

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26282197

研究課題名(和文) 非肥満者における未知のインスリン抵抗性の原因解明と臨床応用

研究課題名(英文) Research for unknown mechanism of insulin resistance in non-obese subject and its clinical application.

研究代表者

田村 好史 (Tamura, Yoshifumi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：80420834

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,800,000円

研究成果の概要(和文)：ほとんどのアジア諸国でよく見られる代謝疾患の1つの特徴は、正常なBMI (<25kg / m²) の被験者における代謝異常の発症である。インスリン抵抗性は2型糖尿病の重要な病因であることが知られているが、このようなBMIが正常な特定の集団におけるインスリン抵抗性の特徴および役割は全く知られていない。本研究では、そのような集団におけるインスリン抵抗性の未知のメカニズムを探索した。その結果、骨格筋においてインスリン抵抗性を惹起する候補因子となる特性がいくつか見出された。インスリン抵抗性と我々が見出した代謝パラメーターとの因果関係を確認するためには、さらなる研究が必要である。

研究成果の概要(英文)：One feature of metabolic diseases common in most of Asian countries is the development of metabolic abnormalities in subjects with normal BMI (<25 kg/m²) Although the role of insulin resistance is considered to be an important pathogenesis of type 2 diabetes and metabolic abnormalities in both obese subjects and normal weight subjects, the features and roles of insulin resistance in such specific population are totally unknown. In this research, we searched for unknown mechanism of insulin resistance in such population. As a result, we found several specific candidate characteristics which may induce insulin resistance in skeletal muscle. More researches are required to confirm causal relationships between insulin resistance and metabolic parameters we found.

研究分野：代謝内分泌学

キーワード：インスリン抵抗性 異所性脂肪 インスリンクリアランス メタボリックシンドローム 非肥満者

1. 研究開始当初の背景

近年、日本における糖尿病や動脈硬化症の患者数の増加は著しく、早急はその予防を考える必要がある。肥満によりもたらされるインスリン抵抗性は、2型糖尿病の重要な発症因子であるだけでなく、メタボリックシンドロームの上流に位置していると考えられ、動脈硬化症進展の根本的原因として認識されてきた。しかしながら、日本で行われた大規模臨床試験である Japan Diabetes Complications Study や NIPPON DATA により糖尿病患者の平均 BMI は 23 kg/m^2 と正常レベルであること、心血管系イベントによる死亡は非肥満患者 ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$) が全体の約 80% を占めていることが明らかとなった。そのため、過去に行われてきた“肥満こそがインスリン抵抗性の源流である”ことを提言するような研究成果は日本人や東アジアで多く見受けられる非肥満の病態にはほとんど合致していない。従って、日本人などの東アジア人の糖尿病や動脈硬化症の病態を考える上で、「非肥満者のインスリン抵抗性」の意義やメカニズムの解明が必要である。

この点に関して、我々は非肥満者のインスリン抵抗性の原因探索を行っている。具体的には、非肥満者における肝臓、骨格筋のインスリン抵抗性を精密に捉えるべく、安定同位体を用いた 2-step hyper-insulinemic euglycemic clamp 法を開発し、非肥満者を中心に 30~50 歳までの 114 名のインスリン抵抗性を正確に評価した。それと同時に、肥満者でインスリン抵抗性に関連するとされる食事栄養組成、身体活動量、睡眠、最大酸素摂取量、筋力、内臓脂肪量評価など 20 にも及ぶ既知の因子を評価した。さらに、我々は ^1H -magnetic resonance spectroscopy (MRS)法による一連の研究で、肝臓、骨格筋における細胞内脂質(異所性脂肪)が脂肪摂取量、身体活動量により容易に増減し、肥満とは独立したインスリン抵抗性を惹起する因子である可能性を明らかとしており、異所性脂肪蓄積も非肥満者のインスリン抵抗性メカニズムの一つであると推測し、測定パラメーターに加えた。

その結果、非肥満者であっても、肥満でメタボリックシンドローム合併者と同等のインスリン抵抗性がある人が多数いる。非肥満者では、主に骨格筋のインスリン抵抗性がリスクファクターの増加や動脈硬化・脂肪肝の発生と関連することが明らかとなっており、非肥満者におけるインスリン抵抗性の臨床的な意義や重要性が確認された。しかしながら、非肥満者における骨格筋インスリン抵抗性の規定因子は、内臓脂肪の関連因子から、生活習慣そのものまで多岐に渡っていたが、いずれも弱い関連で、未知の因子は統計学的

に 50%以上残されていた。

2. 研究の目的

本申請においては、非肥満者におけるインスリン抵抗性の原因解明を目指した研究を行う。

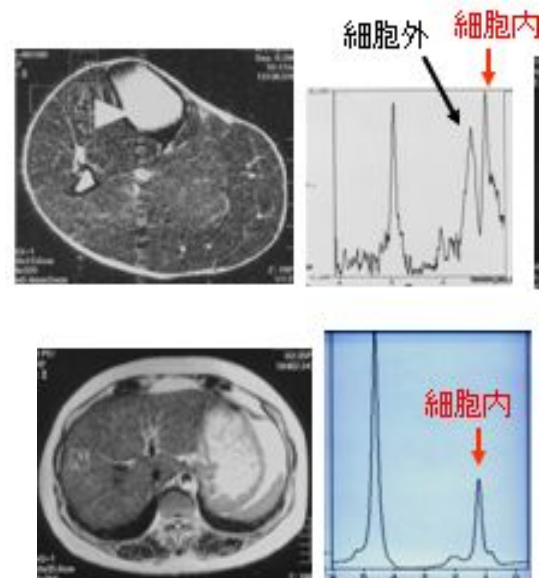
3. 研究の方法

対象は、30 歳以上、50 歳未満の非糖尿病(空腹時血糖値 (FBS) 126 mg/dl 未満)の男性とし、インスリン抵抗性の程度が広範囲に分布するように、BMI が $21 \sim 22.99 \text{ kg/m}^2$ かつリスクファクター(RF)を有さない (G1; $n=24$)、BMI が $23 \sim 24.99 \text{ kg/m}^2$ で RF 0 個 (G2; $n=28$)、RF 1 個 (G3; $n=28$)、RF 2 個以上 (G4; $n=14$)、また比較対象群として、メタボリックシンドロームに該当する肥満者 (BMI; $25 \sim 27.5 \text{ kg/m}^2$) (肥満 MS 群) (G5; $n=20$) の計 114 名を対象とした。

RF は MS の判定に準じ、FBS、脂質代謝異常、血圧で判定した。生活習慣として、身体活動量、食事内容を調査した。

早朝空腹時に ^1H -MRS 法による骨格筋・肝臓における細胞内脂質の定量 (図 1) MRI による腹腔内脂肪・皮下脂肪量の定量、筋生検を行った。

(図 1) MRS による脂肪肝・脂肪筋の測定



その後、安定同位体 $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucose}$ を用いた 2 ステップ高インスリン正常血糖クランプ検査 (インスリン注入速度 10 、 $20 \text{ mU/m}^2/\text{min}$ を各 3 時間) により、肝臓、骨格筋の IR を判定した。肝臓のインスリン感受性は第 1 ステップ時の内因性糖産生抑制率で、骨格筋のインスリン感受性は第 2 ステップ時の糖消失率で評価した。また、別日に 75 g 経口糖負荷試験、最大酸素摂取量測定を行った。

4. 研究成果

(1) 臨床的背景

臨床的背景因子を比較すると、G3 と G4 におけるリスクファクターは血圧が 49%、高中性脂肪が 36%、高血糖は 7%、低 HDL コレステロール血症が 8%それぞれ認められた。BMI は G2~4 までほとんど同じ程度であったが、皮下脂肪や内臓脂肪は概ね G3 や G4 で G2 よりも多かった。また、肝臓における脂肪量も G2~4 においてリスクファクターの数が増えるごとに増加していた。また、これらの変化と並行して ALT などの肝逸脱酵素の上昇を認めた。しかしながら、骨格筋細胞内脂質についてはあまり変化を認めなかった。その他のパラメーターとしては、最大酸素摂取量はリスクの増加と共に低下し、これとは逆に炎症反応の指標である CRP や、動脈硬化の指標である頸動脈の内膜中膜複合体 (IMT) の増加を認めた。

(2) 骨格筋と肝臓におけるインスリン感受性

非肥満者では、リスクファクターの増加と共に、骨格筋におけるインスリン感受性低下を認めたが、肝臓に関してはそのような傾向を認めなかった。また、肝臓と骨格筋のインスリン感受性は正相関することが明らかとなったが、その相関は強くはなかった ($r=0.38$, $P=0.001$)。

(3) インスリン感受性と関連するリスクファクター

インスリン感受性と関連する因子について、メタボリックシンドロームのリスクファクターとの相関を検証した結果、肝臓のインスリン感受性と空腹時血糖値は負の相関を認めた。その他、血圧や中性脂肪のとの負の相関も認めた。その一方で、骨格筋は中性脂肪と最も強い負の相関を認めたほか、他のパラメーターとも有意な相関性を認めた。このような関連性は、非肥満者においてもインスリン感受性の低下がメタボリックシンドロームの病態として重要であることが示唆される。

(4) インスリン感受性の規定因子

本研究においては、骨格筋及び肝臓におけるインスリン感受性の規定因子について、単相関による相関性を見ることによって推測した。その結果、骨格筋のインスリン感受性の低下と良く (相関係数の絶対値が 0.4 以上) 相関する因子として、最大酸素摂取量、アディポネクチン、肝脂肪量、ALT が挙げられた。その一方で、肝インスリン感受性については、肝脂肪量のみが有意な因子として抽出された。

(5) インスリン感受性と関連する他の因子

について

本研究において、骨格筋インスリン感受性は骨格筋細胞内脂質と関連性を認めなかった。そのため、体力を高体力と低体力の二つの群に最大酸素摂取量により分けて、インスリン感受性との関連性を調査した。その結果、低体力群では、骨格筋細胞内脂質とインスリン感受性に負の有意ではないものの相関を認めた。そのため、骨格筋細胞内脂質は低体力者においては、インスリン抵抗性の規定因子となっている可能性が示唆された。実際に、現在バイオプシー検体や血清の解析により、骨格筋細胞内脂質とインスリン感受性の関連性についてさらに調査を進めているが、様々な脂質がインスリン感受性に関連していることを見出している (論文執筆中)。さらに、因果関係を明らかとするために、*in vitro*, *in vivo* による検証も同時に進めている。

(6) インスリンクリアランスとインスリン感受性の関連性

肥満をはじめとした明らかなインスリン抵抗性状態においては、インスリンクリアランス (MCRI) は低下し、MCRI の低下はメタボリックシンドロームや 2 型糖尿病の発症に関連することが報告されている。しかしながら、MCRI の低下は、明らかなインスリン抵抗性存在下での報告がほとんどであり、健常な状態において、代謝疾患の病態を表す血中インスリン濃度と MCRI およびインスリン抵抗性の詳細な生理学的関連性は不明な点が多い。そこで、現在のコホートを再解析することにより、健常者における MCRI の意義について探索的な検証を行った。その結果、MCRI は骨格筋インスリン抵抗性と相関し、肝臓のインスリン抵抗性とは全く相関しないことが明らかとなった。

インスリンクリアランスを低下した遺伝子改変モデル動物において、高インスリン血症をもたらし、引き続き、骨格筋インスリン抵抗性と肥満を生じさせることが明らかとなっている。そのため、このようなインスリンクリアランスの低下は、将来的なインスリン抵抗性発生や肥満への初期変化であることが推察される。その一方で、このような変化は初期のインスリン抵抗性に対する代償作用であるようにも捉えられる。もし前者であるとすれば、インスリンクリアランスの低下が非肥満者におけるインスリン抵抗性の原因となっていることが示唆される。

(7) 3 年後のフェノタイプ解析

本研究においては、ベースラインの測定後、3 年後において、脂肪肝や耐糖能の変化と各種パラメーターの変化について検証を進めている。その結果、幾つかのパラメーターが脂肪肝の発症と関連している可能性がある

ことが見出されてきた他、骨格筋インスリン抵抗性がその後の耐糖能に影響を与えている可能性についても明らかとなりつつある。

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 2 件)すべて査読あり

1. Takeo K, Tamura, Y, Kawaguchi M, Takehi S, Watanabe T, Funayama T, Furukawa Y, Kaga H, Yamamoto R, Kim M, Nishitani-Yokoyama M, Shimada K, Daida H, Aoki S, Taka H, Fujimura T, Sawada SS, Giacca A, Kanazawa A, Fujitani Y, Kawamori R, Watada H: Relation between insulin sensitivity and metabolic abnormalities in Japanese men with BMI of 23-25 kg/m². J Clin Endocrinol Metab 101(10): 3676-3684, 2016
2. Kaga H, Tamura, Y, Takeo K, Takehi S, Funayama T, Furukawa Y, Nishitani-Yokoyama M, Shimada K, Daida H, Aoki S, Giacca A, Kanazawa A, Kawamori R, Watada H.: Correlates of insulin clearance in apparently healthy non-obese Japanese men. Sci Rep 7: 1462, 2017

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Takeo K, Tamura, Y, Takehi S, Funayama T, Furukawa Y, Kaga H, Suzuki R, Someya Y, Kawamori R, Watada H.: Association between Decreased Insulin Clearance and Initial Changes Predisposing toward Obesity in Apparently Healthy Men. The American Diabetes Association's 76th Scientific Sessions, New Orleans(USA), 2016.6.10-14, ポスター
2. 田村好史: 異所性脂肪の概念と臨床展開 骨格筋における異所性脂肪蓄積とインスリン抵抗性. 第 87 回日本内分泌学会学術総会, 福岡県(日本), 2014.04.24-26(2014.04.25), 口演
3. 田村好史: 非肥満者の代謝障害発生メカニズム ~ 細胞内肥満から考える新規アプローチ ~. 第 163 回日本体力医学会関東地方会, 東京都(日本), 2015.02.28(トピックス講演(講演+質疑))

4. 竹野景海, 田村好史, 筧佐織, 船山崇, 古川康彦, 加賀英義, 鈴木瑠璃子, 染谷由希, 河盛隆造, 綿田裕孝: インスリンクリアランスとインスリン抵抗性、空腹時インスリン値の生理学的関連性. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 京都府(日本), 2016.5.19-21(2016.5.21), 口演

5. 竹野景海, 田村好史, 筧佐織, 船山崇, 古川康彦, 加賀英義, 鈴木瑠璃子, 染谷由希, 河盛隆造, 綿田裕孝: 健常者におけるインスリンクリアランスと肥満との関連性. 第 37 回日本肥満学会, 東京都(日本), 2016.10.7-8(2016.10.7), ポスター

〔図書〕(計 5 件)

1. 田村好史: □肥満 2 型糖尿病の分子メカニズム 3. 骨格筋. The Lipid 26(2): 32-38, 2015
2. 田村好史: 内臓脂肪と異所性脂肪“脂肪筋”から考える運動の役割. オレオサイエンス 15(8): 13-18, 2015
3. 田村好史: 臓器別のインスリン抵抗性の発生メカニズムと臨床的意義. プラクティス 32(4): 401-409, 2015
4. 田村好史, 竹野景海, 筧佐織: 骨格筋における脂肪毒性. The Lipid 27(3): 73-78, 2016
5. 江島弘晃, 田村好史: 7-3. 脂肪組織および異所性脂肪, 身体活動・座位行動の科学 ~ 疫学・分子生物学から探る健康 ~, 熊谷秋三, 田中茂穂, 藤井宣晴, 杏林書院, 東京, 178-184, 2016

6. 研究組織

(1)研究代表者

田村 好史 (TAMURA, Yoshifumi)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 80420834

(2)研究分担者

筧 佐織 (KAKEHI, Saori)
順天堂大学・医学部・特任助教
研究者番号: 00450560

竹野 景海 (TAKENO, Kageumi)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：00459062