

令和元年5月27日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08935

研究課題名(和文) 肝インスリン分解の影響を受けにくい新規インスリン抵抗性指標の開発

研究課題名(英文) Development of a novel insulin resistance index that is minimally affected by hepatic insulin clearance

研究代表者

大倉 毅 (OKURA, Tsuyoshi)

鳥取大学・医学部・講師

研究者番号：80510073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病患者20名、非糖尿病ボランティア21名にインスリン抵抗性の最も精密な評価法、グルコースクランプ法を行った。肝インスリン分解の強い患者ではインスリン値を用いた指標HOMA-IRよりも、我々の開発したCペプチドを用いた指標CPR-IRがグルコースクランプ試験のインスリン抵抗性指数と強く相関する事を見出した。本結果をPLOS ONE誌に論文掲載した(Okura T, et al. PLoS One. 2018, 23;13:e0197663.)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インスリン抵抗性の評価方法はグルコースクランプ法が最も精密であるが、2時間以上かかる検査であり、簡便にインスリン抵抗性を評価する方法が必要である。これまで血中インスリン値を用いたHOMA-IRが頻用されてきたが、その信頼性に疑問が生じる症例がある事が問題であった。本研究ではその原因が肝臓におけるインスリンの分解によるものであり、この影響を受けない我々が開発した血中Cペプチドを用いたCPR-IRが有効であることを報告した。本研究により、糖尿病診療や臨床研究に有効な指標が確認され、学術的、社会的にも貢献したと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Increased hepatic insulin clearance (HIC) is important in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus (T2DM). The aim of this study is to analyze an effective insulin resistance (IR) index that is minimally affected by HIC. Our study involved 20 participants with T2DM and 21 healthy participants without diabetes (Non-DM). Participants underwent a meal tolerance test from which HOMA-IR and HIC were calculated. Participants then underwent a glucose clamp from which the glucose disposal rate (GDR) was measured. The index $CPR-IR = 20 / (\text{fasting CPR} \times \text{fasting plasma glucose})$ was correlated more strongly with GDR, than was HOMA-IR, and CPR-IR could be used to estimate GDR. In T2DM participants with HIC below the median, HOMA-IR and CPR-IR were equally well correlated with GDR. In T2DM with high HIC, CPR-IR correlated with GDR while HOMA-IR did not. CPR-IR could be a simple and effective index of insulin resistance for patients with type 2 diabetes that is minimally affected by HIC.

研究分野：糖尿病

キーワード：インスリン抵抗性 2型糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

インスリン抵抗性はインスリン分泌不全と並び、2 型糖尿病の発症原因、主病態であり、その評価を早期、正確に判断する事が 2 型糖尿病の発症予防、治療として重要である。インスリン抵抗性を評価する方法としてはグルコースクランプ試験が最も精密であるが、インスリンを大量持続静注し、5 分毎の血糖測定とグルコース流量調整が必要であり、最低 2 時間かかる非常に煩雑な検査である。また、用いる機器が一台 500 万円、消耗品が一回 3 万円と高額、複雑な機器であり、現実的にも臨床の現場で応用する事は困難である。これらの背景から日常臨床では HOMA-IR(空腹時インスリン値×空腹時血糖/405)がインスリン抵抗性指標として用いられるが、肥満の強くないアジア人では信頼性が低い(Kang, Metabolism, 2005)。これは欧米人に比してアジア人はインスリン分泌能が低い事が原因と考えられているが、詳細は明らかにされていない。

今回、我々はインスリンよりも半減期の長い、C ペプチドを用いた指標が有効ではないかと考え、グルコースクランプ試験の結果を推定できる新規インスリン抵抗性指標を開発したいと考えた。これまでに我々は 15 例の食事負荷試験、グルコースクランプ試験を施行し、様々な新規インスリン抵抗性指標を検討した結果、 $CPR-IR=1080/(\text{空腹時血中 C ペプチド}(\text{ng/ml}) \times \text{空腹時血糖}(\text{mg/dl})[1080/(\text{F-CPR} \times \text{FPG})])$ はグルコースクランプ試験のインスリン抵抗性指数 GIR と非常に強い相関を示し、HOMA-IR よりも強い相関を認めた。この指標によりグルコースクランプ試験結果を推定可能である画期的な指標である。この結果を preliminary report として Cardiovascular Diabetology 誌にて発表を行っている (Ohkura T, Cardiovascular Diabetology, 2013)。

また、近年、高血糖状態では亜鉛トランスポーターの機能低下により、肝インスリン分解が亢進する事が報告され、新たに 2 型糖尿病の病態として重要性が注目されている(Tamaki M, JCI, 2013)。HOMA-IR が症例によりグルコースクランプ試験の結果と相関しにくいのは肝インスリン分解に影響されるためではないかと考えた。それに対して C ペプチドは肝代謝を受けにくく、インスリンよりも正確にインスリン抵抗性を反映するのではないかと考えた。現在、新指標の臨床的応用を目標とし、肝インスリン分解に着目して研究を進めている。本研究において空腹時採血のみで C ペプチドからグルコースクランプ試験によるインスリン抵抗性指標を正確に反映し、肝インスリン分解に影響を受けにくい指標を確立出来れば、糖尿病臨床に有用なツールとなる。

2. 研究の目的

2 型糖尿病は主要な生活習慣病の一つであり、その予防、治療は我が国にとっても大変重要なテーマである。インスリン抵抗性の評価は 2 型糖尿病の治療、予防の key factor であり、正確な評価が望まれるが、従来使用されている HOMA-IR はアジア人では信頼性が低く、その原因については未だ不明な点が多い。一方、私たちは血中 C ペプチドを用いた新規インスリン抵抗性指標 CPR-IR を開発し、その有用性を明らかにした。また、近年、高血糖による肝インスリン分解亢進が新たな 2 型糖尿病の病態として注目されている。本研究では CPR-IR が肝インスリン分解の影響を受けない事を明らかにし、CPR-IR の臨床的応用を目標とする。

3. 研究の方法

本研究の目的は新規インスリン抵抗性指標 $CPR-IR=1080/(\text{F-CPR} \times \text{FPG})$ が既存のインスリン抵抗性指標 HOMA-IR よりも優れており、この理由が肝インスリン分解による影響を受けにくいためである事を証明する事である。具体的な研究項目としては以下の 3 つが挙げられる。

- (1) 2 型糖尿病患者、非糖尿病ボランティアにテストミールを用いた食事負荷試験を行う。
- (2) 2 型糖尿病患者、非糖尿病ボランティアに人工膵臓を用いたグルコースクランプ試験を行う。
- (3) 肝インスリン分解に影響を与える因子として、亜鉛トランスポーターの遺伝子解析、インクレチンの測定を行う。

【食事負荷試験】

鳥取大学医学部附属病院外来通院中、入院中の 2 型糖尿病患者、また、非糖尿病ボランティアに日本糖尿病学会考案のテストミール A を用いて食事負荷試験を行う(Yoshino G, et al. Journal of the Japan Diabetes Society, 2006)。食後の血糖値、インスリン値、血中 C ペプチド値(0、30、60、120、180 分後)を測定する。この結果から HOMA-IR、肝インスリン分解指数 HIC(Hepatic Insulin Clearance: Polonsky K, Diabetes, 1986)を求める。肝インスリン分解に影響すると報告されている因子の検討として、食前、食後の GLP-1、GIP、グルカゴンを測定する(Ahren B, Diabetologia, 2005)。また、インスリン抵抗性への影響因子としてアディポネクチンを測定する。

【グルコースクランプ法】

人工臍臓を用いた正常血糖高インスリンクランプ試験を行い、インスリン抵抗性指数 GIR (Glucose Infusion Rate) を求める。この GIR は主に筋肉のインスリン抵抗性を評価する値である。当施設でのグルコースクランプ法は順天堂大学と提携して、血中インスリン濃度を 200 $\mu\text{g/ml}$ にするプロトコールを用いている (Tamura Y, J Clin Endocrinology Metabolism, 2005)。

【遺伝子検査】

亜鉛トランスポーターの遺伝子多型 SLC30A8, rs1366642 について遺伝子型解析を行う (Saxena R, et al. Science, 2007)。

4. 研究成果

2 型糖尿病患者 20 名、非糖尿病ボランティア 21 名にグルコースクランプ法を行った。食後 C ペプチド AUC/食後インスリン AUC モル比で肝インスリン分解を求めた。肝インスリン分解の強い患者ではインスリン値を用いた HOMA-IR よりも C ペプチドを用いた CPR-IR がグルコースクランプ試験のインスリン抵抗性指数と強く相関する事を見出した。本結果を PLOS ONE 誌に論文掲載した (Okura T, et al. CPR-IR is an insulin resistance index that is minimally affected by hepatic insulin clearance-A preliminary research. PLoS One. 2018, 23;13:e0197663.)。

また、研究期間前の研究とあわせて、計 26 名の 2 型糖尿病患者、32 名の非糖尿病ボランティアにおいて、インスリン抵抗性が生じる BMI について検討を行ったところ、日本人では BMI23 からインスリン抵抗性を生じる事を見出し、PLOS ONE 誌に報告した (Okura T, et al. Body mass index ≥ 23 is a risk factor for insulin resistance and diabetes in Japanese people: A brief report. PLoS One. 2018;13:e0201052.)。

さらに研究期間中、15 名の 2 型糖尿病患者、20 名の非糖尿病ボランティアにおいて、食事負荷試験で得られたインスリン分泌能と、糖終末化産物 AGE の carboxymethyllysine (CML) が強く関連することを J Diabetes Research 誌 (Okura T, et al. High Serum Advanced Glycation End Products Are Associated with Decreased Insulin Secretion in Patients with Type 2 Diabetes. J Diabetes Res. 2017;2017:5139750) に論文掲載した。

また、12 名の 2 型糖尿病患者、18 名の非糖尿病ボランティアにおいて血中脂肪酸結合蛋白 Fatty acid binding protein-4 (FABP4) がグルコースクランプ試験のインスリン抵抗性指数と強く関連することを PLOS ONE 誌 (Nakamura R, Okura T, et al. Serum fatty acid-binding protein 4 (FABP4) concentration is associated with insulin resistance in peripheral tissues. PLoS One. 2017 Jun 27;12(6):e0179737.) に論文掲載した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Okura T, Nakamura R, Fujioka Y, Kawamoto-Kitao S, Ito Y, Matsumoto K, Shoji K, Sumi K, Matsuzawa K, Izawa S, Ueta E, Kato M, Imamura T, Taniguchi S, Yamamoto K. CPR-IR is an insulin resistance index that is minimally affected by hepatic insulin clearance. PLoS One. 13:e0197663, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0197663. eCollection 2018. (査読有り)

2. Okura T, Nakamura R, Fujioka Y, Kawamoto-Kitao S, Ito Y, Matsumoto K, Shoji K, Sumi K, Matsuzawa K, Izawa S, Ueta E, Kato M, Imamura T, Taniguchi SI, Yamamoto K. Body mass index ≥ 23 is a risk factor for insulin resistance and diabetes in Japanese people: A brief report. PLoS One. 13:e0201052, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0201052. eCollection 2018. (査読有り)

3. 大倉 毅: グルコースクランプ法を用いた新規インスリン抵抗性指標の開発. BIO Clinica 31: 466-468, 2018. (査読無し)

4. 大倉 毅: 肝インスリン分解の影響を受けにくい新規インスリン抵抗性指標 CPR IR の開発. Bio Clinica 33: 1305-1308, 2018. (査読無し)

5. Okura T, Ueta E, Nakamura R, Fujioka Y, Nomi Y, Mihara H, Otsuka Y, Kato M, Taniguchi S, Yamamoto K. High serum advanced glycation end products are associated with decreased insulin secretion in patients with type 2 diabetes A Brief report. J Diabetes Res. 2017: 5139750, 2017. doi: 10.1155/2017/5139750. Epub 2017 Jun 12. (査読有り)

6. Nakamura R, Okura T, Fujioka Y, Sumi K, Matsuzawa K, Izawa S, Ueta E, Kato M, Taniguchi SI, Yamamoto K. Serum fatty acid-binding protein 4 (FABP4) concentration is associated with insulin resistance in peripheral tissues, A clinical study. PLoS One. 27; 12:

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Okura T, Anno M, Ito Y. Hepatic Insulin Clearance Is Increased in the Patients with Poorly Controlled Type 2 Diabetes. American Diabetes Association 78th Scientific Sessions, Orland USA, 2018
2. 大倉 毅、藤岡 洋平、中村 理沙、谷口 晋一、山本 一博「肝インスリン分解に影響する因子の検討」第 5 回肝臓と糖尿病・代謝研究会，米子，2018
3. 大倉 毅、中村 理沙、藤岡 洋平、角 啓佑、北尾 苑子、伊藤 祐一、松本 和久、庄司 恭子、松澤 和彦、伊澤 正 一郎、加藤 雅彦、谷口 晋一、山本 一博「日本人の糖代謝異常スクリーニングのための適切な BMI 基準値の検討」第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会，東京都，2018
4. 大倉 毅，藤岡 洋平，中西 理沙，角 啓佑，松本 和久，庄司 恭子，松澤 和彦，伊澤 正一郎，加藤 雅彦，谷口 晋一，山本 一博「肝インスリン分解の影響を受けにくい血中 C ペプチドを用いた新規インスリン抵抗性指標の開発」第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会，京都市，2016
5. Okura T, Fujioka Y, Nakanishi R, Shiochi H, Shoji K, Murawaki A, Matsuzawa K, Izawa S, Ohkura H, Kato M, Taniguchi S, Yamamoto K. $20 / (\text{fasting C-peptide} \times \text{fasting plasma glucose})$ is a novel index of insulin resistance with small effect of hepatic insulin clearance. American Diabetes Association 75th Scientific Sessions, Boston USA, 2015
6. 大倉 毅，藤岡 洋平，中西 理沙，塩地 英希，角 啓佑，谷口 晋一，加藤 雅彦，山本 一博「グルコースランブ試験結果推定式，新規インスリン抵抗性指標 $1080 / (\text{空腹時 C ペプチド} \times \text{空腹時血糖})$ の開発」(奨励賞受賞)第 112 回日本内科学会講演会，京都，2015

6 . 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：藤岡洋平

ローマ字氏名：Yohei FUJIOKA

研究協力者氏名：中村理沙

ローマ字氏名：Risa NAKAMURA

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。