

200904005A (1/2)

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業

(国際医学協力研究事業)

肥満関連疾患のアジアと米国における遺伝疫学的検討と

その対策に関する研究 (H21-国医一指定-005)

平成 21 年度 総括・分担研究報告書(1/2)

研究代表者 川上 正舒

平成 22 年(2010)年 5 月

目次

I. 総括研究報告

肥満関連疾患のアジアと米国における遺伝疫学的検討とその対策に関する研究 川上正舒	・・・1
---	------

II. 分担研究報告

1. 遺伝子導入脂肪細胞移植による糖尿病など代謝疾患新規治療法の開発 武城英明・齋藤康	・・・8
2. 内臓脂肪とアディポネクチンに関する研究 松澤佑次	・・・11
3. メタボリックシンドローム克服の臨床介入研究 渡邊昌	・・・13
4. 非糖尿病高齢者の糖代謝に及ぼす腹部脂肪の影響に関する研究 大内尉義	・・・16
5. 日本人における糖尿病・肥満関連消化管因子の疫学的検討 稲垣暢也	・・・22
6. ベトナム人糖尿病患者の食後血糖値に及ぼす米類の比較検討 山本茂	・・・25
7. 臓器脂質の質的相違がメタボリックシンドロームに与える影響に関する基礎的研究 島野仁	・・・28
8. 脂肪組織リモデリングの分子機構に関する研究 小川佳宏	・・・33
9. 初期動脈硬化病変の進展におよぼす男女差の研究 山下静也	・・・35
10. メタボリックシンドロームの研究調査 船橋徹	・・・37
11. 日本人におけるnon-HDL cholesterolと脳卒中の関係について：JMSコホート研究 石川鎮清	・・・38
12. 脂肪細胞の増殖機構に関する研究 阪上浩	・・・42
13. 骨格筋細胞内脂質蓄積に関する研究 田村好史	・・・44
14. ベトナムにおける過体重・肥満に関する研究 上羽洋人	・・・45
15. 膵β細胞増加作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパクIBCAPトランスジェニックマウス 豊島秀男	・・・47
16. ベトナムにおける糖尿病の現状に関する研究 河野幹彦	・・・51

III. 研究成果の刊行に関する一覧表（別冊）

IV. 研究成果の刊行物・別刷（別冊）

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金
(地球規模保健課題推進研究事業 (国際医学協力研究事業))
総括研究報告書

肥満関連疾患のアジアと米国における遺伝疫学的検討とその対策に関する研究

研究代表者 川上 正舒 自治医科大学総合医学第一講座 教授

研究要旨 本研究は、日本、米国および東南アジア諸国における栄養代謝に関わる諸問題について調査研究し、様々な問題の解決についての方策を立てることを目的とする。本年度は 11 月の 3 日間、アメリカのバトンルーージュ市において日米越の研究者による本パネル年次シンポジウムが開催され、肥満関連疾患の基礎と臨床の進歩と各地域の問題点などが検討された。国内では、ベトナム人糖尿病患者の食後血糖値に及ぼす米穀類の比較検討、日本人健常者におけるインクレチン分泌の検討、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 発症におけるアディポネクチンの意義、臓器脂質の質的相違のメタボリックシンドローム (MS) に与える影響、アディポネクチンと肥満関連指数との関係、日本人における non-HDL cholesterol と脳卒中との関係、骨格筋細胞内脂質蓄積に関する研究、非糖尿病高齢者の糖代謝に及ぼす腹部脂肪の影響、初期動脈硬化病変の進展に及ぼす男女差の研究、脂肪組織リモデリングの分子機構に関する研究、脂肪細胞の増殖機構に関する研究、MS 克服の臨床介入研究、遺伝子導入脂肪細胞移植による糖尿病など代謝疾患新規治療法の開発、膵 β 細胞増加作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパク IBCAP トランスジェニックマウスの解析、などの研究を行った。その結果、ベトナムでは肥満関連疾患が増加していること、ベトナム人では白米で血糖が上昇しやすいこと、日本人では糖負荷後の GIP と GLP-1 の分泌は異なる因子で規定されている可能性があること、アディポネクチン欠乏が NASH 発症に関与している可能性があること、肝臓の長鎖脂肪酸の組成の違いがインスリン抵抗性や NASH に影響を与えること、内臓脂肪量の変化とアディポネクチン濃度の変化が負の相関を示すこと、低 non-HDL-C が脳出血と関係していること、骨格筋細胞内脂質が増加しやすい人はインスリン感受性が低下しやすいこと、高齢者においては脂肪蓄積と糖代謝異常に男女差があること、動脈硬化性疾患の一次予防には男女差を考慮する必要があること、マクロファージには飽和脂肪酸により誘導される転写抑制因子があること、肥満脂肪組織では Cdk2 が活性化し、その阻害薬に抗肥満・抗糖尿病効果があること、MS 克服のための介入試験では認知行動変容療法を適用した介入群で成績が良いこと、遺伝子導入脂肪細胞移植が糖尿病などの代謝性疾患の治療に応用できる可能性があること、消化管特異的分泌タンパク IBCAP が糖尿病治療薬になる可能性があること、などが報告された。また、ベトナムにおける MS 介入試験やベトナム人血液検体データの解析が進行中である。

研究分担者

齋藤康 (千葉大学学長)、松澤佑次 (財団法人住友病院病院長)、渡邊 昌 (国立健康・栄養研究所客員研究員)、大内尉義 (東京大学教授)、稲垣暢也 (京都大学教授)、武城英明 (千葉大学教授)、山本 茂 (お茶の水女子大学教授)、島野仁 (筑波大学教授)、小川佳宏 (東京医科歯科大

学教授)、山下静也 (大阪大学准教授)、船橋 徹 (大阪大学准教授)、石川鎮清 (自治医科大学准教授)、阪上 浩 (徳島大学准教授)、田村好史 (順天堂大学准教授)、豊島秀男 (自治医科大学准教授)、上羽洋人 (自治医科大学講師)、河野幹彦 (自治医科大学教授)

A. 研究目的

本研究事業は、1966年に発足した日米医学協力計画事業の1つとして、東南アジア諸国における栄養代謝に関わる調査研究を目的に設立され、1990年代から東南アジア諸国においても急増している肥満関連疾患や動脈硬化性疾患など過栄養を起因とする病態を含めた栄養代謝に関する諸問題を研究対象としている。栄養代謝に関わる諸問題は、食習慣などの生活習慣や経済的背景などを把握し、各地域の特徴に沿った対策を確立する必要がある。ベトナムの厚生省、政府研究機関および医科大学と20年以上にわたる疫学的共同研究を通して太いパイプを構築できたことから、本研究で計画している遺伝子解析を含む現地での研究機関の積極的な協力が可能となった。また、2008年10月にホーチミン市とハノイ市で開催したメタボリックシンドローム(MS)に関する日米越合同シンポジウムはベトナムの研究者、政府関係者、市民に対して大きな影響を与えたのは本研究事業の大きな成果と言える。また、申請者はベトナム人留学生を大学院生や研究生として受け入れ、既に5名が日本の医学博士や家政学博士を取得し、ベトナム国立栄養研究所やホーチミン栄養センターの要職を得て活動し本研究の円滑な遂行に貢献している。本年度は肥満関連疾患のアジアと米国における発症機序の解明とその健康対策への提言を目的として研究を行った。

B. 研究方法

栄養疫学的調査研究および臨床病態学的研究を中心として行い、これに分子遺伝学、細胞生物学的手法による検討を加え、多施設による分担で行った。本年度に行われた研究については研究結果として記載する。

(倫理面への配慮)

本研究における倫理面に対する配慮は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成16年文部科学省・厚生労働省告示第1号)、

疫学研究に関する倫理指針(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)、臨床研究に関する倫理指針(平成16年厚生労働省告示第459号)を遵守し、主任および分担研究者所属各施設の倫理委員会で承認された倫理規定を遵守するとともに、あらかじめ当該研究機関の長等への承認、届出、確認のもとに行われた。ベトナムにおいては国の基準を留意した当該研究施設の倫理規定を遵守した。

C. 研究結果

1) ベトナムにおけるMSと糖尿病の疫学研究

(1) ベトナムにおける糖尿病の現状に関する研究

2008年にホーチミン市在住の30-70歳の1,475名において糖尿病罹患率、MS有病率、糖尿病合併症罹患率について調査し、以前の疫学調査と比較検討した。ベトナム都市部における糖尿病罹患率は、1990年代早期にはハノイ市やフエ市では1%、ホーチミン市では2.52%であったが、2002年の全国調査における30-64歳の糖尿病罹患率は全体では2.7%で大都市部で4.4%、大都市部の耐糖能異常(IGT)は7.3%であった。今回の2008年のホーチミン市在住の30-70歳の1,475名における調査では、糖尿病罹患率は7%(都市圏>周辺地域、男性>女性)、空腹時高血糖(IFG)は16.4%、耐糖能異常(IGT)は10.7%と著明に増加し、MSは17%であることが明らかとなった。また、新たに診断された糖尿病患者92名の42%に微量アルブミン尿を、9.8%に顕性蛋白尿を、21.7%に末梢神経障害を、17.4%に網膜症を認めた(河野、豊島論文)。

(2) ベトナムにおける過体重・肥満に関する研究

2005年にベトナムの8地域64州において25-64歳の17,213名を対象として過体重・肥満などに関する疫学調査を行った。BMI23以上は16.3%で、年齢とともに増加し、女性に多いこ

とが明らかとなった。また、肥満は都市部住民の32.5%で、周辺地域住民の13.8%で認められた。腹部肥満の頻度は39.8%で男女とも年齢とともに増加した。小児の過体重および肥満の頻度は5歳以下では全体で4.1%（都市部>周辺部）で1995年に比し約3.5倍増加し、学童児においてはホーチミン市で約22.7%と1997年の約2倍増加した。MSは13.8%（女性>男性、都市部>、周辺部）で、年齢とともに増加した。これらの原因として、動物性食品過剰摂取や身体活動量低下などが考えられた。糖尿病の頻度は7.2%（1990年1.2%）、高血圧の頻度は29.5%（1992年11.7%）、高TG血症の頻度は30.2%、低HDL-C血症は52.5%であった。また、女性の20.9%に慢性エネルギー摂取不足（BMI<18.5）が認められた（1987年35.1%）（河野、上羽論文）。

2) ベトナム人糖尿病患者の食後血糖値に及ぼす米穀類の比較検討

25名のベトナム人糖尿病女性において、白米、玄米、発芽玄米の食後血糖値に及ぼす影響を比較検討した。対象者の平均年齢は55.2歳、平均BMIは23.3であった。対象者を8人、8人、9人の3群に分け、一週間のウォッシュアウト期間を挟むクロスオーバーデザインとし、米として3種類の180gの市販レトルトパックの白米、玄米および発芽玄米を朝食として与えた。タンパク質：脂質：炭水化物のエネルギー比率（PFC比率）はベトナムで一般的な15：15：70とし、15分以内に完食してもらい、摂取直前と食後は30分ごとに180分まで採血し変化曲線下の面積（AUC）を計算した。

AUCは玄米あるいは発芽玄米で白米よりも低く、白米を玄米あるいは発芽玄米に置き換えることで血糖値の上昇を抑制できることが示唆された。（山本論文）。

3) 日本人健常者におけるインクレチン分泌の

検討

日本人健常者17人を対象に75g経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）を施行し、負荷前後の各時間における総GIP濃度、総GLP-1濃度、血糖値（PG）、C-ペプチド（CPR）、グルカゴン値（Glc）、遊離脂肪酸濃度（FFA）、中性脂肪濃度（TG）を測定し、GIP濃度、GLP-1濃度のOGTT負荷後の曲線下面積（AUC）とBMIやPG、IRI、Glc、FFA、TGのOGTT負荷後AUCとの相関、インスリン分泌能（Insulinogenic index：II、HOMA β -cell）とインスリン感受性（HOMA-IR、ISI composite）について評価した。

OGTTの結果、被験者は全員正常耐糖能を有していた。糖負荷後の総GIP濃度、総GLP-1濃度、活性型GLP-1濃度はいずれも負荷前に比して有意な上昇を認めた。総GIP濃度のAUCは血糖値のAUCとは相関を認めなかったが、BMIおよびCPR、グルカゴン値のAUCと正の相関を認めた。一方、総GLP-1濃度のAUCは血糖値のAUCと負の相関を認めたが、その他の因子とは相関を認めなかった。また、総GIP濃度のAUCはII及びHOMA-IRと正の相関を、総GLP-1濃度のAUCはHOMA β -cellと正の相関を示した。ステップワイズの重回帰分析では、4つの指標の中で総GIPのAUCはIIと、総GLP-1濃度のAUCはHOMA β -cellと最も強い相関を示した（稲垣論文）。

4) 内臓脂肪とアディポネクチンに関する研究：非アルコール性脂肪肝炎（NASH）発症におけるアディポネクチンの意義

線維化肝臓を作成するためコントロール（WT）マウスおよびアディポネクチンKO（ADNKO）マウスに四塩化炭素を週に2回、300 μ Lまたは1000 μ L/kgを12週間投与した。また、アデノウイルスアディポネクチン（AdADN）を投与したグループとコントロールにコーンオイルを投与した群に分けアディポネクチンの抗線維化作用を検討した。さらに、アディポネクチンの抗線維化、抗炎症作用のメ

カニズムをマウス星細胞の増殖反応と星細胞における線維化関連分子の発現で検討した。

四塩化炭素投与により WT マウスにおいては小葉中心静脈周囲に軽度の線維化を観察したが、ADNKO マウスにおいては著しい肝線維化が観察された。この線維化は AdADN を導入することによってほぼ完全に防止された。線維化に関連する TGF β 1 の発現は四塩化炭素投与でいずれの群でも増強したが、ADNKO マウスでは著明に増強していた。しかし、AdADN 投与した ADNKO マウスでは発現が抑制された。さらにアディポネクチン投与によって星細胞の増殖は抑制された。

コリン欠乏食投与による肝線維化に対するアディポネクチン欠損の影響を検討すると、24 週間後には WT マウスでは軽度の線維化のみであったが、ADNKO マウスにおいては 14 匹中 6 匹に肝臓腫瘍が発生した (松澤論文)。

5) 臓器脂質の質的相違が MS に与える影響に関する研究

SREBP の標的遺伝子解析からクローニングした脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスを作成して、肥満やインスリン抵抗性のモデルである高脂肪食負荷実験を、また遺伝性レプチン欠損 ob/ob マウスとの交配マウスにより Elovl6 の変動による肥満、糖代謝、インスリン感受性、脂肪肝、肝障害への影響を検討した。

Elovl6 欠損マウスにおける高脂肪食負荷実験、および遺伝性レプチン欠損 ob/ob マウスとの交配マウスでは、肥満、脂肪肝は改善しなかったが、耐糖能異常、インスリン抵抗性は改善ないし正常化した。アデノウイルスを使って Elovl6 を過剰発現させ肝脂肪酸組成を変動させたところ、脂質蓄積は軽度にも関わらず著明な肝障害をきたし、炎症細胞浸潤や線維化、酸化ストレスなど非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) や NASH の病態が観察された。逆に、高脂肪高シヨ糖高コレステロール食を投与して NASH、NAFLD を疑

似作成する実験では正常マウスに比し Elovl6 欠損マウスでは、炎症細胞浸潤や線維化、酸化ストレスなどが軽減していた。これらの結果から、Elovl6 に伴う肝脂肪酸の組成変化が NASH や NAFLD の病態に関連することが示唆された (島野論文)。

6) アディポネクチンと肥満関連指数との関係

アディポネクチンと肥満関連指数との関係を明らかにするために、2004~2005 年の健診を受診し同意が得られた一般集団で、高血圧・糖尿病・脂質異常症の内服加療を受けていない 2,024 人 (男性 1,619 人、女性 405 人) を対象に、1 年間の BMI、腹囲径 (WC)、推定内臓脂肪面積 (eVFA)、血中アディポネクチン (APN) 濃度の変動 (それぞれ、 Δ BMI、 Δ WC、 Δ eVFA、 Δ APN) を測定し、 Δ APN との関連を検討した。

Δ APN は、男女とも Δ BMI と (男性; $r=-0.256$, $p<0.0001$ 、女性; $r=-0.223$, $p<0.0001$) と、男性のみで Δ WC ($r=-0.191$, $p<0.0001$) と、男女ともに Δ eVFA (男性; $r=-0.189$, $p<0.0001$ 、女性; $r=-0.121$, $p=0.015$) と負の相関を示した (船橋論文)。

7) 日本人における non-HDL cholesterol と脳卒中との関係: JMS コホート研究

1992 年に開始した全国 12 地区からなる JMS コホート研究の全対象者 12,490 人のうち追跡調査への同意があり、追跡調査ができ、脳卒中の既往がなく、non-HDL cholesterol

(non-HDL-C) のデータがある 10,861 人 (男性 4,270 人、女性 6,591 人) を対象に心血管疾患危険因子について検討した。平均追跡期間は 10.7 年、平均年齢は男女とも 55.3 歳であった。non-HDL-C の 3 分位のカットオフ値は、男性では 119, 149mg/dl で、女性では 127, 158mg/dl であった。

男性では non-HDL-C の増加に伴い、年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、BMI、TC、HDL-C、

中性脂肪の平均値は増加する傾向にあった。女性では non-HDL-C の増加に伴い、年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、BMI、TC、HDL-C、中性脂肪、随時血糖値の平均値は増加する傾向にあった。

Cox's 比例ハザードモデルを用いた全脳卒中の non-HDL-C の第 1 分位を基準とした年齢調整ハザード比は、男性では第 2 分位で 1.28、第 3 分位では 1.00 で、男性の病型別では、脳出血では第 1 分位を基準として、第 2、第 3 分位はそれぞれ 0.82 (0.43-1.53)、0.32 (0.12-0.85) と低 non-HDL-C で有意に多かったが、脳梗塞では有意ではなかった。女性では全脳卒中、脳出血で第 2、第 3 分位が第 1 分位よりハザード比が低かったが、いずれも有意ではなかった (石川論文)。

8) 骨格筋細胞内脂質蓄積に関する研究

高脂肪食とインスリン抵抗性との関連を検討するため、20-30 歳の健常人 37 名を対象に基礎値、3 日間普通食とそれに引き続く 3 日間の高脂肪食を摂取させ、それぞれの食事負荷 3 日後に空腹時の条件下で、¹H-MRS により前脛骨筋、ヒラメ筋の骨格筋細胞内脂質(IMCL)を測定した。また、正常血糖クランプ検査を行い、骨格筋におけるインスリン感受性(GIR)を測定した。

3 日間の高脂肪食摂取で、ヒラメ筋および前脛骨筋における IMCL は有意に増加し、ヒラメ筋における IMCL の変化と GIR の変化に有意な負の相関を認めた。運動習慣の無い対象者においてはヒラメ筋において身体活動量と高脂肪食摂取後の骨格筋細胞内脂質の増加率に強い負の相関を認めた (田村論文)。

9) 非糖尿病高齢者の糖代謝に及ぼす腹部脂肪の影響に関する研究

老人健診および外来を受診した ADL が保たれている 65 歳以上の非糖尿病高齢者 198 例(男性 55 例 平均年齢 74.6 歳、女性 143 例 平均

年齢 74.8 歳)を対象に糖代謝に及ぼす腹部脂肪の影響を検討した。

男女における特徴では、男女の BMI 及び腹囲径に有意差は認められなかったが、内臓脂肪面積 (VFA) は男性で有意に高く、皮下脂肪面積 (SFA) は女性で有意に高かった。また、血清アディポネクチン(APN)は女性で有意に高値であった。

VFA・SFA と早朝空腹時血糖(FPG)との単相関は、男性で VFA・SFA の上昇に伴い FPG が上昇する傾向を認めたが有意ではなく、女性では VFA・SFA の上昇に伴い FPG は有意に上昇した。さらに女性における FPG を目的変数とする重回帰分析では SFA のみ有意な正の相関が認められた。

VFA・SFA と HOMA-IR との単相関は有意な正の相関が認められた。HOMA-IR を目的変数とする重回帰分析では男性で VFA のみに有意な正の相関が認められ、女性では VFA および SFA にそれぞれ有意な正の相関が認められた。

VFA・SFA と APN との単相関は、男性で VFA と負の相関を認めたが有意ではなく、SFA とは関連が認められなかった。女性では VFA・SFA と有意な負の相関を認めた。さらに APN を目的変数とする重回帰分析では、男性では年齢のみに有意な正の相関が認められ、女性では VFA のみ有意な負の相関が認められた。

FPG と HOMA-IR との単相関では、男女共に有意な正の相関が認められた。HOMA-IR と APN との単相関では、男女共に有意な正の相関が認められた。FPG と APN との単相関では、男性で関連が認められず、女性では有意な負の相関が認められた(大内論文)。

10) 初期動脈硬化病変の進展に及ぼす男女差の研究

大阪大学保健センターで健診を行った内服加療を受けていない 40-59 歳の健常男性 543 名と女性 318 名を対象に観察開始時と平均 15 ヶ月

後に頸動脈エコーを施行し、最大(Max)および平均(Mean)内膜・中膜肥厚(IMT)を評価した。

観察開始時のIMTは、女性では男性と比べ空腹時血糖、HbA1c、TCと、男性では女性と比べHDL-Cとより強く相関した。MS危険因子の集積に伴うIMTの増大は女性に強かった。また、IMTと従来の動脈硬化危険因子の相関は女性において強く、逆に炎症に関する血中IL-6とアディポネクチンレベルとの相関は男性にのみ認められた。

15ヶ月後の観察においてIMTは男女とも有意に増大し、男性が女性より増加傾向が大きかった。IMTの増加程度は、男性では高感度CRP、尿酸、TCと相関し、女性では腹囲、血圧、空腹時血糖と相関した。多変量解析では男性で高感度CRP、女性で腹囲が有意であった(山下論文)。

11) 脂肪組織リモデリングの分子機構に関する研究

肥満の脂肪組織ではマクロファージが浸潤しており、肥満の脂肪組織における炎症性変化がMSの病態に大きく関与する可能性が指摘されている。脂肪細胞とマクロファージの相互作用に着目し研究を行った。

パルミチン酸により活性化したRAW264マクロファージと遺伝性肥満*ob/ob*マウスの副辜丸周囲脂肪組織のcDNAマイクロアレイ解析により、マクロファージにおいて飽和脂肪酸で誘導される飽和脂肪酸/TLR4/NF κ B経路の負の制御因子として作用する転写制御因子転写制御因子activating transcription factor 3(ATF3)を同定した。脂肪組織におけるATF3の遺伝子発現は体脂肪量の増加に比例して増加し、特に、脂肪組織に浸潤するマクロファージにおいて強い遺伝子発現が認められた。また、TLR4欠損マウスに由来するマクロファージや阻害剤を用いた検討により、飽和脂肪酸によるATF3遺伝子発現の誘導にTLR4/NF κ B経路が

関与することが明らかになった。培養マクロファージにおいてATF3を過剰発現すると、飽和脂肪酸によるTNF α などの炎症性サイトカイン産生の著しい抑制が認められ、逆に、ATF3をノックダウンすると炎症性サイトカインが過剰に誘導された。マクロファージ特異的にATF3を過剰発現するトランスジェニックマウスでは野生型マウスと比較して、高脂肪食負荷による体重や脂肪組織重量の増加に有意差を認められなかったが、脂肪組織マクロファージの活性化はトランスジェニックマウスで有意に抑制された(小川論文)。

12) 脂肪細胞の増殖機構に関する研究

肥満進行過程における脂肪細胞増殖の意義と増殖機構への介入の可能性を検討した。

肥満モデルマウスおよび肥満ヒトの脂肪組織では細胞数の増加と増殖マーカーの発現誘導が認められた。また、Cdk2の活性化が認められた。さらに、肥満モデルマウスでCdk2阻害薬および阻害ペプチドに抗肥満効果、抗糖尿病効果が認められた(阪上論文)。

13) MS克服の臨床介入研究

BMI30以上、腹囲100cm以上のドック受診者から選んだ肥満者400名の中で「肥満克服プログラム」に参加を希望した350名を対象とし平成18年から認知行動変容療法を取り入れた臨床介入試験を開始し、21年度に3年目の追跡調査を行った。

ベースライン時の男性116名、女性119名の参加者特性は、それぞれ53 \pm 6歳と54 \pm 6歳、体重86 \pm 12kgと75 \pm 9kg、BMI30.4と31.0、内臓脂肪159cm²と130cm²、腹囲102cmと104cmであった。一年目の介入プログラムを完遂したのは男性103名、女性は107名の計210名である。ランダムに2群に分けてクロスオーバーデザイン(A群、B群)で介入した。

一年後の脱落率は5%であった。AB群を合わ

せた解析では、体重は男性では 86.4 ± 11.8 kg から 79.9 ± 10.1 kg と 6kg 減少し、女性では 75.2 ± 9.5 kg から 71.0 ± 10.3 kg と 4kg 減少した。約半数で 5% の体重減少が、約 4 分の 1 で 10% の体重減少が得られた。腹囲は男性では 101.5 ± 7.9 から 95.9 ± 8.6 cm と 5cm 減少し、女性では 103.7 ± 8.4 から 99.7 ± 9.3 cm と 4cm 減少した。

二年目の追跡ではリバウンドは平均 1~2kg でこの介入方法の優れていることが確認できた。

食事のコントロールと運動習慣によって得られた肥満解消は血圧低下効果をもっとも大きく、高血圧症、糖尿病、高 LDL 血症、低 HDL 血症の罹患率も改善した（渡邊論文）。

14) 遺伝子導入脂肪細胞移植による糖尿病など代謝疾患新規治療法の開発

糖尿病など代謝疾患を対象に患者脂肪組織由来の初代培養細胞（前脂肪細胞）に補充目的の遺伝子を導入し、これを自家移植する普遍的な遺伝子細胞治療法を樹立することを目的に、腎不全、視力障害などの合併症を引き起こす家族性レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ（LCAT）欠損症に対して長期に安定した LCAT 補充に関わる新規の治療法の開発に着手した。移植後癌化しないことを *in vitro* 及び動物実験で確認した LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞を調整し、この細胞の移植後の持続的 LCAT 産生とその機能発現解析に必要な薬効評価系及び生着率評価系を確立した。これらの結果、本研究で用いる前脂肪細胞は、①形成外科領域で安全に摘出される皮下脂肪組織から比重特性を利用して単離することが可能であること、②レトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率が高いこと、③形質転換が確認されていないこと、と優れた特性を有することが明らかになった。今後、移植細胞の製剤化を行い本治療法の安全性と有効性評価及び生着性を確証することで本治療法の臨床適用が期待できる（齊藤、武城論文）。

15) 膵β細胞増加作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパク IBCAP トランスジェニックマウスの解析

消化管ホルモンとインスリン分泌誘導および肥満との関連が示唆されていることから、消化管ホルモンは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ことを期待される。探索した新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子 CF266 {IBCAP (intestine derived beta-cell augmenting promoter)} の生理的意義を検討するため IBCAP トランスジェニックマウス (IBCAP-Tg) マウスを作成し、その耐糖能および膵臓切片を解析した。

IBCAP-Tg マウスにおける経口糖負荷試験では血糖値はコントロール群と比べて変化が無かったが、膵臓切片の病理学的検討ではラ氏島の数および面積が増加していることが明らかとなった（豊島論文）。

遺伝子導入脂肪細胞移植による糖尿病など代謝疾患新規治療法の開発

研究分担者：武城英明 千葉大学大学院医学研究院 教授

研究分担者：齋藤 康 千葉大学 学長

研究要旨 糖尿病は日本、米国に加えてアジア地域における多くの人々の生活レベルを規定する疾患であり、とりわけ地域の社会生活や経済を考慮した治療法が必要とされる。とりわけ、医療設備の充分でない地域、高齢化地域では、合併症を考慮した基礎インスリン補充の開発が求められる。そこで、糖尿病など代謝疾患を対象に患者脂肪組織由来の初代培養細胞（前脂肪細胞）に補充目的遺伝子を導入しこれを自家移植する普遍的な遺伝子細胞治療法を樹立することを目的に、本研究は、腎不全、視力障害などの合併症を引き越す家族性レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ（LCAT）欠損症における長期に安定したLCAT補充に関わる新規の治療法の開発に着手した。LCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞は、GMP製造、移植細胞の品質試験にもとづいて調整した。この細胞が移植後がん化しないことを *in vitro* 及び動物実験で確認した。移植後の持続的LCAT産生とその機能発現解析に必要な薬効評価系及び生着率評価系を確立した。実験動物を用いた移植細胞の生着率の長期検討を実施中である。これらの結果、本研究で用いる前脂肪細胞は、1）形成外科領域で安全に摘出される皮下脂肪組織から比重特性を利用して単離することが可能である、2）レトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率が高い、3）形質転換が確認されていない、という優れた特性を有することが明らかになった。病院審査委員会による臨床研究実施計画書の承認を受け厚生労働省へ本計画を申請した。今後、移植細胞の製剤化を行い本治療法の安全性と有効性評価及び生着性を確認することで本治療法の臨床適用を進める予定である。

A. 研究目的

糖尿病は日本、米国に加えてアジア地域における多くの人々の生活レベルを規定する疾患であり、とりわけ地域の社会生活や経済を考慮した治療法が必要とされる。とりわけ、医療設備の充分でない地域、高齢化地域では、合併症を考慮した基礎インスリン補充の開発が求められる。

われわれは、単離・培養及び遺伝子導入の容易さに加えて、特異的に脂肪細胞に分化しがん化などの形質転換の報告がない前脂肪細胞と、分裂細胞への遺伝子導入効率が高く、長期にわたる蛋白質発現が可能な

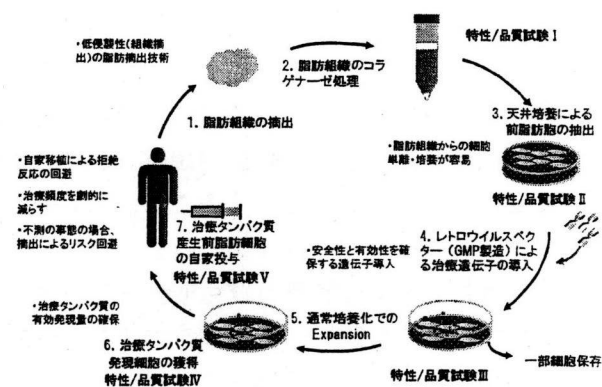


図1 脂肪細胞自己移植による新規の蛋白補充療法レトロウイルスベクターとの組み合わせに着目し、

脂肪細胞移植を用いた新規の蛋白補充技術のコンセプトを糖尿病モデルマウスとヒトインスリン遺伝子導入マウス前脂肪細胞を用いて明らかにした。本研究は、この新規技術を根本的治療法のない家族性LCAT欠損症を対象として臨床応用し新規治療法を実用化することを目的とする。

B & C. 研究方法と結果

1. 移植細胞の機能評価系の検討

1) LCAT蛋白の検出

B6マウスを用いた移植実験で採取したマウス血及び移植組織を用い、LCATの高感度免疫沈降ウェスタンブロット法(WB)、免疫蛍光染色法を確立した。

2. 移植細胞の薬効評価 (LCAT蛋白の機能発現評価)

1) LCAT活性測定法

コレステロールを含有する人工リポソームを基質とする高感度測定法を確立した。

2) コレステロールの代謝変化測定

WBを用いたヒト血清リポ蛋白プロファイルの測定法を確立した。

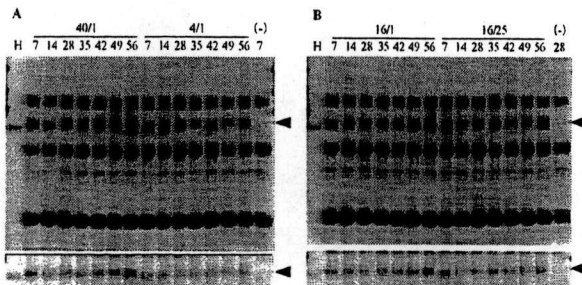


図2 LCAT遺伝子導入脂肪細胞から培養液中に分泌されるLCAT蛋白 H:HDL; Sample:培養上清30 μ L; Day 7, 14, 28, 35, 42, 49, 56 フィブリン (mg/mL)/トロンビン (U/mL); (-):細胞なし (16/1); 細胞: 1×10^7 cells/mL \rightarrow 100 μ L (1×10^6 cells/well) \blacktriangleleft :LCAT; Exposure: 上段 3 min、下段 1 min.

3) 前処置による適応能力強化の検討

移植用細胞の分化誘導処理に関しては移植実験の結果、

未分化細胞と変化が認められなかった。低酸素・低栄養処理については、細胞の事前処理が細胞のviabilityに悪い影響を与えることが分かった。

4) LCAT欠損マウスでの薬効

リポ蛋白プロファイルにおいてLCAT欠損マウス血清はヒト患者血清と同じ効果が認められず、LCAT欠損マウスは適切なモデル動物ではないと判断した。

5) 免疫不全マウスでの生着性及び安全性

フィブリノーゲン 8及び40 mg/mLでLCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞をNudeマウスに移植し、継続観察中である。

3. 家族性製LCAT欠損症患者を対象とした臨床研究

平成21年7月24日の附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を受け8月5日に厚生労働大臣官房厚生科学課へ申請書類を提出した。当局からの照会事項に対する回答書を10月21日に提出した。

(倫理面への配慮)

移植細胞の薬効薬理および生着性に関する研究は、千葉大学大学院医学研究院の規定に従い、国で定められている、ヒト生体由来細胞を用いた実験、組換え DNA 実験、動物取り扱いに関する指針に従い、千葉大学で開催される各委員会にて実験許可を受けて実施した。移植細胞の調製業務は、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」、「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」に基づく「治験薬の製造管理及び品質管理基準および治験薬の製造施設の構造設備基準(治験薬GMP)について」を満たす製造設備及び手順に遵守し製造した。臨床研究の実施に先立ち、臨床研究に関する計画書などについて、千葉大学医学部附属病院遺伝子治療審査委員会において、科学的、倫理的な観点から審議を受け、承認を受け行う。

DおよびE. 考察および結論

本研究は、根本的治療法のない家族性LCAT欠損症を対象として、遺伝子導入脂肪細胞の自己移植という新規の補充療法を世界で初めて実用化するトランスレーショナル研究である。家族性LCAT欠損症に対する食事療法及び輸血によるLCAT補充療法はいずれも効果が不十分であるとともに、遺伝子組換え型LCAT製剤の研究開発は行われていない。他の疾患治療法としてアデノウイルスベクターを用いた動物での遺伝子治療法の検討が報告されているが実用化までの課題は多い。

これらの課題を克服できる本治療法の特徴は、すでに形成外科臨床領域で行われている脂肪吸引、脂肪移植を応用して遺伝子導入脂肪細胞を製品化し、自己移植により目的蛋白を長期にわたり安定して補充するという、これまで医療経済的に蛋白補充が困難であったまれな難治性疾患に広く応用することが可能な新規技術であることである。しかしながら、自家移植した前脂肪細胞は、その生存が認められるとはいえ、移植後の減少は避けられず、治療目的に応じた移植条件の最適化検討が求められる。外来遺伝子を導入した移植細胞での治療目的蛋白質の持続的発現は動物及びヒトで一部見られているが、その安定した薬効発現のためには、*in vitro* 及び *in vivo* での多面的検討が必要である。

本研究により、LCAT搭載レトロウイルスベクター及び移植細胞のGMP製造法と品質試験法を確立した。また、*in vitro* 及び動物でのそれらの安全性を確認し、薬効評価系及び生着率評価系を確立した。今後、本治療法の実用化に必須な移植細胞の生着率向上と製剤化の検討が必要である。移植後の持続的なLCAT産生を確保するための、移植細胞の生着率向上を目的とする製剤化検討を行うとともに、臨床研究の実施準備に着手する。これらの基礎検討を実施し十分な安全性配慮と法令等遵守のもと本治療法の安全性並びに有効性評価及び生着性を検証する臨床研究を家族性LCAT欠損症患者を対象に実施する予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Matsuo, M, Ebinuma, H, Fukamachi, I, Jiang, M, Bujo, H, Saito, Y. (2009) Development of an immunoassay for the quantification of soluble LR11, a circulating marker of atherosclerosis. *Clin Chem* 55, 1801-1808.
- 2) Tashiro, J, Miyazaki, O, Nakamura, Y, Miyazaki, A, Fukamachi, I, Bujo, H, Saito, Y. (2009) Plasma pre beta1-HDL level is elevated in unstable angina pectoris. *Atherosclerosis*. 204, 595-600.
- 3) Takahashi, M, Bujo, H, Jiang, M, Noike, H, Saito, Y, Shirai K. (2010) Enhanced circulating soluble LR11 in patients with coronary organic stenosis. *Atherosclerosis*. in press.

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

分担研究報告書

内臓脂肪とアディポネクチンに関する研究

非アルコール性脂肪肝炎発症（NASH）におけるアディポネクチンの意義

研究分担者： 松澤佑次 大阪大学名誉教授 財団法人住友病院院長

研究要旨

内臓脂肪の蓄積が糖尿病、脂質異常、高血圧などの生活習慣病を発症させ、さらに最終的には動脈硬化性疾患の発症につながる事が明らかになり、メタボリックシンドロームという疾患概念が提唱されているが、そのメカニズムとして内臓脂肪蓄積によって善玉アディポサイトカインのアディポネクチンの低下が重要であることを明らかにしてきた。今年度は、内臓脂肪蓄積と関連する脂肪肝さらに現在わが国でも増加しつつある非アルコール性脂肪肝炎（NASH）発症に対する低アディポネクチン血症の意義について明らかになった事実を報告する。

A. 研究目的

メタボリックシンドローム関連の病態の中で欧米では以前より非アルコール性脂肪肝炎（NASH）が重要とされてきたが最近日本においてもウィルス性肝炎以外からの肝硬変・肝がんが増えつつある。そこでアディポネクチンの肝障害とくに肝線維化予防効果について、アディポネクチン KO マウスを用いて検討した結果を示す。

B. 研究方法

肝線維化を作成するためコントロールマウス（WT）およびアディポネクチン KO (ADNKO) マウスに四塩化炭素を週に 2 回、300 μ L または 1000 μ L/kg を 12 週間投与した。アディポネクチンの抗線維化作用を検討するためアデノウィルスアディポネクチン (AdADN) を投与したグループとコントロールにコーンオイルを投与した群にわけ線維化の程度について検討した。またアディポネクチンの抗線維化、抗炎症作用のメカニズムはマウス星細胞

の増殖反応を観察し、また星細胞における線維化関連分子の発現を観察した。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪大学倫理委員会で承認されたものである。

C. 研究結果

四塩化炭素投与によって、WT マウスにおいても小葉中心静脈周囲に軽度の線維化を観察したが、同量の四塩化炭素投与にもかかわらず ADNKO マウスにおいては著しい肝線維化が観察された。この線維化は AdADN を導入することによってほぼ完全に防止された。線維化に関連する TGF β 1 の発現は四塩化炭素投与でいずれも増強されたが、ADNKO マウスではその発現は著明に増強されていた。またそれに対して AdADN 投与したマウスでは発現抑制された。さらにアディポネクチン投与によって星細胞の増殖は抑制された。

私たちはコリン欠乏食投与による肝線維化に対するアディポネクチン欠損の影響を観察した。24週の観察で、WTマウスでは軽度の線維化が起こったのみであったがアディポネクチン KO マウスにおいて14匹中6匹に肝臓腫瘍が発生した。

D. 考察

飽食と運動不足によって内臓脂肪が蓄積し、それを基盤として糖尿病、脂質異常、高血圧が一個人に集積した病態、いわゆるメタボリックシンドロームがわが国でも予防医学の重要な課題になっているが、それとともに肝疾患の中でウイルスとは独立した原因に基づいた NASH が増えてきている。NASH ではまず肝細胞に脂肪が蓄積した状態つまり脂肪肝が基礎病変として必須であるが、そのメカニズムは蓄積した内臓脂肪から過剰に放出される遊離脂肪酸、グリセロールが門脈を介して肝臓に直接流入し、脂肪合成が過剰になることによると考えられる。しかし脂肪肝のみでは炎症や線維化は起こらないことから、脂肪の過剰合成以外のメカニズムがセカンドヒットとして必要である。本研究では内臓脂肪蓄積によるアディポサイトカインの分泌異常、とくにアディポネクチンの欠乏が炎症、線維化に重要な役割を果たすことを明らかにしたものである。今後増加していくと考えられる内臓脂肪をキープレイヤーとする病態の一つの NASH においてアディポネクチンに焦点を置いた治療・予防戦略が重要になってくるものと思われる。

E. 結論

飽食と運動不足を背景として増加しつつある NASH においてメタボリックシンドロームと同様に内臓脂肪過剰蓄積、それによるアディポネクチンの分泌低下が重要と考えられる。

F. 研究発表

1. Kamada Y, Tamura S, Matsuzawa Y et al. Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterol* 125: 1796-1807, 2003
2. Matsuzawa Y. Establishment of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin. *Proceedings of the Japan Academy: Series B* 86: 131-142 2010
3. Yamashita S, Matsuzawa Y. Where are we with probucol: A new life for an old drug? *Atherosclerosis* 207: 16-23, 2009

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業））
分担研究報告書

メタボリックシンドローム克服の臨床介入研究
研究分担者：渡邊 昌（独）国立健康・栄養研究所

研究要旨

食習慣は生活習慣病の大きな要因であり、その是正は個人的嗜好、文化的背景が複雑に影響しあっているため、専門のチームにより対策をとらないと成果をあげ難い。臨床の間では慢性疾患の管理と、急性期とくに術後は疾病により栄養不足になる場合がある。いずれにせよ、正確な栄養摂取状況の把握が栄養評価と食事指導に必要であり、そのためには栄養学的知識と実技に長けた研究者の育成が必要である。佐久肥満克服プログラム(SCOP)の3年目追跡調査を終え、課題を整理して検討した。

A. 研究目的

日本ではメタボリックシンドロームからの生活習慣病罹患を予防するために平成20年度から特定健診・特定保健指導が始められた。しかし、欧米の基準は日本人の基準とあわない面があり、かならずしも国際的な整合性があるわけではない。東アジア型、米を中心とした食べ方に、韓国、中国、東南アジアの研究者の日本への期待は非常に大きい。佐久肥満克服プログラム(SCOP)で減量対策の臨床試験をおこない、認知行動変容療法について検討を重ね、対策として実行性があるかどうかを検証する。

B. 研究方法

BMI 30以上、腹囲1m以上のドック受診者から肥満者を400名えらび、「肥満克服プログラム」に参加を希望した350人を対象者とし平成18年から認知行動変容療法をとりいれた臨床介入試験を認知行動変容療法を応用した食事と運動、本人による体重、運動記録、3カ月ごとの医師、管理栄養士、運動指導士による健診によって

おこなった。21年度は3年目の追跡調査を行った。

（倫理面への配慮）

対象者によびかけの時点でそこに至った経緯を説明し、各自に計画について十分に説明、書面による参加意思を確認した。発表形式についても説明、了承を得た。計画は国立健康・栄養研究所の倫理委員会および佐久総合病院倫理委員会の審査・承認を受けた。個人データの取り扱いについては疫学研究の倫理指針を遵守するように担当者会議で徹底を図った。臨床介入試験としてUMINに登録済みである。

C. 研究結果

ベースライン時の男性116名、女性119名の参加者特性は、それぞれ53±6歳と54±6歳、体重86±12Kgと75±9Kg、BMIは30.4と31.0、内臓脂肪は159cm²と130cm²、腹囲102cmと104cmであった。一年目の介入プログラムを完遂したものは

男性 103 名、女性は 107 名の計 210 名である。ランダムに 2 群にわけてクロスオーバーデザインで介入し、一年後の脱落率は 5 %であった。

AB 群をあわせて解析すると、体重は男性が 86.4 ± 11.8 k g から 79.9 ± 10.1 k g に 6 k g の減、女性が 75.2 ± 9.5 k g から 71.0 ± 10.3 k g と 4 k g の減であった。約半分が 5 %体重減少し、約 4 分の 1 が 10 %体重減であった。腹囲は男性が 101.5 ± 7.9 から 95.9 ± 8.6 c m に 5 c m の減、女性が 103.7 ± 8.4 から 99.7 ± 9.3 c m に 4 c m の減少であった。

二年目の追跡によってもリバウンドは平均 1.2kg でこの介入方法の優れていることが確認できた。

食事のコントロールと運動習慣によって得られた肥満解消は血圧低下効果をもっとも大きく、高血圧症、糖尿病、高 LDL 血症、低 HDL 血症の罹患率も改善した。

D. 考察

メタボリックシンドローム (MS)、糖尿病の増加にともない、将来の合併症治療まで含めると膨大な医療費が必要となる。一次予防の方法と効果を確認することは緊急の課題である。日本に急増している 2 型糖尿病の背景に MS の増加があり、内臓肥満減少が効果的予防と思われるが、糖尿病域にはいった高血糖症患者にも食事と運動による介入がどれだけ効果的かエビデンスがない。本研究により食事と運動による MS およびそれに続く糖尿病、高脂血症、高血圧を予防する要因について分析できた。認知行動変容療法を適用した介入研究は本人のやる気がベースになるので、目標を達成

したものは達成感もあり、リバウンドが少ない。また、介入過程をつうじて医療チームの意志疎通と協力体制が成功にみちびく大きな要因であることがわかった。肥満克服には本人の努力のみでは達成しずらく、社会環境全体のサポートが必要であり、そのためには用意にエネルギーのわかるフードアイコンをすべての食事や食品につけることが望ましい。

E. 結論

認知行動変容療法の効果を臨床介入研究で確かめた。管理栄養士と運動指導士をふくめた専門家グループにより食事と運動による介入を徹底しておこない、MS あるいは高血糖症等の改善効果を数量化しようという点に特色があり、今後、遺伝子解析結果も併用して生活習慣の改善にテイラーメイド栄養学あるいはテイラーメイドプレベンションの可能性を検討できる。そのためには、社会環境全体のサポートが必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Watanabe S. For tailor-made nutrition. A simple food scheme for representation of personal energy intake. *Clinical & Functional Nutriology*.2009;1(2): 106-9.

・ Watanabe S. Evaluation of Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study. *Clinical & Functional Nutriology*. 2009;1(5): 238-41.

・ Watanabe S, Melissa Melby, Naomi Aiba. Food safety and food labeling from the viewpoint of the consumers. *Asia Pacific J*

Clinical Nutrition.2009;18(4): 532-7.

• Watanabe S, Noboru M, Yasunari M, Ideura T. A cross-sectional study on the effects of long term very low protein diets in patients with Chronic Kidney Disease: serum and urine DEXA and amino acid profiles. *Anti Aging Med* 2010 (in press)

• Ishiwata N, Melby MK, Mizuno S, Watanabe S, New equol supplement for relieving menopausal symptoms: Randomized, placebo-controlled trial of Japanese women. *Menopause* 16: 141-8, 2009

• Taku K, Melby MK, Kurzer MS, Mizuno S, Watanabe S. Effects of soy isoflavone supplements on bone turnover markers in menopausal women: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Bone* (in press)

• Taku K, Melby M, Takebayashi J, Mizuno S, Ishimi Y, Omori T, Watanabe S. Effect of soy isoflavone extract supplements on bone mineral density in menopausal women: meta-analysis of randomized controlled trials. *Asia Pac J Clin Nutr* 2010; 19:1-12.

• Takezawa J, Yamada K, Morita A, Aiba N, Watanabe S. Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese: Association with diabetes mellitus in men and with metabolic syndrome parameters in women. *Obesity Res & Clin Practice*. 2009; 3:179-191.

分担研究報告書

非糖尿病高齢者の糖代謝に及ぼす腹部脂肪の影響に関する研究

研究分担者：大内尉義 東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座 教授

共同研究者：野村和至 東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座

研究要旨 目的：高齢者における内臓脂肪、皮下脂肪がどのように糖代謝に影響を及ぼしているかを明らかにするため本研究を行った。対象：老人健診を受診した ADL に問題のない 65 歳以上の非糖尿病高齢男女 198 例（男性 55 例 平均年齢 74.6 ± 7.6 歳、女性 143 例 平均年齢 74.8 ± 6.7 歳。方法：対象者は身体計測、血圧測定、空腹時採血に加え、腹部 CT（臍レベル）により内臓脂肪面積（VFA）、皮下脂肪面積（SFA）が計測された。結果：男女における特徴では、VFA は男性で有意に高く、反対に SFA は女性で有意に高かった（共に $P < 0.01$ ）。男性において VFA は空腹時血糖（FPG）、アディポネクチン（APN）とは関連がなかったが、HOMA-IR との間には有意な正の相関があり、年齢・SFA 調整後も有意な関連であった（ $P = 0.02$ ）。一方で SFA は HOMA-IR とのみ有意な正の相関が認められたが、年齢・VFA 調整後に有意差は消失した。女性においては、VFA は FPG との間には有意な正の相関が認められたが、年齢・SFA の調整後に有意差は消失した。VFA は HOMA-IR と有意な正の相関、APN と有意な負の相関が認められ、これらは年齢・SFA 調整後も有意な関連であった（共に $P < 0.01$ ）。一方で、SFA は FPG と有意な正の相関があり、年齢・VFA 調整後もこの関連が認められた（ $P = 0.01$ ）。さらに SFA は HOMA-IR と年齢・VFA 調整後も独立した有意な正の相関が認められた（ $P < 0.05$ ）。結論：非糖尿病高齢者において、男性では内臓脂肪蓄積は血糖上昇を起こすほどの影響はないが、インスリン抵抗性を増悪させていることが示唆された。一方、女性では内臓脂肪蓄積は APN 分泌低下およびインスリン抵抗性の増悪と関連していたが、同様に血糖上昇までは至らなかった。高齢女性において血糖上昇に最も影響を及ぼしていたのは皮下脂肪の蓄積であり、このことは女性における腹部脂肪分布の特徴である多量の皮下脂肪の存在に由来するものと考えられた。

A. 研究目的

現在、我が国では著しい高齢化とともに、高脂肪食や運動不足、あるいは健康寿命の延長によると考えられる高齢肥満者が特に男性において増加している。近年、一般成人を中心とした研究において内臓脂肪は様々なサイトカインを分泌・抑

制している事が明らかとなり、その分泌異常の結果として糖尿病、高血圧、脂質代謝異常などの危険因子が重複し、いわゆるメタボリックシンドロームの状態となる事が明らかとなってきた。我々は以前に、高齢男女においても、内臓脂肪の蓄積が危険因子保有数の上昇と有意な関連が認められることを報告し、その

中でも糖代謝異常と脂質異常に大きな影響を及ぼしていることを報告した。一方で、脂肪組織には内臓脂肪以外にも皮下脂肪が多く存在しており、特に女性においてはその量が男性と比べ圧倒的に多いことが知られている。しかし、高齢者においてこれら内臓脂肪と皮下脂肪がそれぞれどのように糖代謝に影響を及ぼしているかについては明らかではなく、非糖尿病高齢者におけるこれらの関連についての検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象および方法

対象は都内診療所において2005年9月から2006年8月に老人健診および外来を受診したADLが保たれている65歳以上で、糖尿病の治療歴がない高齢男女。身長、体重、座位安静による血圧測定、早朝空腹時採血、腹部CT(臍レベル)による内臓脂肪面積(VFA)、皮下脂肪面積(SFA)の計測を行い、糖尿病がなく(HbA1c<6.1、早朝空腹時血糖(FPG)<126)、さらに除外項目を満たさなかった198例(男性55例 平均年齢74.6±7.6歳、女性143例 平均年齢74.8±6.7歳)において、検討を行った。

除外項目：悪性腫瘍のもの、腸管手術の既往のあるもの、心不全のあるもの、腎不全(血清Cr \geq

1.5mg/dL)のあるもの、血清Alb \leq 3.0mg/dL、Hb \leq 10.0g/L、内分泌疾

患・ホルモン薬(ステロイドを含む)・インスリン・インスリン抵抗性改善薬・ β 遮断薬・ β 刺激薬・ α 遮断薬治療中のもの。

(倫理面への配慮) 本試験への参加については、担当医からの説明のもの、全参加者本人からの書面による同意を得て行われた。

2. データ解析

データは全て平均値 \pm SDで表した。男女2群間の比較には、Unpaired T検定を用い、各項目値の2群間には単相関による解析を行った。さらに多変量解析には重回帰分析を用いた検討を行った。またP値<1.0を傾向、P値<0.05を有意差があるとした。

C. 研究結果

男女における特徴では、男女のBMI及びW径に有意差は認められなかったが、VFAは男性で有意に高く、反対にSFAは女性で有意に高かった。また血清アディポネクチンは女性で男性よりも有意に高値であった(表1)。

VFA・SFAと早朝空腹時血糖(FPG)との単相関は、男性でVFA・SFAの上昇に伴いFPGが上昇する傾向を認めたが、有意な関連はなかった(P=0.09、P=0.07)、女性ではVFA・SFAの上昇に伴いFPGは有意に上昇した(共にP<0.01)(表2)。さらに女性におけるFPGを目的変数とする年齢・VFA・SFAによる重回帰分析ではSFAのみ有意な正の相関が認められた(P=0.01)(表3)。

VFA・SFAとHOMA-IRとの単相関は、男女共にVFA・SFAの上昇に伴いHOMA-IR

が有意に上昇した(全て $P < 0.01$) (表2)。さらにHOMA-IRを目的変数とする年齢・VFA・SFAによる重回帰分析では男性でVFAのみ有意な正の相関が認められ($P = 0.02$)、女性ではVFAおよびSFAがそれぞれ有意な正の相関が認められた(それぞれ $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$) (表3)。

VFA・SFAと血清アディポネクチン値(APN)との単相関は、男性でVFAの上昇に伴いAPNが低下する傾向を認めたが、有意な関連はなく($P = 0.05$)、SFAとは関連が認められなかった。女性ではVFA・SFAの上昇に伴いAPNは有意に低下した(共に $P < 0.01$) (表2)。さらにAPNを目的変数とする年齢・VFA・SFAによる重回帰分析では男性で年齢のみ有意な正の相関が認められ($P = 0.03$)、女性ではVFAのみ有意な負の相関が認められた($P < 0.01$) (表3)。

FPGとHOMA-IRとの単相関では、男女共に有意な正の相関が認められた(共に $P < 0.01$)。HOMA-IRとAPNとの単相関では、男女共に有意な正の相関が認められた(それぞれ $P = 0.03$ 、 $P < 0.01$)。FPGとAPNとの単相関では、男性で関連が認められず、女性では有意な負の相関が認められた($P < 0.01$) (表4)。

D. 考察

高齢男女における検討では、これまでの一般成人の報告と同様に、同じBMIにも関わらず、男性でVFAが有意に高く、女性ではSFAが有意に高く、高齢男女においても体脂肪分布が異なっていることが明らかとなった。

男性においてVFAは年齢・SFA調整後も唯一HOMA-IRと有意な正の相関が認められたことから、高齢男性においても内臓脂肪蓄積は独立してインスリン抵抗性の増悪因子となることが認められた。さらにHOMA-IRはFPGと有意な正の相関が認められたが、FPGとHOMA-IRの間には有意な相関が認められなかったことは、非糖尿病高齢男性において内臓脂肪蓄積は血糖を上昇させるほどの影響はないものの、高インスリン血症を引き起こしていることが示唆された。APNに関しては、HOMA-IRとは有意な負の相関が認められたが、VFAとの間には有意な関連性が認められず、VFA・SFA調整後も年齢との間に有意な正の相関が認められたことは、高齢男性のAPNは加齢などの内臓脂肪蓄積以外の因子に影響を受けてはいるが、インスリン抵抗性を引き起こす要因の一つとなることが考えられた。一方でSFAはHOMA-IRとのみ有意な正の相関が認められたが、FPGやAPNとの関連は認められず、年齢・VFA調整後にはその関連も有意差が認められなかったことより、高齢男性における皮下脂肪蓄積は糖代謝への影響は少ないと考えられた(図1)。

女性においては、VFAはHOMA-IRと有意な正の相関、APNと有意な負の相関が認められ、これらは年齢・SFA調整後も有意な関連であった。さらにHOMA-IRとAPNの間にも有意な負の相関が認められたことから、高齢女性の内臓脂肪蓄積がAPNなどのアディポサイトカインと関連し、インスリン抵抗性を引き起こしていることが示唆された。VFAとFPGの間には有意な正の相関が認められたが、年齢・SFA