

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月24日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09035

研究課題名(和文)生活習慣の欧米化によるインクレチン・グルカゴン分泌の変化

研究課題名(英文) Variations in plasma glucagon and incretin levels according to westernization of lifestyle

研究代表者

米田 真康 (YONEDA, Masayasu)

広島大学・医歯薬保健学研究所(医)・寄附講座教授

研究者番号：30508130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：日系米人において、肥満や耐糖能異常によるグルカゴンやインクレチン分泌の変化を調べた。糖尿病の既往のない日系米人138名に、75gブドウ糖負荷試験(OGTT)を施行し、血漿グルカゴン、GLP-1、GIP値を測定し、耐糖能別(正常群119名、境界群12名、糖尿病群7名)に分類し血中濃度の変動を比較した。空腹時血漿グルカゴン値及びOGTTにおけるグルカゴン濃度-時間の曲線下面積は、正常群、境界群、糖尿病群の順に高くなり、正常群に比し糖尿病群は有意に高かった。血漿GLP-1とGIP値は3群で差異を認めなかった。空腹時の血中グルカゴンとインスリン濃度の測定は、肥満や早期の耐糖能異常の検出に有用である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特定健康診査や生活習慣病健診における糖尿病に関する検査は、空腹時あるいは随時(食後)血糖値やHbA1c値の血液検査や尿糖の測定である。しかし、これら1ポイントの検査では、ごく初期の糖尿病、より早期の糖尿病発症前の耐糖能異常を検出することは困難であり、耐糖能を詳細に調べるためには、75g経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)という複数回の採血を伴う非常に煩雑な検査が必要である。本研究の結果から、ごく初期の糖尿病群や境界型の耐糖能異常群、さらには正常耐糖能であっても肥満があれば、空腹時の血漿グルカゴン値が高いことが示された。空腹時の血漿グルカゴン濃度が糖尿病発症の予知マーカーとして期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the variability of glucagon and incretin secretions among Japanese-American subjects. The 75-g oral glucose tolerance test (OGTT) was performed for 138 Japanese-American subjects with no history of type 2 diabetes mellitus (DM). Plasma glucagon and incretin levels were compared according to glucose tolerance status: a normal glucose tolerance (NGT) group (n=119), an impaired glucose tolerance (IGT) group (n=12), and a DM group (n=7). Fasting plasma glucagon levels and glucagon-time area under the curve during the OGTT were significantly higher in the DM group than in the NGT group, with intermediate levels detected in the IGT group. No differences among three groups were observed in the levels of plasma active glucagon-like peptide-1 (GLP-1) or active glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP). Our findings suggest that fasting plasma glucagon measurements could help detect primary abnormal glucose tolerance when combined with measured insulin levels.

研究分野：肥満や糖尿病の発症・進展における生活習慣の影響(疫学研究)

キーワード：糖尿病 肥満 生活習慣 インクレチン グルカゴン

## 1. 研究開始当初の背景

インクレチンは、食事の栄養素に応じて消化管の内分泌細胞から分泌され、膵細胞に作用して血糖依存的にインスリンの分泌を促進させるホルモンの総称であり、主に十二指腸・空腸といった上部消化管に存在する K 細胞から分泌される Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) と、主に下部消化管に存在する L 細胞から分泌される Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) が存在する。また、グルカゴンは、膵細胞から分泌され、血糖値上昇作用を有するホルモンである。インスリンはグルカゴン分泌を抑制するために、インスリン分泌の低下はグルカゴン分泌の上昇を引き起こすとされるが、一方で、グルカゴン分泌障害はインスリン分泌障害を来しうることも報告されている。

2 型糖尿病 (Diabetes Mellitus: DM) を発症する過程においては、発症数年前の段階からインスリン抵抗性の増大が生じ、食後血糖値の上昇に対し、インスリン分泌が代償的に過剰となる。その後、インスリン分泌が低下に転じる段階になると、空腹時高血糖をきたすことが知られている。肥満を生じ、正常耐糖能 (Normal glucose tolerance: NGT) の状態から耐糖能異常 (Impaired glucose tolerance: IGT) を経て、糖尿病を発症する過程において、インスリンのみならず、インクレチンやグルカゴンといったホルモン分泌異常が関係している可能性が考えられる。

日本人の海外移住は 19 世紀後半から始まり、当時、食事や運動といった生活習慣は日本と米国では大きく異なっていた。日系米人は、遺伝素因は純粋な日本人でありながら、米国式的生活環境のなかで暮らしており、生活習慣が欧米化しつつある日本に暮らす我々日本人の近未来像とみなすことができる。当教室における在米日系人医学調査「ハワイ-ロサンゼルス-広島スタディ」は、1970 年からハワイ島のヒロとコナにおいて、1978 年からはカリフォルニア州ロサンゼルスで開始された。数年毎に検診を行ない、2015 年までに調査回数は計 23 回を数え、のべ受検者は 13,289 名を数えている。

我々は、ハワイやロサンゼルス在住の日系米人と、同時期の広島在住日本人の調査成績とを比較分析することにより、生活習慣の欧米化という環境要因の変化が疾病構造に与える影響について検討してきた。これまでに、日系米人は広島在住の日本人に比べ、動物性脂質や単純糖質の摂取割合が多く (Egusa G, et al. *Atherosclerosis*. 100, 1993) 肥満者の割合、糖尿病やメタボリックシンドロームの有病率が高く (Hara H, et al. *DRCP*. 24, 1994; Yoneda M, et al. *DRCP*. 79, 2008; Shiwa M, et al. *PLoS One*. 10, 2015) さらには動脈硬化が進行している (Watanabe H, et al. *Atherosclerosis*. 166, 2003) ことなどを報告してきた。日系米人は日本人より高インスリン血症を示しており、インスリン抵抗性が増大していることが判明しているが、インクレチンやグルカゴンの差異については未だ明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の 2 つについて明らかにすることである。

- (1) 肥満、耐糖能異常を生じ、糖尿病を発症していく過程における、インクレチンやグルカゴン分泌 (血中濃度) の変化
- (2) 日本人と日系米人を比較し、生活習慣の欧米化によるインクレチンやグルカゴン分泌への影響 (日本人と日系米人におけるインクレチン、グルカゴンの血中濃度の差異)

## 3. 研究の方法

(1) 2015 年のロサンゼルス医学調査を受診した、既知の糖尿病を除いた日系米人 138 名に、75g 経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) を施行し、血糖値、血清インスリン値、血漿グルカゴン値、血漿 GLP-1 値、血漿 GIP 値を測定し、耐糖能別 (正常型 NGT、境界型 IGT、糖尿病型 DM) に分類し、糖負荷に対する各ホルモンの血中濃度を比較した。

続いて、肥満との関連を調べるために、NGT 群を肥満度 (Body mass index: BMI) 別に、BMI < 22 群、22 ≤ BMI < 25 群、BMI ≥ 25 群の 3 群に分け、同様の検討を行った。

(2) OGTT において NGT と判定された、ロサンゼルス在住の日系米人 77 名 (男性 36 名、女性 41 名) と、広島在住の日本人 14 名 (男性 12 名、女性 2 名) において、血漿グルカゴン、血漿 GLP-1、血漿 GIP の糖負荷に対する血中濃度を比較した。日本人は、2016 年の広島県の実験室生活習慣病健診を受診し、研究の同意が得られた 14 名を対象とした。

血漿サンプルは、BD™ P800 (366421; BD, Franklin Lakes, NJ, USA) スピッツにて採取し、直ちに冷却、遠心分離し、測定まで凍結保存した。血漿グルカゴンは、the Mercodia Glucagon ELISA (Mercodia AB, Uppsala, Sweden) を用い、Sandwich ELISA 法で測定した。

統計学的解析は、統計ソフト SPSS version 24.0 (IBM Co. Ltd., Armonk, NY, USA) を用いて、1 元配置分散分析および Bonferroni の多重比較法あるいは Kruskal-Wallis の検定を行い、P 値 0.05 未満を統計学的有意とした。

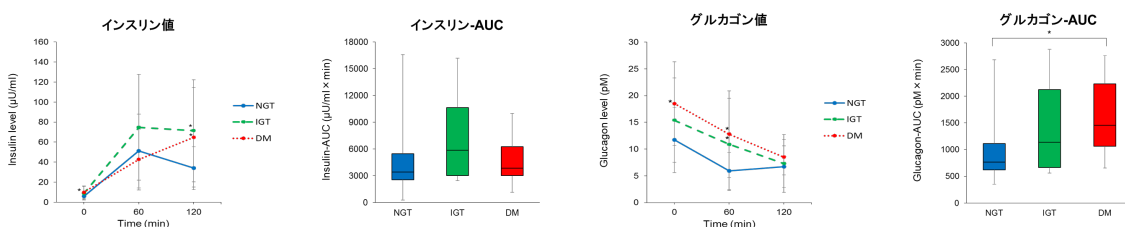
## 4. 研究成果

(1) ロサンゼルス在住の日系米人のなかで、糖尿病の既往や治療中の者を除いて、OGTT を行った結果、NGT 群 119 名、IGT 群 12 名、DM 群 7 名であった。DM 群はすべて新規に診断された男性であり、その HbA1c の中央値は 6.3% であった。

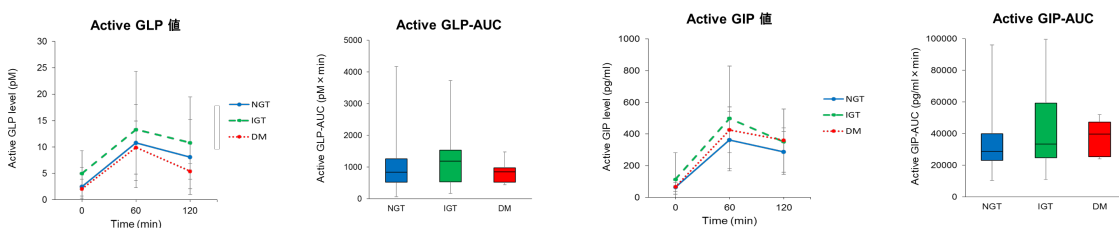
	NGT	IGT	DM
N (Men/Women)	119 (62/57)	12 (6/6)	7 (7/0)
Age, years	62.0 (56.0 – 68.0)	65.0 (63.0 – 67.0)	64.0 (60.0 – 68.0)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	23.6 ± 3.5	23.5 ± 4.3	26.1 ± 2.0
HbA <sub>1c</sub> , %	5.5 (5.3 – 5.8)	5.6 (5.2 – 6.0)	6.3 (6.1 – 6.9)*†
HOMA-IR	1.2 (0.8 – 1.6)	1.5 (1.0 – 3.2)	2.4 (1.2 – 3.6)*
HOMA-β	83.1 (61.7 – 109.8)	86.0 (70.8 – 92.3)	50.5 (48.5 – 116.4)
Systolic BP, mmHg	126.8 ± 16.8	136.7 ± 23.5	139.3 ± 16.4
Diastolic BP, mmHg	79.8 ± 9.7	82.8 ± 14.3	90.4 ± 14.7*
Total cholesterol, mg/dl	214.0 ± 35.9	237.3 ± 32.3	221.9 ± 48.8
HDL-cholesterol, mg/dl	57.0 (47.0 – 71.0)	49.5 (36.0 – 74.8)	44.0 (37.0 – 49.0)
Triglyceride, mg/dl	117.0 (89.0 – 168.0)	175.0 (64.0 – 283.0)	164.0 (149.0 – 271.0)

Data are expressed as mean ± SD, or median (interquartile range). Analyzed by one-way analysis of variance (One-way ANOVA) followed by the Bonferroni multiple comparison test or Kruskal-Wallis test. \*P < 0.05 vs NGT. †P < 0.05 vs IGT.

血漿グルカゴン値は、NGT 群より IGT 群が、さらに IGT 群より DM 群が、空腹時、負荷後 60 分、負荷後 120 分のすべてが高値となったが、負荷後 120 分値は 3 群における差は縮小し、ほぼ同レベルになった (図: \*P < 0.05)。NGT 群に比し、IGT 群では負荷後 60 分値が、DM 群では空腹時と負荷後 60 分値が有意に高値であった。OGTT における血漿グルカゴン濃度-時間の曲線下面積 (Area under the curve: AUC) は、NGT 群、IGT 群、DM 群の順に高くなり、NGT 群に比し DM 群は有意に高かった。



インクレチンについては、血漿 Active GLP-1 値は空腹時、負荷後 60 分、負荷後 120 分及び AUC のすべてにおいて、NGT 群、IGT 群、DM 群の 3 群間に有意な差は認めなかった。また、血漿 Active GIP 値も同様に、空腹時、負荷後 60 分値、負荷後 120 分値、AUC のいずれも 3 群間における有意な差を認めなかった。



続いて、NGT 群 (119 名) を BMI により、BMI < 22 群 (37 名)、22 ≤ BMI < 25 群 (46 名)、BMI ≥ 25 群 (36 名) の 3 群に分け、同様に解析した。

血漿グルカゴン値は、空腹時は、BMI < 22 群より 22 ≤ BMI < 25 群が、さらに 22 ≤ BMI < 25 群より BMI ≥ 25 群が高値であり、負荷後 60 分値も BMI ≥ 25 群は他の 2 群に比し有意に高値であったが、負荷後 120 分値は 3 群の差は縮小し、ほぼ同レベルになった。OGTT における血漿グルカゴン濃度-時間 AUC は、BMI ≥ 25 群では他の 2 群に比し有意に高値であった。

また、血漿 Active GLP-1 と血漿 Active GIP の濃度-時間 AUC は両方ともに、3 群間で有意差を認めなかった。

これらの結果から、空腹時の血漿グルカゴン値と血清インスリン値を同時に測定することにより、糖尿病のごく初期あるいは肥満や糖尿病を発症する前の耐糖能異常の段階を検索することが可能である。すなわち、**空腹時の血漿グルカゴン濃度は糖尿病発症の予知マーカーとして有用である**ことが示唆される。(1)の研究結果に関しては、現在論文作成中であり、近日中に投稿予定である。

(2) ロサンゼルス在住の日系米人と広島在住の日本人の NGT 群において、血漿グルカゴン、血漿 GLP-1、血漿 GIP の糖負荷に対する血中濃度を比較したところ、いずれのホルモンも両者で明らかな差異を認めなかった。しかし、広島在住の日本人の対象者を十分に集めることができず、人数が非常に少なく、かつ、日系米人と年齢、性差において有意差を生じた。従って、この結果は信頼性が低いと考え、対象者数を増やした更なる研究が必要である。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

該当なし

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 森田 好美, 小武家 和博, 大野 晴也, 沖 健司, 米田 真康: 耐糖能別の血漿グルカゴン濃度・インクレチン濃度の変動パターン. 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会, 東京, 日本, 2018/5/24-26
2. 森田 好美, 岸田 祐美, 小武家 和博, 久保田 益巨, 大野 晴也, 沖 健司, 米田 真康: 血漿グルカゴン濃度と耐糖能との関係. 日本糖尿病学会中国四国地方会第 55 回総会, 岡山, 日本, 2017/11/10
3. 米田 真康: 在米日系人医学調査「ハワイ-ロサンゼルス-広島スタディ」(シンポジウム). 第 49 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 広島, 日本, 2017/7/6
4. 森田 好美, 岸田 祐美, 小武家 和博, 久保田 益巨, 大野 晴也, 沖 健司, 米田 真康: 日系米人におけるグルカゴン分泌と耐糖能・肥満との関連. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, 名古屋, 日本, 2017/5/18

〔図書〕(計 0 件)

該当なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

該当なし

取得状況(計 0 件)

該当なし

〔その他〕

該当なし

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 碓井 裕史

ローマ字氏名: (USUI, hirofumi)

研究協力者氏名: 森田 好美

ローマ字氏名: (MORITA, yoshimi)

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。