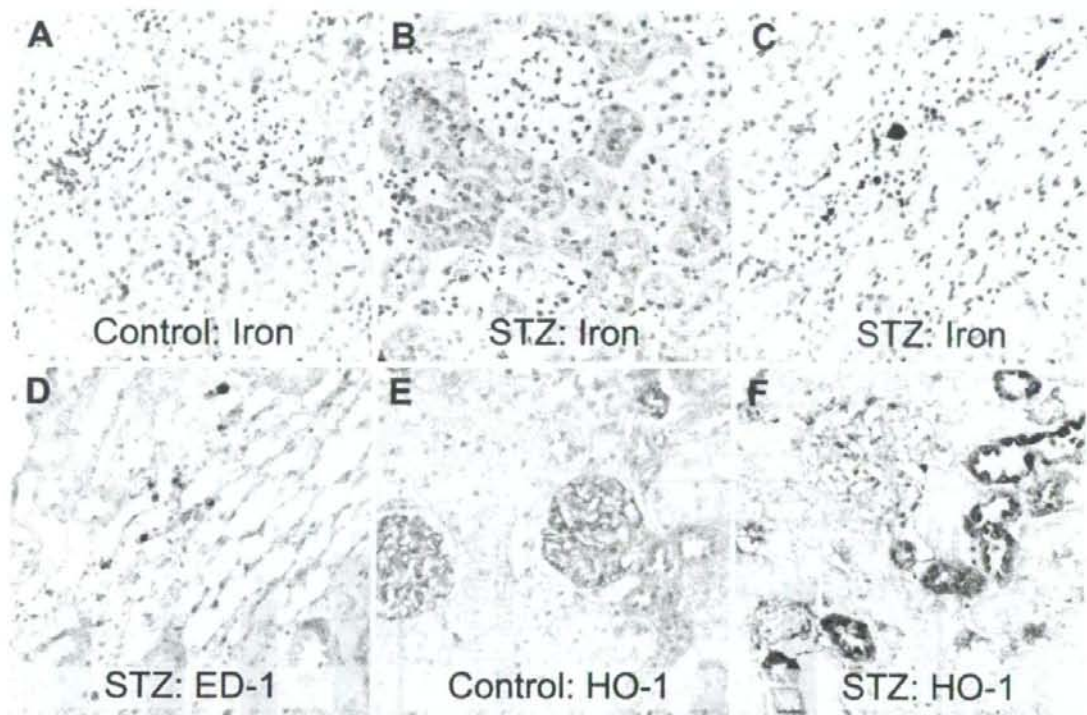


Figure 2 Accumulation of iron and induction of heme oxygenase-1 (HO-1) in diabetic kidneys. (A,E) Sections from control rats. (B-D,F) Sections from streptozotocin (STZ)-infused rats. (A-C) Iron staining. (D) ED-1 staining. (E,F) HO-1 staining. (C,D) Serial sections. In the kidneys of diabetic rats, accumulation of iron was observed in (B) the tubular epithelial cells and (C) medullar interstitial cells, which were found to be (D) ED-1 positive. (Original magnification, $\times 200$.)

was increased, at 4 and 8 weeks post-STZ injection (Fig. 4a). Downregulation of *klotho* and upregulation of HO-1 at 8 weeks post-STZ injection could be inhibited by losartan or deferoxamine (Fig. 4b-d). Quantitative RT-PCR showed that *klotho* mRNA expression was significantly reduced in STZ-infused rats, and that this was suppressed partially by losartan or deferoxamine (Fig. 4e).

Localization of *klotho* mRNA

In situ hybridization showed that *klotho* mRNA was expressed mainly in the cortical tubular epithelial and glomerular cells of the kidneys of untreated rats (Fig. 4a,b). At 8 weeks post-STZ injection, *klotho* mRNA expression became much weaker, although no apparent alteration in the localization was noted (Fig. 4d). The tubular cells that expressed *klotho* mRNA in the diabetic kidneys were found to have intense HO-1 expression (Fig. 5d,e).

Discussion

In the current study, we have demonstrated that the expression of *klotho* is reduced in the kidneys of STZ-induced diabetic rats. AT_1 receptor blockade and iron chelation suppressed this phenomenon without affecting the circulating glucose levels. It has been reported that AT_1 receptor blockade suppresses some of the unfavorable phenotypes seen in the kidneys of diabetic animals, such as increased proteinuria, reduced production of renal nitric oxide, and apoptosis of renal cells,¹³⁻¹⁵ and, conversely, that these undesirable phenotypes can also be observed in the kidneys of rats which have received an angiotensin II infusion.^{11,16,17} Considering that angiotensin II levels may be increased in kidneys of diabetic animals,¹⁴ collectively, these findings indicate a pivotal role of angiotensin II, or alternatively the renin-angiotensin system, in the development of renal injury in diabetes. In a previous study, we have shown that the long-term administration of angiotensin II causes a

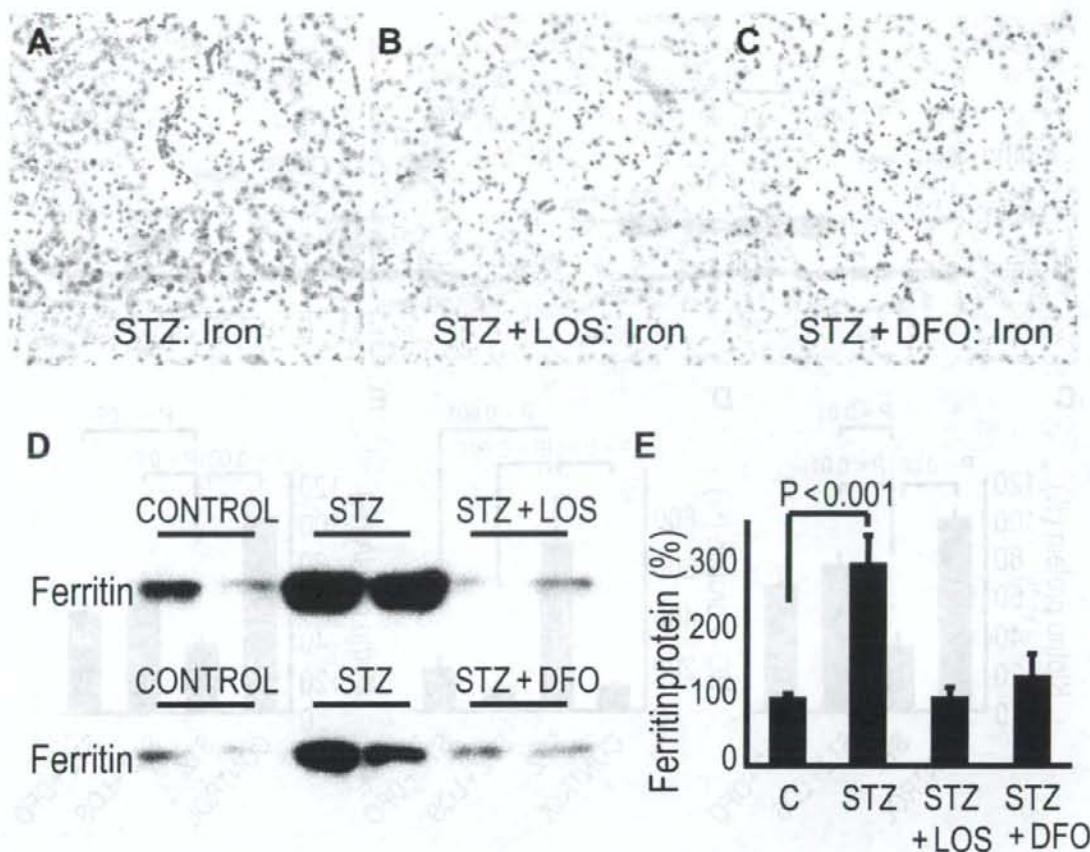


Figure 3 Effect of losartan (LOS) and deferoxamine (DFO) on the accumulation of iron and the induction of ferritin in the diabetic rat. The kidney sections were from rats given (A) STZ alone, (B) STZ plus LOS, and (C) STZ plus DFO. (D) Representative Western blot analysis of ferritin protein expression. (E) Summary of the data of ferritin protein from 4–6 experiments for each group.

decrease in the *klotho* expression in the rat kidney. In that study, either the administration of losartan, which reversed the downregulation of *klotho*, or transfer of exogenous *klotho* gene decreased proteinuria induced by the angiotensin II infusion, suggesting that preservation of *klotho* expression may have a physiological role in the kidneys of these animals.

Here we showed iron deposition in the tubular epithelial cells in the diabetic rats. Accumulation of iron, presumably originated from tubular fluid, in the kidney of STZ-induced diabetic rats was first described by Nankivell *et al.*¹⁸ That iron was reabsorbed from the tubular fluid may explain the observed association between iron accumulation and proteinuria in the current and angiotensin II-infused animal models. It has also been reported that expression of iron transport

proteins are regulated in the kidney of STZ-induced diabetic animals,¹⁹ which might also play a role in accumulating iron in the kidney of diabetic animals. We found that administration of angiotensin II regulated several iron transporting proteins in mRNA levels;²⁰ therefore, whether or not AT₁ receptor blockade have any effect on expression of iron transporting proteins in the kidney of STZ-induced diabetic animals should be investigated in future studies.

Although the expression of *klotho* is known to be regulated in the kidney by various stimuli, not much is known about the underlying mechanism. The finding in the current study that losartan reversed the downregulation of *klotho* in diabetic rats may suggest that activation of the AT₁ receptor is involved in the downregulation of *klotho* expression in the kidneys of diabetic

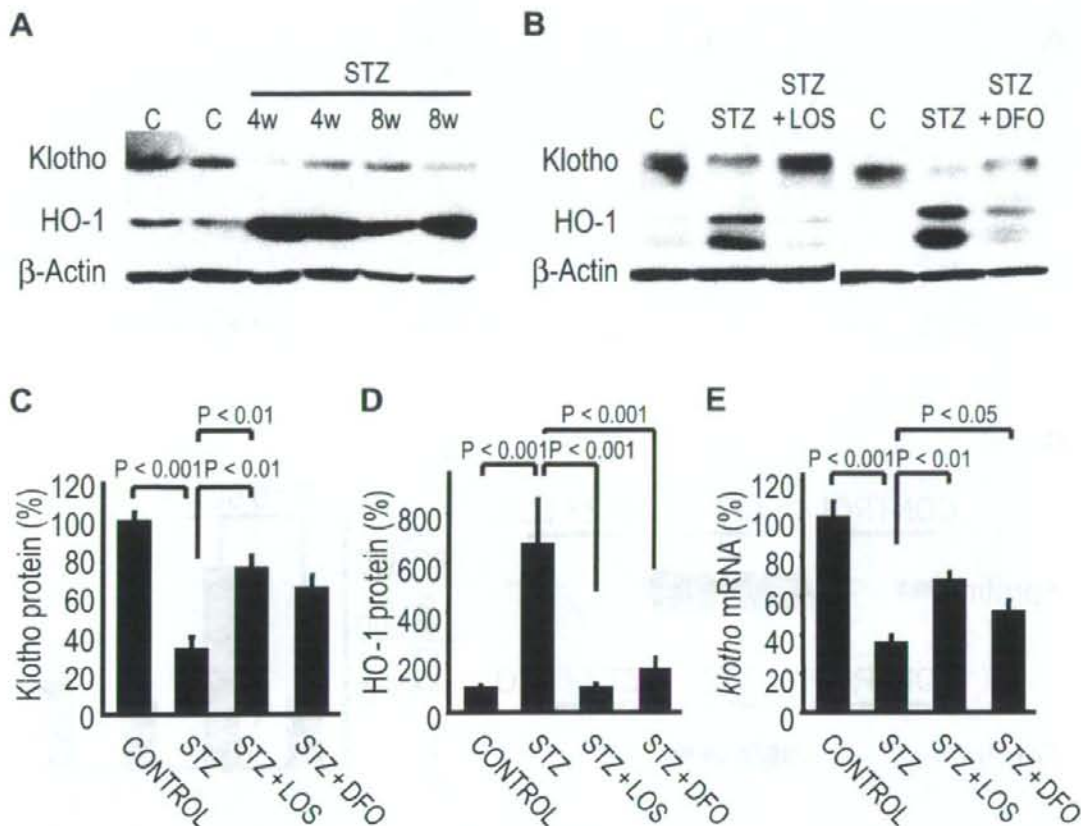


Figure 4 Effect of losartan (LOS) and deferoxamine (DFO) on the expression of *klotho* and heme oxygenase-1 (HO-1). (A) Representative Western blot analysis showing the time course of protein expression of *klotho* and HO-1. (B) Representative Western blot analysis showing the effects of LOS and DFO on the diabetes-induced regulation of HO-1 and *klotho* protein at 8 weeks post-STZ infusion. (C,D) Summary of the data from 4–6 experiments for each group. (E) Summary of the expression of *klotho* mRNA from 4–6 experiments for each group.

animals. Support for this scenario comes from the finding that angiotensin II-induced downregulation of *klotho* expression has also been observed in renal cells *in vitro*, where it is possibly dependent on the activation of RhoA.²¹

Enhanced oxidative stress may represent another possible mechanism that is involved in mediating *klotho* regulation in diabetes. Expression of *klotho* has been found to be downregulated by hydrogen peroxide *in vitro*.²² It is of note that AT₁ blockade decreases the extent of *in vivo* oxidative stress in the angiotensin II-infused animals²³ as well as in the kidneys of STZ-induced diabetic rats.²⁴ It has been shown that expression of HO-1, an oxidative stress-sensitive gene, is upregulated in the kidney of STZ-induced diabetic animals.²⁵ Administration of an antioxidative agent

suppressed this upregulation,²⁶ suggesting that, in these diabetic rats, HO-1 was induced in response to the enhanced oxidative stress. Furthermore, in the current study, deferoxamine, which would prevent the generation of reactive oxygen species,^{27,28} also suppressed the downregulation of *klotho*. These findings are consistent with the notion that enhanced oxidative stress underlies the downregulation of *klotho* in diabetes.

The relationship between oxidative stress and aging is one of the main topical issues of today; however, little is known about the downstream signaling events that mediate the oxidative stress-induced downregulation of *klotho* expression. Recently, studies have shown that oxidative stress may activate Rho-kinase,²⁹ and that the regulation of expression plasminogen activator

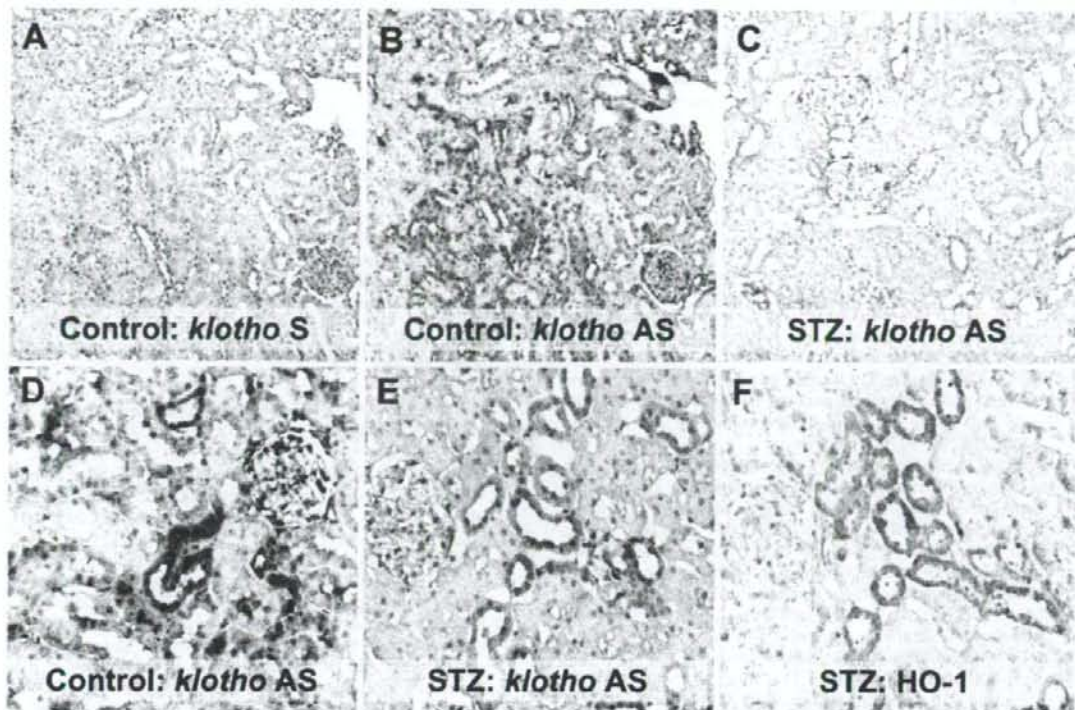


Figure 5 Localization of *klotho* mRNA in untreated and STZ-treated rat kidneys. (A,B,D) Sections from control rats. (C,E,F) Sections from STZ-infused rats. (A–B,E–F) Serial specimens. (B–E) *In situ* hybridization using *klotho* sense (background) and antisense. (F) HO-1 staining. Note that tubular epithelial cells weakly expressing *klotho* mRNA were positive for HO-1. (Original magnifications [A,B] $\times 100$, [C–F] $\times 200$.)

inhibitor-1 under hyperglycemic conditions may be mediated by Rho-kinase in an oxidative stress-dependent manner.³⁰ In addition, the inhibition of Rho-kinase resulted in an upregulation of the expression of *klotho* mRNA in cultured renal cells.²¹ Taken together, it is possible that the activation of the RhoA/Rho-kinase system might be one of the underlying mechanisms linking oxidative stress and the regulation of *klotho* expression. This possibility should be investigated further in future studies.

Recent studies have shown that Klotho protein may affect insulin and IGF1 signaling. In addition, it has been shown that circulating glucose levels are reduced in *klotho*-deficient mice,¹ and insulin levels are lower in *klotho*-deficient animals whereas higher in *klotho*-overexpressing animals,⁴ suggesting that *klotho* expression is somehow related to insulin sensitivity. Future studies should investigate whether the expression of *klotho* is regulated according to circulating insulin levels, and whether, from the viewpoint of insulin action, the downregulation of *klotho* would act in a beneficial

manner in STZ-induced diabetic animals, in which insulin secretion is decreased.

In conclusion, we have demonstrated that the expression of Klotho is downregulated in the kidneys of STZ-induced diabetic rats. This downregulation was suppressed by losartan and deferoxamine. Whether the downregulation of *klotho* expression is involved in the acceleration of aging-associated phenotypes in diabetes, such as arteriosclerosis and osteoporosis, needs to be elucidated in future studies.

Acknowledgements

We are highly appreciative for their excellent technical assistance of Naoko Amitani. This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan (no. 13671098), grants from the Novartis Foundation for Gerontological Research and from the Takeda Medical Research Foundation.

References

- 1 Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H et al. Mutation of the mouse *kltho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997; **390**: 45-51.
- 2 Shiraki-Iida T, Iida A, Nabeshima Y et al. Improvement of multiple pathophysiological phenotypes of *kltho* (*kl/kl*) mice by adenovirus-mediated expression of the *kltho* gene. *J Gene Med* 2000; **2**: 233-242.
- 3 Imura A, Iwano A, Tohyama O et al. Secreted *kltho* protein in sera and CSF: implication for post-translational cleavage in release of *kltho* protein from cell membrane. *FEBS Lett* 2004; **565**: 143-147.
- 4 Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD et al. Suppression of aging in mice by the hormone *kltho*. *Science* 2005; **309**: 1829-1833.
- 5 Saito Y, Nakamura T, Ohyama Y et al. In vivo *kltho* gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; **276**: 767-772.
- 6 Nagai R, Saito Y, Ohyama Y et al. Endothelial dysfunction in the *kltho* mouse and downregulation of *kltho* gene expression in various animal models of vascular and metabolic diseases. *Cell Mol Life Sci* 2000; **57**: 738-746.
- 7 Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S et al. Severely reduced production of *kltho* in human chronic renal failure kidney. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **280**: 1015-1020.
- 8 Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T et al. In vivo *kltho* gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage. *Hypertension* 2002; **39**: 838-843.
- 9 Saito K, Ishizaka N, Mitani H, Ohno M, Nagai R. Iron chelation and a free radical scavenger suppress angiotensin II-induced downregulation of *kltho*, an anti-aging gene, in rat. *FEBS Lett* 2003; **551**: 58-62.
- 10 Haruna Y, Kashihara N, Satoh M et al. Amelioration of progressive renal injury by genetic manipulation of *kltho* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 2331-2336.
- 11 Aizawa T, Ishizaka N, Taguchi J et al. Heme oxygenase-1 is upregulated in the kidney of angiotensin II-induced hypertensive rats: possible role in renoprotection. *Hypertension* 2000; **35**: 800-806.
- 12 Saito K, Ishizaka N, Aizawa T et al. Iron chelation and a free radical scavenger suppress angiotensin II-induced upregulation of TGF- β 1 in the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; **288**: H1836-H1843.
- 13 Erman A, Veksler S, Gafter U, Boner G, Wittenberg C, van Dijk DJ. Renin-angiotensin system blockade prevents the increase in plasma transforming growth factor β 1, and reduces proteinuria and kidney hypertrophy in the streptozotocin-diabetic rat. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2004; **5**: 146-151.
- 14 Awad AS, Webb RL, Carey RM, Siragy HM. Renal nitric oxide production is decreased in diabetic rats and improved by AT1 receptor blockade. *J Hypertens* 2004; **22**: 1571-1577.
- 15 Kumar D, Zimpelmann J, Robertson S, Burns KD. Tubular and interstitial cell apoptosis in the streptozotocin-diabetic rat kidney. *Nephron Exp Nephrol* 2004; **96**: e77-e88.
- 16 Aizawa T, Ishizaka N, Kurokawa K et al. Different effects of angiotensin II and catecholamine on renal cell apoptosis and proliferation in rats. *Kidney Int* 2001; **59**: 645-653.
- 17 Lopez B, Salom MG, Arregui B, Valero F, Fenoy FJ. Role of superoxide in modulating the renal effects of angiotensin II. *Hypertension* 2003; **42**: 1150-1156.
- 18 Nankivell BJ, Tay YC, Boadle RA, Harris DC. Lysosomal iron accumulation in diabetic nephropathy. *Ren Fail* 1994; **16**: 367-381.
- 19 Ward DT, Hamilton K, Burnand R, Smith CP, Tomlinson DR, Riccardi D. Altered expression of iron transport proteins in streptozotocin-induced diabetic rat kidney. *Biochim Biophys Acta* 2005; **1740**: 79-84.
- 20 Ishizaka N, Saito K, Furuta K et al. Angiotensin II-induced regulation of the expression and localization of iron metabolism-related genes in the rat kidney. *Hypertens Res* 2007; **30**: 195-202.
- 21 Narumiya H, Sasaki S, Kuwahara N et al. HMG-CoA reductase inhibitors up-regulate anti-aging *kltho* mRNA via RhoA inactivation in IMCD3 cells. *Cardiovasc Res* 2004; **64**: 331-336.
- 22 Mitobe M, Yoshida T, Sugiura H, Shiota S, Tsuchiya K, Nihei H. Oxidative stress decreases *kltho* expression in a mouse kidney cell line. *Nephron Exp Nephrol* 2005; **101**: e67-e74.
- 23 Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S et al. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ Res* 1997; **80**: 45-51.
- 24 Kedziora-Kornatowska K. Effect of angiotensin convertase inhibitors and AT1 angiotensin receptor antagonists on the development of oxidative stress in the kidney of diabetic rats. *Clin Chim Acta* 1999; **287**: 19-27.
- 25 Hayashi K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Ishiki K, Kikkawa R. Enhancement of glomerular heme oxygenase-1 expression in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; **52**: 85-96.
- 26 Koya D, Hayashi K, Kitada M, Kashiwagi A, Kikkawa R, Haneda M. Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats. *J Am Soc Nephrol* 2003; **14**: S250-S253.
- 27 Green CJ, Healing G, Simpkin S, Lunec J, Fuller BJ. Desferrioxamine reduces susceptibility to lipid peroxidation in rabbit kidneys subjected to warm ischaemia and reperfusion. *Comp Biochem Physiol B* 1986; **85**: 113-117.
- 28 Chatterjee PK, Cuzzocrea S, Brown PA et al. Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces oxidant stress-mediated renal dysfunction and injury in the rat. *Kidney Int* 2000; **58**: 658-673.
- 29 Touyz RM. Reactive oxygen species as mediators of calcium signaling by angiotensin II: implications in vascular physiology and pathophysiology. *Antioxid Redox Signal* 2005; **7**: 1302-1314.
- 30 Rikitake Y, Liao JK. Rho-kinase mediates hyperglycemia-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in vascular endothelial cells. *Circulation* 2005; **111**: 3261-3268.

至適, 正常, 正常高値血圧者の メタボリックシンドロームと頸動脈硬化

Metabolic syndrome may not associate with carotid plaque in subjects with optimal, normal, or high-normal blood pressure.

Ishizaka N *et al*: *Hypertension* 48: 411-417, 2006

石坂信和* 山門 実**

*東京大学医学部附属病院, **三井記念病院総合健診センター

はじめに

メタボリックシンドロームを有する症例は, 同シンドロームを有していない症例と比較して, 心血管病や脳卒中のリスクが高い。それゆえこの概念は, ハイリスク症例の特定のみならず, 疾病予防に対する意識改善のためにも有用な指標であると考えられている。一方, 高血圧や糖尿病に対し, すでに投薬治療を受けている症例は, メタボリックシンドロームの有無にかかわらず心血管病に対するリスクが高いことは周知のとおりである。よって, 血圧, 糖・脂質代謝の異常が存在しないか, あっても軽度の症例において, メタボリックシンドロームの有無により心血管病リスクが比較的高いと考えられる症例を特定できるのかどうか, という点が問題となるが, そのような観点からの検討はほとんどなされていなかった。

本論文では, 人間ドック受診症例のうち, 血圧が収縮期 140 mmHg 未満かつ 90 mmHg 未満の症例を対象に, メタボリックシンドロームを有している場合に早期動脈硬化病変の頻度が上昇しているかどうかを横断的研究で調査している。

対象

三井記念病院総合健診センターを受診した症例のうち, 頸動脈超音波によるスクリーニングを含む健康評価を受けた症例から, 以下の方法に示す条件にもとづいて対象群を絞り込んだ。なお, 糖尿病に対して投薬を受けている症例は対象から除外している。

方法

メタボリックシンドロームの診断基準は, NCEP ATP IIIによる基準のうち, 腹囲基準を BMI ≥ 25 kg/m² で置き換えたものを使用した。頸動脈プラークの診断は 1.3 mm 以上の局所的な内膜中膜コンプレックスの肥厚と定義した。また, 壁肥厚は, 内膜中膜コンプレックス 1.0 mm 以上の肥厚と定義した。

本研究では, 頸動脈超音波によるスクリーニングを含む健康評価を受けた 8,143 症例から, 以下の条件絞り込みの程度により, 3つの対象群を設定している。

- ①血圧が 140/90 mmHg 未満であること
- ②降圧薬を投与されていないこと
- ③食前血糖が 126 mg/dl 未満であること

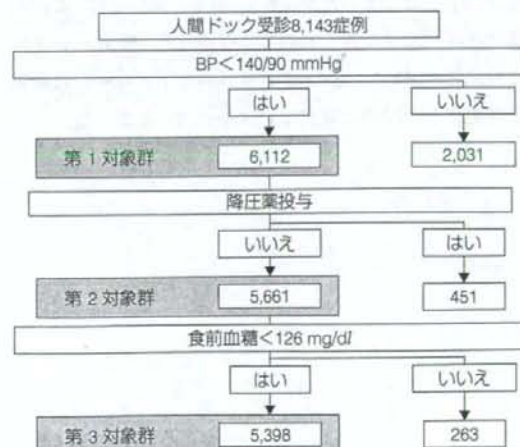


図 1. 対象症例

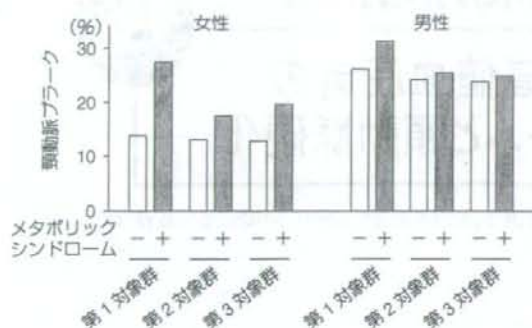


図 2. 各群における頸動脈プラークの頻度

上記の①を満たすものを第1対象群(6,112症例), ①, ②を満たすものを第2対象群(5,661症例), ①~③を満たすものを第3対象群(5,398症例)とした(図1)。

結果

いずれの対象群においても性別にかかわらず, メタボリックシンドロームを有する症例において, 頸動脈プラーク, および, 頸動脈肥厚の頻度が高かったが, 降圧薬を投与されていない症例のみからなる第2, 第3対象群では, 第1対象群よりもメタボリックシンドロームの有無による頸動脈プラークの頻度の差は, かなり小さくなっていった(図2)。

つぎに, メタボリックシンドロームと頸動脈プラークの関連に関して, ロジスティック回帰分析で検討した。年齢補正の検討では, 男女とも, 第1対象群においては, メタボリックシンドロームが頸動脈プラークの独立した危険因子となっていたが, 第2, 第3対象群では, この関連は統計的には有意なものではなかった(表1)。いずれの対象群においても, メタボリックシンドロームは頸動脈壁肥厚との関連は有意なレベルに達しなかった。

表 1. 頸動脈プラークに対するメタボリックシンドロームのオッズ比

	女性		男性	
	オッズ比 (95% CI)	P値	オッズ比 (95% CI)	P値
第1対象群				
補正なし	2.37 (1.43-3.94)	<0.001	1.29 (1.06-1.58)	<0.05
年齢で補正	2.11 (1.22-3.64)	<0.01	1.39 (1.12-1.73)	<0.01
年齢, 総コレステロール値, 喫煙状況で補正	2.04 (1.18-3.52)	<0.05	1.33 (1.07-1.66)	<0.05
第2対象群				
補正なし	1.43 (0.74-2.78)	0.29	1.07 (0.84-1.35)	0.59
年齢で補正	1.29 (0.63-1.63)	0.48	1.21 (0.94-1.56)	0.15
年齢, 総コレステロール値, 喫煙状況で補正	1.23 (0.60-2.50)	0.58	1.14 (0.88-1.48)	0.31
第3対象群				
補正なし	1.67 (0.85-3.26)	0.14	1.06 (0.81-1.38)	0.69
年齢で補正	1.54 (0.75-3.19)	0.24	1.25 (0.94-1.68)	0.13
年齢, 総コレステロール値, 喫煙状況で補正	1.47 (0.71-3.04)	0.30	1.18 (0.88-1.58)	0.28

まとめ

人間ドック受診症例のうち, 降圧薬の投与を受けてなく, 血圧が140/90 mmHg未満の症例では, メタボリックシンドロームという指標により早期動脈硬化病変のリスクが比較的高い症例を同定することはむずかしい可能性が示唆された。そのような対象は, 人間ドック受診症例の約7割(=5,661/8,143)であった。

比較的, 血圧, 糖・代謝異常の程度が軽い症例においては, メタボリックシンドロームの有無にかかわらず, 個々の危険因子に対して対処することが望ましいと考えられる。

Higher serum uric acid is associated with increased arterial stiffness in Japanese individuals.

Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Hashimoto H, Nagai R, Yamakado M.
Atherosclerosis 2007; 192: 131-7. PMID: 16716328.

日本人において血清尿酸値の上昇は動脈スティフネスの亢進と関連している

石坂信和 (東京大学付属病院循環器内科)

石坂裕子/遠田栄一/橋本英樹/永井良三/山門 実

背景・目的

尿酸値が高い症例では心血管疾患が増加していることが知られている。高尿酸血症症例では、また、高血圧、糖・脂質代謝障害、あるいは、メタボリックシンドロームを合併する頻度が高いことが知られており、これらの危険因子が、高尿酸血症と動脈硬化を介在している可能性もある。一方、これらのトラディショナルな心血管危険因子とは独立に、高尿酸血症が、冠動脈や頸動脈における動脈硬化の頻度増加に関連している可能性があることも報告されている。最近、本邦からも、メタボリックシンドロームが脈波伝播速度 (PWV) の増大と関連しているという報告がなされている。今回われわれは、尿酸値の高い症例においてPWVが増大している頻度が高いかどうか、また、そうであれば、この関連はメタボリックシンドロームに依存したものであるかどうかについて検討した。

対象・方法

2003~2005年までの間に三井記念病院総合検診センターを受診し、上腕-足首脈波伝播速度 (brachial-ankle PWV: baPWV) 測定を含む健康評価を受けた952例 (男性655例、女性297例) を対象とした。メタボリックシンドロームの診断はNCEP ATP III基準に準じたが、腹囲基準の代わりにbody mass index (BMI) 25.0kg/m²以上を用いた。baPWVは、オムロンコリン社製form ABI/PWVを用いて測定した。症例のbaPWVが最も高い4分位にあった場合 (男性: 1,721cm/s以上、女性: 1,594cm/s以上)、baPWV高値であると定義した。

結果

男女とも、尿酸値が上昇するに従って、baPWV高値の頻度が上昇していた (図1)。この関連が、他の交絡因子の補正後でも認められるかどうかについて、動脈硬

化の危険因子 (年齢、性別、BMI、収縮期血圧、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、喫煙) を共変量としたロジスティック回帰分析により検討した。尿酸値4分位の最低位 (男性: 5.3mg/dL未満、女性: 4.1mg/dL未満) をレファレンスとした場合、尿酸4分位の最高位 (男性: 7.0mg/dL以上、女性: 5.4mg/dL以上) ではbaPWVが高値となるオッズ比が有意に高かった (表1)。なお、男性では、レファレンスと比較し、第3の4分位 (尿酸値6.1mg/dL以上7.0mg/dL未満) においても、有意に高いオッズ比を有していた。血清尿酸値が上昇するに従い、血清クレアチニン値も上昇していたが、共変量に血清クレアチニン値を追加しても、基本的にはこれらの結果には影響を与えなかった。

対象症例中にメタボリックシンドローム合併が、159例 (17%) 存在していた。そこで、血清尿酸値とbaPWV高値の関連を、メタボリックシンドロームの有無によるサブグループ別に検討した。性、年齢、性別、BMI、収縮期血圧、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、喫煙を共変量とした多変量ロジスティック回帰分析では、尿酸の4分位の最低位をレファレンスとした場合、最高位の症例のbaPWV高値に対するオッズ比は、メタボリックシンドロームを有しない群において、1.86 (95%CI 1.01~1.32)、メタボリックシンドロームを有する群において、4.52 (95%CI 1.09~18.72) と、いずれもbaPWV高値のオッズ比が有意に高いことが明らかになった。

考案

本研究では人間ドック受診症例のデータを解析することにより、血清尿酸値とbaPWVによって示される動脈スティフネスの関連を検討した。血清尿酸値が高い場合 (男性: 6.1mg/dL以上、女性: 5.4mg/dL以上)、既知の動脈硬化の危険因子、およびメタボリックシンドロ

図1 血清尿酸値各4分位別とbaPWV高値の割合

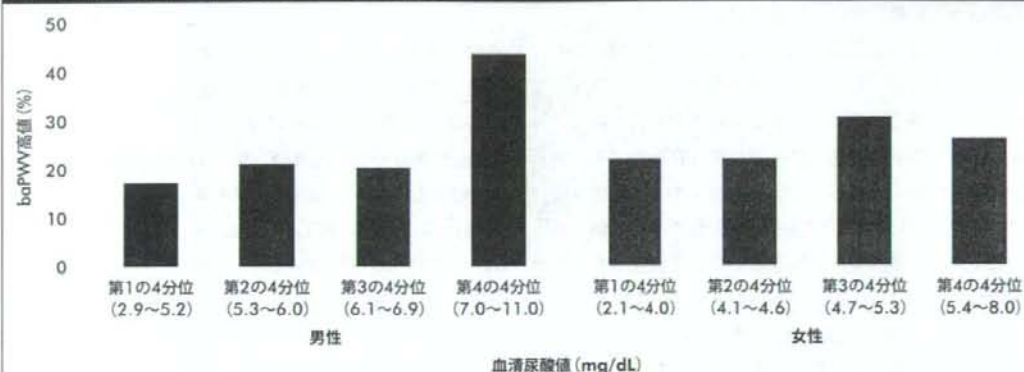


表1 血清尿酸値とbaPWV高値の多変量ロジスティック解析

性、年齢、BMI、収縮期血圧、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、喫煙状況で調整

	男性		女性		
	オッズ比 (95% CI)	p値	オッズ比 (95% CI)	p値	
尿酸	第1の4分位	レファレンス	第1の4分位	レファレンス	
	第2の4分位	1.10 (0.55~2.20)	0.80	2.80 (0.93~8.40)	0.066
	第3の4分位	1.97 (1.04~3.75)	<0.05	2.13 (0.74~6.19)	0.16
	第4の4分位	2.24 (1.10~4.56)	<0.05	2.76 (1.01~7.55)	<0.05

ムとは独立に、尿酸値が第1の4分位にある場合と比較してbaPWV高値の頻度が有意に高いことが明らかになった。本研究では男性1,721cm/s以上、女性1,594cm/s以上をbaPWV高値としたが、これらの値が、心血管リスクが増大する可能性がある、以前報告された値 (baPWV 1,400cm/s) より高値であることを考えると、本研究で定義されたbaPWV高値は、臨床的にも意味のあるレベルであることが理解される。

結語

人間ドック受診症例において、血清尿酸値が高い症例では、既知の動脈硬化の危険因子、メタボリックシンド

ロームとは独立に、動脈スティフネスが亢進している可能性が示された。生活習慣改善や、投薬による血清尿酸値の減少が、動脈スティフネス改善に働くかどうか、今後の検討を要する。

I. 一般演題

メタボリックシンドロームの診断基準と
頸動脈肥厚の関連について

石坂信和

東京大学医学部附属病院 循環器内科

人間ドック受診症例を対象として4つの異なる基準でメタボリックシンドロームを診断し、診断される頻度、頸動脈壁肥厚との関連、という観点から比較検討した。男性ではメタボリックシンドロームと診断する頻度が低い基準ほど、頸動脈壁肥厚との関連が強かった。男性では、NCEP-ATPIII基準、女性では、IDF基準によるメタボリックシンドロームが最も頸動脈壁肥厚との関連が強かった。

はじめに

血圧や糖・脂質代謝異常が軽度な症例においても、メタボリックシンドロームが存在すると、循環器疾患のリスクが高くなると考えられている。また、メタボリックシンドロームの有無は個々の症例において生活習慣が適切に保たれているかどうかを判断する指標となり得る。わが国においても、高齢化や肥満などを背景に、糖尿病およびその合併症、循環器関連疾患の頻度が増加の一途をたどっており、この概念はますます重要となっていくと考えられる。一方で、わが国の基準も含め、メタボリックシンドロームにはいくつかの診断基準が存在する。本稿では、同じ対象群に対して、4つの異なる基準でメタボリックシンドロームを診断し、診断される頻度、頸動脈壁肥厚との関連、という観点からこれらの診断基準を比較検討した。

1. 方法

1) 対象

三井記念病院総合健診センターを2005年10月～2006年8月までの間に健康評価のため受診した14,537症例のうち、頸動脈超音波、空腹時血糖/インスリン測定、腹囲測定を施行された1,688例（女性582例、男性1,106例）を対象とした。

2) 頸動脈内膜中膜肥厚

頸動脈の内膜中膜厚 (IMT) の最大値 (max IMT) を男女別に4分位をとり、max IMTが第4の4分位にある場合、「頸動脈肥厚あり」と定義した。これは男性でmax IMTが1.8mm以上、女性で1.5mm以上であった。

3) メタボリックシンドロームの診断基準

診断基準としては、National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III基準 (NCEP-ATP III)¹⁾の腹囲をBMI基準に変更したもの (modified NCEP-ATP III)²⁾、Japan基準³⁾、International Diabetes

表 1. 本稿で比較検討したメタボリックシンドロームの診断基準

	NCEP-ATP III基準	modified NCEP-ATP III基準	Japan 基準	IDF 基準
必須項目	なし	なし	腹囲 男性 ≥ 85 cm 女性 ≥ 90 cm	腹囲 男性 ≥ 95 cm 女性 ≥ 90 cm
選択項目	①腹囲 男性 > 102 cm 女性 > 88 cm ②血圧 $\geq 130/85$ mmHg ③中性脂肪 ≥ 150 mg/dl ④空腹時血糖 ≥ 110 mg/dl ⑤HDL-コレステロール 男性 < 40 mg/dl 女性 < 50 mg/dl	①BMI ≥ 25 kg/m ² ②血圧 $\geq 130/85$ mmHg ③中性脂肪 ≥ 150 mg/dl ④空腹時血糖 ≥ 110 mg/dl ⑤HDL-コレステロール 男性 < 40 mg/dl 女性 < 50 mg/dl	①血圧 $\geq 130/85$ mmHg ②脂質代謝異常 中性脂肪 ≥ 150 mg/dl HDL-コレステロール または ステロール < 40 mg/dl ③空腹時血糖 ≥ 110 mg/dl	①血圧 $\geq 130/85$ mmHg ②中性脂肪 ≥ 150 mg/dl ③空腹時血糖 ≥ 100 mg/dl ④HDL-コレステロール 男性 < 40 mg/dl 女性 < 50 mg/dl
診断	①-⑤のうち3つ以上	必須項目と①-④のうち2つ以上	必須項目と①-③のうち2つ以上	必須項目と①-③のうち2つ以上

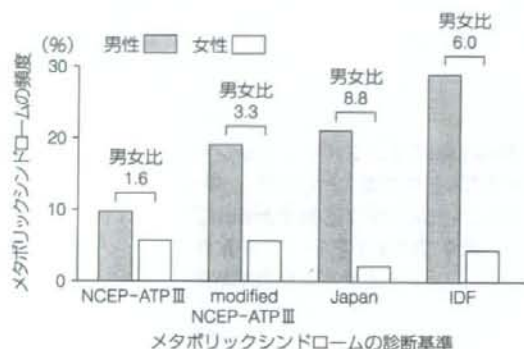


図 1. さまざまな診断基準によるメタボリックシンドローム頻度の差

Federation (IDF) 基準⁴⁾の4種類を用いた(表1)。なお、IDF 基準では、腹囲のカットオフ値に日本人対象の数値を用いた。

2. 各規準で診断されるメタボリックシンドロームの頻度

メタボリックシンドロームの頻度は男性では、NCEP-ATP III<modified NCEP-ATP III<Japan<IDF の順であり、女性では Japan<IDF<modified NCEP-ATP III=NCEP-ATP III の順であった。また、頻度の男女比をとると、NCEP-ATP III基準で1.6と、最も男女間の頻度が近接していたが、わが国の基準では男女比8.8とかなりの開きが存在していた(図1)。

NCEP-ATP III基準と modified NCEP-ATP III基準の差は、肥満の基準として、腹囲を用いているか、BMIを用いているかの差である。BMIと腹囲について検討症例を対象にプロットしてみると、よい相関があることがわかる(図2)。回帰直線から計算すると、NCEP-ATP

IIIの男性基準102 cmは、BMI 30.8 kg/m²に、女性の88 cmは25.5 kg/m²に相当することがわかる。つまり、女性にとっては、腹囲88 cmがBMI 25 kg/m²にほぼ相当する値であることが、2つの基準を用いて診断されるメタボリックシンドロームの頻度を近いものにしてしまうと考えられる。ちなみに、本稿の対象群では、Japan基準における腹囲の男性のカットオフ値85 cmはBMI 23.3 kg/m²に、女性のカットオフ値90 cmはBMI 26.4 kg/m²に相当する。

3. メタボリックシンドロームと頸動脈内膜中膜肥厚の関連

つぎに各診断基準で診断されるメタボリックシンドロームがどの程度頸動脈肥厚と関連があるかについて、年齢、喫煙状況を共変量としてロジスティック回帰分析により検討した(図3)。男性では、いずれの基準で診断されるメタボリックシンドロームも頸動脈内膜中膜肥厚の危険因子となっていることがわかる。オッズ比の順に並べると、IDF<Japan<modified NCEP-ATP III<NCEP-ATP IIIであり、メタボリックシンドロームと診断される頻度と逆順であることがわかる。女性では、IDFによって診断されるメタボリックシンドローム以外は、頸動脈内膜中膜肥厚との関連は統計的に有意なレベルに達しなかった。女性ではIDF基準に比較して対象集団中で、より頻度が低かったJapan基準はオッズ比からみてもIDFよりも低い値となっていた。

4. 他施設からの報告との比較

国内外のいくつかの論文により、メタボリックシンド

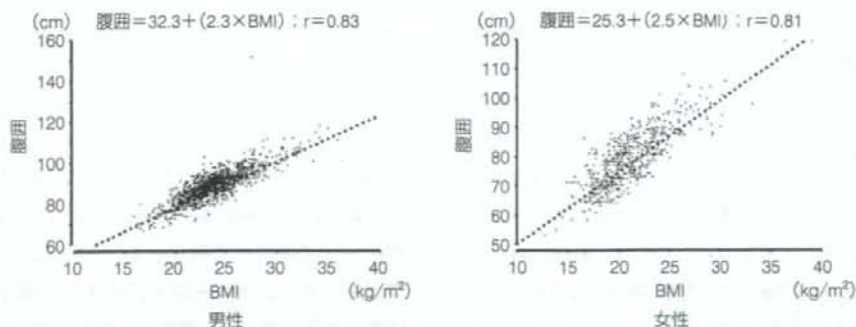


図 2. BMI と腹囲の関連

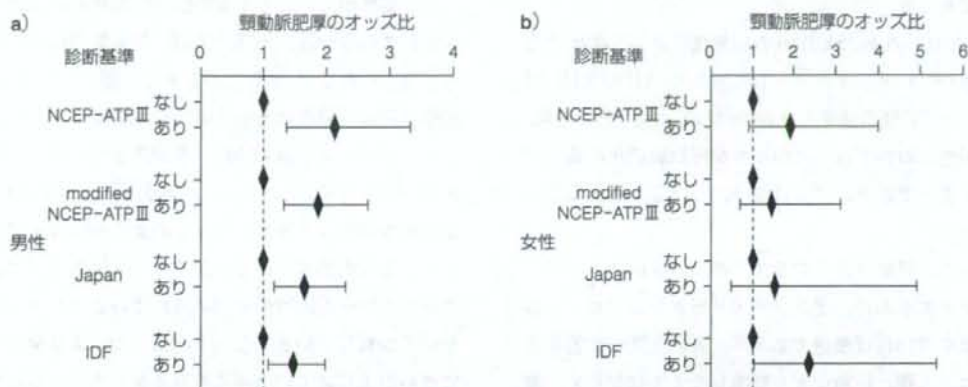


図 3. さまざまな診断基準によるメタボリックシンドロームと頸動脈肥厚

ロームと頸動脈硬化との関連が検討、報告されてきたが、そのなかでNCEP-ATP III基準が、その簡便性という点から最も広く用いられてきたといっただろう。日常臨床において、血中のインスリン値やアルブミン尿などが必ずしも測定されていないこともWHOの基準を用いた検討を少なくしている理由の1つとなっている。そのようなこともあり、同一集団を対象にして、いくつかの異なる基準で診断されたメタボリックシンドロームについて、その頻度や、動脈硬化病変の関連などを比較検討した報告は案外少ない。Skiltonら⁹⁾は、最近の論文で、少なくとも1つの心血管危険因子を有している30~80歳の症例を対象として、NCEP-ATP III、AHA/NHLBI⁵⁾、IDFの基準で診断されたメタボリックシンドロームと頸動脈硬化の関連について比較検討している。彼らの検討によるとメタボリックシンドロームの頻度は、男性ではNCEP-ATP III (53%)<IDF (61%)<

AHA/NHLBI (66%)、女性ではNCEP-ATP III (50%)<IDF (60%)=AHA/NHLBI (60%)の順であった。また、各基準で診断されるメタボリックシンドロームの頸動脈内膜中膜肥厚に対するオッズ比は、男性でIDF<NCEP-ATP III<AHA/NHLBI、女性でNCEP-ATP III<AHA/NHLBI<IDFの順であった。これらのことから、男性ではAHA/NHLBI基準、女性ではIDF基準によるものが最も強いプレディクターである可能性が示唆される。彼らの知見は、本稿のわれわれの結果と同様に、最適なメタボリックシンドロームの診断基準が男女で異なる可能性を示している、といっただろう。

いくつかの異なるメタボリックシンドロームの診断基準間の比較については、わが国からも他のグループの報告がある。Miyakiら⁷⁾は、橈骨足背脈波伝播速度(baPWV)を測定することで、同一の日本人集団(工場従業員)において、わが国の基準あるいはIDF基準で診

断されるメタボリックシンドロームと動脈硬化との関連について比較検討している。その結果、わが国の基準で診断されるメタボリックシンドロームはオッズ比2.08 (95% CI 0.90-4.81) で、IDF 基準で診断されるメタボリックシンドロームはオッズ比2.88 (95% CI 1.30-6.37) でbaPWV 高値と関連していた。さらに、メタボリックシンドロームと診断される割合は、わが国の基準14%、IDF 基準17%であった。IDF 基準のほうが、より多くの症例をメタボリックシンドロームと診断しており、オッズ比、統計的有意性ともわが国の基準と比較して良好であった。

また、われわれも、Skilton らが男性において動脈硬化の最も強いプレディクターとして示したAHA/NHLBI 基準について、他の基準と比較検討してみた。その結果、日本人男性においては、この基準が頸動脈硬化の最良プレディクターであるわけではない、ということを見出している⁹⁾。

以上から、頸動脈硬化のリスクが高い症例をアイデンティファイするのに、どのメタボリックシンドロームの診断基準を用いれば最適であるか、という問いに答えるためには、人種、性別などを勘案しなくてはならず、案外単純でないことがわかる。さらに、動脈硬化の指標を何に求めるかでも、結果が異なってくることも考えられる。実際、上述した Skilton ら⁹⁾の報告でも、動脈硬化の指標を頸動脈の内膜中膜肥厚におくか、頸動脈プラークにおくかによって、どの診断基準がもっとも有用であるかが異なっていた。

おわりに

人間ドック受診症例を対象に、4つの診断基準で診断されるメタボリックシンドロームについて、その頻度、頸動脈内膜中膜肥厚との関連の2点から比較検討した。男性では、メタボリックシンドロームの頻度は、NCEP-ATP III<modified NCEP-ATP III<Japan<IDF の順であり、頸動脈肥厚との関連の強さは、IDF<Japan<modified NCEP-ATP III<NCEP-ATP IIIと、その逆の

順であることが明らかになった。男性では、どの基準を使用するかは、どの程度症例を絞り込むか、という点で異なっているだけである、と考えることもできるだろう。一方女性では、メタボリックシンドロームの頻度はJapan<IDF<modified NCEP-ATP III≒NCEP-ATP IIIであるが、メタボリックシンドロームと診断される頻度が、4つの基準中で最も少なかったわが国の基準は、メタボリックシンドロームと診断される頻度が多かったIDF 基準と比較して、頸動脈内膜中膜肥厚との関連が強いとは結論づけられなかった。

どの基準がもっとも早期動脈硬化病変の危険因子として優れているかは、人種、性別、対象集団によって異なると考えられる。しかしながら実際問題としては、健診や医療機関の受診者にとっては、対象集団によってメタボリックシンドロームの診断基準が違っている、煩雑であるだけでなく、インパクトにかけるようにも思われる。学術的な興味はあるものの、そのような情報を記憶しておくことは実際的ではないだろう。一方で、「メタボリックシンドロームの診断に用いられているコンポーネントをいくつ有しているか」、ということは、より簡単に判断に迷いが生じにくいと考えられるが、それでも充分有用性のある尺度である⁹⁾ことも忘れてはならないだろう。



文 献

- 1) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: *JAMA* 285: 2486, 2001
- 2) Ishizaka N *et al*: *Atherosclerosis* 181: 381, 2005
- 3) Matsuzawa Y: *J Jpn Soc Int Med* 94: 188, 2005
- 4) International Diabetes Federation, <http://www.idf.org/home>. 2005
- 5) Alberti KG *et al*: *Lancet* 366: 1059, 2005
- 6) Skilton MR *et al*: *Atherosclerosis* 190: 416, 2007
- 7) Miyaki K *et al*: *J Occup Health* 48: 134, 2006
- 8) Ishizaka N *et al*: *Atherosclerosis*, 2007 (in press)
- 9) Azevedo A *et al*: *BMC Cardiovascular Disorders* 7: 17, 2007

肥満がひき起こす メタボリックシンドローム

石坂 信和

厚生労働省が予防医学の観点からわが国の健康政策に導入し、「腹囲」というきわめてシンプルな診断基準と相まって、またたくまに国民に認知された“メタボリックシンドローム”。ここでは、「メタボリックシンドロームとは何か」という基本を、基礎研究の蓄積により明らかにされつつあるメカニズムを中心に紹介しよう。

はじめに

脂肪組織は、単にエネルギーを貯蔵する臓器ではなく、さまざまな生理活性ペプチドを分泌する臓器であることが明らかになってきた(図1)。これらの生理活性物質はアディポサイトカイン(アディポカイン)とよばれる。アディポサイトカインにはアディポネクチン、レプチンなどのように脂肪細胞特異的に産生されるもの、腫瘍壊死因子 α (TNF- α)、MCP-1などのように、脂肪細胞特異的ではないが、脂肪細胞においても産生されるものが含まれる。肥満、つまり脂肪細胞の肥大化は、脂肪細胞からのアディポカインの分泌パターンに変化を与え、メタボリックシンドロームの発症に関与することが明らかになってきた。これは、「肥満がメタボ

リックシンドロームをひき起こすメカニズム」として注目されている。

メタボリックシンドロームとは?

—その疾患概念—

脂肪組織は、おもに皮下(皮下脂肪)や腹部の内臓周囲(内臓脂肪)に存在する。内臓脂肪の肥大化は、インスリン抵抗性を著しく増強することが明らかになってきた。インスリン抵抗性とは、インスリンが、場合によっては過剰に存在するにもかかわらず、その作用が障害されることにより、肝臓や骨格筋における糖の取込みがうまくいかず、血糖を十分に低下させることができない状態である。メタボリックシ

サイトカイン

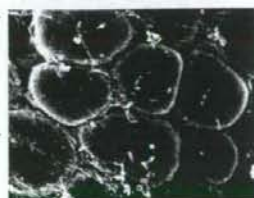
TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1

補体

アディプシン, 補体B, ASP

酵素

P450アロマトラーゼ,
17 β HSD,
17 β HSD1, PAI-1, LPL,
CTEP, ACE



脂肪組織

ホルモン

レプチン, レジスチン, アディポネクチン,
アンジオテンシノーゲン

プロスタサイクリン

PGE₂

成長因子

VEGF, HGF

図1 脂肪細胞はさまざまなアディポサイトカインを分泌している [A. Pietroほか, *Diabetes*, 54, 917 (2005) より改変して引用]

ドローームは、内臓脂肪の肥大化などによってもたらされるインスリン抵抗性を基盤にして発症すると考えられている病態で、高血圧、高血糖、脂質異常のすべて、あるいはいくつかが集積している状態である。

欧米諸国のみならず、わが国においても、メタボリックシンドロームの増加が社会問題として顕在化している。この状況をうけ、2005年に8学会（日本肥満学会、日本動脈硬化学会、日本糖尿病学会、日本高血圧学会、日本循環器学会、日本腎臓病学会、日本血栓止血学会、日本内科学会）が合同で、わが国におけるメタボリックシンドロームの診断基準を作成した。この基準では、腹囲が男性で85 cm、女性で90 cmを超えることがメタボリックシンドローム診断の必須条件となっているため、「お腹がでていること＝メタボリックシンドローム」であるかのような誤解もあるようである。腹囲は内臓脂肪蓄積の目安であるので、たしかに「お腹がでていること」はメタボリックシンドローム発症の重要な背景因子であるということではある。海外のメタボリックシンドローム

の診断基準では、腹囲基準合致が必須条件でないものもある（図2）。

メタボリックシンドロームの診断基準をみると、血圧や血糖値などの、動脈硬化の主要な危険因子が、その構成要素に含まれていることがわかる。メタボリックシンドロームが存在すると、脳血管障害や心筋梗塞のリスクが上昇する所以である。どの基準においても「善玉コレステロール（HDLコレステロール）の低下」は、診断の構成要素に入っている。一方、確立された動脈硬化の危険因子である「悪玉コレステロール（LDLコレステロール）の上昇」は、インスリン抵抗性との関連が弱いため、メタボリックシンドロームの構成要素には含まれていない。

メタボリックシンドロームという名称は1999年にWHO（世界保健機関）により提唱された。一方、高血圧、高血糖、脂質異常がクラスターを形成して発症することは、1990年以前から知られており、死の四重奏、シンドロームX、インスリン抵抗性症候群などとよばれていた。20年くらい前か

	WHO (1999年)	米国(NCEP ATPⅢ) (2001年, 2004年改訂)	国際糖尿病連盟(IDF) (2005年, 2007年改訂)	日本 (2005年)
肥満	ウエスト/ヒップ比>0.90(男) ウエスト/ヒップ比>0.85(女) and/or BMI>30 kg/m ²	以下の五つの項目のうち から三つ以上	腹囲≥90 cm(男) 腹囲≥80 cm(女) *日本人向け基準値 に加えて以下の二つ以上	腹囲≥85 cm(男) 腹囲≥90 cm(女) に加えて以下の二つ以上
脂質	中性脂肪≥150 mg/dL and/or HDL-C<35 mg/dL(男) HDL-C<39 mg/dL(女)	中性脂肪≥150 mg/dL HDL-C<40 mg/dL(男性) HDL-C<50 mg/dL(女性)	中性脂肪≥150 mg/dL and/or中性脂肪低下薬使用 HDL-C<40 mg/dL(男) HDL-C<50 mg/dL(女) and/or HDL-C改善薬使用	中性脂肪≥150 mg/dL and/or HDL-C<40 mg/dL
血圧	血圧≥140/90 mmHg	血圧≥130/85 mmHg and/or降圧剤使用	血圧≥130/85 mmHg and/or降圧剤使用	血圧≥130/85 mmHg
糖	糖尿病, IFG, or IGT	食前血糖≥100 mg/dL	食前血糖≥100 mg/dL	食前血糖≥110 mg/dL
その他	微量アルブミン尿			

IFGは空腹時血糖異常、IGTは耐糖能異常（上昇した血糖値を正常値に戻せない、糖負荷試験の2時間値の血糖が140 mg/dLから200 mg/dLの間に上昇している状態）。BMIは体重と身長から算出した肥満の指標で、[体重(kg)]/[身長(m)]²で表される。日本肥満学会で定められた標準値は22 (kg/m²)、25以上が肥満、18以下がやせ。

図2 メタボリックシンドロームの診断基準

らメタボリックシンドロームに相当する病態は、臨床的には知られていたわけである。メタボリックシンドロームの個々の構成要素は、動脈硬化の危険因子として確立しており、また、降圧剤や抗糖尿病薬などによる治療はメタボリックシンドロームの有無と関係なく行われることから、メタボリックシンドロームを、わざわざ新たな疾患概念として提唱する必要性を疑問視する意見もある(文献1)。メタボリックシンドロームというのは単一の疾患概念としてではなく、一連の病態を表している概念ととらえるべきであろう。

近年、肥満やメタボリックシンドロームが改めて注目されているもう一つの理由として、冒頭でも述べたように、精力的な基礎研究により、新たなアディポサイトカイン、およびその受容体が発見され、シグナルトランスダクション(情報伝達)が明らかになり、新しいアプローチの可能性が見えてきたことも背景にあるといえる。

肥満とメタボリックシンドロームをむすぶ 「アディポサイトカイン」

肥満は、脂肪細胞の肥大によって生じる。肥満はインスリ

ン抵抗性を増悪させ、糖尿病や高血圧、メタボリックシンドロームを惹起することは臨床的によく知られている。脂肪細胞からは、さまざまなアディポサイトカインが分泌されているが(図3)、その中にはメタボリックシンドロームを抑制する方向に働く「善玉」アディポサイトカインと、メタボリックシンドロームを促進する方向に働く「悪玉」アディポサイトカインが存在する。「善玉」アディポサイトカインとしては、アディポネクチンやレブチンなどが、また「悪玉」アディポサイトカインとしては、TNF- α やMCP-1などがあげられる(表1)。

肥満のときに増加する、肥大化脂肪細胞は、非肥満の場合の小型脂肪細胞とは「善玉」アディポサイトカインの分泌パターンが異なることが明らかになってきており、このことが肥満とメタボリックシンドロームを結ぶメカニズムであると考えられている(図3)。すなわち、非肥満脂肪細胞では、「善玉」アディポサイトカインを多く分泌しているが、肥大化脂肪細胞では「善玉」アディポサイトカインの分泌は低下し、「悪玉」アディポサイトカインの分泌が増加する、というパターンに陥っている(文献10)。

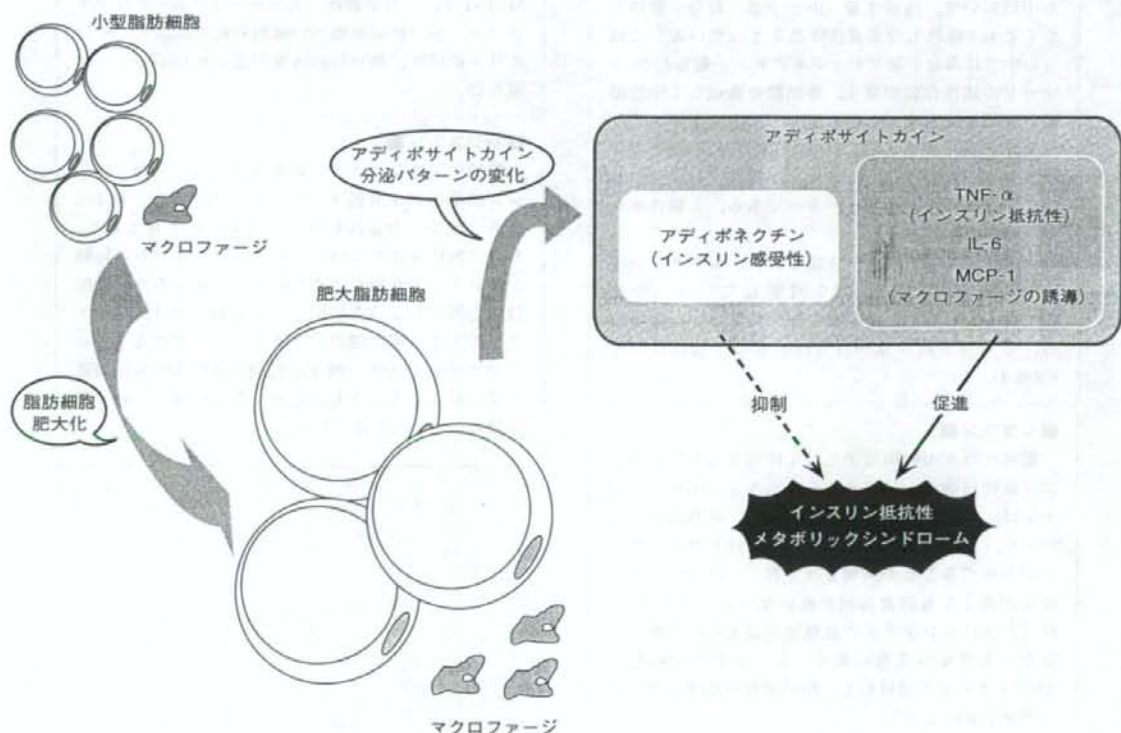


図3 脂肪細胞の肥大化とアディポサイトカイン

表1 アディポサイトカイン

善玉アディポサイトカイン (インスリン抵抗性を改善する方向にはたらく)	悪玉アディポサイトカイン (インスリン抵抗性を増悪する方向にはたらく)
<p>■アディポネクチン■</p> <p>アディポネクチンは、脂肪細胞に特異的に発現しているペプチドである。アディポネクチンは5~10 μg/mLの高い濃度で血中に存在しているが、肥満や内臓脂肪増加で減少する。アディポネクチンの分泌低下は、インスリン抵抗性を増悪し、逆に、アディポネクチンの投与はインスリン感受性を回復する。臨床でも使用されている、チアゾリジン薬は、インスリン抵抗性を改善する薬剤であるが、同薬剤のインスリン抵抗性改善作用の一部は、アディポネクチン分泌亢進を介したものである可能性がある。</p> <p>血中アディポネクチンが低値となる一塩基多型(SNP)の保持者においてインスリン抵抗性が亢進していたことも、アディポネクチンがインスリン抵抗性のコントロールに重要な働きをしていることを支持している(文献2)。また、メタボリックシンドロームを増加させる喫煙は、アディポネクチンを低下させることも知られている。アディポネクチンは血中において、高分子量、中分子量、低分子量の少なくとも3種以上の多量体構造をとっている。これらの中では高分子量アディポネクチンが最もAMPキナーゼの活性化能が高く、脂肪酸を酸化して中性脂肪の蓄積を減らす。血中の総アディポネクチンよりも高分子量アディポネクチン比(高分子量/総アディポネクチン)の方が、インスリン抵抗性の予測においてより優れたバイオマーカーである、と報告されている(文献3)。</p> <p>山内敏正らは7回膜貫通型のアディポネクチン受容体 AdipoR1, AdipoR2を同定している。今後 AdipoR1 もしくは AdipoR2 欠損動物を用いた解析から、さらなる新発見が得られるものと期待される(文献4)。</p>	<p>■TNF-α■</p> <p>肥満化脂肪細胞から分泌される遊離脂肪酸がマクロファージからのTNF-α分泌を促進すると考えられている。TNF-αは、インスリン抵抗性を惹起するサイトカインである。マクロファージからのTNF-αが、脂肪細胞からのMCP-1(下記参照)の分泌を促進し、これにより、さらにマクロファージの脂肪組織への遊走が促進されるという、悪循環が存在する可能性も提唱されている(文献5)。TNF-αは脂肪組織においても発現、分泌されている。</p> <p>■MCP-1■</p> <p>肥満の初期から脂肪組織では、MCP-1の発現が亢進している。MCP-1には、マクロファージ誘導作用がある。脂肪組織特異的に、MCP-1を過剰発現させると、脂肪組織におけるマクロファージが増加し、TNF-α、IL-6の発現が亢進し、耐糖能低下、インスリン抵抗性亢進が認められた(文献6)。逆に、MCP-1や、その受容体の欠損マウスにおいてはマクロファージの脂肪組織への浸潤の低下に加え、インスリン抵抗性、脂肪肝の改善が認められている(文献7,8)。</p>
<p>■レプチン■</p> <p>肥満マウスの原因分子として同定されたレプチンは、脂肪組織から分泌されるホルモンである。レプチンは、おもに視床下部に働きかけ、摂食抑制にはたらく。しかし、臨床的に肥満者ではレプチン抵抗性が存在することが提唱されており、血中レプチン濃度が高くても摂食抑制が働かないケースもある。肝臓におけるレプチンの過剰発現は著しいやせとインスリン感受性亢進に働く。レプチンも骨格筋でAMPキナーゼを活性化し、脂肪酸酸化促進が生じることが示されている。</p>	<p>■レジスチン■</p> <p>肥満によりレジスチンの発現は亢進し、チアゾリジン誘導体により低下する。レジスチンは、約100アミノ酸からなる比較的小さなタンパク質であり、おもに脂肪組織で発現している。レジスチンの抑制がインスリン作用を改善し、レジスチンの投与は耐糖能を低下する(文献9)。ヒトにおいては、レジスチンの主たる産生臓器はマクロファージであり、ヒトの血中レジスチン濃度が肥満や2型糖尿病に関連していたという報告もあるが、その役割は、いまだ議論のあるところでもある。</p>