

平成 21 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究(B)
研究期間：平成 18 年度～平成 20 年度
課題番号：18300236
研究課題名(和文) メタボリックシンドロームにおける酸化ストレスと炎症の意義に関する研究
研究課題名(英文) Significance of oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of metabolic syndrome
研究代表者 内藤通孝 (Michitaka Naito) 梶山女学園大学・生活科学部・教授 研究者番号 10198012

研究成果の概要：

本研究では、食後脂質代謝、喫煙、および糖尿病・インスリン抵抗性に注目して、メタボリックシンドローム(MS)の病態生理学的意義、とくに酸化ストレスと炎症の役割の解明を目指した。本研究の結果より、MS の根本的原因は内臓脂肪の蓄積であり、酸化ストレスや炎症は、MS の原因というより、結果であると考えられた。今後の MS 予防・改善のための戦略は内臓脂肪蓄積の防止・軽減に向けられるべきである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
平成 19 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
平成 20 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
年度			
総計	12,800,000	3,840,000	16,640,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード：生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

2005 年 4 月、日本内科学会をはじめとする 8 学会合同委員会は、日本人におけるメタボリックシンドローム (MS) の診断基準を公表した (メタボリックシンドローム診断基準検討委員会：メタボリックシンドロームの定義と診断基準、日内会誌 94:794-809,2005)。日本人は欧米人に比べて、程度の軽い肥満でも糖尿病や MS に陥りやすいことが指摘されてきた。とくに中年男性の肥満や MS が増加しており、今後、わが国において虚血性心疾患および脳梗塞が増加することが懸念され

ている。MS は、それまでインスリン抵抗性症候群、死の四重奏、内臓脂肪蓄積症候群などと言われていたものを整理・統合した新しい概念である。一方、糖尿病、脂質異常症、動脈硬化などの生活習慣病にはフリーラジカル、活性酸素などの酸化ストレスが深く関与している可能性が指摘されている。我々はこれまで、生活習慣病と酸化ストレスとの関わりについて追究してきた。とくに食後高脂血症、運動、喫煙、糖尿病と酸化ストレスとの関わりを明らかにしてきた。

本研究では、今まで脂質異常症、糖尿病、

高血圧など、別々に取り扱われてきた病態が、実は内臓脂肪蓄積やインスリン抵抗性を介して相互に強く関係していることが示されてきたMSの概念を1つの軸としている。今回の課題では、これまでの成果を基礎として、MSを酸化ストレスおよび炎症の視点から見直すこととした。

2. 研究の目的

糖尿病、脂質異常症、動脈硬化などの生活習慣病にはフリーラジカル、活性酸素などの酸化ストレスが深く関与している可能性が指摘されている。研究代表者は、一貫してこれら生活習慣病と酸化ストレスの関わりについて追究してきた。とくに食後高脂血症、運動、喫煙、糖尿病と酸化ストレスとの関わりを明らかにしてきた。今回の課題では、これらの成果を基礎として、酸化ストレスおよび、最近、酸化ストレスとの関わりにおいて注目されている炎症の観点からMSを見直し、MS予防のストラテジーを構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 肥満とMS

若年健常男性において肥満者と非肥満者を対象とし、経口脂肪負荷試験を実施するとともに、体構成成分分析装置(InBody720, Biospace)による内臓脂肪面積測定をはじめとするMSの評価を行った。

(2) 喫煙とMS

若年女性(大学生)の喫煙者、受動喫煙者および非喫煙者を対象として、肥満度、HDL-コレステロール、トリグリセライド(TG)等のMS指標、酸化ストレス、血小板凝集能等を比較検討した。

(3) 2型糖尿病とMS — とくにRBPの意義

某市民病院の2型糖尿病患者を対象に、MSや動脈硬化の指標との関連を検討した。また、糖尿病性網膜症の病期によって分類し、同様の検討を行った。

(4) 2型糖尿病とMS — 糖尿病性網膜症病期との関連

某市民病院の2型糖尿病患者を、網膜症の病期に分類し、各群のMS指標を中心に比較検討した。

4. 研究成果

(1) 肥満とMS

MSの判定基準には高TG血症が含まれており、空腹時採血で150 mg/dL以上の基準が採用されている。しかし、内臓脂肪蓄積状態では、空腹時のTG値が基準値内であっても食後には高値を示す場合があり、判定基準の不備が指摘されている。研究代表者は、内容・量を基準化した脂肪クリームを経口負荷による脂肪負荷試験を設定し、その有効性を検証してきた。

まず、若年女性に比べて、中年の閉経前および閉経後の健常女性ではTG代謝の遅延が見られることを示した。

次に、若年健常男性において肥満者と非肥満者を対象とし、経口脂肪負荷試験を実施するとともに、内臓脂肪面積測定をはじめとするMSの評価を行った。これらの対象では、インスリン抵抗性はなく、空腹時TG値等も基準値内であった。しかし、肥満者の多くは内臓脂肪面積が100 cm²を超えており、MS診断基準の内臓脂肪蓄積を認めた。若年肥満男性では、対照の若年健常男性に比べて、経口脂肪負荷後のTGピーク値に達するまでの時間の遅延、試験終了時(6時間後)に負荷前値に回復しないなどのTG代謝の遅延が観察された(図1)。また、内臓脂肪面積は、空腹時TG値とは相関せず、負荷後4~6時間後のTG値と有意な正相関を示した。

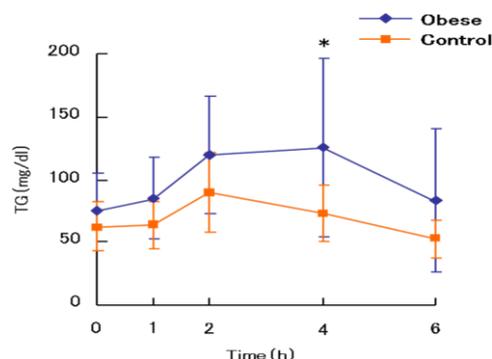


図1 脂肪負荷試験における血中TG値の変動

*: $p < 0.05$

これらの結果は、MSを見出すためには、空腹時のTG測定では不十分であり、MSあるいはその予備群として対処すべき者が見逃されている可能性を示している。

(2) 喫煙とMS

喫煙者にはMSの頻度が高いこと、たばこ煙には人体の酸化ストレスとなる物質が含まれていること等が指摘されている。若年女性(大学生)の喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者を比較したが、肥満度、HDL-コレステロール、TG等MSの指標に差はなかった。酸化ストレ

ス、血小板凝集能にも差は見られなかった。若年女性の喫煙において、心血管機能に対する急性影響は見られたが(図2)、酸化ストレス、血小板凝集能・凝固線溶系、炎症反応、血管弾性に対する影響は認められなかった。

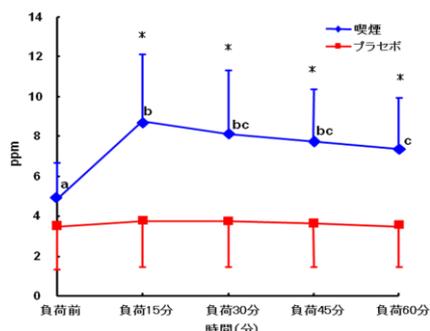


図2 喫煙による呼気中一酸化炭素濃度の変化
異なるアルファベットは有意差を表す。*: $p < 0.05$

(3) 2型糖尿病とMS — RBPの意義

糖尿病やMSに伴うインスリン抵抗性の指標として、レチノール結合蛋白質(RBP)やadiponectin(AN)の有用性が指摘されている。本研究では、2型糖尿病患者を対象に、RBPを基準としてMSや動脈硬化の指標との関連を検討した。早朝空腹時に身体計測、血液・尿検査を実施し、RBP中央値を基準として高値群と低値群に分け、MSおよび動脈硬化の危険因子との関連を検討した。

男女共に、RBP高値群では低値群に比べて、トランスサイレチン(TTR)、尿酸(UA)、尿素窒素(BUN)、血清クレアチニン(S-Cr)、シスタチンC(Cys-C)は有意に高値を示した。さらに、男性では、RBP高値群は低値群に比べて、TG、ApoB-48、ApoC-II、ApoC-III、RLP-C、RLP-TG、RLP-C/nonHDL-C比、腹囲は有意に高値を示した。

また、男性では、RBPは、TG、Apo A-II、log Apo B-48、Apo C-II、Apo C-III、Apo E、レムナント様リポ蛋白 log RLP-C、log RLP-TG、RLP-C/TG比、RLP-C/nonHDL-C比、UA、TTR、BUN、S-Cr、Cys-C、尿蛋白(logU-P)、収縮期血圧(SBP)、脈波伝播速度(L-PWV)と正相関を、糸球体濾過率(eGFR)と負相関を示した。女性では、RBPはApo B、UA、TTR、S-Cr、Cys-Cと正相関を、Apo A-I/B、eGFRと負相関を示した。男女共に、RBPはインスリン抵抗性指標(HOMA-IR)およびANと相関を示さなかった。また、男女ともに炎症、酸化ストレス指標との有意な相関はなかった。

以上、男性2型糖尿病患者では、RBP値は

MSならびに動脈硬化進展の指標となる可能性が示された。過栄養状態は、TG rich リポ蛋白代謝を介し、MSおよび動脈硬化進展に影響を及ぼすと考えられた。RBPはインスリン抵抗性の指標とされてきたが、男性2型糖尿病患者では、インスリン抵抗性の指標としてではなく、栄養状態の指標となる可能性が考えられた。一方、女性では、RBPの有用性は認められなかった。

(4) 2型糖尿病とMS — 糖尿病性網膜症病期との関連

糖尿病では、早期より全身の血管障害をきたし、特に、細小血管障害である網膜症、腎症、神経障害は糖尿病の三大合併症と呼ばれる。また、MSとの関連、さらには虚血性心疾患、脳血管障害、下肢動脈硬化症などの大血管障害との関わりも重要である。

2型糖尿病患者を、正常(N)、単純性網膜症(S)、増殖性網膜症(P)に分類した。各群の比較において、年齢では有意差は認められなかったが、NからPへ移行するに従い罹病期間が増加する傾向が認められた。脂質代謝、尿酸代謝、炎症、栄養状態、肥満の指標では有意差は認められなかった。頸動脈硬化度の指標(CAVI、PWV)では、NからPへ移行するに従って増加傾向がみられ、NとPとの間で有意差が認められた。動脈壁肥厚の指標(ICA IMTとMax IMT)では、PはNに比較して肥厚し、NとPとの間で有意差が認められた。心機能指標(NTproBNP)ではNからPへ移行するに従い有意に増加した。

以上、動脈硬化度の指標(CAVI)と心機能指標(NTproBNP)はともに網膜症の進展に伴い高値を示し、有意な相関が認められ、網膜症の動脈硬化度と心機能への関わりが示唆された(図3)。

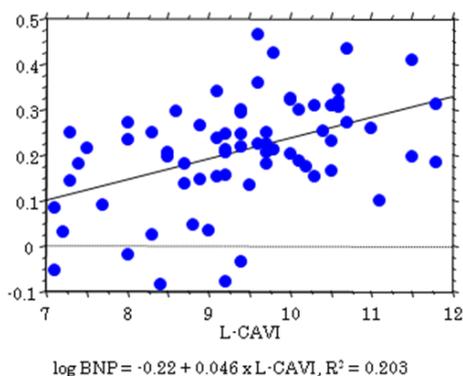


図3 NTproBNPとCAVIの相関

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 14 件)

- ①Hisaka S, Kato Y, Kitamoto N, Yoshida A, Kubushiro Y, Naito M, Osawa T: Chemical and immunochemical identification of propanoyl-lysine derived from oxidized n-3 polyunsaturated fatty acid. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 1463-1471 (査読有)
- ②Kato Y, Dozaki N, Nakamura T, Kitamoto N, Yoshida A, Naito M, Osawa T: Quantification of modified tyrosines in healthy and diabetic human urine using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Clin Biol Nutr* 2009; 44: 67-78 (査読有)
- ③内藤通孝: 食と動脈硬化 日本食生活学会誌 2009; 19:307-319 (査読無)
- ④内藤通孝: メタボリックシンドロームと動脈硬化・(1) 全栄施協月報 2009; 580: 9-32 (査読無)
- ⑤内藤通孝: メタボリックシンドロームと動脈硬化・(2) 全栄施協月報 2009; 581: 7-31 (査読無)
- ⑥Kawai Y, Ishisaka A, Saito S, Uchida K, Shibata N, Kobayashi M, Fukuchi Y, Naito M, Terao J: Immunochemical detection of flavonoid glycosides: development, specificity, and application of novel monoclonal antibodies. *Arch Biochem Biophys* 2008; 476: 124-132 (査読有)
- ⑦Fukuchi Y, Miura Y, Nabeno Y, Kato Y, Osawa T, Naito M: Immunohistochemical detection of oxidative stress biomarkers, dityrosine and N^ε-(hexanoyl)lysine, and C-reactive protein in rabbit atherosclerotic lesions. *J Atheroscler Thromb* 2008; 15: 185-192 (査読有)
- ⑧Fukuchi Y, Hiramatsu M, Okada M, Hayashi S, Nabeno Y, Osawa T, Naito M: Lemon polyphenols suppress diet-induced obesity by up-regulation of mRNA levels of the enzymes involved in β -oxidation in mouse white adipose tissue. *J Clin Biol Nutr* 2008; 43: 1-9 (査読有)
- ⑨Kawai Y, Tanaka H, Murota K, Naito M, Terao J: (-)-Epicatechin gallate accumulates in foamy macrophages in human atherosclerotic aorta: implication in the anti-atherosclerotic actions of tea catechins. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 374: 527-532 (査読有)
- ⑩Shiba Y, Kinoshita T, Chuman H,

Taketani Y, Takeda E, Kato Y, Naito M, Kawabata K, Ishisaka A, Terao J, Kawai Y: Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase: molecular actions of aglycone and metabolites. *Chem Res Toxicol* 2008; 21: 1600-1609 (査読有)

⑪石原万里名、鍋野由佳、木村友子、内藤通孝: 黒大豆汁の糖代謝改善作用に関する研究 日本食生活学会誌 2008; 19: 232-238 (査読有)

⑫Nabeno Y, Fukuchi Y, Matsutani Y, Naito M: Influence of aging and menopause on postprandial lipoprotein responses in healthy adult women. *J Atheroscler Thromb* 2007; 14: 142-150 (査読有)

⑬Yoshida A, Matsutani Y, Fukuchi Y, Saito K, Naito M: Analysis of the factors contributing to serum retinol binding protein and transthyretin levels in Japanese adults. *J Atheroscler Thromb* 2006; 13: 209-215 (査読有)

⑭小田奈緒美、大野秀夫、内藤通孝: 女子大生における生体リズムと健康意識に関する自己診断との関係 人間と生活環境 2006;13:67-74 (査読有)

[学会発表] (計 14 件)

①古屋かな恵、木村友子、内藤通孝: 若年女性の痩せ志向と減量経験が身体や食生活習慣に及ぼす影響 日本食生活学会第 37 回大会 2008 年 11 月 22 日、名古屋

②太田貴子、鬼頭志保、加賀谷みえ子、木村友子、内藤通孝: 若年勤労者に対するメタボリックシンドローム予防のための栄養教育 日本食生活学会第 37 回大会 2008 年 11 月 22 日 名古屋

③内藤通孝: 食と動脈硬化 (特別講演) 日本食生活学会第 37 回大会 2008 年 11 月 22 日 名古屋

④吉田晃浩、幸脇正明、牧野真樹、内藤通孝: 2 型糖尿病に伴う腎症の進行と動脈硬化との関連性 第 40 回日本動脈硬化学会総会 2008 年 7 月 11 日 つくば

⑤幸脇正明、吉田晃浩、牧野真樹、内藤通孝: 糖尿病腎症の進展における CAVI と NTproBNP の関連について 第 40 回日本動脈硬化学会総会 2008 年 7 月 11 日 つくば

⑥Kato Y, Hisaka S, Yoshida A, Fukuchi Y, Naito M, Maruyama W, Kitamoto N, Osawa T: Novel biomarker of oxidative stress: oxidized omega-3 fatty acid-lysine adducts. *Biomarkers of Oxidative Stress in Health and Diseases (BOSHD 2008)* January 16-19, 2008 Osaka, Japan

⑦鍋野由佳、林佐奈衣、福智喜子、加藤陽二、大澤俊彦、内藤通孝：コレステロール負荷による家兎の粥状硬化巣における CRP と酸化バイオマーカーの局在 第 39 回日本動脈硬化学会総会 2007 年 7 月 13 日 大阪

⑧福智喜子、鍋野由佳、林佐奈衣、木村友子、内藤通孝：経口脂肪負荷試験を用いた若年肥満者における血中脂肪変動の解析 第 39 回日本動脈硬化学会総会 2007 年 7 月 14 日 大阪

⑨吉田晃浩、林泰子、幸脇正明、牧野真樹、加藤陽二、鍋野由佳、内藤通孝：2 型糖尿病におけるレチノール結合蛋白 (retinol binding protein, RBP) の意義 第 39 回日本動脈硬化学会総会 2007 年 7 月 14 日 大阪

⑩梶川裕司、植田喜代江、砂場善子、鈴木満里子、吉田晃浩、鈴木末広、牧野真樹、内藤通孝：血圧脈波 (CAVI) による糖尿病性網膜症の管理の有用性 第 46 回岐阜県医学検査学会 2007 年 3 月 11 日 多治見

⑪内藤通孝：メタボリックシンドロームについて 日本調理科学会東海・北陸支部講演会 2007 年 3 月 10 日 名古屋

⑫鍋野由佳、石原万里名、福智喜子、松谷康子、木村友子、内藤通孝：健常若年者を用いた経口脂肪負荷試験における血中脂肪変動の検討 第 38 回日本動脈硬化学会総会 2006 年 7 月 14 日 東京

⑬吉田晃浩、市川浩良、秋山美貴、林泰子、幸脇正明、牧野真樹、内藤通孝：メタボリックシンドロームの判断指標としての PWV の有用性 第 38 回日本動脈硬化学会総会 2006 年 7 月 14 日 東京

⑭幸脇正明、吉田晃浩、末重文子、内藤通孝：メタボリック・シンドロームの指標としての RLP-トリグリセライド/総トリグリセライド比の意義について 第 38 回日本動脈硬化学会総会 2006 年 7 月 14 日 東京

[図書] (計 3 件)

①吉田晃浩、内藤通孝：第 4 章 新しい血管機能 CAVI の臨床応用 3 脂質異常と CAVI p108-114 白井厚治、高田正信、檜垣實男、松崎益徳編 新しい動脈硬化指標 CAVI のすべて～基礎から臨床応用まで～ 日経メディカル開発 2009

②内藤通孝：第 7 章 生活習慣病予防と食生活 p109-122 木村友子、西堀すき江編著：事例で学ぶ食育と健康 建帛社 2008

③内藤通孝：第 12 章 ポリフェノールの健康効果 第 4 節 粥状動脈硬化の病理学 p305-311；第 5 節 ポリフェノールと粥状硬化の疫学的研究 p312-314 食品機能性の

科学編集委員会編：食品機能性の科学 産業技術サービスセンター 2008

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)
なし

○取得状況 (計 2 件)

①肥満防止剤

出願人：金印株式会社

発明者：奥西勲、永井雅、内藤通孝、福智喜子

特許

公開番号：特許公開 2006-328056 公開日：

2006 年 12 月 7 日

②インスリン抵抗性改善剤、血糖値低下剤及び糖尿病予防剤

出願人：株式会社ポッカコーポレーション

発明者：平光正典、岡田美紀、内藤通孝

特許

公開番号：特許公開 2007-63221 公開日：

2007 年 3 月 15 日

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内藤 通孝 (NAITO MICHITAKA)

椋山女学園大学・生活科学部・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号：10198012

(2) 研究分担者

加藤 陽二 (KATO YOJI) (平成 18・19 年度)

兵庫県立大学・環境人間学部・准教授

研究者番号：30305693

(3) 連携研究者

加藤 陽二 (KATO YOJI) (平成 20 年度)

兵庫県立大学・環境人間学部・准教授

研究者番号：30305693