

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25年 6月10日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500663

研究課題名（和文） 新たな生活習慣関連マーカーによる動脈硬化進行群の抽出指導法の確立

研究課題名（英文） A new predicting method and health guidance for the progression of subclinical atherosclerosis using new lifestyle-related serum markers.

研究代表者

西田 誠 (NISHIDA MAKOTO)

大阪大学・保健センター・准教授

研究者番号：00379273

研究成果の概要（和文）：健診において頸動脈の動脈硬化を進行させる可能性のある種々の新規マーカーおよび生活習慣を検討した。腸から吸収される脂質のマーカーであるアポ B48 は、動脈硬化な相関がなかったが、非肥満者に限ると有意な相関を示し、特定健診で抽出されない集団での動脈硬化評価に有用である可能性を示した。また今回調べた酸化ストレス等のマーカーは危険因子との関連が見られたが、短期間の動脈硬化進行に大きくは寄与しなかった。しかし喫煙は短期間の動脈硬化進行に深く関与することを明らかにし、早期の介入の重要性を示した。

研究成果の概要（英文）：New serum markers which may indicate carotid atherosclerosis were evaluated with life-style in annual health checkup. ApoB48, a marker for lipids absorbed from intestine, did not correlate with atherosclerosis in all subjects, but significantly correlated in non-obese subjects. It shows apoB48 can be an useful marker detecting atherosclerosis in non-obese subjects. Other new markers including oxidative stress did not associate with progression of atherosclerosis, but with risk factors. Notably, smoking significantly associated progression of atherosclerosis even in a short period. It emphasizes the importance to stop smoking early.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：内科、動脈硬化

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：動脈硬化、危険因子、生活習慣、酸化ストレス、アポ蛋白

1. 研究開始当初の背景

高血圧、糖尿病、高脂血症などの生活習慣病の予後を規定する大きな要因は、心筋梗塞や脳梗塞などの動脈硬化性疾患発症である。したがって、一般健康診断後の保健指導の目標は、生活習慣病を予防することと同時に動脈硬化の進展を予防することであり、平成20年に開始された特定健診も腹部肥満に基づ

く動脈硬化性疾患発症の抑制を目標としている。この動脈硬化性疾患発症の危険因子は、血圧、血糖、コレステロール、喫煙などがよく知られている。しかし実際の健診現場では、これらリスクを持たないにも関わらず動脈硬化が進展している者も多く、他の因子の関与が考えられる。

特定健診にとり入れられたメタボリックシ

ンドロームの概念は、リスクの重なりにより飛躍的に動脈硬化性疾患が増加することにある。この発症基盤にあると考えられるものが内臓脂肪の蓄積である。この内臓脂肪の蓄積が、脂肪細胞から分泌される生理活性物質（アディポサイトカイン）の分泌異常をもたらす古典的危険因子を介さず動脈硬化性疾患の発症に関わることが明らかにされつつある。

研究代表者は、内臓脂肪蓄積に基づく生活習慣病ハイリスク集団において、このアディポサイトカインの測定により、さらなる動脈硬化進展のリスク予測が可能になると考え2005年より研究を開始。炎症に関与するアディポサイトカインが内臓脂肪蓄積と相乗的に頸部動脈硬化に関連することを見出している（Cardiovasc Diabetol 2007, Clin Chim Acta 2007）。また抗炎症抑制サイトカインIL-10の関与も明らかにしており（Circ J 2007）、そして、経年的な頸動脈エコー観察例および凍結血清サンプルを、さらに蓄積しており、経年的頸動脈硬化進展に対する、新たなマーカーの評価が可能となっている。内臓脂肪蓄積と動脈硬化を介在する因子として、食後高脂血症のマーカーと考えられるアポB48の測定を行い、ある特定の集団で動脈硬化との関連がみられることを見いだし、引き続きアポB48の解析を進めるとともに、新たなマーカーとして酸化ストレスとFGF21の測定を開始する。酸化ストレスは、内臓脂肪蓄積と関連し、頸動脈硬化との関連も示されているTBARS法での検討を行う。一方、FGF21は、マウスにおいて絶食時の脂肪分解、肝臓でのケトン体合成の誘導を行い、脳へのエネルギー供給に重要な役割をもつ内分泌因子である。またPPAR α のターゲットであり、脂肪酸代謝、インスリン感受性とも深く関連し、ヒトにおいても、絶食時に誘導されること、肥満者の内臓脂肪により多く発現していることなどが示されており、生活習慣、動脈硬化との関連が興味深いと考える。

2. 研究の目的

健診では主な動脈硬化危険因子を評価しているが、経年的に頸動脈の内膜中膜肥厚（IMT）の進行を観察すると旧来の危険因子では説明できない症例が散見される。そこで今回、新たな危険因子として、外因性リポ蛋白マーカーであるアポB48、アディポサイトカイン制御に関連する酸化ストレス、糖代謝と関連するとされるFGF21を、生活習慣の検討とともに評価して、動脈硬化進行に寄与する因子を同定し、健診保健指導へのフィードバックを検討する。

3. 研究の方法

(1) 対象および測定項目：大阪大学職員健診の受診者約7000名/年に以下を実施。

①身体計測

身長、体重、BMI、血圧、立位自然呼吸時の臍レベルでの腹囲を計測。

②生活習慣アンケート

健診に一般的に用いられる自覚症状、既往歴のほかに、運動習慣、食生活、喫煙等の生活習慣を調査。

③内臓脂肪面積の測定

新たに開発された簡易内臓脂肪面積計測装置は、CTとの比較により、その正確性、再現性などが確認されている（Ryo M, Nishida M, et al. Diabetes Care. 28:451, 2005）。電極が装着されたベルトを腹部に巻きつけ各電極のインピーダンスから内臓脂肪面積を決定する。

④頸動脈内中膜厚の測定

超音波診断装置（8.8MHzのプロープ）と頸動脈内中膜厚自動解析ソフトを用いる。データの再現性は以前確認されている。

⑤アディポサイトカイン、アポB48、酸化ストレス、FGF21の測定

健診時、余剰血清を凍結保存する。（書面での同意取得済み）

アポB48は、特異的モノクローナル抗体によるELISA測定系（Sakai N, Yamashita S, et al. J Lipid Res 44, 2003）によって測定。酸化ストレスは、TBARS法でLPOを測定。FGF21は、ELISA kitを用い測定。

(2) 横断的解析

内臓脂肪面積、腹囲、アディポサイトカイン、アポB48、酸化ストレス、FGF21、生活習慣の相互の関連を調べるとともに、IMTとの関連を検討する。また研究期間中に新たに、動脈硬化との関連を示唆されたマーカーとIMTの関連を検討する。

(3) 経時的解析

IMTを経年的に測定した例につき、上記で検討した因子の関与を調べる。

(4) 保健指導への応用

IMTの増悪因子に対して介入を行う。

4. 研究成果

(1) 横断的解析

①アポB48

男性262名でアポB48を測定。

アポB48はIMTと関連しなかったが（表1）、非肥満者でアポB48はIMTと有意な相関を示した（表2）。またアポB48は喫煙者および飲酒者で高値を示した（図1）。尚、アポB48はTGと大変強い相関を示すが、TGにはこれら関連を認めなかった。以上よりアポB48は、

生活習慣に関連し、特定健診で抽出されない集団での動脈硬化評価に有用である可能性を示した(学会発表②、④、⑤)。

表1 Correlation Coefficients between IMT and Lipid Marker In All Subjects

Marker	Max IMT		Mean IMT	
	r	p	r	p
Apo B-48	0.158	0.114	0.142	0.114
TG	0.145	0.125	0.162	0.085
LDL-C	0.238	0.011	0.199	0.034

表2 Correlation Coefficients between IMT and Lipid Marker In Non Obese Subjects (n = 61)

Marker	Max IMT		Mean IMT	
	r	p	r	p
Apo B-48	0.220	0.046	0.187	0.096
TG	0.172	0.125	0.179	0.111
LDL-C	0.307	0.005	0.242	0.029

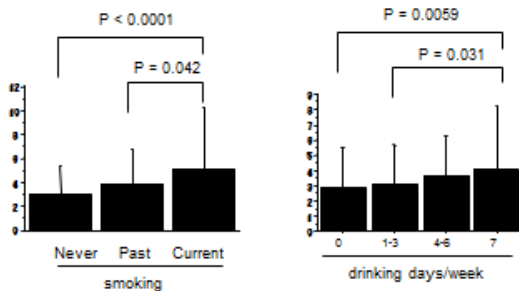


図1 Apo B-48 and Tobacco or Alcohol

②酸化ストレス

男性 109 名で、TBARS 法で酸化ストレス (LPO) を評価。既報のように LPO は、多くのリスクに相関。BMI とは相関せず腹囲や内臓脂肪面積と相関した。1 年後のリスクの進展との関連をみると、LPO は拡張期血圧と TG の変化に相関した(表 3)。

表3 酸化ストレスとリスク因子の変化量の相関

Risk	TBARS	
	r	p
Δ BMI	0.119	0.275
Δ Waist	0.254	0.017
Δ SBP	0.151	0.159
Δ DBP	0.328	0.002
Δ UA	-0.061	0.278
Δ TC	0.099	0.363
Δ TG	0.266	0.012
Δ HDL-C	0.013	0.902
Δ FPG	0.018	0.869
Δ HbA1c	0.165	0.123
Δ IMT	0.159	0.207

この相関は腹囲補正後も有意であり、酸化ストレスが脂肪蓄積と独立した生活習慣病予

測マーカーとなる可能性を示した(学会発表⑥)。また TBARS は、過食に気をつけない群、昼食や夕食が不規則な群で高値になり、運動より食生活との関連が強く表れた。

③FGF21

男性 37 名で FGF21 および胆汁酸代謝に関連する FGF19 を測定。FGF21 は喫煙者で高値を示し、糖代謝マーカーの他、種々の危険因子と相関した。一方 FGF19 は BMI や危険因子の集簇と負の相関を示す傾向が認められた。

④その他マーカー

今回の研究で包括同意を得て保存した血清により、他研究室と共同で種々の新たな知見が得られた。

動脈硬化と関連の深い蛋白尿が睡眠不足により悪化すること(論文④)、動脈硬化の原因とも考えられている慢性炎症のループ形成に重要な epiregulin が IMT 肥厚群で高値となること(論文①)、血清テストステロン低値が IMT 肥厚に関連すること(論文③)、などを示すことができた。

(3) 経時的解析

蓄積データより古典的リスクを伴わないものを抽出し、IMT 増加群(n=35)と非増加群(n=35)に分け、FGF21、TBARS を測定したが、両群間で有意差は認められなかった。

表4 IMT 変化と危険因子の多変量解析

Independent variables	Delta-max. IMT		Delta-mean IMT	
	r	P-value	r	P-value
SBP	0.089	0.11		
UA			0.091	0.10
TG	-0.032	0.62		
LDL-C	0.119	0.036	0.115	0.040
HbA1c	0.056	0.31	0.077	0.16
Smoking habit	0.111	0.041	0.099	0.082

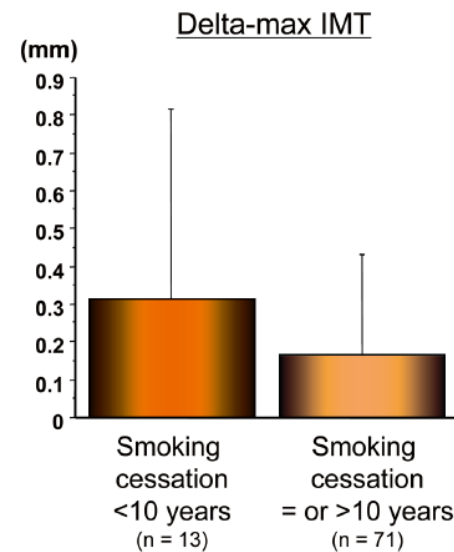


図2 禁煙期間と IMT の変化量

またアポ B48, TBARS, FGF21 は、2年あまりの観察期間の IMT 変化の有意な決定因子とはならなかった。しかし動脈硬化危険因子とは、それぞれ有意に関連しているため、短期間の観察では動脈硬化進展に影響がでない可能性を考える。

しかし、この観察期間においても、喫煙と LDL-C は独立して IMT 悪化の有意な危険因子となっていた (表 4) (論文②)。そして喫煙者では IL-6, CRP が有意に高値であり、アディポネクチンは低い傾向を示した。また過去喫煙者においては喫煙本数よりも禁煙期間が IMT の変化に影響を与えており (表 5) (論文②)、早い時期からの禁煙を勧めるデータとなった。

(4) 保健指導への応用

短期間で IMT を肥厚させる喫煙に対して介入を検討するため、まず阪大での平成 17 年の建物内禁煙の効果をみた。図 3 のように学生に対しては、喫煙率の減少効果がみられたが (学会発表①)、職員に対しては効果が少なく、各個人への前向き介入が必要と思われる。

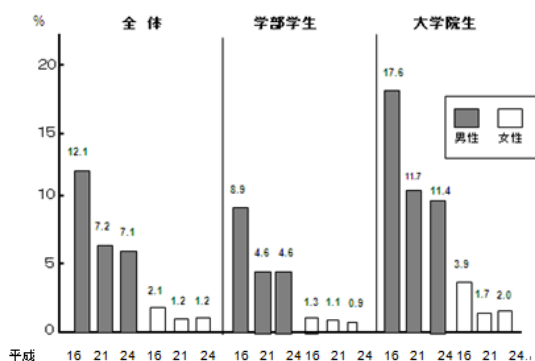


図 3 阪大学生の喫煙率

—平成 17 年建物内禁煙の効果—

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)

① Murakami M, Nishida M, 他 17 名, 15 番目, 査読有

Disease-Association Analysis of an Inflammation-Related Feedback Loop. Cell Rep. 2013;3(3):946-59.

DOI 10.1016/j.celrep.2013.01.028

② Sanada S, Nishida M, 他 4 名, 2 番目, 査読有

Smoking Promotes Subclinical Atherosclerosis in Apparently Healthy Men. Circ J. 2012;76(12):2884-91.

DOI 10.1253/circj.CJ-11-1506

③ Tsujimura A, Nishida M, 他 11 名, 10 番目, 査読有

Low serum free testosterone level is associated with carotid intima-media thickness in middle-aged Japanese men. Endocr J. 2012;59(9):809-15.

DOI 10.1507/endocrj.EJ12-0060

④ Yamamoto R, Nishida M, 他 10 名, 9 番目, 査読有

Self-reported Sleep Duration and Prediction of Proteinuria: A Retrospective Cohort Study.

Am J Kidney Dis. 2012;59(3):343-55.

DOI 10.1053/j.ajkd.2011.08.032

[学会発表] (計 6 件)

① 林 ルミ 西田 誠 他

大阪大学における学生喫煙率の推移と課題 第 50 回全国大学保健管理研究集会 2012 年 10 月 18 日ポートピアホテル 兵庫県

② Makoto Nishida, et al.

Serum apolipoprotein B-48 level is associated with subclinical atherosclerosis in non-obese men

XVI International Symposium on Atherosclerosis 2012 年 3 月 28 日

Sydney Convention and Exhibition Centre, オーストラリア

③ Shoji Sanada, Makoto Nishida, et al.

Prevention of Subclinical Atherosclerosis: Search for Gender-specific Risk Factors and Salutary Interventions Against its Progression

第 76 回日本循環器学会学術集会

2012 年 3 月 16 日マリンメッセ福岡 福岡県

④ Makoto Nishida, et al.

Serum Apolipoprotein B-48 Level Is Associated with Subclinical Atherosclerosis in Non-obese Men

第 43 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2011 年 7 月 16 日 ロイトン札幌 北海道

⑤ 西田 誠 他

Serum Apolipoprotein B-48 Level, But Not Remnant-like Particle Cholesterol Level, is Associated with Subclinical

Atherosclerosis in Non-obese Men

第 75 回日本循環器学会 2011 年 3 月 20 日 パシフィコ横浜、神奈川県

⑥ 西田 誠 他

Oxidative Stress Predicts Worsening of Metabolic Risk Factors Independent of Adiposity

第 75 回日本循環器学会 2011 年 3 月 19 日 パシフィコ横浜、神奈川県

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西田 誠 (NISHIDA MAKOTO)
大阪大学・保健センター・准教授
研究者番号：00379273

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし