様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 9 日現在

機関番号：14401
研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2009～2011
課題番号：21591177
研究課題名（和文） 睡眠時無呼吸低呼吸症候群と心血管病における内臓脂肪および
アディポネクチンの解析
研究課題名（英文） Impact of visceral fat and adiponectin on association between sleep apnea and cardiovascular diseases
研究代表者
岸田 堅（KISHIDA KEN）
大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教
研究者番号：10437329

研究成果の概要（和文）：睡眠呼吸障害/睡眠時無呼吸および内臓脂肪の蓄積状態の存在は、心血管疾患を予防する上で重要である。その分子基盤として、脂肪由来生理活性物質・アディポサイトカインの異常（低アディポネクチン血症）および酸化ストレスの上昇が関連することを解明した。

研究成果の概要（英文）：The study demonstrated that 1) co-existence of sleep-disordered breathing / sleep apnea and visceral fat accumulation is important of preventing cardiovascular diseases, and 2) dysregulation of adipocytokines and increased oxidative stress are important factors as these molecular mechanisms.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総　計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学
キーワード：内分泌学

１．研究開始当初の背景

20 世紀の後半からわが国の疾病構造は大きく変化し、脂肪食摂取の増加や運動不足などの生活習慣の変化に伴い<u>内臓脂肪の蓄積</u>を基盤とした<u>メタボリックシンドローム(MetS)</u>が増加し、それに伴う<u>動脈硬化性疾患</u>(特に<u>心血管疾患(CVD)</u>)の増加が大きな問題となってきた（平成 16 年厚生労働省人口動態統計特殊報告）。また睡眠障害の一つである<u>睡眠時無呼吸低呼吸症候群(SAS)</u>も増加しており、現在わが国において 200 万人存在すると推定されている(国民衛生の動向 2000)。SAS の臨床的帰結・予後規定因子も、心臓突然死・CVD である。申請者らは、肥満者の内臓脂肪蓄積量と SAS の合併頻度が密接に関連することを報告した(J Intern Med 1997)が、詳細な分子機構は明らかではなかった。

近年、内臓脂肪蓄積による<u>脂肪由来生理活性物質（アディポサイトカイン）</u>の異常が MetS の病態に深く関与することが明らかとなってきており、申請者らはその重要な分子の候補の一つとして<u>アディポネクチン(APN)</u>を発見(BBRC 1999)した。APN は、<u>抗動脈硬化作用やプラークの安定化作用</u>などの多彩な機能を有すること報告してきた(Circulation 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, JBC 2002, Nat Med 2002, ATVB 2003, Circulation 2004, JACC 2006)。さらに、そ

のAPN調節異常に、脂肪由来酸化ストレス(低酸素、虚血など)が関与することを報告している(JCI 2004, Diabetes 2007)。また、SAS患者は、低アディポネクチン血症および夜間アディポネクチンの低下すること、その分子基盤に低酸素状態があることを最近明らかにした(AJP-EM 2008)。

しかし、SAS・CVD・Metsの関連性やそれらを繋ぐ分子機構についての報告は未だない。

２．研究の目的

本研究では、SAS・CVD・Metsの関連性およびその重要な因子を解明することを目的とした。

３．研究の方法

(1) 睡眠時無呼吸症候群(SAS)・心血管病(CVD)におけるアディポネクチン(APN)・内臓脂肪の関連性についての臨床研究（研究分担者：船橋徹、研究協力者：市立吹田市民病院内科医長 中川靖彦、研究生 樫根晋、南朋子）

①SAS患者におけるCVD（連携研究者：よしだ睡眠呼吸クリニック院長 吉田良子、大阪中央病院循環器科部長 柳光司）

SASの精査目的で当院および関連施設を受診した症例に対し、FatCT検査もしくは申請者らが開発した放射線非被曝の腹部生体インピーダンス法による内臓脂肪測定法（Diabetes Care 2005）を用いて内臓脂肪面積を計測し、各代謝指標を測定する。睡眠呼吸検査によるSASの重症度、睡眠前後の血中のAPN、酸化ストレス指標、プラークの安定化指標(Kritharides L. et al. N Engl J Med. 2003, Heeschen C, et al. J Am Coll Cardiol. 2005)の値を測定し、心臓CT検査で冠動脈病変の評価を行う。SAS・CVD・MetSの関連性と各指標の連関について統計学的手法を用いて検討する。

② CVD患者におけるSAS（連携研究者：小倉記念病院循環器科部長 横井宏佳、大阪中央病院循環器科部長 柳光司）

CVDの精査加療目的で関連施設を受診し心臓CT検査を施行する患者もしくは急性冠症候群(ACS)発症で入院した患者に対し、内臓脂肪面積を評価し、睡眠呼吸検査によるSASの重症度、睡眠前後の血中のAPN、酸化ストレス指標、プラーク安定化指標の値を測定し、SAS・CVD・MetSの関連性と各指標の連関性について統計学的手法を用いて検討する。

③ 糖尿病・内分泌疾患患者におけるSAS

糖尿病・内分泌疾患にて入院した症例に対しても同様の検討をする。

(2) 低酸素負荷による各臓器障害に対するアディポネクチン作用の基礎研究（研究分担者：木原進士、研究協力者：市立吹田市民病院内科医長 中川靖彦）

動物実験は、肥満モデル動物（Ob/Ob マウス、Yellow KKAy マウス、高脂肪高ショ糖食マウス）を用いて、低酸素発生装置を用いた低酸素負荷による、血中アディポネクチン濃度、内臓脂肪組織と皮下脂肪組織のアディポネクチンの遺伝子発現レベル、蛋白量レベルを経時的に対照マウス(lean)や正酸素状態と比較検討する。また同時に、酸化ストレス指標の挙動も検討する。さらに、低酸素負荷による臓器への影響として、肺動脈肥厚・肺高血圧・右心負荷がある(de Frutos S. et al. JBC 2007)。本実験では、野生型(WT)マウスとアディポネクチン欠損(APN-KO)マウスに低酸素負荷による肺・心臓・血管の臓器障害を各関連遺伝子発現量について比較検討する。また同時に各臓器の形態学的変化についても比較検討する。さらに、アデノウイルスベクターを用いたAPN補充実験では、それら遺伝子および形態学的変化に対するAPNの作用について検討する。SASの病態における各臓器障害に対するAPNの作用を明らかにする。

４．研究成果

(1) 睡眠時無呼吸症候群(SAS)・心血管病(CVD)におけるアディポネクチン(APN)・内臓脂肪の関連性についての臨床研究

①SAS患者におけるCVD

OSAS患者疑い50名のうちOSAS39名に対し、CTスキャンによる内臓脂肪面積と心臓CT検査を施行した。39名中6名(15%)に50%以上の冠動脈狭窄を認めた。うち4名は冠動脈形成術を施行した。OSAS患者におけるCADの関連因子としてメタボリックシンドロームおよび酸化ストレスであった。

メタボリックシンドローム保有者は、非保有者とは睡眠時無呼吸低呼吸指数(AHI)には差を認めなかったが、冠動脈疾患の頻度が高く、血中アディポネクチン濃度は低値を示した(Diabetol Metab Syndr. 2012)。SAS疾患保有者の臨床帰結の一つである冠動脈疾患を予防するには、メタボリックシンドロームを管理する必要があることが示唆される結果であった。

②CVD患者におけるSAS

急性冠症候群患者(109名)のうち夜間睡眠中に急性冠症候群イベントを発症する患者は25名であり、そのうち内臓脂肪蓄積およびSDB/SASを合併している者が多く(68%)、またその分子基盤の一つに夜間APN濃度の低

下が関与することが明らかとなった(Am J Cardiol. 2011)。本研究は、夜間睡眠中発症する急性冠症候群の病態解明に SDB/SAS・内臓脂肪蓄積・夜間 APN 濃度の低下が関与する可能性を示した。

安定型狭心症疑いで心臓カテーテル検査目的にて入院した患者(60 名)のうち、内臓脂肪蓄積・SDB/SAS を合併している患者は(30 名)であり、93%に冠動脈病変を有していることが明らかとなった。また、それら合併群は、低 APN 血症、血中酸化ストレス指標・TBARS の高値、血中可溶性 CD40 リガンドの高値を示した(JAT. 2012 in press)。

③-1 2 型糖尿病患者における SAS

2 型糖尿病球幾入院患者 40 例において、SAS の実態調査およびその特徴を検討した。軽症 SAS が 8 名、中等度 SAS が 10 名、重症 SAS が 13 名あり 2 型糖尿病入院患者の 77.5%に SAS 合併者を認めた。SAS 合併群は、SAS 非合併群に比して内臓脂肪が蓄積しており、夜間に血中アディポネクチン濃度が低下していた。また SAS の重症度指標である無呼吸低呼吸指数(AHI)は内臓脂肪面積と正相関を示した(Metabolism 2009)。

また、別の 2 型糖尿病教育入院患者 40 例において、再度 SDB/SAS の実態調査したところ、SDB/SAS を 90%と高頻度に合併していた。2 型糖尿病のウエスト周囲長は、SDB/SAS に正の相関関係を示した。入院前後で各指標を評価した結果、SDB/SAS の指標である AHI は 25.6±4.3 から 21.1±3.9 events/hour まで有意に改善していた($p<0.01$)。その改善度は、ウエスト周囲長の減量することが関連することが明らかとなった(Int Med. 2011)。

③-2 先端巨大症患者における SAS

先端巨大症と SAS の関連は以前から報告されているが、本邦での報告は未だない。そこで今回、先端巨大症の精査加療目的で入院した患者(24 名)の SDB/SAS の実態調査を行った。SDB は 87.5%に合併しており、その重症度 AHI は肥満度とは関連なく軟口蓋長の長さが関与することが明らかとなった(Endo J. 2011)。

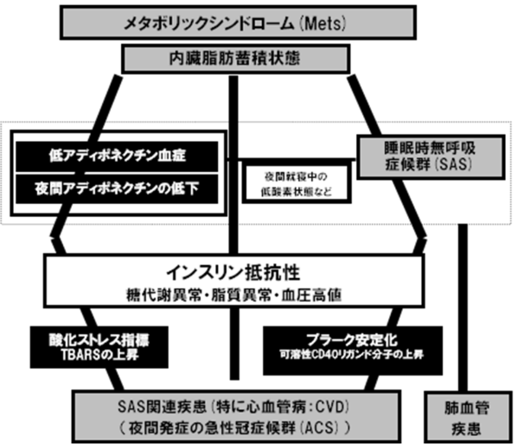
(2) 低酸素負荷による各臓器障害に対するアディポネクチン作用の基礎研究

① 低酸素負荷モデル動物における肺動脈壁肥厚に対するアディポネクチンの作用

睡眠時無呼吸症候群は、肺動脈壁肥厚によって肺高血圧および右心不全を来たすことが報告されているが、その分子基盤にアディポネクチンが関与するかどうか今回検討した。睡眠時無呼吸症候群の一つの病態である低酸素曝露によってマウス肺血管壁肥厚度が増大し右心重量が増加した。アディポネクチンノックアウトマウスでは、さらに低酸素曝露によって肥厚度が増大し右心重量が増加した。なお、肺血管の総数および血管径には特に変化はみられなかった。次に、アディポネクチンアデノウイルスを用いたアディポネクチン補充実験を行い、アディポネクチン補充によって、低酸素曝露によって肥厚した肺血管壁は軽減し、増大した右心重量は抑制された。免疫組織学的検討によって、アディポネクチンは低酸素曝露によって肥厚した肺血管壁の内腔側に染まった。以上の結果より、睡眠時無呼吸症候群における肺高血圧および右心不全に対するアディポネクチンを用いた新たな治療法の可能性を示す結果となった(BBRC 2009)。

② 腹部肥満者における夜間アディポネクチン低下の機序解明

肥満 SAS 患者において既に報告してきた夜間 APN 濃度の低下(AJP-EM 2008)は、脂肪分布指標であるウエスト/ヒップ比と逆相関を示した。この結果は、肥満 SAS 患者において、内臓脂肪・皮下脂肪における APN 調節に違いがあることが示唆された。肥満モデル動物(Yellow KKAy マウス)の Ex-vivo 系において、SAS の病態の一つである低酸素曝露によって皮下脂肪からの APN 分泌には影響せず、内臓脂肪からの APN 分泌を抑制することが明らかとなった(JAT 2010)。



(3) SAS 外来診療

経鼻持続陽圧療法(CPAP 治療)は、閉塞性 SAS の有効な在宅治療である。しかし、いまだ CPAP の使用率および継続率が低いのが現状である。患者自身に CPAP 治療の意義をより理解し適切な在宅医療を提供するために、SAS 手帳を作成し、日常診療に採用した。SAS 手帳導入によって、短期ではあるが SAS 外来患者の意識向上とともに適切な在宅医療を提供する結果となった（ホルモンと臨床

2009)。

〔研究結果の総括〕

本研究の結果、SDB/SAS と CVD は密接に関連し互いの診療を行う上で双方の疾患を念頭に入れて診療にあたる必要があると考える。また、今回の動物細胞実験および臨床研究によって、SDB/SAS と CVD に連関する分子基盤として**内臓脂肪の蓄積**・**アディポサイトカインの分泌異常**（特に夜間睡眠中の変化）・**酸化ストレスの上昇**、つまり**メタボリックシンドローム**が関連することが明確化された。これら概念は、現在増加している CVD ハイリスク患者の早期動脈硬化の予防・治療戦略を考える上で重要な知見と考える。

今後、これら概念を臨床応用することで、医学的意義のみならず突然働き盛りの人に発症する CVD による突然死や入院数を減少させることで、家族や仕事場に対する影響の面からも社会的意義は大きいと考える。

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 18 件）

1.Nakagawa Y, Kishida K, Funahashi T, Yanagi K, Shimomura I.（査読有）Coexistence of visceral fat accumulation and sleep-disordered breathing correlates with coronary artery disease.
JAT 2012 In press.

2. Nakanishi-Minami T, Kishida K, Nakagawa Y, Nishio M, Nakagawa C, Nishida Y, Yanagi K, Yoshida R, Funahashi T, Shimomura I.（査読有）Metabolic syndrome correlates intracoronary stenosis detected by multislice computed tomography in male subjects with sleep-disordered breathing.
Diabetol Metab Syndr. 2012;4:6.

3.Kishida K, Funahashi T, Shimomura I.（査読有）Clinical importance of assessment of type 2 diabetes mellitus with visceral obesity. A Japanese perspective.
Curr Diabetes Rev. 2012;8(2):84-91.

4.Kashine S, Kishida K, Funahashi T, Shimomura I.（査読有）Characteristics of sleep-disordered breathing in Japanese patients with acromegaly.
Endocr J. 2012;59(1):31-8.

5. 岸田堅　船橋徹（査読無）「EBM 循環器疾患の治療　2012-2013」中外医学社 I. 虚血性心疾患　A. 急性冠症候群　11. ACS 発症に睡眠障害が関与しているか？p50-54, 2012

6. Nakagawa Y, Kishida K, Mazaki T, Yokoi H, Nobuyoshi M, Funahashi T, Shimomura I.（査読有）Impact of sleep-disordered breathing, visceral fat accumulation and adiponectin levels in patients with night-time onset of acute coronary syndrome.
Am J Cardiol. 2011;108(9):1266-71.

7. Kashine S, Kishida K, Funahashi T, Yasuda T, Okita K, Matsuzawa Y, Shimomura I.(査読有)Selective Contribution of Waist Circumference Reduction on the Improvement of Sleep-disordered Breathing in Patients Hospitalized with Type 2 Diabetes Mellitus.
Intern Med. 2011;50(18):1895-903.

8. Nakagawa Y, Kishida K, Kihara S, Yoshida R, Funahashi T, Shimomura I.（査読有）Nocturnal falls of adiponectin levels in sleep apnea with abdominal obesity and impact of hypoxia-induced dysregulated adiponectin production in obese murine mesenteric adipose tissue.
J Atheroscler Thromb. 2011;18(3):240-7.

9. 岸田堅（査読有）近畿支部教育セミナーまとめ　テーマ「睡眠時無呼吸と内科疾患」「糖尿病・内分泌疾患・メタボリックシンドロームと睡眠時無呼吸」日本内科学会専門医部会支部セミナー　日本内科学会雑誌
第 100 巻、第 10 号 3084-3092, 2011

10.Kashine S, Kishida K, Funahashi T, Nakagawa Y, Otuki M, Okita K, Iwahashi H, Kihara S, Nakamura T, Matsuzawa Y, Shimomura I.（査読有）Characteristics of sleep-disordered breathing in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus.
Metabolism. 2010;59(5):690-6.

11. 岸田堅（査読無）臨床 6「アディポネクチンと睡眠時無呼吸症候群」「治療学」第 44 巻第 11 号 2010 年 ライフサイエンス出版株式会社 特集：アディポネクチン p70-74

12. 岸田堅（査読無）睡眠時無呼吸症候群 連載：知っておきたい血管医学用語「Vascular Medicine」 Vol.6. No.3　p66-71
2010 年 7 月 1 日発行　株式会社 先端医学社

13. 岸田堅（査読無）「睡眠時無呼吸症候群と糖尿病（腎透析も含め）」特集「睡眠時無呼吸症候群－研究と臨床の新時代－」THE LUNG perspectives（第 68 号 vol.18 No.3, 2010 年）(株)メディカルレビュー社　p70-73

14. 岸田堅　船橋徹（査読無）特集「メタボリックシンドロームに合併しやすい臓器障害」「呼吸器 ～睡眠時無呼吸症候群を中心に

〜」Medicament News 2010 年 3 月 15 日号, p11-13 (株) ライフ・サイエンス

15. Nakagawa Y, Kishida K, Kihara S, Funahashi T. Shimomura I. (査読有) Adiponectin ameliorates hypoxia-induced pulmonary arterial remodeling. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2009;382(1):183-8.

16. 岸田堅　船橋徹　下村伊一郎 (査読有) 睡眠時無呼吸症候群(SAS)外来患者における SAS 手帳導入の効果〜適切な在宅医療提供を目的とした試み〜ホルモンと臨床 vol.57(No.11) 2009 p71-75 医学の世界社

17. 岸田堅　船橋徹　下村伊一郎 (査読有) 睡眠時無呼吸症候群患者における自己記入式質問表を用いた胃食道逆流症の評価とその臨床的特徴　vol.57 ホルモンと臨床 No.11 Nov. 2009 p65-70 医学の世界社

18. 岸田堅 (査読無)「メタボリックシンドロームと睡眠時無呼吸症候群」メタボリックシンドローム BIO Clinica24(4)24-30 北陸館,2009

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 岸田堅　第 64 回日本臨床化学会近畿支部例会-生活習慣病の臨床・基礎研究の最先端-「血管糖尿病の予防対策を目指した臨床検査の活用法-全身血管エコー検査と睡眠呼吸検査を中心に」2011 年 11 月 26 日　大阪

2. 岸田堅　第 192 回日本内科学会近畿地方会併催内科専門医部会近畿支部内科専門医セミナー「睡眠時無呼吸と内科疾患」シンポジウム「糖尿病・内分泌疾患・メタボリックシンドロームと睡眠時無呼吸」2011 年 9 月 11 日 大阪

3. 岸田堅　「大阪大学代謝血管学における睡眠呼吸障害と心血管病の取り組み」2011 年 7 月 8 日　熊本

4. 岸田堅 第 7 回 関西循環器 SDB 研究会－循環器疾患における睡眠呼吸障害－「急性冠症候群における睡眠呼吸障害・内臓脂肪・アディポサイトカインの関連性に関する検討」2011 年 6 月 4 日 大阪

5. 岸田堅　第 54 回 日本糖尿病学会年次学術集会シンポジウム：糖尿病と動脈硬化－From bench to bedside「内臓脂肪蓄積学を基盤にした動脈硬化性心血管イベント予防対策」2011 年 5 月 21 日　札幌

6. 岸田堅　第 15 回アディポサイエンス研究会 シンポジウム「臨床アディポサイエンス研究」2010 年 8 月 21 日　大阪

7. 岸田堅　第 36 回神戸薬科大学卒後研修講座 糖尿病診療の最近の話題「メタボリックシンドロームと糖尿病－分子メカニズムから地域予防対策まで」2010 年 6 月 13 日 神戸

8. 岸田堅　船橋徹　下村伊一郎　第 83 回日本内分泌学会学術総会 クリニカルアワー招待講演「肥満メタボリックシンドロームの臨床」2010 年 3 月 26 日 京都

9. 岸田堅　Meet The Expert Conference「糖尿病診療において知っておきたい疾患睡眠時無呼吸症候群」2010 年 3 月 4 日 大阪

10. 岸田堅　第 82 回日本内分泌学会学術総会シンポジウム「アディポサイトカインと肥満症」「睡眠時無呼吸低呼吸症候群とその関連疾患におけるアディポネクチンの臨床・基礎解析」2009 年 4 月 24 日 群馬

11. 岸田堅　社会人医学教育部門 主催セミナー「睡眠障害」コース「内分泌・代謝内科領域にみられる睡眠障害とその治療」2009 年 3 月 26 日 大阪

〔図書〕(計 1 件)

1. Kishida K. Chapter 14. Type 2 diabetes and sleep-disordered breathing / sleep apnea; Role of adipocytokines. (査読有) Type 2 Diabetes / Book 1. Edited by: Colleen Croniger, ISBN 978-953-307-363-7, Publisher: InTech, Publication date: September 2011, p267-276.

６．研究組織

(1)研究代表者

岸田　堅 (KISHIDA KEN)
大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教
研究者番号：10437329

(2)研究分担者

船橋　徹 (FUNAHASHI TOHRU)
大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授
研究者番号：60243234

木原　進士 (KIHARA SHINJI)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：20332736
(H21-H22)

(3)連携研究者

吉田　良子 (YOSHIDA RYOKO)
よしだ睡眠呼吸クリニック院長

横井　宏佳 (YOKOI HIROYOSHI)
小倉記念病院循環器科部長

柳 光司 (YANAGI KOJI)
大阪中央病院循環器科部長