

平成 22 年 4 月 12 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20700552
 研究課題名（和文） C 型慢性肝疾患に対する運動療法のインスリン抵抗性改善効果とそのメカニズムの解析
 研究課題名（英文） Improvement of insulin resistance by exercise in chronic hepatitis C patients
 研究代表者
 小西 一郎（KONISHI ICHIRO）
 愛媛大学大学院・医学系研究科・講師
 研究者番号：30403801

研究成果の概要（和文）：C 型慢性肝炎患者に対して歩行による運動療法を行った。有酸素運動による運動療法は、肝機能や肝予備能を悪化させることなく体重、肥満度、インスリン抵抗性を改善させた。QOL の面では、活力を上げる可能性が示唆された。また、C 型肝炎ウイルスを発現した細胞では糖の取り込み低下がみられ、糖尿病発症の機序の一因であると考えられた。これらの結果から、C 型肝炎に対する運動療法は糖尿病、肥満の改善に有用な治療法であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：We conducted a study to clarify whether walking combined with diet therapy improves insulin resistance and obesity in chronic hepatitis C (CH-C) patients. While body weight, body mass index and HOMA-IR decreased significantly during this study. On the other hand, liver functions did not get worse. In vitro, Hepatitis C virus (HCV) inhibited the uptake of glucose in the HCV infected cells. Aerobic exercise such as walking is useful to improve obesity and insulin resistance, and can be performed safely in CH-C patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総 計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：(1) C 型肝炎ウイルス (2) 運動療法 (3) インスリン抵抗性 (4) 酸化ストレス (5) 内臓脂肪 (6) 糖尿病 (7) 慢性肝炎 (8) 肝硬変

1. 研究開始当初の背景

C 型慢性肝炎・肝硬変は、C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染による慢性肝疾患である。輸血後肝炎として知られ、肝細胞癌の背景疾患

として最も頻度が高い。根治的治療として抗ウイルス療法が広く行われているが治癒に至る症例は約 50%であり、ウイルス排除ができない症例が多数存在する。それらの症例に

は対症療法を行うが、肝疾患の進展・発癌を抑制する治療法は限られている。一方、近年生活習慣病が注目されているが、昨今の研究により肥満、脂肪肝が肝発癌を増加させ、抗ウイルス効果を減弱させることが明らかとなってきた。発癌や治療効果減弱の原因として肥満、脂肪肝、さらには HCV 感染自体からもたらされるインスリン抵抗性が注目されている。インスリン抵抗性が肝線維化、抗ウイルス効果、肝発癌と関連することから、インスリン抵抗性を改善することが各病態に及ぼす影響は大きいと考えられる。一方、肥満やインスリン抵抗性を改善する方法として糖尿病の領域で確立されている運動療法がある。しかし、慢性肝疾患では従来、高カロリー・安静が必要とされてきたため、運動療法の有効性についてのエビデンスは乏しい。

2. 研究の目的

申請者は C 型慢性肝炎・肝硬変に対する運動療法の安全性とインスリン抵抗性改善を主とした有効性について臨床的、基礎的エビデンスを確立することを目的として本研究を行った。本研究では、運動療法の臨床効果と HCV 感染自体が引き起こすインスリン抵抗性発生のメカニズムを酸化ストレスに焦点を当て明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) C 型肝炎に対する運動療法

対象：HCV 陽性の慢性肝疾患を有する患者

17 例（非代償性肝硬変を除く）

試験方法：書面による同意取得後、運動療法導入前検査と栄養士による栄養指導を行った。栄養指導は 30kcal/kg × 標準体重を基本として指導した。運動強度の測定可能な歩数計（ライフコーダー）を装着し、2 ヶ月目に一日 8000 歩の運動指導を行う。2 ヶ月ごとに栄養、運動指導を行い、6 ヶ月間の経過観察を行った。

評価項目：インスリン抵抗性、肝予備能、SF-36（QOL の評価スコア）、体成分分析（InBody720）、有害事象の有無とした。

主な臨床研究の流れを図 1 に示す。

方法

2 ヶ月間の食事療法を行った後、6 ヶ月間の食事・運動指導（目標 8000 歩の歩行）を行った。

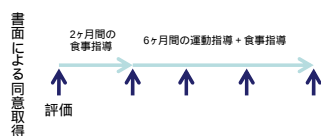


図 1

(2) HCV 発現・増殖によるインスリン抵抗性発

現のメカニズムについて培養細胞を用いた in vitro の系を用いて検討した。

HCV 発現細胞における糖取り込みの評価

HCV 増殖システム(Hiasa Y, et al. J viral Method 2006; 32:195-203)を用いて、HCV full-genome を発現させた HepG2, Huh7 細胞を作成し、³H-2-deoxy-glucose(1 μCi/ml, 0.1mM)を添加後、37 ℃ 5 分間インキュベートし、0.5mol/l NaOH にて溶解、シンチレーションカウンターを用いて ³H-2-deoxy-glucose の取り込みを評価した。

抗酸化剤である MnTBAP (30 ~ 300 μM) を添加し、HCV 発現細胞における糖の取り込みの変化について検討した。

HCV 発現細胞における酸化ストレスの評価

酸化ストレスの発現の評価は DCF assay を用いた。HCV 発現細胞を 25mM glucose, 5 μM CM-DCF を含む KRP buffer とともに 37 ℃ 30 分間インキュベートし、蛍光プレートリーダーを用いて測定(excitation/emmission frequency 485/535)し、細胞内の酸化ストレス発現を評価した。

4. 研究成果

(1) 患者背景を表 1 に示す。登録した 17 例の平均年齢は 59 歳。平均 BMI は 25.7 であった。運動指導開始 6 ヶ月目での目標歩数(8000 歩)達成率は 47% であった。17 例中 2 例は試験途中で脱落した。脱落した 1 例は家庭の問題からのうつ病によるもの、1 例は膝関節の関節症のため、目標歩数達成が困難であるとの判断による自己中止であった。

表 1 患者背景(n=17)

平均年齢	59 歳
平均 BMI	25.7
目標歩数(8000 歩)達成率	47 % (7/15)
平均歩数増加率	60 %
脱落	12 % (2/17)

目標歩数は脱落者を除いて算出

指導期間中の摂取カロリーの経過を図 1 に示す。運動指導時、運動指導後 6 ヶ月目における摂取カロリーに有意な差はみられなかった。

摂取カロリー経過

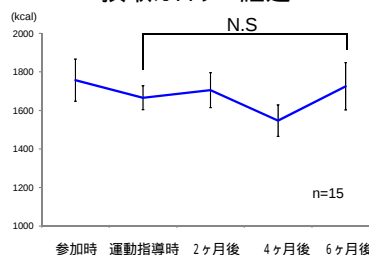


図 1. 摂取カロリー経過

(2) ライフコーダーを用いた一日平均歩数を図2に示す。一日平均歩数は運動指導時ではあったが、指導開始6ヶ月後にはと有意に増加した($P<0.004$)。

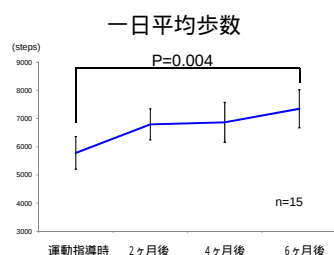


図2. 一日平均歩数

体成分分析装置(InBody 720)を用いて体組成の分析を行った。運動指導前後で体重、BMI、脂肪量は有意に減少したが($P<0.004$, $P<0.004$, $P<0.008$)、筋肉量は低下しなかった(図3)。

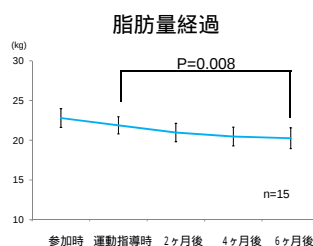
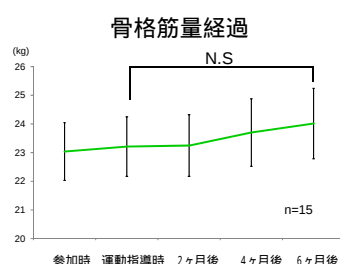
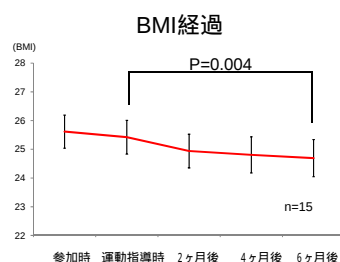
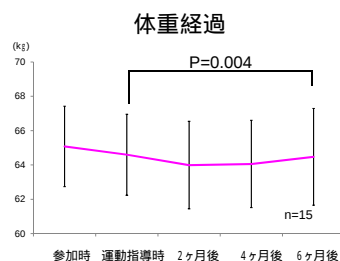


図3. 体成分分析

運動指導中の血清 AST、血清アルブミン、

プロトロンビン時間、血小板数に有意な変化はみられなかったが、血清 ALT 値は運動指導時に比べ、運動開始6ヶ月後で有意に低下した($P<0.023$) (図4)。

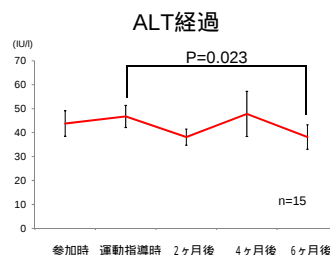


図4. ALT 経過

耐糖能異常について空腹時血糖、空腹時 immunoreactive insulin (IRI)、homeostasis model assessment insulin resistance (HOMA-R)、HbA1c を用いて検討した (図5)。空腹時 IRI、HOMA-IR は運動指導前後で有意に低下した($P<0.005$, $P<0.002$)。

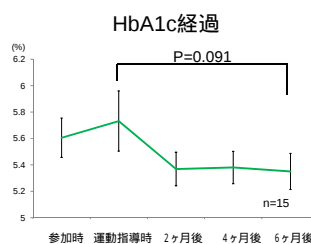
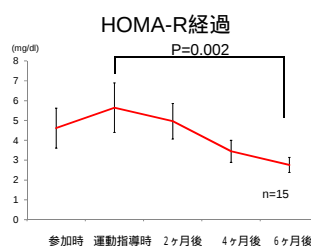
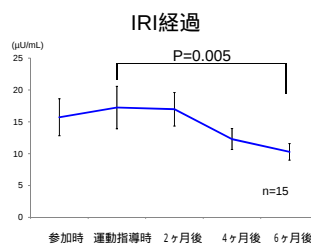
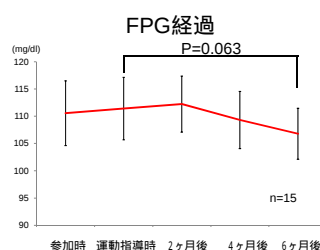


図5. 糖代謝経過

運動指導前後における Quality of Life (QOL)の評価として Short-Form 36(SF-36)を

用いて経時的に評価を行った。身体機能、日常役割機能、体の痛み、全体的な健康感、社会生活機能、日常役割機能、心の健康には運動指導前後で有意な差はみられなかった。活力については増加する傾向が見られた(図6)。

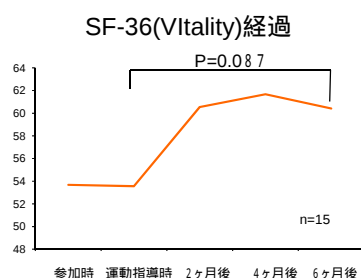


図6. SF-36 (Vitality)経過

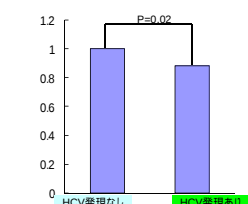
(3)HCV 発現・増殖によるインスリン抵抗性発現のメカニズムについて培養細胞を用いた in vitro の系を用いて検討

HCV 発現細胞における糖取り込みの変化について図7に示す。最初に本実験系を用いて、インスリン抵抗性を惹起させる TNF α 投与により ^3H -2-deoxy-glucose の取り込みが有意に抑制されることを確認した。

次に、HCV を発現させた細胞株において検討した。HepG2 細胞において HCV 発現により有意な ^3H -2-deoxy-glucose 取り込みの低下がみられた。一方、Huh7 細胞においては ^3H -2-deoxy-glucose の取り込み低下はみられなかった。

さらに、抗酸化剤である MnTBAP を培養上清中に添加し培養後、 ^3H -2-deoxy-glucose 取り込みを測定したが、取り込み低下の有意な改善効果はみられなかった。

HCV発現の有無別2-deoxy-glucose取り込み
HepG2 (day1) タンパク量による補正後



HCV発現の有無別2-deoxy-glucose取り込み
Huh7 (day1) タンパク量による補正後

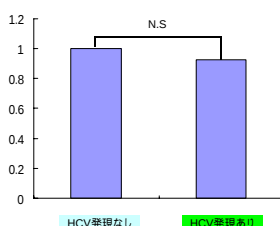


図7. 糖取り込み能の評価

HCV 発現細胞における酸化ストレスを DCF assay を用いて検討した。HepG2 細胞、Huh7

細胞を用いて、酸化ストレスの発現を測定したが、HCV 発現、非発現細胞間における有意な差はみられなかった。

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)

Konishi I, Hiasa Y, Shigematsu S, Hirooka M, Furukawa S, Abe M, Matsuura B, Michitaka K, Horiike N, Onji M. Diabetes pattern on the 75 g oral glucose tolerance test is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus. Liver International. 査読有, 29, 2009, 1194-1201.

Hiasa Y, Kuzuhara H, Tokumoto Y, Konishi I, Onji M et al. Hepatitis C virus replication is inhibited by 22beta-methoxyolean-12-ene-3beta, 24(4beta)-diol (ME3738) through enhancing interferon-beta. Hepatology. 査読有, 48, 2008, 59-69

Michitaka K, Tokumoto Y, Konishi I, Onji M et al. Neuropsychiatric dysfunction in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. Hepatology Research. 査読有, 38, 2008, 1069-1075

小西一郎、日浅陽一、恩地森一、C型肝炎とQOL、肝胆膵、査読有、57巻、2008、1169-1178

〔学会発表〕(計2件)

小西一郎、日浅陽一、阿部雅則、広岡昌史、恩地森一 血小板減少を伴ったC型肝炎に対する抗ウイルス療法の効果 - 脾摘・PSE 施行例 - 第13回日本肝臓学会大会 2009.10.14 京都

小西一郎、日浅陽一、世良俊樹、重松秀一郎、道堯浩二郎、堀池典生、恩地森一 C型慢性肝炎における耐糖能異常が肝発癌に及ぼす影響について 第44回日本肝臓学会総会 2008.6.6 松山

6. 研究組織

(1)研究代表者

小西一郎 (KONISHI ICHIRO)

愛媛大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：30403801