

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：16201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659399

研究課題名(和文) C型慢性肝炎におけるCD36分子を標的としたインスリン抵抗性の解明

研究課題名(英文) Impact of CD36 molecule affecting insulin resistance in patients with HCV-related chronic liver disease

研究代表者

樋本 尚志 (Takashi, Himoto)

香川大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20325343

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円、(間接経費) 450,000円

研究成果の概要(和文)：C型慢性肝疾患(CLD-C)患者における血中の可溶性CD36(sCD36)が肥満、インスリン抵抗性または肝脂肪化に関与するか否かを検討した。CLD-C患者における血中sCD36値は、肝組織におけるKupffer細胞上のCD36の発現の程度を反映していた。また、CLD-C患者における血中sCD36値は、肥満と有意に関連していた。しかしながら、CLD-C患者におけるインスリン抵抗性や肝脂肪化にCD36が関与している可能性は低いものと思われた。

研究成果の概要(英文)：The primary purpose of this study was to investigate the role of CD36 in the pathogenesis of insulin resistance and hepatic steatosis caused by chronic HCV infection. Serum soluble CD36 levels reflected the severity of CD36 expression on Kupffer cells in patients with HCV-related chronic liver disease (CLD-C). Soluble CD36 levels were significantly associated with obesity in patients with CLD-C. However, circulating soluble CD36 concentrations were independent of insulin resistance and hepatic steatosis in patients with CLD-C.

研究分野：医薬薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：肝脂肪化 C型肝炎ウイルス インスリン抵抗性 肥満 CD36

1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス (HCV) の持続感染によってインスリン抵抗性、肝脂肪化、脂質異常症や鉄過剰状態といった様々な代謝異常を引き起こすことが明らかとなっている。しかしながら、C型慢性肝炎患者におけるインスリン抵抗性の詳細な機序については明らかにされていない。

最近になって、2型糖尿病患者のマクロファージや単球において class B scavenger である CD36 の発現が oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) を介して up-regulation していることが報告された。また、血中の可溶性 CD36 (sCD36) 濃度は 2 型糖尿病への進展を予測する血清マーカーになりうるとの報告や、sCD36 値が肝脂肪化の程度と相関する報告もみられる。

一方、末梢血中の血小板や単球における CD36 発現の欠落 (CD36 欠乏症) がインスリン抵抗性に関連するという報告もみられている。

2. 研究の目的

今回、HCV の持続感染によっておこるインスリン抵抗性や肝脂肪化の発症に、果たして CD36 が重要な役割を果たしているか否かについての検討を行った。次に、PEG-IFN を主体とする抗ウイルス療法を行った後の血中 sCD36 値の推移についても検討した。さらに、対象患者における CD36 欠損症の頻度を明らかにし、CD36 欠損症がインスリン抵抗性を惹起させるか否かについての検討も併せて行った。

3. 研究の方法

対象は糖尿病を合併していない C 型慢性肝疾患 (慢性肝炎および肝硬変) 患者 45 例を無作為に抽出した。

対象患者における肥満とインスリン抵抗性については、body mass index (BMI) および HOMA-IR 値をそれぞれ算出して評価した。

一方、対象患者における staging は新犬山分類によって、肝脂肪化は Brunt らの分類によってそれぞれ評価した。

肝組織における CD36 の発現は、免疫組織化学法を行い、発現の程度を「なし」、「中等度」、「高度」と半定量によって評価した。

対象患者における血中の可溶性 CD36 (sCD36) 濃度および oxLDL 濃度については商標化された ELISA kit を用いて測定した。

CD36 欠損症については末梢血中の血小板および単球における CD36 の発現をフローサイトメトリーで確認し、いずれにも発現が欠落しているものを CD36 欠損症 1 型、血小板

のみ CD36 の発現が欠如しているものを CD36 欠損症 2 型とした。

4. 研究成果

(1) 肝組織における CD36 の発現

C 型慢性肝疾患患者の肝組織における CD36 の発現を免疫組織化学法で検討したところ、全例とも類洞に中等度または高度な発現が認められた。しかしながら、肝細胞や胆管には CD36 の発現が認められなかった。

次に、CD36 と CD14 抗体 (マクロファージの標識マーカー) による二重染色を行ったところ、CD36 と CD14 の発現は merge しており、類洞に認められた CD36 陽性細胞は Kupffer 細胞であることが示唆された。

(2) 肝組織における CD36 の発現と血中 sCD36 値との関連

CD36 の発現が中等度であった群と高度であった群とで血中 sCD36 値を比較した。CD36 の発現が高度であった群の血中 sCD36 値は 250.1 ± 96.8 pg/ml であり、発現が中等度であった群の 167.2 ± 54.6 pg/ml と比較して有意に高値を示していた ($p=0.0006$)。以上より、C 型慢性肝疾患患者における血中 sCD36 値は肝組織における Kupffer 細胞数を反映していることが示唆された。

(3) 血中 sCD36 値と臨床パラメータとの関連

対象患者における血中 sCD36 値と BMI との間には、有意な正の相関が認められた ($r=0.336$, $p=0.0242$)、血中 sCD36 値の上昇は肥満を反映することが示唆された。また、血中 sCD36 値は血中 oxLDL 値とも有意な正の相関がみられた ($r=0.422$, $p=0.0016$)。しかしながら、血中 sCD36 値は肝脂肪化の程度や血清 ALT 値との間に有意な相関は認められなかった。また、HCV-RNA 量や HCV genotype と血中 sCD36 値との間にも有意な相関は得られず、HCV による CD36 への直接的な作用は否定的であった。

(4) 血中 sCD36 または oxLDL 値とインスリン抵抗性との関連

対象患者における血中 sCD36 値と HOMA-IR 値との関連について検討したところ、両者の間には有意な相関は認められなかった ($R=0.015$, $p=0.9223$)。同様に、血中 oxLDL 値と HOMA-IR 値との相関も認められなかった ($r=-0.265$, $p=0.0787$)。従って、血中 sCD36 または oxLDL 値とインスリン抵抗性との関連は明らかでなかった。

(5) 健常者との比較

対象患者を BMI 25 以上の肥満群 ($n=16$) と BMI 25 未満の非肥満群 ($n=29$) の 2 群にわけて健常人 8 例の血中 sCD36 および oxLDL 値と比較

した。血中 sCD36 値は肥満を伴った群で健常人と比較して有意に高値を示した(254.7 ± 123.5 vs 153.7 ± 44.6 pg/ml, p=0.0112)。一方、血中 oxLDL 値は肥満群、非肥満群いずれも健常人より有意に高かった(5.54 ± 4.15, 4.46 ± 3.97 vs 0.46 ± 0.44 μmol/ml, p=0.0029, p= 0.0101)。

(6) 抗ウイルス療法後の血中 sCD36 および oxLDL 値の推移

抗ウイルス療法前後で血中 sCD36 および oxLDL 値が測定できた 11 例について検討した。sustained virological response (SVR) が得られたのは 11 例中 9 例であったが、SVR の得られた症例の血中 sCD36 値は、治療により有意に低下した(209.8 ± 65.7 vs 148.5 ± 43.8 pg/ml, p=0.0212)。一方、SVR の得られなかった 2 例は治療によりいずれも上昇していた。

血中 oxLDL 値は、抗ウイルス療法により低下する傾向にあった(2.95 ± 2.99 vs 1.61 ± 1.06 μmol/ml, p=0.0598)が、有意差は認められなかった。

(6) CD36 欠損症の頻度

対象患者のなかから 20 例を無作為に抽出して、末梢血中の血小板および単球における CD36 の発現をフローサイトメトリーによって解析した。20 例中 1 例(5%)は血小板における CD36 の発現が欠落しており、CD36 欠損症 2 型と診断された。CD36 欠損症と診断された症例の HOMA-IR 値は 1.68 と正常であった。従って今回の検討では、CD36 欠損症とインスリン抵抗性との関連を明らかにすることが出来なかった。

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 1 件)

Himoto T, tani J, Miyoshi H, et al.
Investigation of the factors associated with circulating soluble CD36 levels in patients with HCV-related chronic liver disease. Diabetol Metab Syndr 2013;Epub

〔学会発表〕(計 3 件)

第 48 回日本肝臓学会総会(2012 年 6 月、金沢)

樋本尚志、谷 丈二、三好久昭 他：C 型慢性肝疾患患者における CD36 分子を標的としたインスリン抵抗性の解明

第 49 回日本肝臓学会総会(2013 年 6 月、東京)

樋本尚志、谷 丈二、三好久昭 他：oxidized LDL および CD36 を標的とした C 型慢性肝疾患患者におけるインスリン抵抗性の解明

第 5 回前糖尿病とメタボリックシンドロームに関する国際会議(2013 年 4 月、ウィーン、オーストリア)

Himoto T, Tani J, Miyoshi H, et al.
Contribution of oxidized LDL and CD36 to insulin resistance in patients with HCV-related chronic liver disease.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋本尚志 (Takashi Himoto)
香川大学医学部付属病院
総合診療科 講師
研究者番号：20325343

(2) 研究分担者

羽場礼次 (Reiji Haba)
香川大学医学部付属病院
病理診断科 准教授
研究者番号：90304584

舛形 尚 (Hisashi Masugata)
香川大学医学部付属病院
総合診療科 講師
研究者番号：70263910

正木 勉 (Tutomu Masaki)

香川大学医学部消化器・神経内科 教授
研究者番号：30335848

千田彰一 (Shoichi Senda)
香川大学医学部附属病院
総合診療科 教授
研究者番号：30145049

(3)連携研究者
()

研究者番号：