

田健次、熊田博光、HCV core 領 aa70 アミノ酸置換の意義、第 45 回日本肝臓学会総会、東京、2009. 6

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

C型肝炎ウイルス持続感染における動脈硬化病変に対する脂質降下剤の影響に関する研究

研究分担者 林 純 九州大学大学院感染環境医学、九州大学病院総合診療科、教授

研究要旨： 基礎医学および臨床疫学研究において、様々な持続感染症がアテローム性動脈硬化症の発現と進展に関連することが報告されている。私どもは、肺炎クラミジア（肺炎クラミドフィラ）感染が頸動脈アテローム性動脈硬化症に対する脂質降下剤の効果を減弱させることをすでに報告した。今回、C型肝炎ウイルス（HCV）持続感染において頸動脈硬化症への脂質降下剤の影響について調査した。対象は、165例の無症候性血清脂質異常症患者で、脂質降下剤のプロブコール（500mg/日、82例）またはプラバスタチン（10mg/日、83例）の内服治療の2群に無作為割付けし2年間の観察を行った。観察終了時の頸動脈超音波の頸動脈内膜中膜複合体厚（IMT）の改善を主要エンドポイントとした。HCV抗体およびHCV RNAを測定した。HCV感染例（25例）の最大IMT改善率は-0.3%で有意な改善はなかったが、非HCV感染（140例）の最大IMT改善率は-10.9%で有意な改善を認めた。血清総コレステロール値および血清LDLコレステロール値の改善はHCV感染および非感染例ともに認め、プロブコールとプラバスタチン群間に治療効果およびIMT改善率に差を認めなかった。交絡危険因子調整後、HCV感染と肺炎クラミドフィラ感染のみが最大IMT値（各々非感染と比べ、8.56倍および9.50倍）の改善を妨げる因子であった。以上より、HCV持続感染は、頸動脈アテローム性動脈硬化症に対する脂質降下剤治療の効果を妨げることが示唆された。

研究協力者

古庄憲浩 九州大学病院 総合診療科
澤山泰典 九州大学病院 総合診療科
岡田享子 九州大学病院 総合診療科

高血圧症、喫煙、糖尿病などがよく知られているが、種々の持続感染症も、アテローム性動脈硬化症のリスク増加と関係していることが報告されている。持続感染症は、炎症反応を誘発し、アテローム性動脈硬化症の始まりである炎症発生機序の一因となっている。現在までのところ、特定の微生物として肺炎クラミジア（肺炎クラミドフィラ）、サイトメガロウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヘリコバクターピロリ感染

A. 目的

アテローム性（粥状）動脈硬化症は、深刻な病態で、冠動脈疾患と心筋梗塞を発症し、死亡の主原因となっている。アテローム性動脈硬化症の危険因子として脂質異常症、

などが、直接的にアテローム性動脈硬化症を引き起こし悪化させることが示めされている。私どもは、肺炎クラミドフィラ感染が頸動脈アテローム性動脈硬化症に対する脂質降下剤の効果を減弱させることをすでに明らかにした。

以上より、今回の本研究の目的は、C型肝炎ウイルス (HCV) 持続感染において頸動脈硬化症に対する脂質降下剤の影響についての調査である。

B. 研究方法

対象は、当院受診者のうち、2007年1月と2009年12月の間に30-89才の脂質異常症に対し未治療で、血清総コレステロール値が220mg/dL以上の無症候性脂質異常症患者であった。当初246例の患者がスクリーニングされ、最終的に165例が対象となり、intention-to-treatで解析した。

対象の除外基準は、血清中性脂肪値 350 mg/dL以上、不安定な心不全、6ヵ月以内の心筋梗塞、重篤で不安定な狭心症、甲状腺機能低下症および同機能亢進症、または他の内分泌腺疾患、不安定な糖尿病、不安定な高血圧、体重減少プログラムの肥満、ステロイド内服などであった。

患者は、朝夕の食後に1日2回 500 mgでプロブコール投与のプロブコール群 (82例、41-80才)、または、夕食の後1日1回10 mgでプラバスタチンを投与されたプラバスタチン群 (83例、41-89才) の2群に無作為割付けされた。無作為割付けは、総コレステロール値、年齢、性、IMTの4つの因子を配慮してminimization法によって行った。観察は、その登録後毎4週に当院来院時に2

年間行った。

頸動脈超音波検査は7.5MHzプローブでアロカSSD (アロカ、東京) を用いた。背臥位の患者の左右総頸動脈の内膜中膜複合体厚 (IMT) を頸動脈分岐部から頭側へ2cm、2.5cmと3.0cmの3点での範囲を観察し最大のIMTを測定した。

各患者の血液検体は、絶食 12 時間後に採取した。

血清コレステロール値、HDL コレステロール値、中性脂肪値を酵素法で測定し、LDL コレステロール値を Friedewald 法で算出した。

A 型肝炎ウイルス (HAV)、B 型肝炎ウイルス (HBV)、HCV 感染の有無を調査するため、B 型肝炎表面抗原 (HBs 抗原) をラテックス凝集反応免疫法、HCV 抗体と HAV 抗体は免疫酵素標識法で測定し、HCV RNA は RT-PCR 法で測定した。

肺炎クラミドフィラ感染の有無を、肺炎クラミドフィラ IgG 抗体と IgA 抗体を免疫酵素標識法で測定した。

(倫理面の配慮)

各患者に書面によるインフォームドコンセント得た。臨床試験は九州大学病院の倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. 登録時の背景について

対象 165 例において、平均年齢 65.7 才、男性 24%、登録時の平均収縮期血圧・拡張期血圧は各々 131・76mm Hg で、喫煙者 46%、高血圧歴 8%、糖尿病 17%で、登録時の平均血清脂質値は、血清総コレステロ

ール値 251 mg/dL、LDL コレステロール値 164 mg/dL、血清中性脂肪値 150 mg/dL、HDL コレステロール値 57 mg/dL であった。最大 IMT は平均 1.59 mm であった。登録時のいずれ因子において、プロブコール群およびプラバスタチン群の治療 2 群間において統計学的有意差は認めなかった。HAV 抗体陽性率 67.5%、HBs 抗原陽性率 2.4%、HCV 抗体陽性率 15.2% で、HCV 抗体陽性中すべてが HCVRNA 陽性の HCV 持続感染例であった。肺炎クラミドフィラ抗体陽性 (IgG 陽性および/または IgA 陽性) 率は 69.7% であった。

2. HAV、HBV、HCV、肺炎クラミドフィラ感染別および治療群別の脂質降下剤投与後の血清総コレステロール値の変化 (表 1) について

HAV、HBV、HCV、肺炎クラミドフィラの感染別でも治療群別でも、すべて登録時の血清総コレステロール値は観察終了の 2 年後には有意に低下し、その低下率は 10.8% から 21.7% であった。それぞれの感染の有無別および治療群間での血清総コレステロール値改善率に差を認めなかった。

表1. 肝炎ウイルス・肺炎クラミドフィラ感染における脂質降下剤投与後の総コレステロール値の変化 (n=165)

	例数	総コレステロール値 (mg/dl, mean ± SD)		P 値	変化 (追跡値-前値) (mg/dl, mean)		P 値
		登録時	24ヶ月				
HAV抗体							
+	113	248 ± 23	196 ± 30	<0.0001	21	} NS	
-	52	247 ± 25	193 ± 26	<0.0001	22		
HBs抗原							
+	4	244 ± 13	218 ± 18	0.05	11	} NS	
-	161	248 ± 88	195 ± 29	<0.0001	21		
HCV RNA							
+	25	243 ± 19	191 ± 21	<0.0001	21	} NS	
-	140	245 ± 24	196 ± 30	<0.0001	21		
肺炎クラミドフィラ抗体							
+	115	247 ± 22	195 ± 29	<0.0001	21	} NS	
-	50	249 ± 27	197 ± 30	<0.0001	21		
プロブコール	82	249 ± 23	197 ± 33	<0.0001	21	} NS	
プラバスタチン	83	247 ± 24	194 ± 26	<0.0001	21		

3. HAV、HBV、HCV、肺炎クラミドフィ

ラ感染別および治療群別の脂質降下剤投与後の血清LDLコレステロール値の変化 (表 2) について

HAV、HBV、HCV、肺炎クラミドフィラの感染別でも治療群別でも、すべて登録時の血清 LDL コレステロール値は観察終了の 2 年後には有意に低下し、その低下率は 22.3% から 31.8% であった。それぞれの感染の有無別および治療群間での血清 LDL-コレステロール値改善率に差を認めなかった。

表2. 肝炎ウイルス・肺炎クラミドフィラ感染における脂質降下剤投与後のLDL-C値の変化 (n=165)

	例数	LDL-C値 (mg/dl, mean ± SD)		P 値	変化 (追跡値-前値) (mg/dl, mean)		P 値
		登録時	24ヶ月				
HAV抗体							
+	113	158 ± 26	115 ± 33	<0.0001	28	} NS	
-	52	154 ± 31	111 ± 27	<0.0001	27		
HBs抗原							
+	4	146 ± 26	112 ± 40	<0.0001	24	} NS	
-	161	157 ± 28	113 ± 31	<0.0001	28		
HCV RNA							
+	25	154 ± 25	118 ± 24	<0.0001	23	} NS	
-	140	157 ± 28	112 ± 33	<0.0001	28		
肺炎クラミドフィラ抗体							
+	115	157 ± 27	112 ± 32	<0.0001	28	} NS	
-	50	159 ± 29	117 ± 30	<0.0001	26		
プロブコール	82	163 ± 25	125 ± 32	<0.0001	22	} <0.0001	
プラバスタチン	83	152 ± 29	103 ± 28	<0.0001	32		

4. HAV、HBV、HCV、肺炎クラミドフィラ感染別および治療群別の脂質降下剤投与後の最大IMT値の変化 (表 3) について HCV感染例の最大IMT値は、登録時1.51 ± 0.91 mmから観察終了2年後1.44 ± 0.83 mmと有意な改善はなく、非HCV感染例は、登録時1.45 ± 0.78 mmから観察終了2年後1.25 ± 0.67 mmと有意に改善した。同様に、肺炎クラミドフィラ感染例の最大IMT値は、登録時1.27 ± 0.62 mmから観察終了2年後1.19 ± 0.64 mmと有意な改善はなく、肺炎クラミドフィラ非感染例は、登録時1.33 ± 0.60 mmから観察終了2年後1.08 ± 0.50 mmと有意に改善した。HCV感染例および肺

肺炎クラミドフィラ感染例の最大IMT値改善率も、感染例は改善率が低く(各々0.3%と6%)、非感染例では改善率が高かった(各々10.9%と19%)。

しかし、HAV および HBV 感染別、治療群別において、最大 IMT 値の改善および改善率ともに差を認めなかった。

表3. 肝炎ウイルス・肺炎クラミドフィラ感染における脂質降下剤投与後の最大IMT値の変化 (n=165)

例数	最大IMT値 (mm, mean ± SD)		変化(追跡値-初値)	
	登録時	24ヶ月	P値	(%)
HAV抗体				
+	113	1.54 ± 0.88	1.36 ± 0.78	<0.0001
-	52	1.28 ± 0.57	1.10 ± 0.45	<0.0001
HBs抗原				
+	4	1.28 ± 0.15	1.13 ± 0.15	0.0057
-	161	1.46 ± 0.81	1.28 ± 0.71	<0.0001
HCV RNA				
+	25	1.51 ± 0.91	1.44 ± 0.83	NS
-	140	1.45 ± 0.78	1.25 ± 0.67	<0.0001
肺炎クラミドフィラ抗体				
+	115	1.27 ± 0.62	1.19 ± 0.64	NS
-	50	1.33 ± 0.60	1.08 ± 0.50	<0.0001
プロブコール	82	1.59 ± 0.90	1.35 ± 0.67	<0.0001
プラバスタチン	83	1.35 ± 0.70	1.21 ± 0.73	<0.0001

5. 重回帰分析法 (表 4)

交絡危険因子調整による後方重回帰分析において、HCV 感染および肺炎クラミドフィラ感染だけが、最大 IMT 値を改善させない有意な独立した因子であった。

表4. 最大IMTの及ぼす因子の検討 多変量解析

Fixed	Difference	95% CI	P値
HAV抗体	-1.54	-9.19 - 6.11	0.68
HBs抗原	-3.01	-25.3 - 19.37	0.79
HCV RNA	9.00	-0.63 - 18.6	0.06
肺炎クラミドフィラIgA	-0.62	-10.7 - 9.51	0.92
肺炎クラミドフィラIgG	1.09	-8.53 - 10.7	0.82
肺炎クラミドフィラIgA and/or IgG	7.57	-6.02 - 21.1	0.27
75才以上	5.34	-3.13 - 13.8	0.21
男性	-4.76	-13.6 - 4.12	0.29
喫煙	-4.19	-11.94 - 3.55	0.28
高血圧症	5.27	-2.00 - 12.5	0.15
糖尿病	6.28	-3.46 - 16.0	0.20

Backward stepwise	Difference	95% CI	P値
HCV RNA陽性	9.50	0.28 - 18.7	0.04
肺炎クラミドフィラ抗体陽性	8.56	1.37 - 15.7	0.02

結果のまとめ

1. HCV感染および非感染においても脂質降下剤による血清脂質値は有意に低下した。

2. 脂質降下剤による最大IMTの改善率において、HCV非感染例は-10.9%と有意に改善したが、HCV感染例は-0.3%で改善を認めなかった。

3. 治療薬群間において血清脂質値および最大IMT値の改善に差を認めなかった。

4. 多変量解析にて、HCV感染と肺炎クラミドフィラ感染が最大IMT値の及ぼす独立した負の因子であった。

考察

本研究は、HCV感染でも非感染でも血清総コレステロール値とLDLコレステロール値の有意な改善を有しても、HCV感染例では最大IMT値の改善を認めなかった。よって、HCV感染は頸動脈アテローム性動脈硬化症と脂質降下剤の影響を妨げていることを示した。一方、HAVおよびHBV感染はIMTの変化に影響を与えなかった。HCV持続感染の臨床経過は、一連の増悪と寛解を呈し、最終的に肝硬変、肝不全、肝臓癌と進展する特徴がある。肝硬変はアテローム性動脈硬化症に対して負の影響を及ぼしているようにみられる。それは血中凝固因子の減少、総コレステロールやリポ蛋白-a など従来の動脈硬化危険因子の減少によって説明できる。したがって、本研究で観察されるHCV感染と頸動脈アテローム性動脈硬化症の間の相関は予想外であった。脂質降下剤投与後の血清総コレステロール値とLDLコレステロール値がHCV感染と非感染例の間で有意差を示さなかったため、脂質変化以外の因子がこの動脈硬化病変の改善を妨げている可能性がある。いままで報告された研究では、肺炎クラミ

ドフィラ、サイトメガロウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヘリコバクターピロリ感染などが、アテローム性動脈硬化症の病因に関与する可能性がある微生物である。これらの微生物は、直接的な増殖、または、全身性炎症反応の活性化により血管内皮損傷を引き起こす可能性がある。

以下のような機序は、HCV感染とアテローム性動脈硬化症の関係を説明することができるかもしれない。第一に、HCV感染はときに免疫性血管炎を合併することがある。第二に、HCV感染は酸化ストレスの増加と関係している。第三に、HCV感染はインスリン抵抗性を誘導することによってアテローム発生を加速する可能性がある。疫学研究および臨床研究においては、高LDLコレステロール値がアテローム性動脈硬化症の発症に非常に重要であり、LDLコレステロール値を低下させることで冠動脈疾患や心筋梗塞の進展を低下させることもできる。

積極的な脂質降下剤による治療には血清脂質を低下させるだけでなく、動脈でのプラークを安定させることも分かっている。HCV感染でも、総コレステロール値とLDLコレステロール値が積極的治療によって低下したにもかかわらず、非HCV感染に起こったような頸動脈IMT値の改善は認めなかった。これらの現象は、HCV感染がアテローム性動脈硬化症の進行の危険因子のひとつであることを示唆する。

結論

HCV持続感染は、動脈硬化病変に悪影響を及ぼし、脂質降下剤の動脈硬化病変への

改善を抑制する可能性が示唆された。

研究発表

1.論文発表

- 1) Maeda S, Sawayama Y, Furusyo N, Shigematsu M, Hayashi J. The association between fatal vascular events and risk factors for carotid atherosclerosis in patients on maintenance hemodialysis: Plaque number of dialytic atherosclerosis study. *Atherosclerosis*2009;204(2):549-555.
- 2) 林 純、澤山泰典、貝沼茂三郎、村田昌之、金本陽子、古庄憲浩. 食後高脂血症に対するエゼチミブの効果 —食事負荷試験(クッキーテスト)を用いて—. *臨牀と研究* 2009 ; 86(11) : 1556-1559
- 3) Sawayama Y, Kikuchi K, Tatsukawa M, Hayashi S, Taira Y, Furusyo N, Hayashi J. Association of chlamydia pneumoniae DNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells and IgA Antibody with Atherosclerotic Diseases. *Fukuoka Acta Med.*2009;100(9):305-312
- 4) Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Takeoka H, Maeda S, Hayashi J. The longitudinal quantitative assessment by transient elastography of chronic hepatitis C patients treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. *Antiviral Research*2009;83:127-134
- 5) 林 純、古庄憲浩. C型慢性肝炎に対するグリチルリチン注射製剤の有効性とその後発品の功罪. *消化器病ネットワーク たんじゅうさん* 2009;8(1):12
- 6) 林 純. C型肝炎ウイルス感染と糖尿病.

月刊糖尿病.2009;1(2):135-144

7) 林 純、古庄憲浩、澤山泰典. HCV 患者の変遷と疫学. 医学と薬学

2009;62(3):365-371

8) 林 純、古庄憲浩、梶原英二、中牟田誠、丸山俊博、高橋和弘、佐藤丈顕、野村秀幸、田邊雄一、古藤和浩. C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α -2bとリバビリン併用療法の臨床成績. 消化器科 2009;49(1):95-104

9) 村田昌之、下野信行、林 純. 耐性ブドウ球菌の院内サーベイランスと対策. 化学療法の領域 2009;25(8):1709-1716

2.学会発表

1) Sawayama Y, Okada K, Maeda S, Ohnishi H, Furusyo N, Hayashi J: Hepatitis C virus is related to the progression of carotid atherosclerosis in patients undergoing lipid lowering therapy, HepDart 2009,Hawaii,2009

2) 豊田一弘,古庄憲浩,村田昌之,武岡宏明,大西八郎,澤山泰典,林 純: 沖縄県石垣市一般住民におけるヘリコバクター・ピロリ感染の血清ペプシノゲンと上部消化器病変の検討, 第79回日本感染症学会西日本地方会学術集会,福岡,2009

3) 澤山泰典,菊地健介,達川政文,古庄憲浩,林 純: PBMC中のChlamydia pneumonia DNAとChlamydia pneumoniae抗体との関連, 第79回日本感染症学会西日本地方会学術集会,福岡,2009

4) Koga T, Furusyo N, Ai M, Otokozawa S, Mukae H, Ohnishi H, Maeda S, Sawayama Y, Asztalos B, Schaefer E, Hayashi J: Small

dense LD cholesterol levels predict subclinical atherosclerosis in a Japanese general population: A Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston,2009

5) Ohnishi H, Sawayama Y, Maeda S, Koga T, Mukae H, Furusyo N, Hayashi J: Association of peripheral atherosclerosis disease and carotid atherosclerosis: A Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston,2009

6) Sawayama Y, Maeda S, Ohnishi H, Furusyo N, Hayashi J: Impact of lifestyle modification on cardiovascular event in a suburban Japanese population: A Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston,2009

7) Furusyo N, Koga T, Ai M, Otokozawa S, Mukae H, Maeda S, Sawayama Y, Asztalos B, Schaefer E, Hayashi J: Chronic Helicobacter pylori infection affects lipid metabolism by elevating LDL and small dense LDL: A Kyushu and Okinawa Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston,2009

8) Hayashi J, Furusyo N, Sawayama Y: Atherosclerosis and chronic infection as cardiovascular risk factors in the general population of Japan from the Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston,2009

9) 澤山泰典, 前田晋至, 大西八朗, 古庄

憲浩, 林 純: 冠動脈疾患における高ホモシスチン血症と肺炎クラミジア感染との関連, 第 83 回日本感染症学会, 東京, 2009

10) 古賀恒久, 古庄憲浩, 永樂訓三, 迎はる, 大西八郎, 小川栄一, 前田晋至, 豊田一弘, 谷合啓明, 大田黒滋, 貝沼茂三郎, 村田昌之, 澤山泰典, 林 純: small dense low-density lipoprotein-cholesterol と動脈硬化の関連について, 第 17 回日本総合診療医学会学術集会, 福岡, 2009

11) 大西八郎, 澤山泰典, 前田晋至, 豊田一弘, 小川栄一, 村田昌之, 古庄憲浩, 林 純: 一般住民検診における Form PWV/ABI による末梢動脈疾患の疫学調査, 第 17 回日本総合診療医学会学術集会, 福岡, 2009

12) 前田晋至, 古庄憲浩, 大西八郎, 武岡宏明, 豊田一弘, 永樂訓三, 迎はる, 古賀恒久, 海野麻美, 貝沼茂三郎, 村田昌之, 澤山泰典, 林 純: 総死亡および脳心血管系死亡における 頸動脈プラークによる指標と慢性腎臓病(CKD)について - 4 年間の前向きコホート研究 (Kyushu Okinawa Population Study : KOPS) からの解析 -, 第 17 回日本総合診療医学会学術集会, 福岡, 2009

知的所有権の出願・取得状況

1, 特許取得

なし。

2, 実用新案登録

なし。

3, その他

なし。

肥満のパラメータの変化がインスリン抵抗性や糖・脂質代謝関連データに及ぼす影響は、肝炎の有無で異なるかどうかの検討

研究分担者 石坂 信和 東京大学医学部附属病院・講師

研究要旨：

われわれは以前、慢性C型肝炎症例において、インスリン抵抗性が増加していることを報告した。一方、慢性C型肝炎症例では、血清中性脂肪値が低いなど、メタボリックシンドロームの構成因子に関しては、非肝炎症例に比較して異常値となりにくい印象がある。今回の検討では、この点について解析を行った。予想通り、C型肝炎症例では、非肝炎症例に比較して、インスリン抵抗性が亢進しているが、肥満度が低いなどメタボリックシンドロームとしての表現型は少ないことが示された。このことは、C型肝炎症例では体重や腹囲で推定される以上にインスリン抵抗性が亢進している可能性を示唆している。では、インスリン抵抗性の改善、という観点からはC型肝炎症例では、より一層体重や腹囲の低下が求められるのであろうか。この問題に答えるために、本検討の後半では、肥満のパラメータの変化率がどのようにメタボリックシンドロームの構成因子やHOMA-IRの変化率と関連しているかについて検討した。メタボリックシンドローム構成因子、あるいはHOMA-IRの変化率は、腹囲の変化率に比較してBMIの変化率との間により強い関連を有することが明らかになった。今後の検討では、C型肝炎症例のBMIの変化率とHOMA-IRの変化率の関連について更なる検討を行う予定である。

A.研究目的

われわれは以前、慢性C型肝炎症例において、インスリン抵抗性が亢進していることを報告した。一方、慢性C型肝炎症例では、血清中性脂肪値が低いなど、むしろメタボリックシンドロームの要因については、非肝炎症例に比較して異常になりにくい印象がある。このことは、慢性C型肝炎症例のなかに、メタボリックシンドロームとしての表現型にとぼしい、「かくれインスリン抵

抗性亢進」の症例が存在することを示唆している。

【目的1】

慢性C型肝炎症例と非肝炎症例を比較し、メタボリックシンドローム、およびその構成因子、インスリン抵抗性の指標であるHOMA-IRを比較する。

慢性C型肝炎症例において肥満度が高くないにもかかわらずインスリン抵抗性が亢進

している場合、以下の2つの状況が考えられる。

- (i) 慢性C型肝炎症例では、インスリン抵抗性の亢進が、非肝炎症例に比較して、より低いBMIや腹囲で生じる。
- (ii) 慢性C型肝炎症例におけるインスリン抵抗性の亢進は肥満とは関連が薄い。

(i)であるとすると、インスリン抵抗性の改善のためには、慢性C型肝炎症例においても体重や腹囲のコントロールが有効であり、その目標は非肝炎症例より低くあるべきである。

一方、(ii)であるとすると、慢性C型肝炎症例ではインスリン抵抗性の改善を目的とした体重や腹囲のコントロールはインスリン抵抗性改善には有効でなく、低栄養などの問題からも推奨されにくい、ということになる。

われわれはこの点について検討を開始したが、そもそも肝炎症例に限らず、日本人において、BMIの増加(減少)や、腹囲の増加(減少)がHOMA-IRにどのような影響を与えるか、について解析したデータはほとんど存在しないことに気づいた。

そこで、まず、以下のことから検討を開始した。

【目的2】

BMIの増加(減少)や、腹囲の増加(減少)は、日本人において、メタボリックシンドロームの構成因子やHOMA-IRに独立した影響を与えるかどうか。

B.研究方法

【目的1】

2005年4月から、2006年の8月の間に健診センターを受診した症例のうち、肝炎(B、C)陰性の12333症例と、C型肝炎コア蛋白陽性の72症例を対象とした。メタボリックシンドロームの要因としては、BMIないしは腹囲、高血圧、中性脂肪高値、HDL-C低値、空腹時血糖高値を挙げた。

【目的2】

対象

健診センターを2005年から2006年の間に受診した症例のうち、2年連続受診歴のあった症例を絞り込んだ。BMIや腹囲の変化と血圧の変化の検討では、2回の受診うち、いずれの時点においても、降圧剤を使用していない症例のみを対象とした。対象症例は、2861症例で、2回の受診間隔は、 355 ± 52 日であった。

同様にBMIや腹囲の変化と脂質データの変化の検討では、2回の受診うち、いずれの時点においても、脂質降下剤を使用していない症例のみを対象とした。対象は、3111症例で2回の受診間隔は、 355 ± 52 日であった。

当該期間中に3回の受診歴を有する症例は存在しなかった。

変化率についての標記

各パラメータの変化率を以下の式で求めた。

腹囲の変化率(%dWC)

$$\%dWC = (2 \text{ 回目受診時の腹囲} - \text{初回受診時の腹囲}) / \text{初回受診時の腹囲} \times 100 (\%)$$

BMIの変化率(%dBMI)

$$\%dBMI = (2 \text{ 回目受診時のBMI} - \text{初回受診$$

時の BMI)/初回受診時の BMI×100 (%)

収縮期血圧の変化率(%dBPs)

%dBPs= (2 回目受診時の BPs-初回受診時の BPs)/初回受診時の BPs×100 (%)

中性脂肪の変化率(%dTG)

%dTG= (2 回目受診時の TG-初回受診時の TG)/初回受診時の TG×100 (%)

HDL-C の変化率(%dHDL-C)

%dHDL-C= (2 回目受診時の HDL-C-初回受診時の HDL-C)/初回受診時の HDL-C×100 (%)

LDL-C の変化率(%dLDL-C)

%dLDL-C= (2 回目受診時の LDL-C-初回受診時の LDL-C)/初回受診時の LDL-C×100 (%)

(倫理面への配慮)

本研究は、三井記念病院と東京大学医学部の共同研究であるが、いずれの施設においても、倫理委員会の承諾を得ており、個人情報取り扱いにも細心の注意を払っている。

C.研究結果

【目的1】

非肝炎症例の平均年齢 53.1±10.6 歳に比較し、C 型肝炎症例の平均年齢は 59.2±10.5 歳と高かった。

C 型肝炎症例では、非肝炎症例に比較して、BMI が低く、中性脂肪、HDL-C が低値であることが示された(図 1)。

次に、メタボリックシンドロームの頻度を 2 つの基準によって比較した。メタボリックシンドロームの基準は、改変 NCEP ATP-III に準じた基準と本邦の基準をい

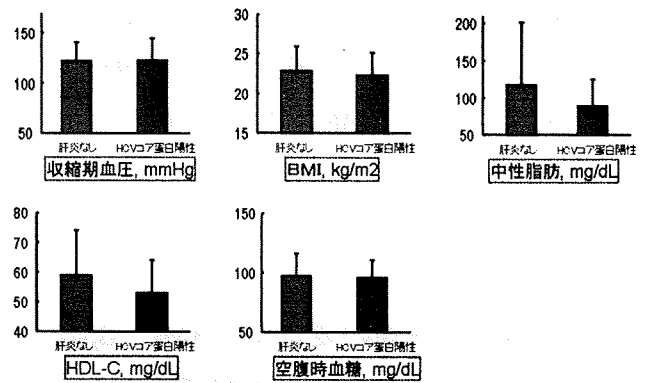


図1. HCV感染とメタボリックシンドロームの各パラメーターの関連。この基準を用いても、C型肝炎症例においては非肝炎群の頻度(=約10%)に比較して、有意にメタボリックシンドロームの頻度が低いことが示された(図2)。

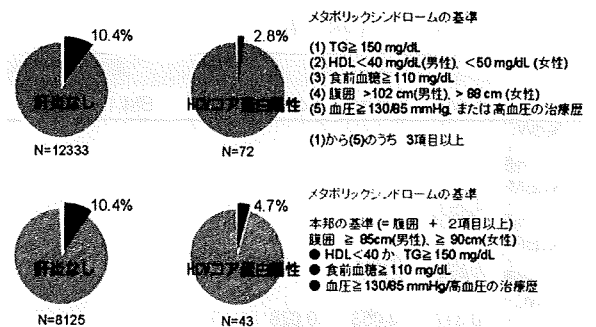


図2. HCV感染とメタボリックシンドロームの頻度

HOMA-IRが上位25%※となるオッズ比
HCV感染 3.17 (95% CI 1.99-5.05)

※女性/男性 HOMA-IR> 1.39/2.06

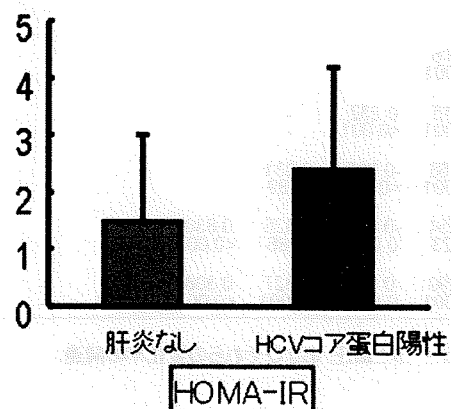


図3. HCV感染ではHOMA-IRが高値である

一方、C型肝炎症例においては、HOMA-IRは有意に非肝炎症例よりも高値であり、HOMA-IRが最高の四分位(女性>1.39、男性

>2.06)となるオッズ比は、非肝炎症例をレファレンスとした場合、3.17(95% CI 1.99-5.05)と有意に高いことが明らかになった(図3)。

【目的2】

まず、腹囲、腹囲の変化率、BMI、BMIの変化率の間には、一定の相関関係があるため、これらのパラメータの間の相関係数を求めた。その結果、%dWCと%dBMIの相関係数は、女性で0.24と予想より弱く、男性においても0.476と中等度であることが明らかになった(表1)。

女性						
	%dWC	%dBMI	%dBPs	WC1	BMI1	BPs1
%dWC	-					
r	-					
P値	-					
%dBMI	0.241	-				
r	0.241	-				
P値	<0.001	-				
%dBPs	-0.014	0.097	-			
r	-0.014	0.097	-			
P値	0.635	0.001	-			
WC1	-0.317	-0.053	-0.028	-		
r	-0.317	-0.053	-0.028	-		
P値	<0.001	0.078	0.350	-		
BMI1	-0.026	-0.087	-0.029	0.787	-	
r	-0.026	-0.087	-0.029	0.787	-	
P値	0.393	0.004	0.331	<0.001	-	
BPs1	-0.025	-0.055	-0.325	0.365	0.409	-
r	-0.025	-0.055	-0.325	0.365	0.409	-
P値	0.396	0.064	<0.001	<0.001	<0.001	-

男性						
	%dWC	%dBMI	%dBPs	WC1	BMI1	BPs1
%dWC	-					
r	-					
P値	-					
%dBMI	0.476	-				
r	0.476	-				
P値	<0.001	-				
%dBPs	0.116	0.232	-			
r	0.116	0.232	-			
P値	<0.001	<0.001	-			
WC1	-0.268	-0.089	-0.031	-		
r	-0.268	-0.089	-0.031	-		
P値	<0.001	<0.001	0.189	-		
BMI1	-0.054	-0.071	-0.026	0.830	-	
r	-0.054	-0.071	-0.026	0.830	-	
P値	0.023	0.003	0.286	<0.001	-	
BPs1	-0.090	-0.077	-0.327	0.308	0.322	-
r	-0.090	-0.077	-0.327	0.308	0.322	-
P値	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	-

表1. 肥満のパラメータと血圧、およびそれらの変化率の関連

肥満パラメータの変化と血圧の変化

BMIの増減、腹囲の増減で症例を4分割し、血圧の変化率をおのこの群で求めた(図4)。その結果、血圧の変化率は、BMIの増

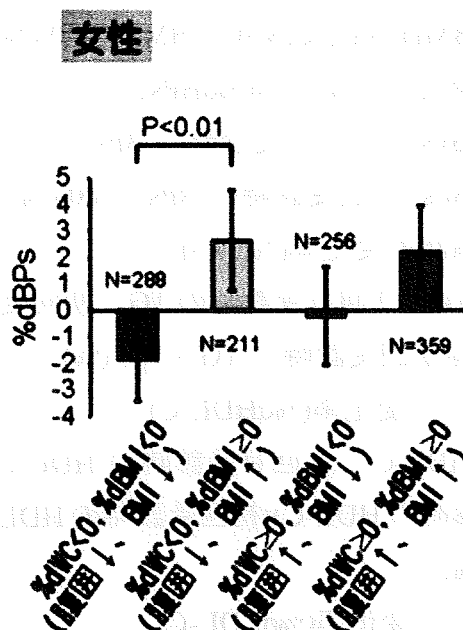


図4. 肥満のパラメータの変化率と血圧の変化率

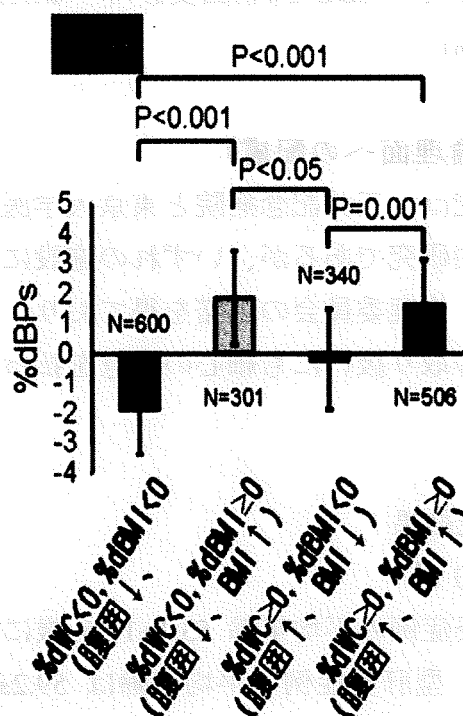


図4. 肥満のパラメータの変化率と血圧の変化率

加群(減少)で増加(減少)しており、この関連は男女とも認められた。一方、この関連に対して、腹囲の増減が与える影響はBMIが与える影響より弱いものと考えられた。

女性

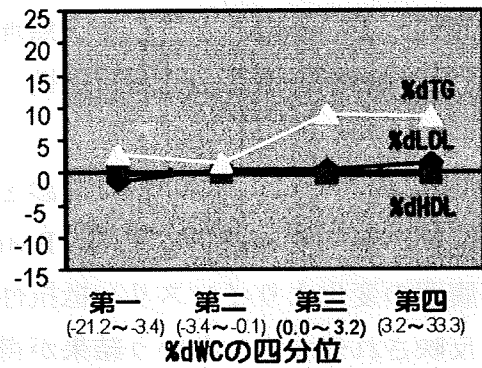
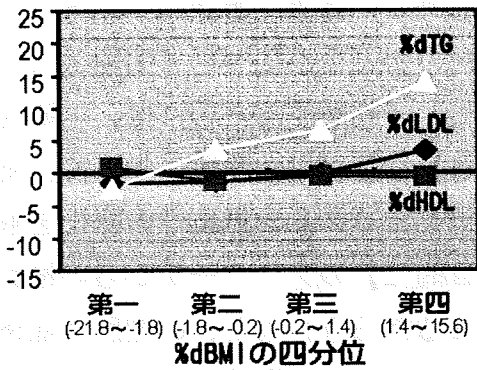


図5. 肥満のパラメータの変化率と脂質の変化率-女性

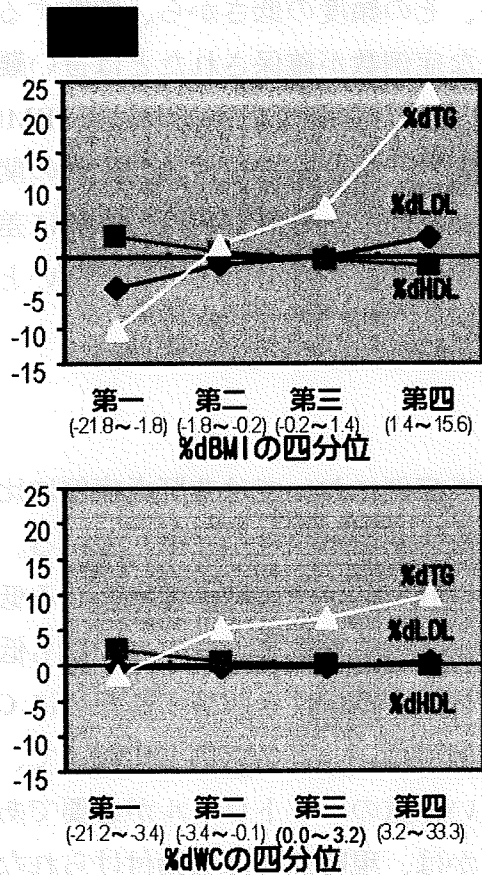


図6. 肥満のパラメータの変化率と脂質の変化率-男性

肥満パラメータの変化と脂質データの変化次に、BMI、腹囲の変化率と脂質データの変化率について検討した。

その結果、女性においては、BMI の変化率にしたがって、中性脂肪や LDL-C は増加し、HDL-C は減少することが明らかになった。この関連は、BMI の変化率のかわりに腹囲の変化率を用いても認められたが、腹囲の変化率の影響は BMI の変化率より小さいと考えられた(図 5)。BMI/腹囲の変化率と脂質の変化率の関連については男性症例でもほぼ同様の所見が得られた(図 6)。

次に肥満のパラメータの変化率と、HOMA-IR の変化率の関連を検討した。やはり、BMI の変化率のほうが、腹囲の変化率に比較して、HOMA-IR の変化率に反映されやすいと考えられた(図 7)。

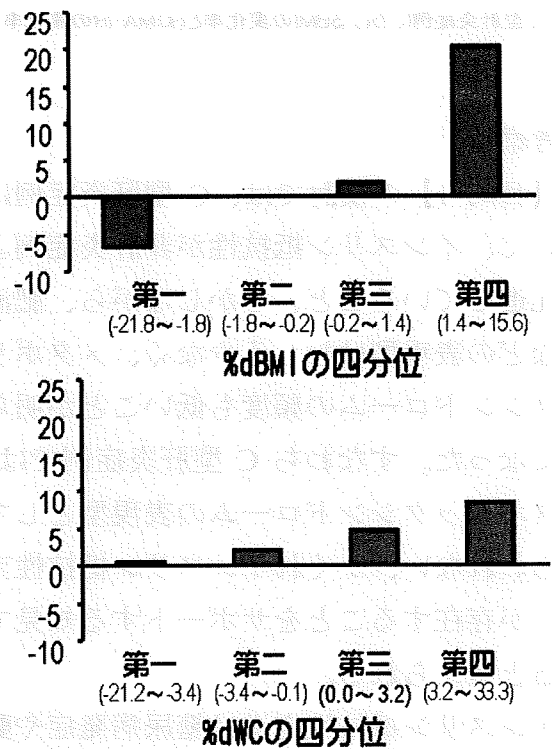


図7. 肥満のパラメータの変化率とHOMA-IRの変化率

ここまでは、肝炎症例に限定しない検討で

あった。本研究の目標は、これらのデータがC型肝炎の有無でどのように差があるかを検討することである。

しかしながら、対象症例約 3000 例のうち C 型肝炎症例は 15 例と少なく、今後対象症例数を増加させて検討する必要があると考えられる。

現時点における BMI の変化率と HOMA-IR の変化率について、C 型肝炎に限定した検討の結果を図 8 に示す。

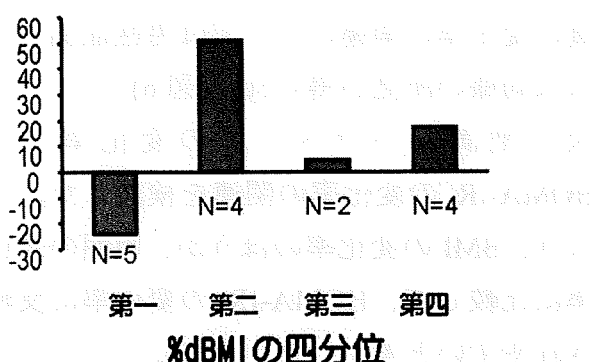


図8. C型肝炎症例におけるBMIの変化率とHOMA-IRの変化率

D. 考察

【目的 1】の検討では、C 型肝炎症例において、インスリン抵抗性が非肝炎症例より亢進していること、しかしながら、肥満をなどの表現型はむしろ少なく、メタボリックシンドロームの頻度も低いことが明らかになった。すなわち C 型肝炎症例では、メタボリックシンドロームの表現型としてあらわれない、「かくれインスリン抵抗性亢進」が存在することをサポートする知見であると考えられる。

インスリン抵抗性亢進は糖尿病発症や動脈硬化の危険因子となりうることを示されている。それゆえ、C 型肝炎症例においてインスリン抵抗性を改善する必要性が生じ

る場面もあるだろう。その場合に、非肝炎症例よりも厳しい体重や腹囲のコントロールが必要なのかどうかについて問題となる。この点について判断するためには、本研究の【目的 1】で行なった検討に加えて、肥満度の変化とインスリン抵抗性の変化を解析した【目的 2】のアプローチからの検討も必要となるだろう。もし、C 型肝炎症例においては肥満度とは関連なくインスリン抵抗性が亢進しているのだとすると、無理な減量はむしろ病態を増悪させる可能性もある。

【目的 2】の検討では、2 年連続で健診を受診した症例のデータの解析により、BMI の変化が腹囲の変化よりインスリン抵抗性の変化に反映されやすい、という結果が得られた。C 型肝炎症例についても検討を行なったが、その頻度の低さから、判断するのに十分な症例数が確保されたとは言い難い。今後は、C 型肝炎症例における BMI の変化率とインスリン抵抗性の変化率の関連について検討し、非肝炎症例との間に差異が存在するかどうか分析していきたいと考えている。

E. 結論

C 型肝炎症例においては非肝炎症例と比較してインスリン抵抗性が亢進している。一方、C 型肝炎症例では肥満度はむしろ低く、メタボリックシンドロームの頻度も低い。インスリン抵抗性を改善するために C 型肝炎症例では、非肝炎症例と比較して、より厳しい体重のコントロールが必要であるかどうかは、現時点では結論付けられないが、健診を 2 年連続受診した症例のデー

タを解析してこの問題にアプローチしたいと考えている。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

【論文発表】

- 1) Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Minoru Yamakado, Kazuhiko Koike, Ryoza Nagai. Association between gamma-glutamyltransferase levels and insulin resistance according to alcohol consumption and number of cigarettes smoked. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 2009 in press.
- 2) Nobukazu Ishizaka, Yuko, Ishizaka, Akiko Toda, Mizuki Tani, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, Ryoza Nagai, Minoru Yamakado. Changes in waist circumference and body mass index in relation to changes in serum uric acid in Japanese individuals. Journal of Rheumatology 2009 in press
- 3) Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, Ryoza Nagai, Minoru Yamakado. Impact of changes waist circumference and BMI over one-year period on serum lipid data in Japanese individuals. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 2009;16(6):764-771.
- 4) Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, Minoru Yamakado, Ryoza Nagai. Impacts of changes in obesity parameters for the prediction of blood pressure change in Japanese individuals.

Kidney Blood Press Res

2009;32(6):421-427.

- 5) Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Minoru Yamakado, Eiichi Toda, Kazuhiko Koike, Ryoza Nagai. Association between metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in individuals without diabetes based on the oral glucose tolerance test. Atherosclerosis 2009;204(2):619-623.
- 6) Yuko Ishizaka, Nobukazu Ishizaka, Mizuki Tani, Akiko Toda, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, Ryoza Nagai, Minoru Yamakado. Association between changes in obesity parameters and incidence of chronic kidney disease in Japanese individuals. Kidney Blood Press Res 2009;32(2):141-149.

【学会発表】

- 1) 石坂信和、石坂裕子、山門 実、永井良三. 腹囲・BMI の変化率と収縮期、拡張期血圧の変化率の関連. 第57回日本心臓病学会学術集会, 札幌, 2009.
- 2) 石坂信和、石坂裕子、山門 実、永井良三. 1年間の腹囲・BMI の変化は糖・脂質データをどのように改善するか. 第57回日本心臓病学会学術集会, 札幌, 2009.
- 3) 石坂信和、石坂裕子、山門 実、永井良三. 腹囲・BMI の変化率はマイクロ/マクロアルブミン尿の状況にどのように関連しているのか—1年間のインターバルでの検討. 第57回日本心臓病学会学術集会, 札幌, 2009.
- 4) 石坂信和、石坂裕子、山門 実、永井良三. 肥満のパラメータの変化と eGFR 低下の解消、新出の関連についての検討. 第

57 回日本心臓病学会学術集会, 札幌, 2009.

5) 石坂信和、石坂裕子、山門 実、永井良三、喫煙、飲酒と高血圧の関連について、第 32 回日本高血圧学会総会, 大津, 2009.

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

ウイルスと代謝・免疫系の相互作用に関する包括的研究

研究分担者 森屋 恭爾 東京大学医学部感染制御学 教授

研究要旨：HCV コア蛋白がインスリン抵抗性や脂肪肝を惹起すること、更に、スタチンのウイルス増殖抑制作用やコレステロール代謝のインターフェロン治療効果に対する影響など肝における代謝を抜きにして、HCV 病態や治療を考え難い状況である。今回従前より肝疾患の進行とともに減少する分枝鎖アミノ酸を HCV コア遺伝子発現マウスに投与し脂肪肝、インスリン抵抗性の改善の有無を検討した。

A. 研究目的

C 型肝炎ウイルス感染者は国内約 170 万人世界で 1 億人以上存在していると推定されている。インターフェロン、リバビリン併用療法によってもウイルス消失は約半数であり症例も高齢化し肝発癌が認められている。HCV(C 型肝炎ウイルス)の特性である糖質、脂質等の代謝異常メカニズムを一層解明し、日本および世界の HCV による肝硬変進展遅延、肝細胞癌発癌抑制を図る。

B. 研究方法

HCV コア蛋白遺伝子発現マウスが脂肪肝、インスリン抵抗性を惹起し発癌が認められることを我々は示してきた。今回 3ヶ月齢 HCV コア遺伝子発現マウスに対し通常食に 2.5% BCAA 添加（アミノ酸組成 Ile:Leu:Val=1:2:1.2）361Kcal/100g と通常食にカゼイン添加により餌窒素含有量、カロリーをそろえた食事を 3ヶ月投与し肝臓脂肪化、インスリン抵抗性の検討を行った。

（倫理面の配慮）

マウスの処理に関しては苦痛を与えること

なく処理し倫理面の配慮を行った。

C. 研究結果

BCAA により肝臓脂肪化の改善およびインスリン抵抗性の悪化の減弱が認められた。BCAA が HCV による脂質、糖質代謝異常の改善をもたらす可能性を示した。肝臓内 TNF α 、SREBP 1 mRNA レベル発現の変化を認めた。

D. 考察

BCAA は HCV コア蛋白による肝臓内 TNF α 、SREBP1c の発現亢進を抑制するが肝細胞のみの解析ではなく筋肉、脂肪組織を含めた変化が考えられる。

E. 結論

BCAA 投与により HCV による肝臓の脂肪化が抑制され、インスリン抵抗性の悪化も減弱する。BCAA は HCV による肝臓内 TNF α 、SREBP 1 mRNA レベル発現亢進の改善をもたらす。

F. 健康危険情報

特に無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Moriya K, Miyoshi H, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriishi K, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Koike K. Tacrolimus ameliorates metabolic disturbance and oxidative stress caused by hepatitis C virus core protein: analysis using mouse model and cultured cells. *Am J Pathol.* 2009 Oct;175(4):1515-24. Epub 2009 Sep 3.
- 2) Tsutsumi T, Matsuda M, Aizaki H, Moriya K, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Miyamura T, Suzuki T, Koike K. Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperon, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. *Hepatology.* 2009 Aug;50(2):378-86.
- 3) Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Nishida K, Kato M, Sakai H, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus in Japan: a retrospective multicenter analysis. *Hepatol Res.* 2009 Jul;39(7):657-63. Epub 2009 Apr 7.
- 4) Ichibangase T, Moriya K, Koike K, Imai K. Limitation of immunoaffinity column for the removal of abundant proteins from plasma in quantitative plasma proteomics. *Biomed Chromatogr.* 2009 May;23(5):480-7
- 5) Hashimoto M, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Matsui Y, Togashi J, Moriya K, Koike K, Makuuchi M. Acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after living donor liver transplantation: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2008 Nov 11;8:155.
- 6) Koike K, Tsutsumi T, Miyoshi H, Shinzawa S, Shintani Y, Fujie H, Yotsuyanagi H, Moriya K. Molecular basis for the synergy between alcohol and hepatitis C virus in hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Mar;23 Suppl 1:S87-91.
- 7) Tanaka N, Moriya K, Kiyosawa K, Koike K, Gonzalez FJ, Aoyama T. PPARalpha activation is essential for HCV core protein-induced hepatic steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. *J Clin Invest.* 2008 Feb;118(2):683-94.2

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

特に無し

2. 実用新案登録

特に無し

3. その他

特に無し

HCVコア蛋白質と相互作用するミトコンドリア蛋白質の解析

研究分担者 松浦 善治 大阪大学微生物病研究所 教授

研究要旨：C型慢性肝炎患者やC型肝炎ウイルス(HCV)のコア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスの肝臓では、ミトコンドリア由来のROSの産生やATP産生阻害が観察される。また、コア蛋白質を発現させた細胞においても、ミトコンドリアのプロトンポンプである電子伝達系複合体IやIVの機能低下が認められる。本研究では、酵母膜ツーハイブリッド法を用いて、HCVコア蛋白質と相互作用する宿主因子を解析し、3種のミトコンドリア蛋白質を同定した。コア蛋白質を発現している細胞では、ミトコンドリアのシトクロムCオキシダーゼ活性の低下が観察されたことから、コア蛋白質の発現によるミトコンドリア外膜への何らかの障害が示唆された。また、ミトコンドリアへの蛋白質輸送に関わる因子とコア蛋白質の相互作用は免疫沈降法では確認できなかったことから、他の輸送経路の存在が示唆された。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス(HCV)に感染すると肝硬変を経て高率に肝細胞癌を発症する。我が国には2百万人ものHCV感染者が存在すると推定され、既感染者に対する有効な肝癌進展阻止法の開発が急務である。近年、特定のクローンを用いたHCVの増殖系が確立されたものの、未だHCVの感染機構の詳細は明らかにされていない。HCVのコア蛋白質を発現するトランスジェニック(コアTg)マウスは、インスリン抵抗性や脂肪肝を経て肝細胞癌を発症する。コア蛋白質はウイルス粒子の構成因子であるが、一部は核やミトコンドリアへ移行する。これまでに我々は、HCVの病原性発現におけるコア蛋白質の核移行の重要性を明らかにしてきた。

C型肝炎患者やコアTgマウスの肝臓ではミトコンドリア由来のROSの産生やATP産生阻害が観察される。また、コア蛋白質を発現させた細胞においても、ミトコンドリアのプロトンポンプである電子伝達系複合体I及びIVの機能低下が認められる。本研究では、HCVコア蛋白質によるミトコンドリアの機能障害の分子機構を

解析する。

B. 研究方法

コア蛋白質のN末端側にユビキチン蛋白質のC末端(34~76アミノ酸)を付加した融合蛋白質をbaitとして、ユビキチン蛋白質のN末端(1~38アミノ酸)を付加したヒト肝臓のcDNAライブラリーを酵母膜ツーハイブリッド法でスクリーニングした。ミトコンドリアはホモジナイザーで細胞を破碎した後、超遠心により精製し、イムノブロット法で解析した。シトクロムCオキシダーゼ活性は Mitochondria Activity Assay (Cytochrome C oxidase activity Assay) Kit (BioChain Institute, Inc.) を用いてプロトコールに従い測定した。Huh7細胞にオルニチントランスカルバミラーゼ前駆体(pOTC)のミトコンドリア移行シグナルの付加したGFP融合蛋白質、および、コア蛋白質配列中に存在するミトコンドリア移行シグナル様配列(100~164アミノ酸)を付加したGFP融合蛋白質を発現させ、その細胞内局在を共焦点蛍光顕微鏡で観察した。コア蛋白質による