

厚生労働科学研究費

循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

循環器リスクと耐糖能障害の効率的な

健診マーカーの探索

平成 22 年度 総括研究報告書

主任研究者 武田 純

平成 23 年 (2011) 5 月

【目次】

1 総括研究報告	————	2
----------	------	---

「循環器リスクと耐糖能障害の効率的な健診マーカーの探索」
岐阜大学大学院医学系研究科 内分泌代謝病態学

武田 純（代表）

堀川幸男

鈴木英司

山本真由美

永田知里

2 研究成果の刊行に関する一覧表	————	10
------------------	------	----

3 研究成果の刊行物	————	14
------------	------	----

【 1 】 総括研究報告

厚生労働省科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）

総括研究報告書

循環器リスクと耐糖能障害の効率的な健診マーカーの探索

主任研究者 武田 純

岐阜大学大学院医学系研究科

分子構造学講座 内分泌代謝病態学分野 教授

研究要旨

2型糖尿病は軽症段階や予備軍であっても、心血管イベントの重要リスクとなることが明らかとなっている。前年度の成績から、初年度調査によって日本人の耐糖能異常は60%が非肥満であり、境界型の段階から肥満の有無を問わず、体質的にインスリン分泌の初期反応が低下していることが確認された。一方、心血管イベントリスクである脂質異常に関しては、高LDL血症はインスリン分泌不全と抵抗性のいずれにも有意の関連性を示さなかったため、耐糖能異常とは独立したリスクと考えられた。しかし、高TG血症に関しては、耐糖能異常の初期段階からインスリン分泌不全ではなく、むしろインスリン抵抗性と有意に関連したため、生活習慣の改善が予防的に重要と結論された。そこで、本調査で検出された初期段階の対象者に対して、36ページにわたる生活習慣とQOLに関する自記式質問票による調査を実施して、発症促進や抑制に関する生活要因、生活指導の効率性に関与する抑制因子について検討した。

分担者

岐阜大学 医学部附属病院 医療連携センター

堀川幸男（副センター長、准教授）

岐阜大学 大学院医学系研究科 疫学・予防医学分野

永田知里（教授）

岐阜大学 保健管理センター

山本眞由美（教授）

岐阜大学 大学院医学系研究科 健康障害半減講座（岐阜県寄附講座、5年間の時限）

鈴木英司（准教授）（現在、岐阜県総合医療センターに異動）

A. 研究目的

耐糖能異常は軽症段階の糖尿病や境界型（予備軍）であっても心血管イベントの重要リスクである。しかし、耐糖能異常も循環器疾患も共に不均一な病態なので、効率的な予防を行なうには、日本人の病態とリンクした健診項目の設定と個々の体質や生活特性に配慮した保健指導が必要である。

平成15-17年度に、脳梗塞多発地域である東濃の恵那保健所管区で、健診でHbA1c 5.5以上であった住民162人を対象として糖負荷試験(GTT)を実施し、耐糖能異常について6ヶ月間の保健師による生活指導介入を行なった。その結果、大半において耐糖能の改善が認められ、その効果は1年後も継続した。そこで同研究を拡大し、感受性素因と不応素因を選別して健診項目と指導内容に反映させることを考案した。

糖尿病の発症や進展を予防するためには、糖尿病に対する正しい認識を持つことは重要である。しかし、糖尿病患者に対する療養指導において、患者の持つ糖尿病のマイナスイメージが糖尿病教育を行う上で妨げになることをしばしば経験する。そこで当該年度は、岐阜市民に対して実施したアンケート調査結果より、糖尿病に対するイメージ形成に影響を与える要因について解析を行った。

また、健診などで「糖尿病または糖尿病の気がある」と指摘されると、医療機関や保健センターなどで指導を受ける人もいるが、自己判断で放置している人も多い。糖尿病患者は、インスリン注射や低血糖など治療に伴う生活への負荷のためか、QOLが低いことが報告されている。糖尿病を指摘された人に早期介入することで、合併症を予防してQOLの向

上を目指すことは重要であるが、一方、糖尿病を早期に指摘すること自体がQOLに影響を与えているかどうかは不明である。そこで、アンケート調査結果より、糖尿病を指摘されたことのある群ではそうでない群に比べQOLに影響があるか検討し、他の生活習慣病（高血圧、脂質異常症、肥満）を指摘されたことのある群と比較検討を行った。

一方、診断によって自己努力で生活習慣の改善を試みる場合は少なくない。しかし、食生活や運動への関心に加えて、市販の健康食品への関心は少なくない。近年、特定保健食品（以下、トクホ）の市場は拡大しているが、使用実態は十分に把握されていない。糖尿病診療においても、患者が“トクホは副作用がない、食品だ”などと過信して医療者側に伝えられないため、食事・運動療法が形骸化や、不適切な使用で医薬品と相互作用が出現しないか、などと懸念される。今回、アンケート調査結果を利用して、糖尿病の指摘を受ける事とトクホの使用動向との関係について検討した。

当該年度は、アンケート調査のうちで、生活関連の事項に焦点を絞って解析した。

B. 研究方法

（糖尿病に対するイメージ形成に影響する要因の解析）

自己記入式調査票で得られた有効回答数1,101人分（回収率は20.9%）の調査内容において、糖尿病のイメージに関する7項目

（糖尿病発症・インスリン・手術・妊娠・内服薬・重症化・治療）の質問に対する選択形式の回答（マイナスイメージを1点、それ以外を0点として計算）と、「性別」、「年齢（65

歳以上、65歳未満)、「糖尿病の家族歴の有無」、「糖尿病を指摘されたことの有無」の回答を利用した。7項目の各イメージにおけるマイナスイメージ保持者数と7項目の合計スコアに、その他の各要因が与える影響について解析を行った。解析はMann-Whitney U-test および Chi square test を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(生活状況調査)

初年度に自記式質問票(36ページ)を作成し、アンケート調査を実施した。本質問票により、性別、生年月日、家庭環境、職業等の背景、既往歴、20歳時からの体重の増減、健康状態、睡眠時間、喫煙習慣と受動喫煙、歯の衛生、家族の人数と既往歴、糖尿病の知識(24問)、ストレステスト(12問)、食習慣と食事内容、健康食品、嗜好品、運動習慣、QOL-26、女性の妊娠・出産歴・閉経などの情報収集を行なった。

当該年度は、本生活調査データに基づいて生活指導の効率性を向上させる因子について解析した。

(糖尿病の指摘を受けることと特定保健食品の使用動向について)

調査内容のうち、性別、年齢、既往歴、トクホの使用の有無(過去1年間に少なくとも1週間に1回以上取り続けたことがあるか)とその種類(血圧、コレステロール、血糖、骨に関するトクホ)について、JMP ver. 7を用いて χ^2 検定で解析した。 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(QOL に対する生活習慣病の影響に関する検討)

自己記入式アンケート調査(WHO-QOL26を含む)を行い、その結果を男女別に解析した。

各疾患については、「医師や看護師に指摘されたことがある、または治療を受けたことがある」ものとした。解析はStat Flex Ver. 6を用いて、Mann-Whitney U-testにて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

倫理面への配慮

全ての実験はヘルシンキ宣言と3省庁合同指針を遵守して行われる。本研究の内容、個人情報保護の配慮糖については、岐阜大学大学院医学研究科、疫学研究に関する「倫理審査委員会」の承認を受けている。

サンプル検体の研究利用範囲について医療専門職(医師・看護師)が、市民協力者の本人に面接して十分に説明した。協力者本人の内容の理解を確認したうえで、書面による同意、ならびに書面による撤回の自由の確認を行った。臨床上の個人情報を含めて、研究ソースはすべて本研究に関わらない秘守義務を負う識別管理者(研究機関が指定)が管理する。

C. 結果

(インスリン分泌能・感受性と脂質代謝異常に関する検討)

HbA1c 5.5%をカットオフポイントとすると、60歳未満では、75g OGTTで判定される耐糖能異常を抽出する感度は83.3、特異度は79.5であり健診に耐えうる指標と考えられた。しかし、60歳以上だと、感受性80.7、特異度62.7と両者とも低下、適応に注意を要することが示された。一方、HbA1c 5.3%に設定すると、60歳未満でも感度68.9、特異度60.3であり、60歳以上でも感受性75.2特異度43.7と著しく低下することが示されたので、メタボ健診の基準では効率性におい

て問題があると結論された。

インスリン抵抗性 (HOMA-R)、 β 細胞機能 (HOMA- β) は肥満度 (BMI) と有意な正の相関関係があったが、インスリン分泌能 (Insulinogenic index) は BMI に関係がなかったもので、体質に依存すると考えられた。

一方、中性脂肪を正常群と異常群に分けると、HOMA-R (1.4 ± 0.04 vs 2.0 ± 0.1 , $p < 0.0001$)、HOMA- β (75.8 ± 2.1 vs 92.2 ± 4.2 , $p = 0.001$) に有意な差があり、高中性脂肪血症はインスリン抵抗性や β 細胞機能低下を惹起することが示唆された。しかし、高コレステロール血症 (HOMA-R $p = 0.54$, HOMA- β $p = 0.55$) や高 LDL 血症 (HOMA-R $p = 0.05$, HOMA- β $p = 0.75$) では、正常群と異常群の間にこのような有意差は認めなかった。一方、Insulinogenic index は TG, T-Chol, LDL のいずれにも有意に関連しなかった ($p = 0.13$, $p = 0.75$, $p = 0.69$)。

(糖尿病に対するイメージ形成に影響する要因の解析)

合計スコアは、「年齢」、「家族歴の有無」、「糖尿病指摘の有無」で有意差を認めなかったが、「性別」において男性の方が女性より有意に高かった。7項目のマイナスイメージ保持者数を各要因別に比較した結果、「性別」と「糖尿病の家族歴の有無」では5項目のイメージに、また「年齢」では4項目のイメージに有意差を認めたが、「糖尿病を指摘されたことの有無」では1項目に有意差を認めるのみであった。以上より、女性より男性の方が、糖尿病の家族歴が有るより無い方が、65歳未満より以上の方が、糖尿病のマイナスイメージを強く持っていることが明らかとなった。性別、年齢、家族歴は適切な患者教育

を進める上で配慮すべき項目と考えられた。また、糖尿病を過去に指摘されてもいなくても、イメージに差がないことは、一般市民では指摘によって糖尿病のイメージが変わらなかったことを示しており、現在の糖尿病初期教育の不十分さが示唆された。初期教育は、その後の血糖コントロールに大きな影響を及ぼし重要であるため、患者の糖尿病に対する正しい認識形成を図る指導努力が必要である。

(糖尿病・高血圧・脂質異常に関する特定保健食品の使用実態)

トクホの種類を問わず、その使用者数を解析すると、女性が男性よりも、また40、50歳代が60、70歳代よりも有意に多かったが、過去に指摘された疾患名別では有意差がなかった。トクホの種類別に使用者数を解析すると、過去に「糖尿病あるいは糖尿病の気がある指摘を受けた」群はそうでない群に比し、血糖に関するトクホが有意に多かった。同様に、過去に「高血圧」、「高脂血症」、「骨粗鬆症」の指摘をされた群もそうでない群に比し、それぞれ、血圧、コレステロール、骨に関するトクホの使用が有意に多かった。しかし、「肥満」、「脂肪肝」はじめその他の各種疾患を過去に指摘された群とそうでない群でそれぞれ解析したが、使用者数に有意差はなかった。

過去の“糖尿病”“糖尿病の気”の指摘は“血糖に関する食品”を購入する大きな誘引になっている事が示唆された。医療専門職に糖尿病の指摘を受けても、トクホ購入という安易な方法やトクホへの過信に走り、医療機関での指導や管理に入らない可能性がある。本傾向は血圧、脂質、骨粗鬆症でも同様で、

糖尿病患者ではこれらの疾病を合併することも多く、さらに注意が必要である。糖尿病患者指導においては、トクホの限界を指導しトクホを使用している場合は情報を共有する心がけが必要であり、トクホの使用希望の強い患者には、トクホを安全かつ有効に医薬品と併用利用できるよう指導することが重要である。

(QOL に及ぼす生活習慣病の影響に関する検討)

QOL の平均値は、糖尿病を指摘されたことのある群はそうでない群に比して有意に低く (3.36 ± 0.46 vs. 3.46 ± 0.42 , $p < 0.01$)、男女別でみると、女性のみ有意差が見られた。肥満群でも同様の有意差を認めた (3.35 ± 0.48 vs. 3.45 ± 0.43 , $p = 0.02$) が、高血圧群や脂質異常症群では、男女とも QOL の平均値に有意差を認めなかった。QOL の項目別では、糖尿病群、肥満群、高血圧群では身体的領域と全体項目で QOL の点数が有意に低く、高血圧群では社会的領域でも有意差を認めた (3.30 ± 0.53 vs. 3.40 ± 0.51 , $p = 0.02$)。心理的領域、環境領域ではどの群でも有意差を認めなかった。

D. 考察

前年度の我々の成績から、日本人では糖尿病や心血管病には分泌不全を基盤として、軽度のインスリン抵抗性が関与する図式が確認されている。また、心血管イベントに関連する中性脂肪の異常は生活習慣に関連したインスリン抵抗性や代償性分泌能が日本人において関与することが明らかになった。従って、リスク軽減にはより強力に生活改善に介入することが重要である。

意識面では、一般市民において、糖尿病または糖尿病の気があると指摘されることは QOL の低下につながるが、同じような生活習慣病であっても、高血圧や脂質異常症を指摘されることは QOL には影響が少ないことが今回の調査で明らかとなった。これは、一般市民が持つ糖尿病という疾患が与えるイメージの悪さや間違った知識、医療者による指導の厳しさなどが関与している可能性が推察される。早期介入における適切な患者教育には、QOL への配慮も必要と考えられる。一方、男女差が見られたことは、疾患を指摘されたことに対する受け止め方の違いに性差が関与すると考えられる。指導に当たる医療者は留意が必要である。従って、糖尿病に対する偏見を持たないための市民啓発に加えて、医療者のための教育・指導ガイドラインの確立が必要であろう。

E. 結論

日本人で多くを占めるインスリン分泌不全型の耐糖能異常を早期に健診で検出することが重要である。一方で、軽度であってもインスリン抵抗性は病態の大きな増悪リスクであり生活習慣に大きく依存することが確認された。

生活の改善項目としては、食品や運動そのものだけでなく、生活環境、病気に対する意識、療養への取組み姿勢なども重要と考えられた。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

論文発表

Horikawa Y, Enya M, Iizuka K, Chen G-Y, Kawachi S, Suwa T, and Takeda J.

Synergistic effects of α -glucosidase inhibitors and dipeptidyl peptidase 4 inhibitor treatment.

J. Diabetes Invest. 2: 200-203, 2011.

Nakamura K, Nagata C, Wada K, Tamai Y, Tsuji M, Takatsuka N, Shimizu H.

Cigarette smoking and other lifestyle factors in relation to the risk of pancreatic cancer death: a prospective cohort study in Japan.

Jpn. J. Clin. Oncol. 41: 225-231, 2010.

Nakamura K, Nagata C, Wada K, Fujii K, Kawachi T, Takatsuka N, Shimizu H.

Association of farming with the development of cedar pollinosis in Japanese adults.

Ann. Epidemiol. 20: 804-810, 2010.

Oba S, Nagata C, Nakamura K, Fujii K, Kawachi T, Takatsuka N, and Shimizu H. Dietary glycemic index, glycemic load, and intake of carbohydrate and rice in relation to risk of mortality from stroke and its subtypes in Japanese men and women.

Metabolism 59: 1574-1582, 2010.

Oba S, Nagata C, Nakamura K, Fujii K, Kawachi T, Takatsuka N, and Shimizu H. Consumption of coffee, green tea, oolong tea, black tea, chocolate snacks and the caffeine content in relation to risk of diabetes in Japanese men and women.

Br. J. Nutr. 103: 453-459, 2010.

Nagata C.

Factors to consider in the association between soy isoflavone intake and breast cancer risk.

J. Epidemiol. 20: 83-89, 2010.

Masue T, Wada K, Nagata C, Deguchi T, Hayashi M, Takeda N, Yasuda K.

Lifestyle and health factors associated with stress urinary incontinence in Japanese women.

Maturitas 66: 305-309, 2010.

Nagata C, Nakamura K, Wada K, Oba S, Hayashi M, Takeda N, Yasuda K.

Association of dietary fat, vegetables and antioxidant micronutrients with skin ageing in Japanese women.

Br. J. Nutr. 103: 1493-1498, 2010.

田中生雅、佐渡忠洋、磯村有希、宮地幸雄、白井るり子、高井郁恵、端元加奈子、山本眞由美、清水克時

大学生の健康に対する取り組みと生活環境に関する検討

学会発表

(国内)

下田浩欣、岡安伸二、清水克敏、大庭志野、
伊藤善規、紀ノ定保臣、永田知里、武田純、
山本眞由美

糖尿病の指摘を受けることと特定保健食品
の使用動向について 一岐阜市民を対象と
した糖尿病実態調査の結果より一

第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、岡山
2010. 5. 27. -29.

岡安伸二、下田浩欣、清水克敏、大庭志野、
伊藤善規、紀ノ定保臣、永田知里、武田純、
山本眞由美

糖尿病に対するイメージ形成に影響する要
因の解析 一岐阜市民を対象とした糖尿病実
態調査の結果より一

第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、岡山
2010. 5. 27-29.

野々山由紀子、山本眞由美、大庭志野、松井
一樹、永田知里、武田純

糖尿病を指摘されることが QOL に与える影
響について

第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、札幌
2011. 5. 19-21.

H 知的財産権の出願・登録

- | | |
|----------|----|
| 1 特許取得 | なし |
| 2 実用新案登録 | なし |
| 3 その他 | なし |

【2】研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	ページ	出版年
Horikawa Y. et al.	Synergistic effects of α -glucosidase inhibitors and dipeptidyl peptidase 4 inhibitor treatment.	Journal of Diabetes Investigation	2	200-203	2011
Watanabe T. et al.	Sonographic evaluation of the peripheral nerve in diabetic patients: the relationship between nerve conduction studies, echo intensity, and cross-sectional area.	Journal of Ultrasound Medicine	29	697-708	2010
山本眞由美、他	大学の禁煙推進の取り組みと学生の喫煙変化 -10年の取り組みを経過して-	学校保健研究	52	71-74	2010
山本眞由美	病気のゼロ次予防の重要性 新たな健診・保健指導について	岐阜国保	296	16-17	2010
山本眞由美、他	岐阜県大学保健管理研究会の活動から 大学生のための健康啓発教育冊子出版	CAMPUS HEALTH	7	301-303	2010

田中生雅、他	大学生の健康に対する取り組みと生活環境に関する検討	CAMPUS HEALTH	7	321	2010
佐藤忠洋、他	回答方法がUPI 結果へ与える影響 -自己記入とWeb 回答との比較-	CAMPUS HEALTH	7	340-342	2010
山本眞由美	糖尿病にみられる味覚・食欲異常	栄養評価と治療	27	29-32	2010

著書

発表者氏名	論文タイトル名	著書名、出版社	ページ	出版年
諏訪哲也、他	2型糖尿病	糖尿病研修ノート、 診断と治療社	125-128	2010
山本眞由美	キャンパスライフの健康管理	大学生の健康ナビ 岐阜大学	8-14	2010
山本眞由美	メタボリック症候群、動脈硬化、肥満とやせ	大学生の健康ナビ 岐阜大学	139-143	2010

その他

発表者氏名	論文タイトル名	発表媒体	出版年
武田 純	食後高血糖の古くて、新しい理解と対策	岐阜県保険医新聞 12月10日	2010

飯塚勝美	糖尿病の新診断基準について	ぎふ栄養士だより 2:2-3	2010
堀川幸男	糖尿病地域連携パスについて	岐阜市医師会だより 7月 8-11 ページ	2010

【3】研究成果の刊行物・別刷

Synergistic effect of α -glucosidase inhibitors and dipeptidyl peptidase 4 inhibitor treatment

Yukio Horikawa, Mayumi Enya, Katsumi Iizuka, Gui Ying Chen, Shin-ichi Kawachi, Tetsuya Suwa, Jun Takeda*

ABSTRACT

Monotherapy of α -glucosidase inhibitor (α -GI) or dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) inhibitor does not sufficiently minimize glucose fluctuations in the diabetic state. In the present study, we evaluated the combined effects of various of α -GI inhibitors (acarbose, voglibose or miglitol) and sitagliptin, a DPP4 inhibitor, on blood glucose fluctuation, insulin and active glucagon-like peptide-1 (GLP-1) levels after nutriment loading in mice. Miglitol and sitagliptin elicited a 47% reduction ($P < 0.05$) of the area under the curve of blood glucose levels for up to 2 h after maltose-loading, a 60% reduction ($P < 0.05$) in the range of blood glucose fluctuation, and a 32% decrease in plasma insulin compared with the control group. All three of the combinations elicited a 2.5–4.9-fold synergistic increase in active GLP-1 ($P < 0.05$ vs control). Thus, combined treatment with the α -GI miglitol, which more strongly inhibits the early phase of postprandial hyperglycemia, and DPP4 inhibitor yields both complementary and synergistic effects, and might represent a superior anti-hyperglycemic therapy. (*J Diabetes Invest*, doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00081.x, 2010)

KEY WORDS: Postprandial hyperglycemia, Insulin, Glucagon-like peptide-1

INTRODUCTION

Although active intervention for postprandial hyperglycemia by acarbose, an α -glucosidase inhibitor (α -GI), prevents development of cardiovascular events¹, it is also important to flatten the postprandial glucose fluctuation to prevent macroangiopathy. α -GI not only inhibits the rapid elevation of postprandial blood glucose level without excessive insulin secretion, but also enhances active glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion². In contrast, the dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) inhibitor, sitagliptin, increases insulin secretion and reduces late-phase elevation of postprandial blood glucose level. We hypothesized that a combination of α -GI and sitagliptin might yield a greater minimizing effect on blood glucose fluctuation while conserving insulin secretion and enhancing active GLP-1 secretion to prevent atherosclerosis^{3–5}. Recently, the combined effects of voglibose, an α -GI, and a DPP4 inhibitor on plasma insulin and active GLP-1 levels were reported in mice^{6,7}. However, comparison of the combined effect of various α -GIs and sitagliptin on blood glucose fluctuation has not been reported.

In the present study, we showed that combination therapy of α -GIs and sitagliptin can yield complementary and synergistic beneficial effects in mice.

MATERIALS AND METHODS

Because α -GIs are inhibitors of α -glucosidase, which converts disaccharide to glucose, 7–9-week-old male C57BL/6J mice (Charles River Japan, Tokyo, Japan) were subjected to an overnight fast and orally loaded with 2.5 g/kg of maltose. Blood was collected from the end of the tail just before loading until 2 h after loading, and blood glucose level was measured using the glucose dehydrogenase method. The area under the curve of blood glucose levels for up to 2 h after maltose-loading ($\Delta\text{AUC}_{0-2\text{ h}}$) was calculated using the trapezoid method. The range of blood glucose fluctuation was determined as the difference between the maximal and minimal blood glucose levels for up to 2 h.

To evaluate initial insulin-secreting capacity, plasma insulin concentration in blood collected from the end of the tail at 0.25 h after loading was measured using an ELISA kit (Morinaga Institute of Biological Science, Yokohama, Japan).

Ten-week-old male C57BL/6J mice freely fed a high-fat diet (D12492 Rodent Diet; Research Diets, New Brunswick, NJ, USA) for 6 weeks were orally loaded with 10 mL/kg of enteral nutrition (Ensure H; Abbot Japan, Tokyo, Japan) to stimulate GLP-1 secretion. To analyze the delayed effect of GLP-1 secretion by α -GI, blood was collected after 0.5 h from the abdominal vein using a syringe containing diprotin A and EDTA at a final concentration of 3 mmol/L and 0.15%, respectively. The concentration of plasma active GLP-1 was measured using an ELISA kit (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA).

α -Glucosidase inhibitors (acarbose 10 mg/kg, voglibose 0.1 mg/kg or miglitol 3 mg/kg) was given orally at the time of maltose or enteral nutrition-loading, and sitagliptin (0.3 mg/kg)

Department of Diabetes and Endocrinology, Graduate School of Medicine, Gifu University, Gifu, Japan

*Corresponding author. Jun Takeda Tel: +81-58-230-6371 Fax: +81-58-230-6376

E-mail address: jtakeda@gifu-u.ac.jp

Received 27 July 2010; revised 15 September 2010; accepted 29 September 2010

was given 0.5 h before oral loading. Test doses of α -GIs were determined from the ED₅₀ doses of the inhibition effect on sucrose or maltose-loading in normal rats, respectively.

The experiment was carried out according to the guidelines of Gifu University. Results are expressed as mean \pm SD. Significance of difference among groups was analyzed using Dunnett's or Tukey's multiple comparison test based on ANOVA. *P*-values of <0.05 were considered to show statistical significance.

RESULTS

In the maltose-loading test, treatment with each of the three α -GIs alone significantly suppressed the blood glucose peak level at 0.5 h. Administration of miglitol alone significantly suppressed the blood glucose elevation as early as 0.25 and 0.5 h, and delayed the blood glucose peak until 1 h after loading. With administration of sitagliptin alone, the blood glucose level peaked at 0.25 h and was significantly lower at 0.5 and 1 h. Consequently, a complementary suppression of blood glucose elevation was observed at 0.25, 0.5 and 1 h in the combined miglitol and sitagliptin group (Figure 1c). As a result, the Δ AUC_{0-2h} of the blood glucose concentration of the group receiving miglitol alone was almost equal to that with acarbose or voglibose alone. The rate of decrease of the Δ AUC_{0-2h} of the blood glucose concentration in the miglitol and sitagliptin combination group was 47% (*P* < 0.05) compared with the control group, which was larger than that observed in the combined groups with acarbose or voglibose at the tested doses (Table 1). Similarly, combined treatment of miglitol and sitagliptin showed a 60% reduction (*P* < 0.05) of the range of blood glucose fluctuation compared with the control group, and also a significant decrease compared with miglitol or sitagliptin alone (Table 1).

Enhancement of plasma insulin occurred with sitagliptin at 0.25 h after loading (1.6–2.0-fold). In contrast, miglitol alone or combined treatment with miglitol and sitagliptin decreased the plasma insulin concentration by 39 or 32% compared with the control group, respectively (Table 1).

When enteral nutrition was orally loaded in mice fed a high-fat diet, the plasma active GLP-1 concentration was increased by 1.5–1.9-fold after administration of sitagliptin compared with the control group. In contrast, a synergistic increase in the GLP-1 concentration was observed after treatment with a combination of α -GI and sitagliptin (2.5–4.9-fold, *P* < 0.05 vs control; Table 1).

DISCUSSION

Recently, suppression of postprandial hyperglycemia has come to be considered important for prevention of atherosclerosis³. Repeated episodes of blood glucose fluctuation accelerate the adhesion of monocytes to vascular endothelial cells and enhance the development/progression of atherosclerosis⁸. In the present study, the combined administration of α -GI and sitagliptin complementarily lowered the blood glucose level. Furthermore, the combination of miglitol with sitagliptin significantly minimized

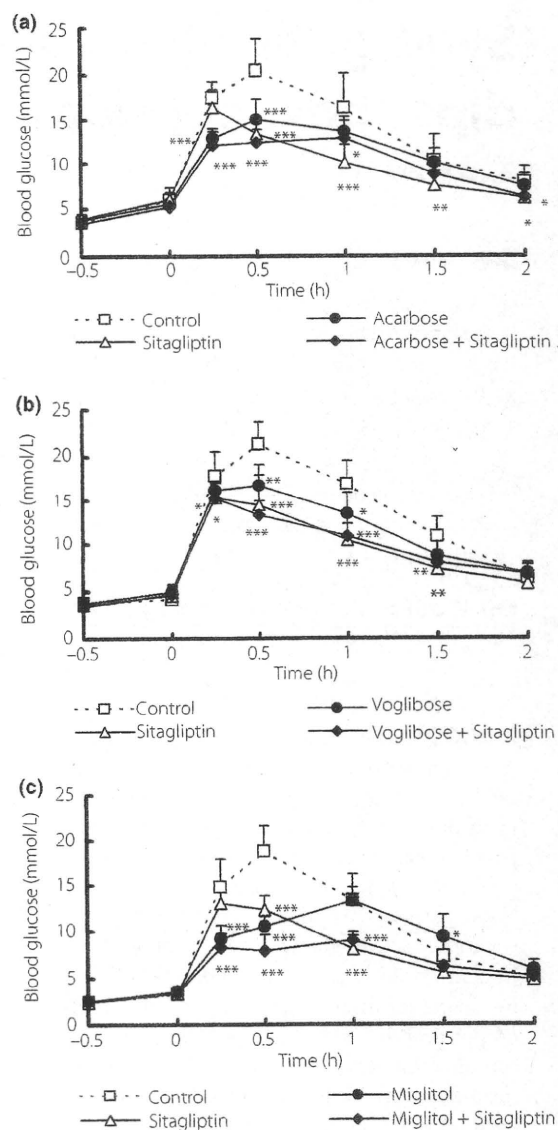


Figure 1 | Blood glucose profiles after oral administration of α -glucosidase inhibitor (α -GI) and sitagliptin (0.3 mg/kg) in maltose-loaded normal mice. (a) Acarbose, 10 mg/kg; (b) voglibose, 0.1 mg/kg; (c) miglitol, 3 mg/kg. Each value represents mean \pm SD of 8–10 mice. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs the control group using to Dunnett's multiple comparison test.

blood glucose fluctuations. Thus, such combined treatment should reduce the risk of atherosclerosis.

The suppression of postprandial hyperglycemia by α -GI alone and combination treatment with sitagliptin enables insulin secretion to be conserved, and therefore can be expected to mitigate dysfunction of pancreatic β -cells⁹. In contrast, sitagliptin decreases the blood glucose level by enhancing insulin secretion. Thus, long-term administration of this agent might create a

Table 1 | Incremental blood glucose, range of glucose fluctuation and plasma insulin in maltose-loaded mice and plasma active glucagon-like peptide-1 in enteral nutrition-loaded mice

Test compound	Blood glucose concentration Δ AUC _{0-2 h}		Range of glucose fluctuation	Plasma insulin at 15 min after maltose loading	Plasma active GLP-1 at 30 min after EN loading
	(h*mmol/L)	Inhibition rate (%)	mmol/L	pmol/L	pmol/L
Control	20.9 \pm 4.6 ^a	–	15.3 \pm 2.6 ^a	111.9 \pm 44.8 ^{ab}	2.18 \pm 0.90 ^a
Acarbose, 10 mg/kg	15.6 \pm 2.6 ^b	25.4	10.0 \pm 2.5 ^b	89.5 \pm 25.8 ^a	2.37 \pm 0.76 ^a
Sitagliptin, 0.3 mg/kg	12.3 \pm 3.3 ^b	41.1	10.9 \pm 1.7 ^b	173.9 \pm 53.4 ^b	3.33 \pm 1.44 ^a
Combination	13.8 \pm 2.3 ^b	34.0	8.5 \pm 2.3 ^b	118.8 \pm 68.9 ^{ab}	10.76 \pm 6.34 ^b
Control	20.9 \pm 3.2 ^a	–	17.2 \pm 2.4 ^a	113.7 \pm 48.2 ^a	2.23 \pm 1.86 ^a
Voglibose, 0.1 mg/kg	16.1 \pm 3.2 ^b	23.0	12.3 \pm 1.7 ^b	111.9 \pm 17.2 ^a	2.78 \pm 1.23 ^a
Sitagliptin, 0.3 mg/kg	12.7 \pm 2.9 ^b	39.2	11.6 \pm 2.4 ^b	229.0 \pm 93.0 ^b	3.54 \pm 2.33 ^{ac}
Combination	13.6 \pm 1.3 ^b	34.9	10.7 \pm 1.8 ^b	142.9 \pm 43.1 ^a	5.52 \pm 2.34 ^{bc}
Control	17.9 \pm 3.6 ^a	–	15.5 \pm 2.6 ^a	158.9 \pm 44.8 ^a	2.37 \pm 1.33 ^a
Miglitol, 3 mg/kg	14.4 \pm 1.7 ^b	19.6	9.7 \pm 1.3 ^b	96.4 \pm 18.9 ^a	3.29 \pm 1.13 ^a
Sitagliptin, 0.3 mg/kg	11.5 \pm 1.6 ^{bc}	35.8	10.0 \pm 1.8 ^b	252.5 \pm 86.1 ^b	4.62 \pm 3.06 ^a
Combination	9.4 \pm 1.3 ^c	47.5	6.2 \pm 1.3 ^c	107.3 \pm 20.7 ^a	11.22 \pm 9.72 ^b

Maltose-loading tests used for normal mice. Enteral nutrition (EN)-loading tests used for mice fed high-fat diet for 6 weeks. Each value represents the mean \pm SD of 8–10 mice. Means with different letters (a, b, and c) are significantly different at $P < 0.05$ by Tukey's multiple comparison test. AUC_{0-2 h}, the area under the curve of blood glucose levels for up to 2 h after maltose-loading; GLP-1, glucagon-like peptide-1.

burden on pancreatic β -cells. In addition, a correlation between hyperinsulinemia and the level of high-sensitivity C-reactive protein (CRP), a marker of inflammation, has been reported¹⁰. Because the CRP elevation is related to coronary heart disease, stroke and mortality⁵, insulin secretion should be reduced as much as possible. In the present study, when α -GI and sitagliptin were used in combination, insulin secretion was suppressed to a level almost the same as that with α -GI alone. Furthermore, after chronic combined treatment of miglitol and sitagliptin for 8 weeks in high-fat diet fed mice, the elevation of fasting plasma insulin level was significantly suppressed compared with that of control mice (normal diet group: 137.8 \pm 84.4 pmol/L; high-fat control group: 253.1 \pm 72.3 pmol/L, $P < 0.05$ vs normal diet group; miglitol alone group: 189.4 \pm 110.2 pmol/L; sitagliptin alone group: 359.9 \pm 187.7 pmol/L; combination group: 161.9 \pm 84.4 pmol/L, $P < 0.05$ vs high fat control; Y.H. and J.T., unpublished data). Thus, combined treatment might reduce risk of the development/progression of atherosclerosis as well as dysfunction of pancreatic β -cells.

In patients with type 2 diabetes, miglitol has been reported to increase plasma active GLP-1 levels^{2,11}. GLP-1 has several physiological activities, including a trophic effect on the pancreatic islets and suppression of gastric emptying and appetite¹², in addition to enhancement of insulin secretion and inhibition of glucagon secretion. When combined with sitagliptin, each α -GI tested increased the active GLP-1 concentration synergistically. The GLP-1 secretion induced by α -GI might result from delayed absorption of carbohydrate into the lower parts of the digestive tract¹³, although the details of this mechanism remain unclear.

In conclusion, combined treatment with α -GI miglitol, which more strongly inhibits the early phase of postprandial hyperglycemia, and sitagliptin can yield complementary and synergistic effects and therefore might represent a better antihyperglycemic therapy.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank H Tsuchida and K Yokoyama for technical assistance. This work was supported by a Health and Labor Science Research Grant from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare, a KAKENHI, Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japanese Ministry of Science, Education, Sports, Culture and Technology, and a New Energy and Industrial Technology Development Organization Grant. The authors report no conflicts of interest.

REFERENCES

- Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, *et al.* Stop-NIDDM Trial Research Group. Acarbose prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 2072–2077.
- Narita T, Katsuura Y, Sato T, *et al.* Miglitol induces prolonged and enhanced glucagons-like peptide-1 and reduced gastric inhibitory polypeptide responses after ingestion of a mixed meal in Japanese Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2009; 26: 187–188.
- Espósito K, Ciotola M, Carleo D, *et al.* Post-meal glucose peaks at home associate with carotid intima-media thickness in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1345–1350.

4. Arakawa M, Mita T, Azuma K, *et al.* Inhibition of monocyte adhesion to endothelial cells and attenuation of atherosclerotic lesion by a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4. *Diabetes* 2010; 59: 1030–1037.
5. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, *et al.* C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 2010; 375: 132–140.
6. Yamazaki K, Inoue T, Yasuda N, *et al.* Comparison of efficacies of a dipeptidyl peptidase IV inhibitor and alpha-glucosidase inhibitors in oral carbohydrate and meal tolerance tests and the effects of their combination in mice. *J Pharmacol Sci* 2007; 104: 29–38.
7. Moritoh Y, Takeuchi K, Hazama M. Combination treatment with alogliptin and voglibose increases active GLP-1 circulation, prevents the development of diabetes and preserves pancreatic beta-cells in prediabetic db/db mice. *Diabetes Obes Metab* 2010; 12: 224–233.
8. Mita T, Otsuka A, Azuma K, *et al.* Swings in blood glucose levels accelerate atherogenesis in apolipoprotein E-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358: 679–685.
9. Fukaya N, Mochizuki K, Tanaka Y, *et al.* The alpha-glucosidase inhibitor miglitol delays the development of diabetes and dysfunctional insulin secretion in pancreatic beta-cells in OLETF rats. *Eur J Pharmacol* 2009; 624: 51–57.
10. McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, *et al.* Differentiation between obesity and insulin resistance in the association with C-reactive protein. *Circulation* 2002; 106: 2908–2912.
11. Lee A, Patrick P, Wishart J, *et al.* The effects of miglitol on glucagons-like peptide-1 secretion and appetite sensations in obese type 2 diabetics. *Diabetes Obes Metab* 2002; 4: 329–335.
12. Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab* 2006; 3: 153–165.
13. Qualmann C, Nauck MA, Holst JJ, *et al.* Glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) secretion in response to luminal sucrose from the upper and lower gut. A study using alpha-glucosidase inhibition (acarbose). *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 892–896.

Sonographic Evaluation of the Peripheral Nerve in Diabetic Patients

The Relationship Between Nerve Conduction Studies, Echo Intensity, and Cross-sectional Area

Tsuneo Watanabe, MT, Hiroyasu Ito, MD, PhD, Ayako Sekine, MT, Yuriko Katano, MT, Takashi Nishimura, MT, Yoshihiro Kato, MD, PhD, Jun Takeda, MD, PhD, Mitsuru Seishima, MD, PhD, Toshio Matsuoka, PhD

Objective. Early detection of nerve dysfunction is important to provide appropriate care for patients with diabetic polyneuropathy. The aim of this study was to assess the echo intensity of the peripheral nerve and to evaluate the relationship between nerve conduction study results and sonographic findings in patients with type 2 diabetes mellitus. **Methods.** Thirty patients with type 2 diabetes (mean \pm SD, 59.8 \pm 10.2 years) and 32 healthy volunteers (mean, 53.7 \pm 13.9 years) were enrolled in this study. The cross-sectional area (CSA) and echo intensity of the peripheral nerve were evaluated at the carpal tunnel and proximal to the wrist (wrist) of the median nerve and in the tibial nerve at the ankle. **Results.** There was a significant increase in the CSA and hypoechoic area of the nerve in diabetic patients compared with controls (wrist, 7.1 \pm 2.0 mm², 62.3% \pm 3.0%; ankle, 8.9 \pm 2.8 mm², 57.6% \pm 3.9%; and wrist, 9.8 \pm 3.7 mm², 72.3% \pm 6.6%; ankle, 15.0 \pm 6.1 mm², 61.4% \pm 5.3% in controls and diabetic patients, respectively; $P < .05$). Cross-sectional areas were negatively correlated with reduced motor nerve conduction velocity and delayed latency. **Conclusions.** These results suggest that sonographic examinations are useful for the diagnosis of diabetic neuropathy. **Key words:** cross-sectional area; diabetic neuropathy; echo intensity; median nerve; sonography; tibial nerve.

Abbreviations

BMI, body mass index; BSA, body surface area; CMAP, compound muscle action potential; CSA, cross-sectional area; CTS, carpal tunnel syndrome; DPN, diabetic polyneuropathy; MCV, motor nerve conduction velocity; MMCV, median motor nerve conduction velocity; NCS, nerve conduction study; ROC, receiver operating characteristic; TMCV, tibial motor nerve conduction velocity; TTS, tarsal tunnel syndrome

Received October 1, 2009, from the Departments of Sports Medicine and Sports Science (T.W., Yo.K., T.M.), Diabetes and Endocrinology (J.T.), and Informative Clinical Medicine (H.I., M.S.), Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu, Japan; and Section of Clinical Laboratory, Gifu University Hospital, Gifu, Japan (T.W., A.S., Yu.K., T.N.). Revision requested November 6, 2009. Revised manuscript accepted for publication January 19, 2010.

We thank Hitachi Corporation (Tokyo, Japan) for equipment support.

Address correspondence to Tsuneo Watanabe, MT, Department of Sports Medicine and Sports Science, Gifu University Graduate School of Medicine, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1194, Japan.

E-mail: tsuneo_w@gifu-u.ac.jp

The World Health Organization estimates that more than 180 million people worldwide have diabetes mellitus. This figure is estimated to more than double by 2030.¹ In Japan, the number of diabetic patients has increased and reached 8 million, and it is assumed that 35% to 45% of diabetic patients have symmetric diabetic polyneuropathy (DPN). Advanced DPN causes serious complications, such as diabetic foot ulcers, gangrene, and Charcot joint, all of which worsen the quality of life of diabetic patients.² Therefore, early detection of nerve dysfunction is important to provide appropriate care for patients with DPN.³

The diagnosis of diabetic neuropathy is based primarily on characteristic symptoms and is confirmed with a nerve conduction study (NCS). Although imaging analyses for neuropathy have not been used for diagnosis, high-resolution diagnostic ultrasound equipment has improved greatly, making revelation of minute peripheral nerves by sonographic evaluation possible.⁴ Recent