

機関番号：15201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790553

研究課題名（和文） 日本人特有のメタボリックシンドロームと非アルコール性脂肪肝予防に向けて

研究課題名（英文） The prevention of the metabolic syndrome and the non-alcoholic fatty liver in the Japanese

研究代表者

山崎 雅之（Yamasaki Masayuki）

島根大学・医学部・助教

研究者番号：60379683

研究成果の概要（和文）：

高炭水化物による肥満、脂肪肝発症の関係を明らかにするために、実験動物を用いて研究を行った。C57/BL マウスに高炭水化物食、高脂肪食、対照食を投与した。体重をモニターし、高炭水化物食群、高脂肪食群で肥満発症を確認した。代表的な脂質代謝遺伝子やその調節遺伝子の発現解析を行い、高炭水化物投与群では脂肪肝を発症し、脂質新生が活性化されていることを確認した。今後は、高炭水化物食による脂肪肝発症が肥満におよぼす影響を明らかにしていく予定である。

研究成果の概要（英文）：

This study evaluated the physiologic properties of high carbohydrate diet and high fat diet (low carbohydrate diet) by examining its effects on body fat and fatty liver in mice. Mice were fed three experimental diets that were high carbohydrate diet, high fat diet and normal diet. The high carbohydrate and high fat groups were tendencies to increase body weight than normal group. In analysis of gene expressions for the lipid metabolism enzymes and its regulator, *de novo* lipogenesis in liver of the high carbohydrate group with onset of fatty liver was activated. In further study, Future studies are required to investigate the fatty liver onset by the high carbohydrate diet gives to obesity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：予防医学

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 日本で急増するメタボリックシンドロームと糖尿病に対する予防政策

健康日本 21 などの活動によっても、日本人の 2 型糖尿病有病者数は減少せず、1370 万人(1997)から 2210 万人(2007)に増加している (厚生労働省糖尿病実態調査)。これに

伴い、糖尿病での年間死亡者数も1万4千人(2009 厚生労働省人口動態)となり、虚血性心疾患では、2008年に80万8千人の患者数が公表された(厚生労働省患者調査)。このため、医療費は現在以上に高騰することが予想され、これらの発症予防が国家的な急務となっている。厚生労働省はメタボリックシンドローム、2型糖尿病予防に高い優先度を設定しているが、メタボリックシンドロームのコア病態である内臓肥満やインスリン抵抗性の病態解明が不十分であり、有効な予防策研究についても、日本をはじめとするアジアでは遅れている。

以上のような実情から、日本を含めたアジア各国では、有効な予防政策が確立されていない。

### (2) 日本人の肥満の増加には高炭水化物食が影響している。

今までの我々の研究によって、近似した遺伝的背景をもつ日本、韓国、モンゴルで、炭水化物を多食する日本人や韓国人では、肥満が軽度な割にメタボリックシンドロームが多いことが明らかとなった(Lancet (2004), Eur J Clin Invest (2004), Clin Chim Acta (2005))。日本人、韓国人では肥満と糖・脂質代謝異常との関係は欧米人と異なっていることが明らかであり、高炭水化物である白米や麺類の多食が高トリグリセライド血症等の脂質代謝異常に、さらにインスリン抵抗性、インスリン分泌不全の糖代謝異常にも寄与していることを示唆した。

### (3) 国内・国外での研究動向

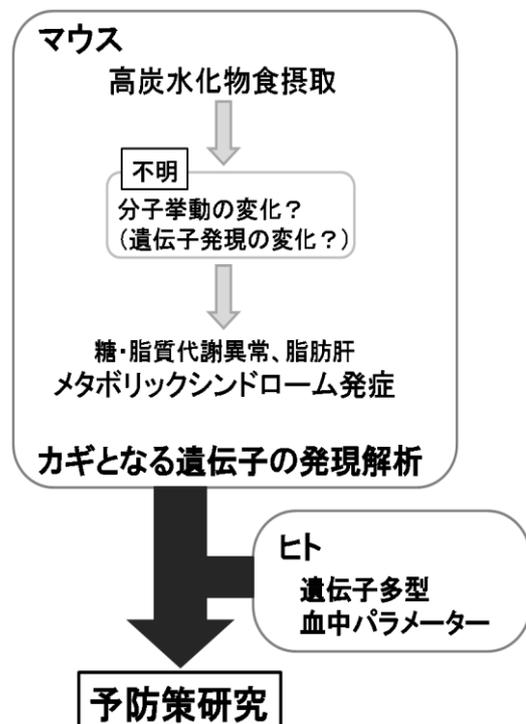
近年のメタボリックシンドローム、2型糖尿病の増加の食事原因として動物性脂肪の過剰摂取が強調されているが、高炭水化物食や砂糖の過剰摂取に注意が払われていない。欧米では、現在、メタボリックシンドロームや糖尿病の発症への高炭水化物食の関与についての研究が注目されつつある。Parks EJ. (Br J Nutr 2002, Review) は、ヒトでの試験、Hudgins LC. (Proc Soc Exp Biol Med 2000, J Nutr Biochem 2008) は、ヒトとマウスを用いた実験により、高炭水化物が体重増加を促し、さらにVLDLトリグリセライドの血中濃度を上昇させることを報告している。さらに、ヒトとマウス両実験で、肝臓で脂質新生が亢進すること、肝臓中の中性脂肪量が増加することを報告している。しかしながら、これらの報告があるにもかかわらず、高炭水化物による肥満、代謝異常の遺伝子発現プロファイルなど分子メカニズムは解析されていない。

## 2. 研究の目的

食習慣の変化、運動不足、ストレスによって日本でメタボリックシンドローム、2型糖尿病が急増している。これまで我々は、民族比較研究と介入研究から、日本人のメタボリックシンドローム、2型糖尿病の発症には食習慣、特に高炭水化物食が関与を明らかにしてきた(Lancet (2004), Int J Obes (2004), Eur J Clin Invest (2004))。

ヒトでの研究結果をもとにマウス実験を行い、高炭水化物食が肥満、糖・脂質代謝異常を誘導することを明らかにした(J Rural Med. 2007, Shimane J Med Sci. 2007)。このマウスの病態は、日本人のメタボリックシンドロームに近似した病態と捉えることができる。そこで、このモデルマウスを用い、糖・脂質代謝、インスリン抵抗性に関連した遺伝子、タンパク発現解析等を解析することで、メタボリックシンドローム発症に至ったメカニズムを明らかにする。

さらに、マウス実験の結果から得られたメタボリックシンドローム発症に関連する遺伝子プロファイルとヒト試験で得られている遺伝子多型等を総合的に解析することで、メタボリックシンドローム発症の予防策研究につなげる。



### 3. 研究の方法

(1) 高炭水化物食は肝臓での脂質新生 (*de novo lipogenesis*) を誘導し、肥満、糖・脂質代謝異常を発症させる。

ヒトでの研究結果をもとに、マウスにて高炭水化物食投与実験を行い、肥満とともに、高血糖症、高インスリン血症、高トリグリセライド血症を発症しやすいことを確認した。さらに肝臓での糖から脂質への変換、つまり脂肪新生 (*de novo lipogenesis*) により中性脂肪の蓄積が増大し、脂肪肝 (NAFLD)、脂肪肝炎 (NASH) を発症する可能性を示唆した (J Rural Med. 2007, Shimane J Med Sci. 2007)。このモデルマウスは、脂肪肝を併発しやすい日本人のメタボリックシンドロームに近似した病態と捉えることができる。この食事誘導による肥満、脂肪肝発症マウスを用いて、病理的、生化学的解析を行った。

(2) 各臓器での遺伝子発現プロファイルを明らかにする。脂質合成・代謝遺伝子とこれらの調節遺伝子を解析し、高炭水化物食による影響を評価した。

特に、本モデルマウスは、肝臓での脂肪新生 (*de novo lipogenesis*) の活発化によって脂肪肝を発症していると考えられるため、脂肪肝発症時の遺伝子発現プロファイルを解析した。

(3) 各臓器での形態学的影響、そこでの遺伝子発現プロファイルを合わせ、高炭水化物食による各臓器での分子挙動の変化を明確にし、高炭水化物食によるメタボリックシンドローム発症の分子メカニズムを検討した。

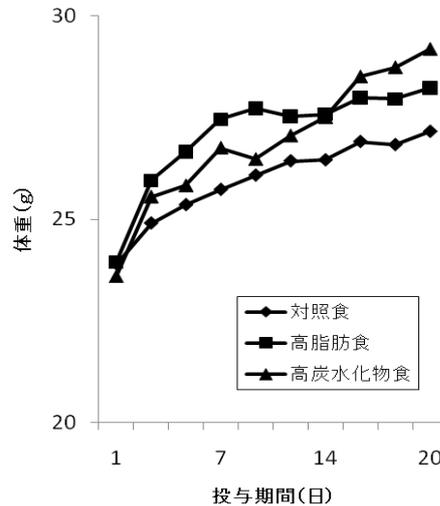
レジスタントスターチ (RS、難消化性デンプン) や食物繊維を多く含む食品は、低 GI 食であり、食後血糖の上昇を抑制、遅延させることによる脂質代謝異常、メタボリックシンドローム、2型糖尿病の予防効果が期待されている。そこで、マウス用い、高炭水化物食による脂質代謝異常、メタボリックシンドローム、2型糖尿病発症に対する低 GI 食の食品機能性が、肥満、メタボリックシンドローム、あるいは脂肪肝の予防に及ぼす効果を検討した。

### 4. 研究成果

(1) C57/BL マウス、オス、8 週齢、各群 10 匹に高炭水化物食 (主にコーンスターチ)、高脂肪高コレステロール食 (低炭水化物食、バターを含む)、対照食を等カロリー与えた。3 週間投与で、高炭水化物食群、高脂肪高コレステロール食で肥満の発症を確認した (図 1)。高炭水化物食群は、高脂肪高コレステロール食と同等に体重増加が認められた。これ

らのマウスでは、肝臓重量、副睾丸周辺脂肪組重量の有意な増加を認めた。

図1 マウスの体重変化



(2) 上記の結果を踏まえ、ICR マウス、オス、8 週齢、各群 10 匹に高炭水化物食 (主にコーンスターチ)、対照食を 2 週間および 4 週間投与した。投与後、麻酔下で採血、解剖を行い、臓器重量、血液生化学検査を行った。

対照食群と高炭水化物食群には、投与 2 週では、体重、臓器重量、血液生化学検査値とも有意な差を認めなかった。投与 4 週では、高炭水化物食群は対照食群よりも、体重 14%、副睾丸脂肪組織重量 51%、の有意な増加が認められた。

血液生化学検査でも、中性脂肪 62%、遊離脂肪酸 85%の有意な増加が認められた。血糖には有意な差を認めなかった。肝臓中脂肪量の解析では、2 週間投与では差が認められなかったが、4 週間投与では 20%の増加が認められた。

さらに、肝臓サンプルを用いて、脂質代謝関連遺伝子およびその調節遺伝子の発現量解析を行った。高炭水化物食群では、解凍系酵素 *gk* (34%)、脂肪酸合成酵素 *acc* (31%)、*fas* (17%)、コレステロール合成酵素 *hmgr* (35%)、中性脂肪合成酵素 *scd-1* (28%)の発現量の増加が認められた。

以上の結果から、高炭水化物食は通常のマウス餌に比較して、ICR マウスで同じ摂取カロリーでも肥満を生じ、高中性脂肪血症、脂肪肝を発症していると考えられた。生じるこ

とが確認された。これまでのマウスでの報告 (Metabolism 29:924-929, 1980) と同様に高炭水化物食投与 4 週投与によって血漿中性脂肪と遊離脂肪酸、白色脂肪組織である副睪丸脂肪重量、さらに体重の有意な増加を示した。高炭水化物食によるメタボリックシンドロームの発症機構としては、脂肪組織における血糖の取り込み促進と中性脂肪の合成、そして脂肪組織からの遊離脂肪酸の放出増加を生じたことが考えられる。さらに、肝臓において、脂肪細胞から門脈中に放出された遊離脂肪酸の取り込み、高炭水化物食の吸収から生じる食後高血糖から促進された飽和脂肪酸の生合成およびこれに引き続く脂肪新生 (*de novo* lipogenesis) による中性脂肪合成が促進され、高中性脂肪血症、脂肪肝が発症したと考えられた。

(3) 中期投与実験雄 8 週齢 ICR マウス、各群 10 匹に对照食、高炭水化物食、高炭水化物高レジスタントスターチ食(高 RS 食)、对照食を等カロリー投与した。投与 4 週で、高炭水化物食群は对照食に対し、体重、肝臓および副睪丸脂肪量の増加、血液中の中性脂肪、遊離脂肪酸の増加をもたらした。しかし、高 RS 食群は高炭水化物食群に対して、体重増加 (-19%)、肝臓重量 (-21%)、副睪丸脂肪組織重量 (-15%)、肝臓中のグリコーゲン量 (-34%) 中性脂肪含量 (-32%) が低く、肥満に対する予防効果が明らかとなった。血液生化学検査では、高 RS 食群の空腹時血糖、総コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸がやや低く、高血糖および高脂血症の予防効果が確認された。遺伝子発現量解析からは、高 RS 食群の脂質合成酵素の発現量が低く、*gsk-3* (-16%)、*pkf* (-13%)、*fas* (-20%)、*acc* (-18%)、*scd-1* (-11%) であった。これらの結果より、高炭水化物食摂取による肝臓での脂質新生 (*de novo* lipogenesis) を妨げる効果が明らかとなった。レジスタントスターチによって、腸管での炭水化物の吸収が遅延し、食後血糖上昇が緩やかになって、肝臓での脂質新生が抑制されていると考えられた。

##### 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 10 件)

- ① Wang L, Yamasaki M, Katsube T, Sun X, Yamasaki Y, Shiwaku K. Antiobesity effect of polyphenolic compounds from molokheiya (*Corchorus olitorius* L.) leaves in LDL receptor-deficient mice. *European Journal of Nutrition* 50:

127-133. 2011. 査読あり

- ② Katsube T, Yamasaki M, Shiwaku K, Ishijima T, Matsumoto I, Abe K, Yamasaki Y. Effect of flavonol glycoside in mulberry (*Morus alba* L.) leaf on glucose metabolism and oxidative stress in liver in diet-induced obese mice. *Journal of the science of food and agriculture* 90: 2386-2392. 2011 査読あり
- ③ Hamano T, Yamasaki M, Fujisawa Y, Ito K, Nabika T, Shiwaku K. Social capital and psychological distress of elderly in Japanese rural communities. *Stress and Health*, in press. 査読あり
- ④ 山崎雅之, 岩本麻実子, 米山敏美, 塩飽邦憲, 乃木章子. 日本人に適したインスリン作用 (分泌能と抵抗性) 改善を目指した予防プログラムの開発-日本人に適したインスリン作用改善を目指した糖尿病予防プログラムの開発 共済エグザミネー通信, 27, 15-24, 2010. 査読なし
- ⑤ Ogawa T, Tabata H, Katsube T, Ohta Y, Yamasaki Y, Yamasaki M, Shiwaku K. Suppressive effect of hot water extract of wasabi (*Wasabia japonica* Matsum.) leaves on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Food Chemistry*, 118:239-244, 2010. 査読あり
- ⑥ Wang T, Karino K, Yamasaki M, Zhang Y, Masuda J, Yamaguchi S, Shiwaku K, Nabika T. Effects of G994T in the Lp-PLA2 Gene on the Plasma Oxidized LDL Level and Carotid Intima-Media Thickness in Japanese: The Shimane Study *American Journal of Hypertension* 22: 742-747, 2009. 査読あり
- ⑦ Anuurad E, Yamasaki M, Shachter N, Pearson TA, Berglund L. ApoE and ApoC-I polymorphisms: association of genotype with cardiovascular disease phenotype in African Americans. *Journal of lipid research* 50:1472-1478. 2009. 査読あり
- ⑧ Sato M, Hamano T, Yamasaki M, Shiwaku K. Ten-year follow-up of obesity and obesity-related metabolic disorders

in male rural Japanese workers.  
Journal of Rural Medicine, 4: 15-20,  
2009. 査読あり

- ⑨ 塩飽邦憲, 岩本麻実子, 山崎雅之. メタボリックシンドロームの予防対策 7 政策的課題.  
健康福祉政策情報 42: 8. 2009. 査読なし
- ⑩ Yagura C, Kihara I, Hashimoto M, Iwamoto M, Yamasaki M, Hanaoka H, Nogi A, Shiwaku K. Relationship between large and small arterial compliance and regional body composition in middle-aged and elderly adults.  
Journal of Physical Therapy Science, 21: 337-342, 2009. 査読あり

[学会発表] (計 13 件)

- ① 塩飽邦憲, 楊建軍, 山崎雅之, 岩本麻実子, Jeff Burgess. 男性消防士の生活習慣と健康特性についての断面研究.  
第 54 回中国四国合同産業衛生学会, 2010 年 11 月 27-28 日, 下関.
- ② 米山敏美, 山崎雅之, 岩本麻実子, 王莉, 濱野強, 塩飽邦憲. メタボリックシンドロームの動脈硬化予知因子としての検討.  
第 59 回日本農村医学会学術総会, 2010 年 11 月 11-12 日, 盛岡.
- ③ 山崎雅之, 王莉, 岩本麻実子, 米山敏美, 塩飽邦憲. Q3MG (ケルセチン-3-マロニルグルコシド) の肝臓におけるインスリン抵抗性改善と中性脂肪蓄積抑制効果.  
第 59 回日本農村医学会学術総会, 2010 年 11 月 11-12 日, 盛岡.
- ④ 塩飽邦憲, 濱野強, 山崎雅之, 岩本麻実子, 濱村愛子, 並河徹, 名和田清子. 日本の中山間地域における ICT (Information, Communication Technology) ネットワークを活用した糖尿病予防のための健康増進活動.  
2010 年アジア・アフリカ学術基盤形成事業 日中国際セミナー「日中条件不利地域における持続可能な発展」, 2010 年 9 月 30-10 月 2 日, 松江.
- ⑤ 王莉, 塩飽邦憲, 山崎雅之, 宋輝, 岩本麻実子, 濱野強, 楊建軍, 並河徹. 島根県と寧夏回族自治区の農村地域における住民の生活習慣と健康調査.
- 2010 年アジア・アフリカ学術基盤形成事業 日中国際セミナー「日中条件不利地域における持続可能な発展」, 2010 年 9 月 30-10 月 2 日, 松江.
- ⑥ 王莉, 山崎雅之, 勝部拓矢, 山崎幸一, 塩飽邦憲. ポリフェノールを含有するモロヘイヤ葉の抗肥満効果とそのメカニズム.  
第 80 回日本衛生学会学術総会, 2010 年 5 月 9-11 日, 仙台.
- ⑦ 王莉, 塩飽邦憲, 山崎雅之, 楊建軍, 並河徹, 山口修平, 益田順一. 島根県中山間地域におけるメタボリックシンドロームの有病率.  
2009 年アジア・アフリカ学術基盤形成事業「条件不利地域における地域振興と持続可能な発展」国際セミナー, 2009 年 11 月 9-10 日, 寧夏銀川, 中国.
- ⑧ 米山敏美, 山崎雅之, 岩本麻実子, 池西瑠美, 王莉, 濱野強, 乃木章子, 塩飽邦憲. 農村における肥満とインスリン抵抗性の関連.  
第 58 回日本農村医学会学術総会, 2009 年 11 月 1-3 日, 横浜.
- ⑨ 塩飽邦憲, 岩本麻実子, 山崎雅之, 北湯口純. 後期高齢者での健康増進教室の成果と課題.  
第 68 回日本公衆衛生学会総会, 2009 年 10 月 21-23 日, 奈良.
- ⑩ Masayuki Yamasaki, Erdembileg Anuurad, Neil Schachter, Thomas Pearson, Lars Berglund. ApoE and ApoC-I polymorphisms: Association of genotype with cardiovascular disease phenotype in African Americans.  
第 41 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2009 年 7 月 17-18 日, 下関
- ⑪ Beya Wa Bitadi Mutombo, Masayuki Yamasaki, Akiko Nogi, Kuninori Shiwaku. Apo A5 I131C/T polymorphism does not affect ApoA5 triglyceride-lowering effect in a behavioral change interventional study.  
第 41 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2009 年 7 月 17-18 日, 下関
- ⑫ 塩飽邦憲, 岩本麻実子, 乃木章子, 山崎雅之. 中国、モンゴル、日本の労働者におけるメタボリックシンドローム.  
第 82 回日本産業衛生学会, 2009 年 5 月 20-22 日, 福岡.
- ⑬ Anuurad Erdembileg, Masayuki Yamasaki, Neil Schachter, Lars Berglund. ApoE and ApoC-I polymorphisms: Association of genotype with cardiovascular

disease phenotype in African Americans.  
Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology Annual Conference 2009, 2009年4月29日-5月1日, Washington, DC, USA.

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.shimane-u.ac.jp/epm/profile/yamasaki/yamasaki.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山崎 雅之 ( Yamasaki Masayuki )  
島根大学・医学部・助教  
研究者番号：60379683

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：