

＜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＞  
分担研究報告書

高齢女性における筋肉量がメタボリックシンドロームに及ぼす影響  
研究分担者 大内 尉義 東京大学教授

**研究要旨** 以前、我々は腹部CTから求めた内臓脂肪面積(VFA)の上昇が、高齢者でもメタボリックシンドロームのリスク増加に関与していることを報告した。今回、加齢に伴い減少する筋肉量がリスク数と内臓脂肪との関連に、どのような影響を及ぼしているのか検討を行った65歳以上でADLの自立した(悪性腫瘍・糖尿病治療例などを除外)高齢女性90例(平均年齢75.0±6.2歳)を対象とし、腹部CTからVFAを測定、DXA法による全身骨密度検査からskeletal muscle mass index(SMI)を求め、ウエスト周囲径を除くメタボリックシンドロームのリスク数(IDF基準)との検討を行ったところ、単相関にて、SMIは年齢と負、BMI・VFAと正の有意な相関が認められた。SMI値による3分位とリスク数との間には有意差はなかったが、3群間でVFA値により2分位すると、低SMI群内では高VFA群が低VFA群と比較し、リスク数上昇と有意な関連が認められた(P=0.02)。リスク数を目的変数とした重回帰分析では、BMI調整後、VFAは有意な正の相関(P=0.01)、筋肉量とは有意な負の相関(P=0.04)がそれぞれ独立して認められ、さらに年齢調整を行うと筋肉量のみ関連が消失した。これにより、高齢女性における加齢に伴う筋肉量減少は、内臓脂肪とリスク数との関連をさらに増長させ、さらには内臓脂肪とは独立してリスク数に影響を及ぼしていることが明らかになった。

A. 研究目的

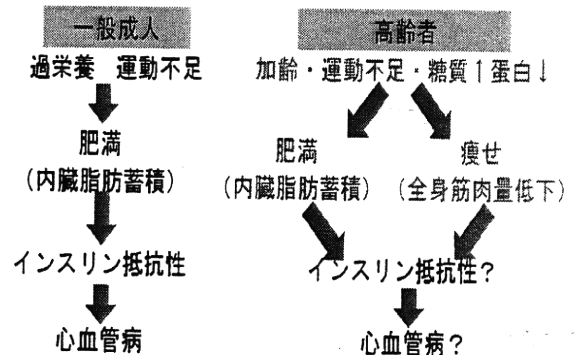
加齢に伴う大きな体組成変化としては、筋肉量の減少および内臓脂肪の増加が知られている。

現在、メタボリックシンドロームは内臓脂肪をはじめとして、糖代謝異常、血圧高値、脂質代謝異常の危険因子が重複し、結果として耐糖能障害や心血管病を引き起こすことがわかっている。さらに、このメタボリックシンドロームの有病率は加齢に伴って上昇することが知られている。

以前、我々は一般成人と同様に高齢者においても、腹部CTから求めた内臓脂肪面積(Visceral Fat Area; VFA)の増加が、インスリン抵抗性やアディポネクチン分泌抑制を介して、メタボリックシンドロームのリスクファクターの増加に関連があることを報告しているが、筋肉もまたインスリンの標的臓器であると考えられるため、高齢者の筋肉量減少も糖代謝障害などを起こす可能性がある。加齢に伴い摂取エネルギーが変わらないにも関わら

ず、内臓脂肪が増加するのは、筋肉量減少による基礎代謝量の低下が原因と考えられる。最近、筋肉量減少および内臓脂肪の蓄積の両者を併せ持つ、sarcopenic obesityが、要介護や死亡リスクを増加させることが報告されており、この病態にメタボリックシンドロームのリスクファクターが関与している可能性も十分考えられる。そのため、我々は高齢者における筋肉量減少が、内臓脂肪量とは独立してメタボリックシンドロームのリスクファクターと関連している(図1)可能性があると考え、本研究を行った。

図1 一般成人と高齢者のメタボリックシンドロームの要因の違い



## B. 研究方法

対象は、2005年9月から2006年8月にかけて、高齢者健診で関連医療機関を受診者のうち、ADLに障害がなく、3カ月以内にDXA法による全身骨密度検査を受けた高齢女性である。その中から、脂肪・筋肉などの栄養代謝に影響を与えていると考えられる悪性腫瘍治療中のもの、消化管手術の既往のあるもの、内分泌疾患の治療中(ステロイド含む)のもの、心不全・腎不全、糖尿病治療薬・ $\beta$ 遮断薬・ $\beta$ 刺激薬・ $\alpha$ 遮断薬を内服中のもの、健康面に問題があると考えられる血清Alb $\leq$ 3.0、血清Cr $\geq$ 1.5、Hb $\leq$ 10.0のものを除外した90例(平均75 $\pm$ 6.2歳; 65-91歳)である。

身体計測値および血圧は健診時のもの数値を用い、採血は空腹時に行った。内臓脂肪の評価は、臍レベルの腹部CTから計測ソフト(Fat Scan<sup>®</sup>)を用いてVFAを計測した。筋肉量の評価としては、DXA法による全身骨密度の結果から、四肢の筋肉量(appendicular skeletal muscle mass; ASM)を求め、さらに身長(m)の二乗で除したskeletal muscle mass index(SMI)を用いた。解析は、SMI値により高SMI群、中SMI群、低SMI群の3群に割り付け、さらに各群内で高VFA群、低VFA群に割り付けを行った。また、メタボリックシンドロームのリスクの評価としては、IDF(International Diabetes Federation)の基準を用い、腹囲以外のリスク保有数(0~4個)を求め、それぞれ解析した。

データ解析表および文中のデータは平均値 $\pm$ SD、グラフのデータは平均値 $\pm$ SEで表した。2変量の相関関係にはPearson's correlation coefficient, Fisher's r to zを用いた。各群間での比較には、ノンパラメ

トリック検定を用い、2群間の比較では、Mann-Whitney Test, 3群間の比較にはKruskal-Wallis Testを用いた。多変量解析には重回帰分析を用い、統計ソフト(Stat View 5.0)により解析を行い、P値 $<$ 0.05を有意差の基準とした。

(倫理面への配慮)

本試験は、所属施設の倫理委員会で承認済みであり、参加については本人から書面による同意を得て行なわれた。

## C. 研究結果

対象者のBMIは22.1 $\pm$ 3.3kg/m<sup>2</sup>、VFAは90.6 $\pm$ 46.0cm<sup>2</sup>であり、VFA $\geq$ 100cm<sup>2</sup>以上を内臓脂肪型肥満とすると、38.9%が内臓脂肪型肥満者であった。SMIは5.72 $\pm$ 0.65kg/m<sup>2</sup>であり、我が国における一般成人の2SD以下5.46kg/m<sup>2</sup>をサルコペニアとすると34.4%がサルコペニアに該当した。

77.8%に血圧高値(全体の41.1%が内服加療中)、26.7%に脂質異常症(全体の1.1%が内服加療中)、31.1%に高血糖を認め、腹囲以外のメタボリックシンドロームの平均リスク数は1.39 $\pm$ 0.88個、腹囲(腹囲 $\geq$ 80cm)を含めたメタボリックシンドロームの有病率は28.9%であった。

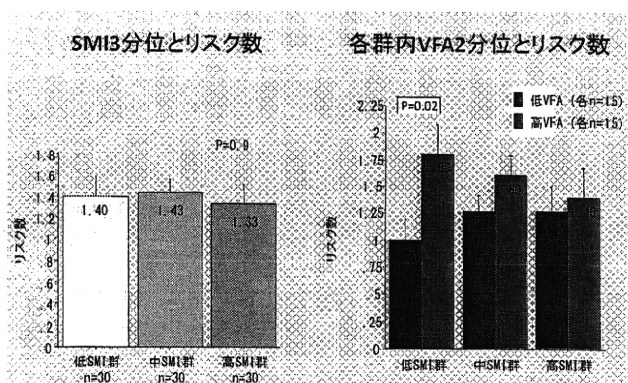
単相関にて、SMIは年齢と負( $\beta$  = -0.25, P = 0.155)、BMI( $\beta$  = -0.79, P < 0.0001)・VFA( $\beta$  = -0.46, P < 0.0001)・HOMA-IR( $\beta$  = -0.32, P = 0.0026)と正の有意な相関が認められた。

SMI値による3分位とリスク数では有意差はなかった(P = 0.8675)が、3群間内でVFA値により2分位したところ、低SMI群の中の高VFA群が低VFA群と比較し、リスク数上昇との有意な関連が認められ(P = 0.0251)、中SMI群および高SMI群で

は有意差が認められなかった(それぞれ P=0.1410, P=0.7939)(**図 2**)。

リスク数を目的変数とした重回帰分析では、BMI 調整後、VFA は有意な正の相関(P=0.01)、筋肉量とは有意な負の相関(P=0.04)がそれぞれ独立して認められ、さらに年齢調整を加えると VFA はリスク数との間に有意な正の相関が残った(P=0.03)が、筋肉量では相関が消失した(P=0.2)(**表 1**)。

**図 2. SMI3 群とリスク数との関連および各群内 VFA2 分位とリスク数との関連**



**表 1. リスク数を目的変数とする重回帰分析**

調整因子	$\beta$	P
VFA (cm <sup>2</sup> )	0.37	0.01
四肢筋肉量 (kg)	-0.26	0.04
BMI (kg/cm <sup>2</sup> )	0.05	0.7
相関係数  R =0.36 P=0.006		
調整因子	$\beta$	P
VFA (cm <sup>2</sup> )	0.32	0.03
四肢筋肉量 (kg)	-0.17	0.2
BMI (kg/cm <sup>2</sup> )	0.05	0.7
年齢 (y)	0.16	0.1
相関係数  R =0.39 P=0.008		

#### D. 考察

本集団では、身長 150.5±5.9cm、体重 50.2±8.2 kg、BMI 22.1±3.3kg/m<sup>2</sup> と、2005 年度の国民健康栄養調査の 70 歳以上女性の平均値 146.9±6.1cm、49.7±8.5、23.0±3.7 kg/m<sup>2</sup> と近似値であった。また

BMI ≥ 25kg/m<sup>2</sup> の肥満者は 17.8%、BMI < 18.5kg/m<sup>2</sup> の痩せが 12.2%、腹囲 ≥ 90cm が 36.7%、我が国でのメタボリックシンドロームの基準に合致するものは 7.8%であり、同調査における 26.5%、9.0%、32.9%、10.3%と比較すると、本集団では BMI が高いものの割合が少なく、メタボリックシンドロームをもつものが比較的少ない集団と考えられる。これは糖尿病治療を受けているものを除外したこと、肥満者に対して骨密度検査が行われなかったことが影響していると考えられる。

高齢者においても、腹部 CT から求めた VFA の増加が、インスリン抵抗性やアディポネクチン分泌抑制を介して、メタボリックシンドロームのリスクファクターの増加に関連があることを以前報告したが、今回、SMI の単相関では、年齢と負、BMI・VFA との間には正の有意な相関が認められ、SMI は加齢により低下するものの、BMI・VFA 両者とも密接な関連があり、このことは筋肉量の多いものには、肥満者が多いことを表しており、SMI 単独でのリスク因子との評価は困難であることを示していた。そこで SMI を 3 分位に分け、さらに解析を行ったところ予測されたように、SMI による 3 分位ではリスク数との間には有意差はなかった。しかし、興味深いことに、3 群内でのそれぞれの VFA 値による 2 群間では、低 SMI 群でのみ、高 VFA 群が低 VFA 群と比較し、リスク数上昇の有意な関連が認められた。このことから、高齢者のメタボリックシンドロームにおいて、筋肉量の低下が背景にある場合に、内臓脂肪の蓄積が加わるとより顕著にメタボリックシンドロームのリスクを上昇させることが示された。こ

のことは、sarcopenic obesity に代表される筋肉量の低下と内臓脂肪の蓄積を持つものの要介護状態や死亡のリスクが上昇する原因として、心血管病の発症が関与している可能性がある。一方では、四肢筋肉量が単純に運動習慣を反映しており、運動習慣のない内臓型肥満者において、メタボリックシンドロームが顕著となりやすいことを表している可能性も考えられた。

次に、重回帰分析を行い、BMI の調整後、VFA はリスク数との有意な正の相関が、筋肉量はリスク数との有意な負の相関がそれぞれ独立して認められることが分かった。このことから、筋肉量低下も隠れたメタボリックシンドロームのリスク要因であり、我々が最初に立てた仮説である高齢者のメタボリックシンドロームには内臓脂肪以外にも筋肉量が重要な因子となっていることが示唆された。さらに、この解析で年齢調整を加えると、筋肉量でのみ関連が消失したことは、筋肉量とリスク数との関連では、加齢に伴う筋肉量の低下が大きな原因であることを示しており、四肢の筋肉量が健康的な指標となる生理的な年齢予測の評価として有用である可能性が考えられた。

多くの研究の結果から、メタボリックシンドロームは前糖尿病状態であると考えられている。高齢者においても、糖尿病は死亡や心血管病のリスクとなるが運動を中心とする減量療法により、新規発症や心血管病発症が改善することが知られており、早期の段階で個人のリスク評価を行い、介入を行うことで、健康寿命の延長、QOL の上昇が期待できる。

これまでの高齢者における肥満と死亡率の多く

の研究では、BMI が用いられることが多く、その結果は、高齢者ではあまりリスクとならない、あるいは低体重のもので予後が悪いとの報告が多かった。Wannamethee SG らは、心不全のない高齢者 4,107 人の 6 年間の追跡調査において、BMI と死亡率には有意な関連が認められなかったが、筋肉量低下群および内臓脂肪過剰群ではそれぞれが独立して有意な死亡率上昇と関連があることを報告した (Am J Clin Nutr; 86:1339, 2007)。これらの結果からは、高齢者においては、BMI による評価ではなく、内臓脂肪および筋肉量を正確に評価しなければ、きちんとした評価が得られないことを示している。本研究では、正確な評価を行うため、栄養代謝の影響している可能性のある疾患などを極力除外し、腹部 CT による内臓脂肪の正確な評価、DXA 法による筋肉量の正確な評価を行った数少ない研究である。しかし、このような検査はスクリーニングとしては、コストや被曝、時間など臨床での実用性の面からは適切ではない。

今後は、高齢者の筋肉量・内臓脂肪量を中心とした正確なリスクを把握するための大規模な臨床調査が必要であり、さらにその結果から簡便なマーカーの作成されることが期待される。

#### E. 結論

本研究の結論として、高齢女性における加齢に伴う筋肉量減少は、内臓脂肪とリスク数との関連を増長させ、さらには内臓脂肪とは独立してリスク数に影響を及ぼしていることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照のこと。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Azuma K, Casey SC, Ito M, Urano T, Horie K, Ouchi Y, Kirchner S, Blumberg B, Inoue S. Pregnane X receptor knockout mice display osteopenia with reduced bone formation and enhanced bone resorption. *J Endocrinol.* ( in press)
  - 2) Ota H, Eto M, Kano MR, Kahyo T, Setou M, Ogawa S, Iijima K, Akishita M, Ouchi Y. Induction of Endothelial Nitric Oxide Synthase, SIRT1, and Catalase by Statins Inhibits Endothelial Senescence Through the Akt Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(11):2205-11.
  - 3) Nomura K, Eto M, Kojima T, Ogawa S, Iijima K, Nakamura T, Araki A, Akishita M, Ouchi Y. Visceral fat accumulation and metabolic risk factor clustering in older adults. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58(9):1658-63.
  - 4) Koizumi H, Yu J, Hashimoto R, Ouchi Y, Okabe T. Involvement of androgen receptor in nitric oxide production induced by icariin in human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Lett.* 2010;584(11):2440-4.
  - 5) Fukai S, Akishita M, Yamada S, Toba K, Ouchi Y. Effects of testosterone in older men with mild to moderate cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 2010;58(7):1419-21
  - 6) Yamada S, Akishita M, Fukai S, Ogawa S, Yamaguchi K, Matsuyama J, Kozaki K, Toba K, Ouchi Y. Effects of dehydroepiandrosterone supplementation on cognitive function and ADL in older women with mild to moderate cognitive impairment. *Geriatr Gerontol Int.* 2010;10(4):280-7.
  - 7) Akishita M, Fukai S, Hashimoto M, Kameyama Y, Nomura K, Nakamura T, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Association of low testosterone with metabolic syndrome and its components in middle-aged Japanese men. *Hypertens Res.* 2010;33(6):587-91.
  - 8) Ota H, Eto M, Ogawa S, Iijima K, Akishita M, Ouchi Y. SIRT1/eNOS Axis as a Potential Target against Vascular Senescence, Dysfunction and Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2010;17(5):431-5.
  - 9) Azuma K, Urano T, Ouchi Y, Inoue S. Glucocorticoid-induced gene tripartite motif-containing 63 (TRIM63) promotes differentiation of osteoblastic cells. *Endocr J.* 2010;57(5):455-62.
  - 10) Iijima K, Hashimoto H, Hashimoto M, Son BK, Ota H, Ogawa S, Eto M, Akishita M, Ouchi Y. Aortic arch calcification detectable on chest X-ray is a strong independent predictor of cardiovascular events beyond traditional risk factors. *Atherosclerosis.* 2010;210(1):137-44.
  - 11) Yu J, Akishita M, Eto M, Ogawa S, Son BK, Kato S, Ouchi Y, Okabe T. Androgen receptor-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells: role of phosphatidylinositol 3-kinase/akt pathway. *Endocrinology.* 2010;151(4):1822-8.
  - 12) Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Ijichi N, Ikeda K, Kumagai J, Murata T, Takayama K, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Muramatsu M, Homma Y, Inoue S. Differential expression of estrogen-related receptors beta and gamma (ERRbeta and ERRgamma) and their clinical significance in human prostate cancer. *Cancer Sci.* 2010;101(3):646-51.
  - 13) Fukai S, Akishita M, Miyao M, Ishida K, Toba K, Ouchi Y. Age-related changes in plasma androgen levels and their association with cardiovascular risk factors in male Japanese office workers. *Geriatr Gerontol Int.* 2010;10(1):32-9.
  - 14) Son BK, Akishita M, Iijima K, Ogawa S, Maemura K, Yu J, Takeyama K, Kato S, Eto M, Ouchi Y. Androgen receptor-dependent transactivation of growth arrest-specific gene 6 mediates inhibitory effects of testosterone on vascular calcification. *J Biol Chem.* 2010;285(10):7537-44.
  - 15) Akishita M, Hashimoto M, Ohike Y, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Low testosterone level as a predictor of cardiovascular events in Japanese men with coronary risk factors. *Atherosclerosis.* 2010;210(1):232-6.
  - 16) Urano T, Narusawa K, Kobayashi S, Shiraki M, Horie-Inoue K, Sasaki N, Hosoi T, Ouchi Y, Nakamura T, Inoue S. Association of HTRA1 promoter polymorphism with spinal disc degeneration in Japanese women. *J Bone Miner Metab.* 2010;28(2):220-6
- ### 2. 学会発表
- 1) Ouchi Y: Vascular endothelial cell senescence and Sir2/Sirt1. The World Economic Forum Annual Meeting 2010, 2010.9.12-15, Tianjin, China.
  - 2) 大内尉義. 【専門医教育セミナー】認知症高齢者に合併しやすい身体症状とその対応. 第29回日本認知症学会学術集会、2010.11.7、名古屋
  - 3) 大内尉義. 中高年男性の健康とアンドロゲン. 第43回日本内科学会中国支部生涯教育講演会、2010.11.14 岡山
  - 4) 大内尉義. 長寿遺伝子 Sirt 1 と血管老化. 昭和大学大学院歯学研究科・口腔癌包括的研究センター平成22年度合同シンポジウム、2011.3.26、東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

平成22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）

＜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＞

分担研究報告書

肥満症の疫学研究調査（H22-国医一指定-005）

研究分担者 渡邊昌 国立健康・栄養研究所

#### 研究要旨

住民ベースのコホート集団からの糖尿病発症に肥満がどれくらいリスクにあるかを検討した。1990-1992年に健康診断受診者の内40-59歳の3572名を対象に平均10年間追跡した。BMIを3群にわけ、その後の糖尿病発症のリスクはBMI18.5未満が3/1084、18.5-25は127/27184、25以上は111/9810であった。BMI25以上のハザード比は2.4前後で肥満は独立した危険因子であることが証明できた。

#### A. 研究目的

【目的】佐久で建設した住民健診データベースもちいて壮年期から中年期のBMIと糖尿病発症との関連、またそれに及ぼす喫煙の影響を検討し、一般住民の肥満のリスクを疫学的に検討した。

#### B. 研究方法

【方法】1990-92年度に長野県厚生連健康管理センターの健康診断を受診した40-59歳の地域住民で、1978-80年度の健康診断受診歴のある4021名のうち、空腹時血糖126mg/dl以上の者、随時血糖200mg/dl以上の者、糖尿病既往者、脳卒中・冠動脈性疾患・肝臓病既往者等を除いた3572名を対象として、2005年まで追跡し、糖尿病発症をBMIの群別に3群（18.5未満、18.5-25

未満、25以上）に分類し、糖尿病発症へのリスクを年齢などの交絡因子を調整したCox回帰分析により算出した。

（倫理面への配慮）研究計画は佐久総合病院倫理審査委員会の承認を得、データ解析には匿名化したデータベースを作成して解析した。

#### C. 研究結果

3584例のBMI3群の人数は18.5未満103名、18.5-25未満が2531名、25以上が950名であった。平均年齢はいずれも50歳である。ベースライン時の各群の特徴を表1に示す（表1）。高血圧、腎臓病は有意に肥満者におおかった。検査成績でも血圧、コレステロール、TG、尿酸、肝機能、随時血糖値などもBMI25以上群に多かった。

表1: グループのBMI n=3584

	18.5以下	18.6以上25未満	25以上
ベースライン	17.5±0.75	22.2±1.6	27.0±1.9
平均値±標準偏差			

表2: ベースライン(1990-92)時の特性 n=3584

	18.5未満	18.5以上25未満	25以上	P値	
総数	103	2531	950		
年齢: 歳	50.0±6.2	50.3±6.1	50.8±5.8	0.094	共変量
性別: 男	21 (21.0)	813 (32.3)	336(35.1)	0.012*	共変量
職業: 有	99 (99.0)	2452 (97.5)	941 (98.3)	0.232	
配偶者: 有	87 (87.0)	2270 (90.3)	854 (89.2)	0.418	
既往歴: 有					
高血圧	3 (3.0)	252 (10.0)	151 (15.8)	<0.001*	
糖尿病	0 (0)	24 (1.0)	18 (1.9)	0.040*	
家族歴: 有					
糖尿病	11 (11.0)	215 (8.5)	73 (7.6)	0.429	
高血圧	29 (29.0)	860 (34.2)	333 (34.8)	0.509	
運動習慣: 有	33 (33.0)	922 (36.7)	315 (32.9)	0.104	共変量
飲酒習慣: 有	19 (19.0)	863 (34.3)	358 (37.4)	.001	共変量
喫煙習慣				0.018*	共変量
喫煙	22 (22.0)	456 (18.1)	162 (16.9)		
禁煙	4 (4.0)	223 (8.9)	114 (11.9)		
非喫煙	74 (74.0)	1836 (73.0)	681 (71.2)		
収縮期血圧	117.6±14.5	122.0±15.8	128.5±16.8	<0.001*	共変量
拡張期血圧	74.2±9.6	77.4±10.4	81.8±10.6	<0.001*	
総コレステロール	187.2±29.1	194.8±34.0	204.6±35.9	<0.001*	共変量
トリグリセリド	68.5 [53.3-83.5]	91.0 [64.0-135.0]	133.0 [90.0-192.0]	<0.001*	共変量
尿酸	4.0±1.0	4.4±1.2	5.0±1.4	<0.001*	
GOT	18 [15-23.8]	18 [16-23]	20 [17-24]	<0.001*	
GPT	13 [11-18.8]	16 [12-21]	20 [15-27]	<0.001*	
随時血糖値	98.3±18.7	101.4±16.3	105.5±17.7	<0.001*	

正規分布の連続変数: 一元配置分散分析、平均値±標準偏差

非正規分布の連続変数: Kruskal-Wallis H-test、中央値[25パーセンタイル値-75パーセンタイル値]

名義変数: カイ二乗検定、人数(%)

追跡期間は 38078 人年で平均 10.7 年の追跡期間であったが、241 名の糖尿病罹患を把握できた。BMI 群別の罹患数は BMI18.5 未満が 3/1084 (0.27%)、18.5-25 未満が 127/27184 (0.46%)、25 以上が 111/9810 (1.13%)であった。肥満者は 1 年当たり 0.1%の糖尿病罹患率といえる。

表3: 追跡結果と発症人数

totalの人年	平均追跡期間	発症人数
38078	10.7	241

表4: BMIグループ別 発症人数/人年

	18.5未満	18.5以上25未満	25以上
発症人数/人年	3/1084	127/27184	111/9810

BMI グループ別のハザード比と 95%信頼区間を示す。



**BMIグループ別ハザード比と95%信頼区間**

	18.5以下	18.6以上25未満	25以上
発症者数/対象者数			
Model 1: 年齢・性別	0.62 (0.20-1.96)	1	2.38 (1.85-3.07)
Model 2: +喫煙・運動・飲酒習慣	0.60 (0.19-1.88)	1	2.41 (1.86-3.11)
Model 5: ++収縮期血圧・総コレ	0.65 (0.21-2.05)	1	2.14 (1.65-2.78)

**(男性)BMIグループ別ハザード比と95%信頼区間**

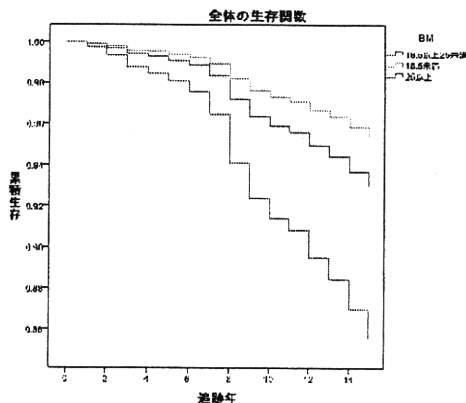
	18.5以下	18.6以上25未満	25以上
発症者数/対象者数			
Model 1: 年齢	0.89 (0.12-6.29)	1	2.25 (1.48-3.43)
Model 2: +喫煙・運動・飲酒習慣	0.76 (0.10-5.60)	1	2.37 (1.55-3.62)
Model 5: ++収縮期血圧・総コレ	0.92 (0.13-6.81)	1	2.07 (1.34-3.20)

**(女性)BMIグループ別ハザード比と95%信頼区間**

	18.5以下	18.6以上25未満	25以上
発症者数/対象者数			
Model 1: 年齢	0.55 (0.13-2.22)	1	2.47 (1.80-3.41)
Model 2: +喫煙・運動・飲酒習慣	0.56 (0.14-2.30)	1	2.47 (1.79-3.40)
Model 5: ++収縮期血圧・総コレ	0.60 (0.15-2.45)	1	2.18 (1.58-3.05)

BMI18.6以上25未満を1とすると、18.5未満ではいずれも1以下のリスクであったが、25以上では年齢、喫煙、運動、飲酒習慣、収縮期血圧、総コレステロールなどを補正しても2以上のハザード比となり、肥満からの糖尿病発症のリスクが独立の要因として確認できた。

生存期間を Kaplan-Meier で求めると、14年まで BMI25以下の群は95%以上の者が生存しているのに対し、25以上の肥満者は8年目から死亡が増え、14年目では85%まで低下した(図)。



#### D. 考察

一般住民の肥満者がどの程度の糖尿病リスクをもつか、長期のフォローアップが可能であったコホートにより明らかにできた。BMI18.5-25未満の者に比べ25以上の男性は2倍以上のリスクを持ち、一年当たりの罹患率は0.1% (1000人に1人)程度であることがわかった。日本中で肥満者数が1000万人とすると年間1万人の糖尿病患者が罹患することになり、肥満者対策の重要性が確認できた。

#### E. 結論

50歳前後の一般住民でBMI25以上の糖尿病罹患リスクはハザード比で2.4前後であり、肥満は独立した危険因子であることが証明できた。これは1年当たり1000人に1人程度の罹患率である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Watanabe S, Shimokawa I, Shirasawa T. Caloric restriction and longevity. Clin Funct Nutr 2010; 2(1):6-11.
2. Watanabe S. Kagawa's four food group point-counting method. Clin Funct Nutr 2010; 2(1):50-52.
3. Watanabe S, Tailor made nutrition for the elderly. Clin Funct Nutr 2010; 2(1):50-3.
4. Prochaska JO, Prochaska JM, Watanabe S. How can we change our lifestyle habits? A psychological approach based on the

transtheoretical model (Pro-Change Behavior System). Clin Funct Nutr 2010; 2(3):118-23.

5. Watanabe S. Diet for longevity. Clin Funct Nutr 2010; 2(3):138-41.
6. Hibi T, Nomoto K, Watanabe S. Inflammatory bowel diseases and intestinal bacterial flora. Clin Funct Nutr 2010; 2(4):174-9.
7. Watanabe S. Changes in dietary habits in Japan- Background of *Shokuiku* and its promotion. Clin Funct Nutr 2010; 2(Suppl 1):9-14.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

平成22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）

＜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＞

分担研究報告書

人間ドックにおけるアディポネクチン測定の意義

— 糜爛性胃炎との関連 —

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

#### 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ものが明らかになり、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。住友病院では、2年前から人間ドックにおいてアディポネクチンを必須検査項目に採用しその意義を検討している。本年度は、消化管疾患とアディポネクチンレベルの関連について検討した結果を報告する。

松澤佑次・財団法人住友病院院長

（倫理面への配慮）

本研究は住友病院および大阪大学倫理委員会で承認されたものである。

#### A. 研究目的

昨年は最近我が国でも増加しつつある非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の発症メカニズムの中で最も重要とされる肝臓組織の炎症と低アディポネクチン血症の関連についてアディポネクチンKOマウスを用いて明らかにした。本年度は人間ドックを受診した成人においてアディポネクチンレベルと糜爛性胃炎との関連を統計学的に分析した結果を示す。

#### B. 研究方法

人間ドック受診者で胃内視鏡検査を受けた2400名について全員アディポネクチンを測定し、内視鏡所見や他の健診データとの関連を分析した。

#### C. 研究結果

内視鏡で糜爛性胃炎と診断された数は248人であった。この群では、

BMI が有意に大きく、アディポネクチンレベルが有意に低いことが明らかになった。アディポネクチンレベルを4分割し、胃炎の頻度を検討しても、アディポネクチンの最も低い群で胃炎頻度が高く、高い群ほど頻度が低くなることが示された。多変量解析においても、低アディポネクチンレベルが独立して胃炎の発症と関係することが明らかになった。多変量解析ではBMIも糜爛性胃炎の発症と関連していた。

#### D. 考察

これまでの報告と同様、糜爛性胃炎の発症に肥満が関与することが確認された。これまで肥満と胃炎の関連に腹腔内の圧上昇や肥満者の食習慣などによって説明されていたが、本研究によりの低アディポネクチン血症が糜爛性胃炎の背景に存在することが明らかになった。アディポネクチンの低下の背景には内臓脂肪の蓄積が最も大きな要因ではあるが、今回のような人間ドックの集団で、肥満と関連しない低アディポネクチン血症も胃炎の要因となりうると考えられる。アディポネクチンは、抗動脈硬化作用、抗糖尿病作用など多彩な防御作用を持つが、その根底に肝臓において証明されたようにマクロファージの活性化阻害など抗炎症作用が重要な意義を持つと考えられる。今回のように人間ドック受診集団というバイアスのかからない集団で、胃炎との関連を明らかに出来たことは、今後動物実験や細胞学的アプローチなどでメカニズムを検討するきっかけとなった点で意義があると思われる。

#### E. 結論

今回人間ドック受診集団で、低アディポネクチン血症が糜爛性胃炎の要因となることを明らかにした。

#### F. 研究発表

1. Yamamoto S, Watabe K, Matsuzawa Y et al: Lower serum level of adiponectin is associated with increased risk of endoscopic erosive gastritis. Dig Dis Sci 2011 in press
2. Matsuzawa Y: Adiponectin: A Key Player in Obesity Related Disorders. Curr Pharm Des. 16(17):1896-901, 2010
3. Matsuzawa Y: Establishment of a concept of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 86(2):131-41, 2010
4. Saito Y, Kita T, Mabuchi H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Nakaya N, Oikawa S, Sasaki J, Shimamoto K, Itakura H: Obesity as a risk factor for coronary events in Japanese patients with hypercholesterolemia on low-dose simvastatin therapy. J Atheroscler Thromb. 17(3):270-7, Epub 2010

平成22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）

＜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＞

分担研究報告書

「メタボリックシンドロームの研究調査」

研究分担者 名前 船橋 徹 所属 大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科

研究要旨：アルブミン尿は糸球球過負荷、血管内皮異常を示す病態とされ、腎不全だけでなく心血管イベントのハイリスク病態として注目されている。メタボリックシンドロームに頻度高くみられるとの報告もあるが、内臓脂肪蓄積やその下流病態との関連は未だ十分検討されていない。本研究は尼崎内臓脂肪研究の一貫として、1990名の男性都市労働者を対象に、尿中アルブミン/クレアチニン比(UACR)と内臓脂肪、種々の心血管疾患危険因子との関連を検討した。Stepwise multiple regression analysisでは簡易測定装置を用いた推定内臓脂肪量、HbA1c、血圧、log TG、年齢がUACRの有意な説明変数であること、肥満、非肥満に関わらず、推定内臓脂肪量100cm<sup>2</sup>以上の群は、それ未満の群に比し、有意にUACRが高値であること、リスクファクターが集積するほどUACRは増加するが、内臓脂肪蓄積者でより顕著であることが明らかになった。アルブミン尿は内臓脂肪蓄積と関連しており、蛋白尿をみたときに内臓脂肪蓄積やマルチプルリスクファクターを評価することは心血管疾患の予防医学上、重要と考えられた。

#### A. 研究目的

内臓脂肪蓄積は、インスリン抵抗性、耐糖能異常、動脈硬化惹起性リポ蛋白異常、血圧上昇などマルチプルリスクファクターを集積する動脈硬化疾患の易発症状態であるとともに、非アルコール性脂肪肝炎や慢性腎臓病など生活習慣に関する多彩な病態と関わっており、わが国を含め、欧米に比し肥満度が低いアジアの地域でもその対策が重要な健康課題となっている。分子メカニズムとして種々のアディポサイトカイン異常、特に我々が発見し機能解析をすすめてきたアディポネクチンの血中濃度低下、すなわち低アディポネクチン血症が重要であることが明らかになってきた。私達はこれまで内臓脂肪に着目した保健指導を実践している職域と協力して尼崎内臓脂肪

研究をおこない、内臓脂肪蓄積と、その解消による、高尿酸血症、低アディポネクチン血症の改善について報告してきた。

近年微量アルブミン尿の測定が可能となり、慢性腎臓病という大きな概念で心血管疾患のハイリスク状態として提唱されている。しかしあまりにも包括的な概念であり、内臓脂肪蓄積やその下流のリスクファクターとの関連は十分検討されていない。本年度は、男性都市労働者を対象に、尿中アルブミン/クレアチニン比(UACR)と内臓脂肪、種々の心血管疾患危険因子との関連を検討し、アルブミン尿という病態における内臓脂肪蓄積の意義を明らかにしようと試みた。

#### B. 方法

対象は健診を受診した兵庫県尼崎市役所男性職員 1990人（年齢 48±10.5歳、BMI

24.0±3.0kg/m<sup>2</sup>)で、尿中アルブミン)は免疫比濁法(N-assay TIA MicroAlb, Nittobo Medical, Japan)で測定した。UACRは朝から午後のいずれかの時間での1回尿検査で検討した。Log-UACRと種々の代謝パラメーターの関係はPearsonの相関係数で、Log-UACRの説明因子はStepwise多変量解析を用い解析した。F値>4.0のパラメーターを独立変数とした。UACRと危険因子数、eVFAの関連はKruskal-Wallis検定を用い、P<0.05を有意値とした。

### C. 研究結果

Log-UACRは、年齢、log-BMI、log-WC、log-eVFA、SBP、DBP、TC、log-TG、HbA1c、UAと正相関、log-アディポネクチン、HDL-Cと逆相関していた。Stepwise重回帰分析によりHbA1c、SBP、log-TG、年齢、log-eVFAがlog-UACRの有意な説明因子であった。

BMIの値に関わらず、eVFA≥100 cm<sup>2</sup>の対象者は100 cm<sup>2</sup>未満の者に比し有意にUACRが高値であった。UACRは危険因子数が多い群ほど有意に高値を示した。特に、危険因子数1個、2個以上持つ内臓脂肪蓄積者は、危険因子数1個、2個以上を持つ内臓脂肪非蓄積者よりもUACRが高値であった。

### D. 考察

今回の検討で、尿中アルブミン量はlog-BMI、log-WC、log-eVFAと正相関したが、肥満の有無より内臓脂肪蓄積と関係することが示された。血圧、血糖、脂質の異常が重なるほどUACRは高値であったが、内臓脂肪蓄積者では、よりUACRが高値であった。内臓脂肪の蓄積そのものがUACRを増加させる可能性が考えられ、そのメカニズムと

して、内臓脂肪蓄積による血管内皮機能異常や糸球体高血圧があげられる。私達はアディポネクチン欠損マウスに糸球体過負荷をかけると糸球体や間質の線維化、尿中アルブミン排泄増加がおこることを報告した。今回の疫学検討では内臓脂肪蓄積が血中アディポネクチン濃度と深く関わるためか、血中アディポネクチン濃度は有意な説明因子としてあげられなかった。さらに有意な体重減少や血圧の低下がUACRを減少させることを縦断研究で示した。

### E. 結論

アルブミン尿を有する例では、内臓脂肪を評価し、蓄積例では減量が予防医学上有用と考えられた。

### F. 健康危険情報 特になし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

・Tamba S et al: Relationship between visceral fat accumulation and urinary albumin-creatinine ratio in middle-aged Japanese men. *Atherosclerosis* 211: 601-605, 2010

・Nakatsuji H et al: One-year reductions in body weight and blood pressure, but not in visceral fat accumulation and adiponectin, improve urinary albumin-to-creatinine ratio in middle-aged Japanese men. *Diabetes Care* 33:e110-111, 2010

#### 2. 学会発表

第53回日本糖尿病学会総会  
第31回日本肥満学会

平成22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）  
＜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＞  
分担研究報告書

脂肪細胞移植による糖尿病を標的とした代謝疾患新規治療法の開発

研究分担者 齋藤 康

研究分担者 武城英明

（千葉大学大学院医学研究院）

**研究要旨** 糖尿病をはじめとする肥満関連疾患は世界中で患者数が増加傾向にあり、その救済は医療現場における最も重要な課題の一つである。本研究の最終目的はインスリン遺伝子を導入した脂肪細胞を患者に自己移植することによる糖尿病新規治療法の開発である。その臨床導入を目指し、遺伝子導入脂肪細胞移植治療法の最初の適応疾患として治療用組換え蛋白の存在しない稀な常染色体劣性遺伝性疾患である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）欠損症を対象とした治療法の開発を進めてきた。LCAT遺伝子導入ヒト脂肪細胞は、GMP製造、移植細胞の品質試験にもとづいて調整し、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。これらの結果、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ない、という特性が明らかになった。さらに遺伝子導入前脂肪細胞の分泌するLCAT蛋白の機能評価としてLCAT欠損症患者血清への*in vitro*添加試験により、LCAT機能欠損によるHDLの成熟障害が改善された。移植時の細胞のscaffoldとしてフィブリンゲルに着目、マウス移植実験で血中へのLCAT蛋白補充を指標において評価した結果、マウス実験で用いられるマトリゲルと同等の性能を見出した。本移植技術の臨床応用に向け厚生労働省へ本計画を申請し厚生科学審議会による審議を受け、その指摘事項に対応する追加検討を実施している。今後、移植技術を至適化し、本治療法の安全性とLCAT欠損マウスモデルで有効性評価及び生着性を確認し本治療法の臨床適用を予定する。臨床で有効性・安全性を確立した後、糖尿病を含む肥満関連疾患への適応研究を目指す。

## A. 研究目的

糖尿病をはじめとする肥満関連疾患は世界中で患者数が増加傾向にある。神経障害、網膜症、腎症などの重篤な合併症を引き起こし、その治療は医療現場における最も重要な課題の一つである。現在のインスリン補充療法は、頻回の投与を必要とし、患者のQOLを著しく低下させる。また、我が国は今後高齢化社会を迎え、

インスリン自己注射の出来ない糖尿病患者の増大が見込まれ、より簡便なインスリン補充療法の確立が求められる。われわれは、糖尿病の新規治療法として、インスリン分泌脂肪細胞の移植治療法の開発を目的とした研究を進めてきた。

平成22年度は、このような背景の中で、遺伝子導入脂肪細胞移植技術を、酵素欠乏症に対する新規治療法として適応するため、治療用組換え蛋白の存在しない

先天性代謝異常症である家族性LCAT欠損症に対する治療法を臨床導入することを目指した研究を実施した。

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. ヒトLCAT遺伝子導入前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白の機能発現評価

天井培養法により調製した前脂肪細胞に対して、レトロウイルスベクターを用いてhLCAT遺伝子を導入し、得られた細胞より培養上清中に分泌されたLCAT蛋白についてその遊離型コレステロールのエステル化能を3H-コレステロールを含む人工基質をもちいて評価した。その結果、導入されたhLCAT遺伝子コピー数に依存したエステル化活性が認められた。また、遺伝子導入法の工夫により、さらに高コピー数の遺伝子導入が可能となっており、臨床効果の発揮に治療用蛋白の更なる分泌が要求される病態にも将来的に応用可能であることが示唆された。

このLCAT欠損症は現在まで報告されているだけでも80種類以上の遺伝子変異が存在するが、この治療技術を臨床応用するためには、本治療法による効果が期待できるかどうかを評価し得る薬効解析システムを構築する必要がある。

われわれは、LCAT欠損症患者血清と健常人血清のリポ蛋白分布の違いに着目し、患者血清に前脂肪細胞が分泌したLCAT蛋白を添加し、添加後のHDLの成熟の度合いを2次元電気泳動とApoA-Iに対するウェスタンブロット法を組み合わせで評価した。その結果、魚眼病(T

1231変異)患者血清において、ApoA-I含有HDLが添加したLCATの用量依存的に高分子側にシフトすること、すなわちHDLの成熟に寄与することを明らかにした(図1、Mol. Genet. Metab. 2011)。このことは、前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白が、患者血清中に補充された際に薬効が期待できることを示している。現在、この解析系を患者適合性評価試験として確立するべく、LCAT欠損症15症例を有するアムステルダム大学アカデミックメディカルセンター(Kastelein教授)との国際共同研究を進めている。

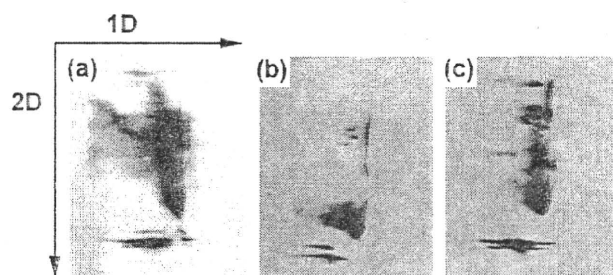


図1 患者血清でのリポ蛋白(ApoA-I)分布改善効果 (a)健常人血清、(b)魚眼病患者血清、未処置、(c)魚眼病患者血清、hLCAT添加24時間処理、について2次元電気泳動後、ApoA-Iに対するウェスタンブロットを行った。

### 2. 移植細胞の機能評価(LCAT蛋白の機能発現評価)と移植用のscaffoldの検討

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実施した。特に、移植細胞懸濁液に混合するscaffoldとして臨床での使用が可能なフィブリンゲルに着目した。マウス脂肪組織より、LCAT遺伝子導入マウス前脂肪細胞を調製、フィブリンゲルと共にマウスへの移植実験を行い、経時的に血清および移植細胞を回収した。マウス移植モデルにてLCAT蛋白の血中への分泌を評価した。その結果、フィブリンゲルは細胞の生存とその後のLCAT蛋白の血中への補充に寄与することが明らかとなった。同時に、マウスでの移植実験でscaffoldとして頻用されるマトリゲルと同等の血中分泌が認められ、フィブリンゲルが遺伝子治療臨床研究で使用可能なscaffoldであることが示唆された(図2)。現在、フィブリンゲルを用いた移植効率の最適化検討を実施している。



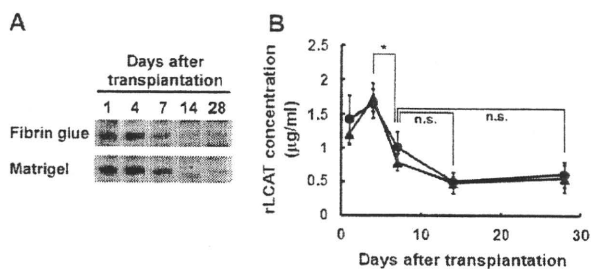


図2 フィブリンゲルの生着、LCAT分泌促進効果  
 フィブリンゲルとマトリゲルをscaffoldとしてhLCAT遺伝子導入マウス前脂肪細胞をB6マウスに皮下移植し、血中へのhLCAT補充について経時的に検討した。A、マウス1個体で経時的に採血を実施し、血中のhLCATを検出した。B、マトリゲル移植群(●)とフィブリンゲル移植群(▲)について血中hLCAT分泌量の比較を行った。

### 3. 家族性LCAT欠損症患者を対象とした臨床研究

平成22年4月、厚生労働省へ遺伝子治療実施計画を、それ申請し厚生科学審議会により審議された。6月、厚生科学審議会作業委員会にて本臨床研究実施計画の概要を説明し、質問・照会事項を7月に受理し、それに対する回答書を10月に提出し追加検討を開始した。平成23年度は、改訂した臨床研究実施計画書を提出する予定である。臨床試験は千葉大学医学部附属病院で実施予定である。

#### (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で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、承認を受けた。さらに臨床研究計画書について厚生科学審議会での審議の後、厚生労働大臣の承認を受けた上で臨床研究を開始する。

### 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、さらには糖尿病を対象として、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実用化するトランスレーショナル研究である。現在の糖尿病に対するインスリン注射は頻回の投与が必須であり、それによる患者QOLの低下が非常に重要な課題である。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。さらに我が国の糖尿病患者は推定2,000万人を超えると考えられており、本治療法の導入による医療経済効果は計り知れない。

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てきた。さらに、hLCAT遺伝子導入前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白が、LCAT欠損症患者血清中で障害されているHDLの成熟を健康人のそれに近づける改善効果があることを明らかにした。また移植における遺伝子導入前脂肪細胞の生着向上にフィブリンゲルが使用できることが示唆された。今後、移植後の持続的なLCAT産生を確保するための細胞移植技術の最適化を行い臨床研究の実施準備に着手する。厚生科学審議会追加検討事項の1つにLCAT遺伝子欠損マウス

での薬効評価試験があり、これまで検討してきた移植生着技術を応用予定である。また、インスリン遺伝子導入脂肪細胞移植治療開発においては、移植後の細胞からの治療蛋白発現の変化について精査する必要がある。これらの基礎検討を実施し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) Aoyagi Y, Kuroda M, Asada S, Bujo H, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Ishii I, Aso M, Saito Y. Fibrin glue increases the cell survival and the transduced gene product secretion of the ceiling culture-derived adipocytes transplanted in mice. *Exp Mol Med.* 2011; 43: 161-167.
- 2) Kuroda M, Aoyagi Y, Asada S, Bujo H, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Ishii I, Machida K, Matsumoto F, Satoh K, Aso M, Saito Y. Ceiling culture-derived proliferative adipocytes are a possible delivery vehicle in enzyme replacement therapy in lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency. *The Open Gene Ther. J.* 2011; 4: 1-10.
- 3) Asada S, Kuroda M, Aoyagi Y, Bujo H, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Ishii I, Aso M, Saito Y. Disturbed apolipoprotein A-I-containing lipoproteins in fish-eye disease are improved by the lecithin:cholesterol acyltransferase produced by gene-transduced adipocytes *in vitro*. *Mol Genet Metab.* 2011; 102: 229-231
- 4) Ikeuchi T, Hirayama S, Miida T, Fukamachi I, Tokutake T, Ebinuma H, Takubo K, Kaneko H,

Kasuga K, Kakita A, Takahashi H, Bujo H, Saito Y, Nishizawa M. Increased levels of soluble LR11 in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;30:28-32.

- 5) Unoki-Kubota H, Yamagishi S, Takeuchi M, Bujo H, Saito Y. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation end product (AGE) formation ameliorates insulin resistance in obese, type 2 diabetic mice. *Protein Pept Lett.* 2010; 17: 1177-1181.
- 6) Takahashi M, Bujo H, Jiang M, Noike H, Saito Y, Shirai K. Enhanced circulating soluble LR11 in patients with coronary organic stenosis. *Atherosclerosis.* 2010; 210: 581-584.

## H. 知的財産権の出願、登録状況

「遺伝子治療用脂肪細胞の調製のための外来遺伝子の導入に適した細胞集団かどうかを判定する方法」

出願番号：PCT/JP2011/050919

出願日：平成 23 年 1 月 20 日

平成22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）

＜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＞

分担研究報告書

新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子 IBCAP (Intestinal Beta-cell Augmenting Promoter)  
に関する研究

研究分担者 豊島 秀男 自治医科大学 総合医学第1講座 准教授

#### 研究要旨

我々は、これまでに新規消化管ホルモンを探索し、候補となる新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子 IBCAP (Intestinal Beta-cell Augmenting Promoter)の同定に成功し、その解析を進めた。その結果、IBCAP は膵臓に作用し、膵臓の形成や増殖などに関与する可能性が示唆され、糖尿病治療や再生治療に結びつく可能性が考えられた。

#### A. 研究目的

我々は、これまでに新規消化管ホルモンを探索し、候補となる新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子 IBCAP (Intestinal Beta-cell Augmenting Promoter)の同定に成功し、その解析を進めてきた。現在、様々な糖尿病・肥満研究も報告から、消化管ホルモンはエネルギー代謝に密接に関わっていることが明らかとなっているため、この IBCAP の機能や生理的意義を解明することは、糖尿病、肥満に対する新たな治療法の開発へ発展する可能性が考えられたため、本研究の目的とした。

#### B. 研究方法

① IBCAP 活性体ペプチドの1次構造の決定を目指し、IBCAP 強制発現細胞培養上清からの精製を行った。

② 遺伝子改変動物モデル (IBCAP-トランスジェニック (Tg) マウスおよび IBCAP-ノックアウト (KO) マウス) を作成し解析した。

#### C. 研究結果

① 遺伝子産物はプレホルモンから切断されて分泌および活性化される可能性を示唆するデータを得ている。今後の大量発現-精製方法を確立しつつある。

② IBCAP 遺伝子は、膵臓に作用し、膵臓の形成や増殖などに関与する可能性が示唆された。

#### D. 考察

IBCAP 遺伝子は、膵臓に作用し、膵臓の形成や増殖などに関与する可能性が示唆された。

#### E. 結論

糖尿病治療や再生治療に結びつく可能性が考えられる。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表

- 1: Saito T, Sato N, Kimoto M, Asano T, Aoki A, Ikoma A, Toyoshima H, Kawakami M, Ishikawa SE. Incomplete deficiency of hypothalamic hormones in hypothalamic hypopituitarism associated with an old traumatic brain injury. *Endocr J.* 2009;56(8):945-50.
- 2: Yoshida M, Dezaki K, Yamato S, Aoki A, Sugawara H, Toyoshima H, Ishikawa SE, Kawakami M, Nakata M, Yada T, Kakei M. Regulation of voltage-gated K<sup>+</sup> channels by glucose metabolism in pancreatic beta-cells. *FEBS Lett.* 2009 Jul 7;583(13):2225-30.
- 3: Watanabe K, Okamoto F, Yokoo T, Iida KT, Suzuki H, Shimano H, Oshika T, Yamada N, Toyoshima H. SPARC is a major secretory gene expressed and involved in the development of proliferative diabetic retinopathy. *J Atheroscler Thromb.* 2009 Apr;16(2):69-76.
- 4: Murata M, Saito T, Otani T, Sasaki M, Ikoma A, Toyoshima H, Kawakami M, Ishikawa SE. An Increase in Serum Retinol-Binding Protein 4 in the Type 2 Diabetic Subjects with Nephropathy. *Endocr J.* 2009 Apr;56(2):287-94
5. Tomotaka YOKOO Transgenic Mice Expressing an Intestine-Specific Secretory Protein, IBCAP (Formerly CF266), Demonstrates Pancreatic  $\beta$ -Cell Augmenting Activity. *Endocrine Reviews* 31(3) Suppl 1 2010 S1-S2558
6. Tomotaka YOKOO Transgenic mice expressing an intestine-specific secretory protein, IBCAP, demonstrates pancreatic beta cell augmenting activity *Diabetologia* 53(Suppl1)2010 S1-S556
2. 学会発表
1. 横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、豊島秀男 新規消化管特異的分泌タンパク IBCAP の機能解析 第 82 回日本生化学会大会 (神戸) 2009.10
2. 横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、豊島秀男 膵  $\beta$  細胞増加作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパク IBCAP の解析 第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会 (大阪) 2009.5
3. 第 92 回 米国内分泌学会年次集会 (ENDO 2010) 2010 年 6 月 19 日 San Diego Convention Center (サンディエゴ)
- 第 46 回 欧州糖尿病学会議 (EASD) 2010 年 9 月 22 日 STOCKHOLMSMÄSSAN (ストックホルム)
- 横尾 友隆 インスリン分泌刺激作用を持つ新規消化管特異的分泌タンパク IBCAP の機能解析 第 8 回 RCGM フロンティア国際シンポジウム 2010 年 11 月 3 日 埼玉医科大学 (埼玉県日高市)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得