

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 5月30日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22650162

研究課題名（和文）運動療法による肥満性肝疾患の進展抑止と病態予測のための糖鎖バイオマーカーの探索

研究課題名（英文）Inhibitory effects of exercise on progression of obesity-related liver diseases and development of glyco-biomarkers to scale the pathophysiology of the liver diseases

研究代表者

正田 純一（SHODA JUNICHI）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：90241827

研究成果の概要（和文）：肥満性肝疾患である脂肪性肝疾患に対し、肝の脂肪化、炎症と線維化の肝病態を改善するために、筋肉でのグルコースの利用率を増加させ、インスリン抵抗性を改善することは重要である。このことより、適度な運動による骨格筋量の維持は重要である。脂肪性肝疾患の肝病態に対する運動療法の効果判定については、脂肪化、炎症と線維化の病態の改善度を反映する血中の分子マーカーを探索し、非侵襲的にモニターするための新しい測定システムを構築することが今後において重要である。そこで、中年肥満男性を対象に行われた減量教室のデータをもとに、それらの血清試料を用いて、運動療法が肥満者の肝病態に及ぼす影響を反映する分子マーカーの探索を展開した。糖鎖分子マーカーとして、血中糖転移酵素活性値の測定を行った。運動療法は食事療法と比較して、エネルギー消費量を増加させる、除脂肪体重を維持する、また、フェリチン値を減少させる、酸化ストレスマーカーである TBARS 値を低下させる点で優れていた。運動療法が肥満者の肝病態に及ぼす影響を反映する分子マーカーとして、血清フェリチン値と酸化ストレスマーカー（TBARS）は有用であると考えられた。糖鎖分子マーカーの探索は現在、継続中である。

研究成果の概要（英文）：

In management of obesity-related liver diseases, that is, non-alcoholic fatty liver diseases, it is important to increase a utilization of glucose in the skeletal muscles and thereby to improve the insulin-resistance. Therefore, in subjects with non-alcoholic fatty liver diseases, it is also important to maintain the volume of skeletal muscles by appropriate exercise. In the assessment of effects of exercise on liver pathophysiology of non-alcoholic fatty liver diseases, we need to explore novel biomarkers that can reflect the status of liver pathophysiology in terms of steatosis, inflammation, and fibrosis, and to develop a non-invasive measurement system of these biomarkers. In this research project, using the serum samples of middle-aged obese men who joined a weight-losing course, we explored novel biomarkers that can scale the improvement of liver pathophysiology induced by exercise. We measured an enzyme activity of *N*-acetylglucosaminyltransferase V (GnT-V) in the serum samples as a glyco-biomaker. Exercise increased the energy consumption, maintained the lean body mass, and decreased the serum levels of ferritin and TBARS, an oxidative stress marker, in comparison with diet restriction. Taken together, it is likely that serum levels of ferritin and TBARS are useful biomarkers to scale the effects of exercise on liver pathophysiology in obese men. Exploration of novel glycol-biomarkers is being performed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	0	1,800,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000

年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	330,000	3,230,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：健康応用科学

キーワード：肥満，脂肪性肝疾患，運動療法，糖鎖医学，バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

わが国では食生活習慣の欧米化と慢性的運動不足に伴い、肥満者数は増加の一途にある。肥満は皮下脂肪型肥満と内臓脂肪型肥満（以下内臓型肥満）に分類されるが、内臓型肥満者の増加はメタボリック症候群の病因として重要な役割を演じている。内臓型肥満の合併は、非アルコール性脂肪性肝障害（NAFLD）のみならず、慢性肝炎や肝硬変症などの慢性肝疾患でも、その肝脂肪化と線維化の増悪、肝硬変への進展に関与する重要な因子である。

慢性肝疾患に合併する内臓型肥満に対し、肝脂肪化とそれによる肝線維化を改善するために、筋肉でのグルコースの利用率を増加させ、インスリン抵抗性を改善する必要がある。このことより、適度な運動による骨格筋量の維持は重要である。長期間の運動療法の介入により、慢性肝疾患の進展の抑止を図る意義は大きい。重要なことは運動療法の効果判定について、ルーチンの項目に加え、脂肪化、炎症と線維化の肝病態の改善度を反映する血液中の分子マーカーを探索し、非侵襲的に、しかも反復してモニターが可能な新しい測定システムを構築していく点である。

2. 研究の目的

本研究では、脂肪性肝疾患を中心にそれらの血液標本について、脂肪化、炎症細胞浸潤と線維化の組織所見を反映する新しい血液中の分子バイオマーカーを探索する。それらの分子バイオマーカーを用いて、(1)慢性肝疾患における肝病態の診断アプローチのために、また、(2)運動療法によるそれらの改善度に関する効果判定のために、侵襲的な肝生検の手法に代わり、非侵襲性の汎用性のある新しい測定システム方法を開発する。

3. 研究の方法

本学主催の減量教室に参加した男性肥満者 236 名（年齢 50 ± 9 ，BMI 30 ± 4 ）を対象とした。3ヶ月間の運動療法 (E) 参加者 128 名の前後の検査成績、保存血清における NAFLD の肝病態因子について比較検討した。また、食事療法 (D) 参加者 108 名の効果と比較検討した。さらに、NAFLD fibrosis score (>-1.455) より肝線維化が疑われた肥満者

67 名 (E38 名と D29 名) の線維化因子、フェリチン、apoptosis marker、酸化ストレスマーカー (TBARS)、糖転移酵素 N-アセチルグルコサミン転移酵素 V (GnT-V) 活性値の変動を検討した。

4. 研究成果

E と D における各検査項目の前後差 (*は有意差あり) は、エネルギー摂取量 (E -15 vs. D -627^* ; E<D)、消費量 (203* vs. -17 ; E>D)、体重 (-2.5^* vs. -7.0^* ; E<D)、内臓脂肪面積 (-24.0^* vs. -37.1^* ; E<D)、除脂肪体重 ($+0.01$ vs. -2.2^* ; E>D)、VO₂max (4.7* vs. 2.2*; E>D)、HOMA-IR (-0.56^* vs. -0.62^* ; NS)、HOMA-β (-19.7^* vs. -39.9^* ; NS)、AST 値 (-3.5 vs. -4.8^* ; NS)、ALT 値 (-9.4^* vs. -11.0^* ; NS)、γ-GT 値 (-13.6^* vs. -25.3^* ; NS)、高感度 CRP (-0.27 vs. -0.15^* ; NS) であった。

肝線維化が疑われた肥満者の E と D における線維化関連因子の前後差 (*は有意差あり) は、フェリチン値 (-62.9^* vs. -7.1 ; E>D)、ヒアルロン酸値 (-4.5 vs. -21.5^* ; E<D)、TNF-α (-1.04^* vs. -2.34^* ; NS)、leptin (-1.84^* vs. -4.75^* ; NS)、adiponectin ($+1.29^*$ vs. $+0.50^*$; E>D)、TGF-β1 (-0.70 vs. -1.63^* ; NS)、M30 (-51.6 vs. -101.4^* ; NS)、TBARS (-3.1^* vs. -1.4^* ; E>D)、NAFLD fibrosis score (-0.19^* vs. -0.35^* ; NS) であった。糖鎖マーカーである GnT-V 活性値 (E -0.01 vs. D 2.24^* ; E<D) であった。肥満者における E は D と比較して、エネルギー消費量と VO₂max を増加させる、除脂肪体重を維持する、また、線維化疑い者ではフェリチン値を減少させる、adiponectin 値を増加させる、酸化ストレスを減少させる点で優れていた。

今回の解析結果より、糖鎖分子マーカーでは、食事療法の効果を反映するマーカーとして、血中 GnT-V 活性が有用であると考えられたが、運動療法の効果を反映する糖鎖分子マーカーは探索中であり、現在、グライコミクス手法を用いて解析中である。

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 10 件)

- ① Yamanashi Y, Takada T, Shoda J, Suzuki H.: Novel function of Niemann-Pick C1-Like 1 as a negative regulator of Niemann-Pick C2 protein. *Hepatology* 2012, In press.
- ② Okada K, Warabi E, Sugimoto H, Horie M, Tokushige K, Ueda T, Harada N, Taguchi K, Hashimoto E, Itoh K, Ishii T, Utsunomiya H, Yamamoto M, Shoda J: Nrf2 inhibits hepatic iron accumulation and counteracts oxidative stress-induced liver injury in nutritional steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2012, In press.
- ③ Kishida M, Ishige, K., Horibe, T., Tada, N., Koibuchi, N., Shoda J, Kita, K., Kawakami, K.: Orexin 2 receptor as a potential target for the immunotoxin and antibody-drug conjugate cancer therapy. *Oncology Letters* 3 : 525-529, 2012.
- ④ Yamanashi, Y., Takada, T., Yoshikado, T., Shoda, J., Suzuki, H.: NPC2 regulates biliary cholesterol secretion via stimulation of ABCG5/G8-mediated cholesterol transport. *Gastroenterology* 140:1664-1674, 2011.
- ⑤ Nakayama, H., Sugahara, S., Fukuda, K., Abei, M., Shoda, J., Tokita, M., Sakurai, H., Tsuboi, K., Matsuzaki, Y., Tokuue, K.: Proton beam therapy for hepatocellular carcinoma located adjacent to the alimentary tract. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 80:992-995, 2011.
- ⑥ Matsuda, A., Kuno, A., Kawamoto, K., Matsuzaki, H., Irimura, T., Ikehara, Y., Zen, Y., Nakanuma, Y., Yamamoto, M., Ohkohchi, N., Shoda, J., Hirabayashi, J., Narimatsu, H.: WFA-positive sialylated MUC1 is a high-sensitivity biliary marker for intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatology* 52:174-182, 2010.
- ⑦ Sugiyama, H., Onuki, K., Ishige, K., Baba, N., Ueda, T., Matsuda, S., Takeuchi, K., Onodera, M., Nakanuma, Y., Yamato, M., Yamamoto, M., Hyodo, I., Shoda, J.: Potent *in vitro* and *in vivo* antitumor activity of sorafenib against human intrahepatic cholangiocarcinoma cells. *J Gastroenterol* 46:779-789, 2011.
- ⑧ 長谷川直之, 安倍井誠人, 佐々木亮孝, 朴 秀吉, 森脇俊和, 南 優子, 福田邦明, 平井祥子, 正田純一, 大河内信弘, 兵頭一之介. S-1 化学療法が奏効し根治手術が可能となった Stage IVb 進行胆嚢癌の 1 例. *胆道学会誌* 24:723-728, 2010
- ⑨ Sugimoto, H., Okada, K., Shoda, J., Warabi, E., Ishige, K., Ueda, T., Taguchi, K., Yanagawa, T., Nakahara, A., Hyodo, I., Ishii, T., Yamamoto, M.: Deletion of nuclear factor-E2-related factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice. *Am J Physiol* 298:G283-G294, 2010.
- ⑩ Sugahara, S., Oshiro, Y., Nakayama, H., Fukuda, K., Mizumoto, M., Abei, M., Shoda, J., Matsuzaki, Y., Tohno, E., Tokita, M., Tsuboi, K., Tokuue, K.: Proton beam therapy for large hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 76:460-466, 2010.
- [学会発表] (計 11 件)
- ① 松田厚志、久野敦、松崎英樹、川本徹、鹿内俊秀、中沼安二、山本雅一、大河内信弘、池原譲、正田純一、平林淳、成松久。胆管がん診断へ向けた新たなコンビネーション診断系の確立。第 31 回日本分子腫瘍マーカー研究会、10 月、2011。
- ② 岡田浩介、正田純一、徳重克年：Sulforaphen (SFN) による転写因子 Nrf2 賦活化はメチオニンコリン欠乏食 (MCD) 誘発脂肪性肝炎の炎症と線維化を抑制する 第 15 回日本肝臓学会大会 (福岡)、10 月、2011。
- ③ 岡田浩介、杉本浩一、正田純一、堀江正樹、蕨 栄治、後藤直宏、石井哲郎、山本雅之：動脈硬化+高脂肪食誘発脂肪性肝炎における転写因子 Nrf2 の役割 第 47 回日本肝臓学会総会 (東京)、6 月、2011。
- ④ 正田純一、川本 徹、中沼安二、山本雅一、大河内信弘、松田厚志、久野 敦、池原 譲、平林 淳、成松 久：糖鎖プロファイリング解析による肝内胆管癌の新規糖蛋白質マーカーの開発 第 47 回日本肝臓総会 (東京)、6 月、2011。
- ⑤ 正田純一、川本 徹、中沼安二、山本雅一、大河内信弘、松田厚志、久野 敦、池原 譲、平林 淳、成松 久：糖鎖プロファイリング解析による肝内胆管癌の新規糖蛋白質マーカーの開発 第 47 回日本肝臓総会 (東京)、6 月、2011。
- ⑥ 川本 徹、山本雅一、正田純一：胆嚢発癌とその癌進展に果たすアラキドン酸代謝活性化の役割：Cyclooxygenase-2 (COX-2)、プロスタグランジン E 合成酵素 (PGES)、プロスタグランジン E 受容体 (EP) の発現に着目して 第 14 回日本肝臓学会大会 (横浜)、10 月、2010。
- ⑦ 杉本浩一、岡田浩介、正田純一、蕨 栄治、石井哲郎、山本雅之：動脈硬化+高脂肪食誘発脂肪性肝炎における転写因子 Nrf2 の役割 第 14 回肝臓学会大会 (横浜)、10 月、2010。
- ⑧ Okada K, Sugimoto H, Shoda J, Warabi E, Ishige K, Ueda T, Taguchi K, Yanagawa T, Nakahara A, Hyodo I, Ishii T, Yamamoto M: Deletion of nuclear factor-E2-related

factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice. The 2nd International Forum (Niigata, Japan), April, 2010.

- ⑨ Okada K, Sugimoto H, Warabi E, Gotoh N, Takahashi H, Utsunomiya H, Ishii T, Yamamoto M, Shoda J: Deletion of nuclear factor-E2-related factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice fed atherogenic plus high-fat diet. The 8th JSH Single Topic Conference, November, 2010 (PRESIDENTIAL AWARD).
- ⑩ 川本 徹, 山本雅一, 正田純一: 胆嚢発癌とその癌進展に果たすアラキドン酸代謝活性化の役割: Cyclooxygenase-2 (COX-2), プロスタグランジンE合成酵素 (PGES), プロスタグランジンE受容体 (EP) の発現に着目して 第14回日本肝臓学会大会(横浜), 10月, 2010.
- ⑪ 正田純一, 平林 淳, 成松 久: 糖鎖プロファイリング解析による肝内胆管癌の新規糖蛋白質マーカーの開発 第96回日本消化器病学会総会(新潟), 4月, 2010.

[図書] (計4件)

- ① 正田純一: 胆道癌発生の分子機序 Annual Review 消化器 2011 中外医学社(東京) pp.293-299, 2010.
- ② 正田純一: 胆道感染症 南江堂(東京), pp.366-369, 2010.
- ③ 正田純一: 胆石症・胆道炎・胆道がん 胆石症 概念・定義と疫学 最新医学社(大阪), pp.13-25 2011.
- ④ Shoda J, Kawamoto T, Yamamoto M.: Gallbladder Cancer - Pathogenesis and Molecular Targeting Strategies for Therapeutic Options. In: Gallbladder Cancer, Christopher V Aiello, ed. NOVA Science Publishers, New York, 2012, In press.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

正田 純一 (SHODA JUNICHI)
筑波大・医学医療系・教授
研究者番号: 90241827

(2) 研究分担者

鯉坂 隆一 (AJISAKA RYUICHI)
筑波大学・体育系・教授
研究者番号: 70151058
福田 邦明 (FUKUDA KUNIAKI)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号: 50447257

岡本 嘉一 (OKAMOTO YOSHIKAZU)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号: 90420083