

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19224

研究課題名(和文)筋由来の新規生理活性物質イリシンが肥満・糖尿病・動脈硬化に及ぼす影響の検討

研究課題名(英文)Serum irisin and obesity, diabetes mellitus, and atherosclerosis

研究代表者

久松 隆史(Hisamatsu, Takashi)

島根大学・医学部・准教授

研究者番号：60710449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：筋由来生理活性物質(マイオカイン)の一種であるイリシンについて、肥満・糖尿病・脂質などの代謝指標および動脈硬化指標との関連を明らかにすることを目的とした。心血管病の既往のない健康一般集団(40-79歳)において、血清イリシンは、肥満・脂質指標と負の関連を認め、肥満・糖尿病・脂質指標を含む交絡因子を調整後も冠動脈石灰化進展と負の関連を認めた。イリシンが心血管病や代謝性疾患を予防するかどうかを含め今後更なる研究の実施が望まれる。

研究成果の概要(英文)：Irisin is a newly discovered myokine. We aimed to examine to the association of serum irisin and obesity, diabetes mellitus, and atherosclerosis. In a community-based apparently healthy adults aged 40-79 years, serum irisin was inversely associated with obesity and lipid indices. In addition, serum irisin was inversely associated with progression of coronary artery calcification independent of confounders including obesity, lipid, and diabetes parameters. Future studies are needed to assess whether irisin is protectively associated with cardiometabolic disease.

研究分野：疫学(循環器病)

キーワード：イリシン 疫学 肥満 糖尿病 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

運動は脂肪・糖代謝や動脈硬化に対する予防因子の一つであり、習慣的な運動が肥満・糖尿病など代謝性疾患および脳卒中・心臓病など動脈硬化性疾患の発症リスクの低下に寄与することは、周知の事実である。しかしながら、運動の代謝性疾患および動脈硬化性疾患に対する予防メカニズムは十分に解明されているとは言い難く、その中で 2012 年に発見された筋由来生理活性物質(マイオカイン)の一種である「イリシン」¹⁾の役割が、近年注目を集めつつある。

筋より分泌されるイリシンは、白色脂肪細胞の褐色脂肪細胞化を誘導し、全身のエネルギー消費量を増大させる作用を有している¹⁻³⁾。2012 年 Boström P らの研究グループは、動物実験より、イリシンの前駆体である FNDC5 (fibronectin type domain containing 5) 蛋白の発現亢進によりイリシンの分泌が増加し、酸素消費量増大、体重減少、インスリン抵抗性改善などの効果が見られたことを報告した¹⁾。更に、運動刺激により増加する PGC-1 (peroxisome proliferator receptor coactivator-1)⁴⁾依存性に、イリシンは分泌されることも明らかとなった¹⁾。以上から、イリシンは、運動誘発性に筋より分泌され、全身のエネルギー消費量を増加させることにより、肥満、糖尿病、更には動脈硬化性疾患など様々な疾患の予防に関与する、との仮説が提唱され⁵⁾、運動の肥満・糖尿病・動脈硬化予防メカニズムの解明に繋がることが期待されている。

2. 研究の目的

このイリシンの抗肥満・糖尿病・動脈硬化作用に関する仮説を検討するため、詳細な潜在性動脈硬化指標・危険因子の繰り返し調査を実施している、日本人一般地域住民の前向きコホート研究(滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA)に、新たに「イリシン」の測定を追

加し、欧米とは肥満率や動脈硬化性疾患の疾病構造が異なる日本人における、イリシンの分布・関連要因、肥満指標・糖尿病関連指標・潜在性動脈硬化指標の有所見率・経時的変化(進展度)に及ぼす影響について、横断的・縦断的に明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 対象者および検査

滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA は滋賀県草津市民から無作為抽出した 40 歳以上の一般地域住民男女において実施している前向き研究である⁶⁻⁸⁾。40 - 79 歳 2,866 名(男性 2,379 名)を抽出し、SESSA への参加の同意を得た者は 1,236 名(男性 1,094 名)(参加率 43.1%)であった。この SESSA 男性対象者 1,094 名のうち、心血管病の既往者(66 名)、中性脂肪値 400mg/dl 以上の者(16 名、LDL コレステロールの算出に Friedewald 式⁹⁾を用いたため)、データ欠損者(1 名)を除いた、1,011 名男性(平均年齢 63.7 ± 10.0 歳)を横断研究の分析対象とした。

2006 年から 2008 年に実施した基礎調査に参加した対象者について、2010 年から 2014 年に実施した追跡調査にも参加を呼びかけた。死亡者ならびに追跡不能者(計 227 名)を除く、784 名男性(平均年齢 64.1 ± 9.5 歳)を縦断研究の対象者とした。本研究は滋賀医科大学倫理委員会の審査・承認を得(No. 17-19, 17-83)、また全対象者から書面による研究参加に関するインフォームドコンセントを得て、実施した。

自己記入式質問票を用いて、喫煙習慣、飲酒状況、運動習慣、職業、および治療通院歴などを含む対象者特性を得た。対象者が記入後、訓練された看護師が対象者と共に記入内容を再確認し、質問票を完成させた。腹囲は、訓練された看護師により巻尺を用いて、対象者は空腹時に両足を肩幅に開き両腕を自然に垂らした直立姿勢において、もう一人の訓

練された看護師により巻尺が臍レベルで水平になっていることを確認後、呼気終末に合わせて2回計測された。分析には腹囲計測値2回の平均値を採用した。Body mass index (BMI) は空腹時に測定した体重 (kg) を身長² (m²) で除して求めた。血圧は、訓練された医師により自動血圧計 (BP8800; オムロンヘルスケア株式会社, 東京) を用いて、静かで特に冬季は過度の低温にならないよう暖房器具により適当な室温を保った環境の診察室において、対象者は測定前に喫煙・飲酒・カフェイン摂取をしてない空腹時に背もたれつきの椅子に足を組まずに座り一切会話を交わさず5分安静後、右上腕で2回測定された。分析には血圧測定値2回の平均値を採用した。生涯喫煙量 pack-year を1日に吸う箱数と喫煙年数の積から算出した。運動習慣については、活発な歩行以上の運動強度で週1時間以上運動した場合に運動習慣ありと定義した。歩数計 (DIGI-WALKER DW-200, 山佐時計計器株式会社, 東京) を用いて、土日を含む1週間の日常生活における歩数値を客観的に評価した。7日間の歩数記録から、1日あたりの平均歩数値 (歩/日) を求めた。

最終食事から少なくとも12時間空けて空腹時採血を実施した。血糖は酵素法により、またヘモグロビン A1c は免疫法により、それぞれ測定された。HDL コレステロールは直接法を、総コレステロールおよび中性脂肪は酵素法を、それぞれ用いて測定された。LDL コレステロールは、前述の通り、Friedewald 式⁹⁾ を用いて求めた。なお、本研究における脂質測定に関しては、US Centers for Disease Control and Prevention/Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CDC/CRMLN) のプロトコールに従い毎年標準化されている。C-reactive protein は、ネフェロメトリー法を用いて測定した。シスタチン C は、金コロイド凝集法を用いた測定した。日本人男性用の糸球体ろ過率算出式¹⁰⁾ を用

いて糸球体ろ過率を算出した：糸球体ろ過率 (mL/min/1.73cm²) = (104 x シスタチン C^{-1.019} x 0.996^{年齢}) - 8。高血圧は、収縮期血圧 140mmHg 以上、拡張期血圧 90mmHg 以上、または降圧剤の内服と定義した。糖尿病は、空腹時血糖 126mg/dl 以上、ヘモグロビン A1c (NGSP) 6.5% 以上、また糖尿病治療薬の内服と定義した。

(2) イリシン測定

外部委託機関に依頼し、ベースライン調査で既に採取・凍結保存済みの血清検体を用いてイリシンを定量的に測定した (AdipoGen 社)。測定方法は、米国で行われた先行研究と同様に ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) 法を用いた (変動係数: intra-assay, 4-8%; inter-assay, 8-10%)。

(3) 潜在性動脈硬化および内臓脂肪測定

冠動脈石灰化および大動脈石灰化の評価に関して、ベースライン調査時は EBCT および MDCT により、追跡調査時は MDCT により、それぞれ撮影を実施した。心臓の画像は大動脈弓部から心臓まで 3mm スライス毎に画像を得、大動脈の画像は大動脈弓部から大動脈分岐部まで 6mm スライスで画像を得た。この CT 画像から、一人の訓練された医師が専用ソフト (Acculmage Diagnosis, South San Francisco, CA) を用いて、Agatston 法¹¹⁾ にもとづき、冠動脈石灰化スコアおよび大動脈石灰化スコアを定量的に評価した。臍レベルの CT 画像をもとに腹膜より内側の脂肪を内臓脂肪、外側の脂肪を皮下脂肪とし、それぞれの面積を求めた。

頸動脈内膜中膜肥厚 IMT を、頸動脈エコー画像をもとに計測した。足関節上腕血圧比 (Ankle-brachial index, ABI) を求めた。

(4) 統計学的分析

血清イリシンの分布を確認するため、40 - 79 歳にかけて 10 歳毎の血清イリシン値を求めた。

運動習慣と血清イリシンとの関連を検討するため、1 日平均歩数値の 4 分位における血清イリシン値の分布を確認した。

血清イリシン値を四分位に区分し、血清イリシンと肥満・糖尿病指標との関連を検討した。用いた肥満・糖尿病指標は、連続尺度の従属変数として、BMI、腹囲、内臓脂肪面積、皮下脂肪面積、内臓脂肪皮下脂肪面積比、肝脾 CT 値比、空腹時血糖、ヘモグロビン A1c、空腹時インスリン、インスリン抵抗性 (HOMA1R) であった。また名義尺度の従属変数として、肥満 (BMI ≥ 25 kg/m²)、糖尿病、糖尿病治療中とした。また、血清イリシンと心血管病リスク因子を含む様々な変数との関連も検討した。

血清イリシンと潜在性動脈硬化指標との関連を横断的に検討した。血清イリシンは、前述の通り、四分位に区分した。潜在性動脈硬化指標は全て名義尺度の従属変数とし、用いた指標は以下の通りであった：冠動脈石灰化スコア >0 , ≥ 100 ^{7,11)}、大動脈石灰化スコア >0 , ≥ 300 ^{7,12)}、頸動脈 IMT >1.0 mm、ABI <1.1 ^{7,13)}。また、縦断研究として、血清イリシン (三分位) と冠動脈石灰化進展との関連を検討した。冠動脈石灰化進展は先行研究で用いられた Berry 法¹⁴⁾ を用いて定義した。

連続尺度の従属変数については線形回帰を用いて、名義尺度の従属変数についてはポワソン回帰 (ロバスト分散) を用いて分析をおこなった。分析は全て STATA ver.14 を用いて、統計学的有意水準は全て両側検定にて 5%未満とした。

4. 研究成果

(1) 結果

図 1 に 40 - 79 歳 10 歳毎の血清イリシンの分布を提示する。血清イリシン値は年齢階級

が上がるに従い、有意に増加した。

図1. 年齢10歳毎 (40-79歳) の血清イリシン値

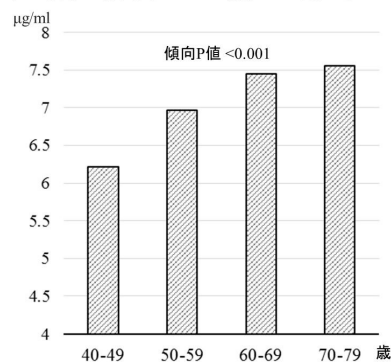


図 2 に 1 日平均歩数値の四分位と年齢調整した血清イリシン値との関係を示す。1 日平均歩数値と年齢調整した血清イリシン値の間には有意な関連を認めなかった。

図2. 1日平均歩数四分位毎の年齢調整血清イリシン値

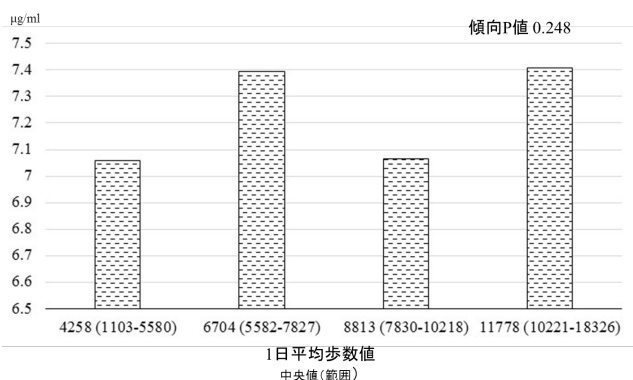
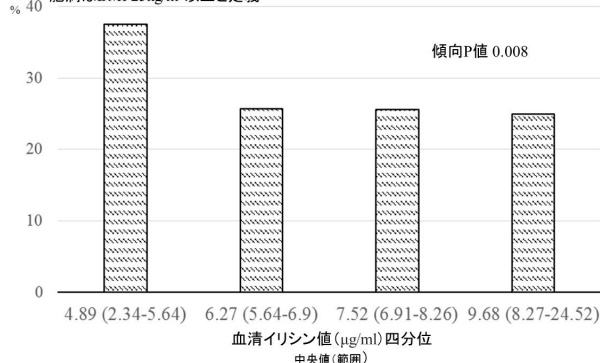


図 3 に血清イリシンと年齢調整した肥満者割合 (BMI 25 kg/m²以上) との関連を示す。血清イリシン値が増加するに従い、肥満者割合が有意に低下した (傾向 P 値 = 0.008)。また、同様に BMI や腹囲も低下した (傾向 P 値 <0.001)。さらに、CT 画像にもとづく皮下脂肪・内臓脂肪についても、血清イリシン値が増加するに従い、その面積が減少した (両傾向 P 値 <0.01)。

図3. 血清イリシン値四分位毎の年齢調整肥満者割合 (肥満はBMI 25kg/m²以上と定義)



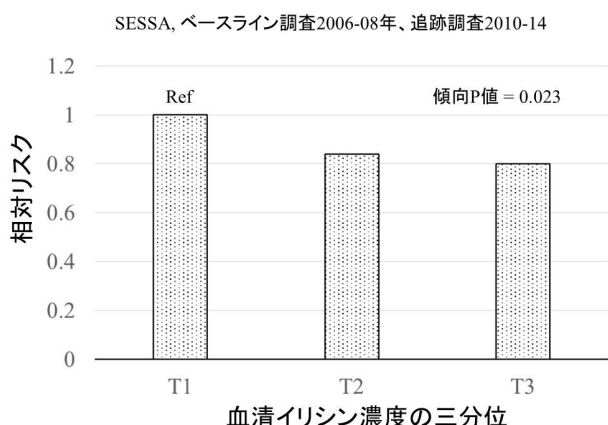
一方、糖尿病指標については、血清イリシン値が増加するに従い糖尿病内服者の割合が低下し（傾向 P 値 = 0.012）、また空腹時インスリン値も低下した（傾向 P 値 = 0.002）。この糖尿病指標と血清イリシンとの関連は BMI を調整後有意差が消失した（結果提示せず）。

血清イリシンとその他の指標との関連については、血清イリシンが増加するに従い、年齢調整した習慣飲酒量、HDL コレステロール値、糸球体ろ過率が増加する傾向を認め、一方で年齢調整した LDL コレステロール値が低下する傾向を認めた（全傾向 P < 0.01）。

血清イリシンと潜在性動脈硬化指標との横断的な関連については、血清イリシンは冠動脈石灰化、大動脈石灰化、頸動脈 IMT、および ABI のいずれとも有意な関連を認めなかった。

血清イリシンと冠動脈石灰化進展との関連について図 3 に提示する。交絡因子を調整後、血清イリシンが増加するに従い、冠動脈石灰化の進展の相対リスクは低下する傾向を認めた。この関連は脂質関連指標、糖尿病関連指標、ならびに肥満指標を調整後も依然有意であった（傾向 P 値 = 0.023）。

図4. 血清イリシンと冠動脈石灰化進展との関連



(2) 考察

心血管病の既往のない一般健常者において、血清イリシンは特に肥満指標や脂質指標と負の関連を認めた。また、血清イリシンは、

糖尿病・肥満指標・脂質指標など交絡因子を調整後も冠動脈石灰化進展と負の関連を認めた。

日本人一般住民における横断的検討の結果、血清イリシンは脂質指標や肥満指標と負の関連を認めた。この成果は先行研究の結果¹⁵⁻¹⁷⁾と一致するものであり、イリシンが肥満予防や脂質改善に関与する可能性が示唆される。本研究では糖尿病指標との有意な関連が見られなかったが、これは本研究対象者である一般住民において糖尿病有病率が低かった（20%程度）ことが影響している可能性が考えられる。

縦断的な検討の結果、血清イリシンは冠動脈石灰化進展と負の関連を認めた。先行研究によれば、比較対照研究では血清イリシンと急性冠症候群との間に有意な関連がないという報告¹⁸⁾や、冠動脈疾患を有する患者における研究では将来の主要心血管イベントと正の関連があったという報告¹⁸⁾、また冠動脈病変の重症度を示す SYNTAX スコアと横断的な負の関連があったという報告¹⁹⁾がなされている。また、糖尿病の家族歴を有する非糖尿病白人集団（平均 BMI 29.6 kg/m²）における横断的な検討では、血清イリシンはインスリン抵抗性や頸動脈 IMT と正の関連を認めたことが報告されている²⁰⁾。以上から、血清イリシンと動脈硬化との関連に関しては一致した結果が得られていないが、この要因として、本研究は一般健常者を対象としているが先行研究は主に冠動脈疾患を有する患者や糖尿病の家族歴を有する特殊な集団であり対象者の背景・特性が異なることが挙げられる。イリシンと冠動脈石灰化を含む動脈硬化指標との検討を行った先行研究はわずかであることから、今後更なる研究の実施が望まれる。

本研究の限界として、研究対象者は 40 - 79 歳の一般男性であり、本研究成果を女性など他集団に一般化することはできない。

結語として、健常一般集団において、血清イリシンは、肥満指標や脂質指標と負の関連を認め、肥満指標・糖尿病指標・脂質指標を含む交絡因子を調整後も冠動脈石灰化進展と負の関連を認めた。本研究結果は、イリシンが肥満、糖尿病、更には動脈硬化性疾患の予防に關与するとの仮説¹⁾を支持する結果である。

<引用文献>

1. Boström P, et al. Nature 2012.
2. Kelly DP. Science 2012.
3. Villarroya F. Cell Metab 2012.
4. Russell AP, et al. Diabetes 2003.
5. Boström P, et al. Nat Rev Endocrinol 2014.
6. Ueshima H, et al. Atherosclerosis 2014.
7. Hisamatsu T, et al. J Am Heart Assoc 2016.
8. Yamazoe M, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2016.
9. Friedewald WT, et al. Clin Chem 1972.
10. Horio M, et al. Am J Kidney Dis 2013.
11. Fujiyoshi A, et al. Am J Epidemiol 2014.
12. Agatsuma PK, et al. Arch Intern Med 2005.
13. Greenland P, et al. Circulation 2010.
14. Berry JD, et al. Circulation 2009.
15. Stengel A, et al. Peptides 2013.
16. Park KH, et al. J Clin Endocrinol Metab 2013.
17. Oelmann S, et al. Plos One 2016.
18. Aronis KN, et al. Int J Obes (Lond) 2015.
19. Efe TH, et al. Korean Circ J 2017.
20. Sesti G, et al. Acta Diabetol 2014.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Yamazoe M, Hisamatsu T, et al. Relationship of Insulin Resistance to Prevalence and Progression of Coronary Artery Calcification Beyond Metabolic Syndrome Components. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 36(8):1703-1708,2016.
2. Hisamatsu T, Miura K, et al. Smoking, Smoking Cessation, and Measures of Subclinical Atherosclerosis in Multiple Vascular Beds in Japanese Men. J Am Heart Assoc. 5(9). pii: e003738, 2016.

他 2 論文。

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 久松隆史、三浦克之、他. 煙習慣、喫煙指数、禁煙期間と潜在性動脈硬化との関連: 滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA. (Poster presentation) 第 26 回日本疫学会学術総会・米子コンベンションセンターBigShip(米子).1月 21-23 日, 2016. 他 4 件。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:
取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

滋賀動脈硬化疫学研究 SESSA ウェブサイト
<https://hs-web.shiga-med.ac.jp/sessa/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

久松 隆史 (HISAMATSU, Takashi)
島根大学・医学部.
准教授
研究者番号: 60710449

(2)研究協力者

三浦 克之 (MIURA, Katsuyuki)
滋賀医科大学・社会医学講座公衆衛生学部門.
教授
研究者番号: 90257452
上島 弘嗣 (UESHIMA, Hirotsugu)
滋賀医科大学・アジア疫学研究センター.
特任教授
研究者番号: 70144483
藤吉 朗 (FUJIYOSHI, Akira)
滋賀医科大学・社会医学講座公衆衛生学部門.
准教授
研究者番号: 10567077