

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02180

研究課題名(和文) 脂肪との共存を実現する糖尿病抑制策の探求

研究課題名(英文) Investigation on how to adjust fatty liver metabolically for suppression of diabetes

研究代表者

熊代 尚記 (KUMASHIRO, Naoki)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：20535207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：縦断研究でも利用可能な、肝臓への脂肪蓄積を正確に評価する方法を確立した。Dexon法のMRI画像(水画像と脂肪画像)を用いて、客観的に全肝臓体積、全肝臓脂肪体積、全肝臓の除脂肪体積を絶対定量することを可能とした。この方法を用いて横断研究のデータを解析し、肝臓の脂肪体積よりも除脂肪体積が肝インスリン感受性と有意に負の相関を認めることを見出した。この傾向は糖尿病を有する脂肪肝患者で顕著であった。現在、そのメカニズムをヒトの縦断研究とマウスの介入研究で追究しているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、脂肪肝において肝インスリン感受性を保持する(脂肪との共存を実現する)ために重要な因子として、肝臓へ蓄積する脂肪ではなく、脂肪を受け止める肝臓の大きさが重要であることを初めて明らかにした、学術的に大きな意義をもつものである。今後、脂肪蓄積を減らすことが困難な高齢社会に、大きなブレークスルーをもたらす礎となる研究成果を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：We have established a new method for accurately assessing the lipid accumulation in the liver that can also be used in longitudinal studies. The MRI images (water and fat images) of the Dexon method were used to objectively determine the absolute quantification of total liver volume, total hepatic fat volume, and total hepatic lean volume. Using this method, we analyzed data from cross-sectional studies and found that hepatic lean volume rather than fat volume was significantly and negatively correlated with hepatic insulin sensitivity. This trend was more pronounced in fatty liver patients with type 2 diabetes mellitus. We are now investigating the underlying mechanisms through longitudinal studies in humans and interventional studies in mice.

研究分野：栄養、代謝、肝臓、健康科学

キーワード：脂肪肝 インスリン感受性 肝臓体積

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本の成人糖尿病患者数は720万人(世界9位)、糖尿病関連の医療費は3兆5700億円(世界4位)と報告されており(国際糖尿病連合「糖尿病アトラス第7版2015年」、生活習慣病として糖尿病が社会的に深刻な問題となっている。

糖尿病の主病態としてインスリン抵抗性が挙げられる。10 - 40代の若年から食事・運動・睡眠習慣の乱れにより肥満者が増え、インスリンの2大標的臓器である肝臓と筋肉への脂肪の蓄積がインスリン抵抗性を起こし(Samuel VT et al, Lancet, 2010)、40代以降の糖尿病急増につながっている。さらに、高齢になると筋肉量が減少して運動ができなくなり、サルコペニア肥満という形で悪循環を招いている。これらの解決には、食事・運動の生活習慣改善による筋肉増強・肥満改善が最も基本的で効果が高いことが明らかであるが、生活習慣介入には多くの人材と時間、費用を要し、遺伝や体質で太りやすい人もおり、個人や社会の努力ではカバーできない部分も存在する。実際に、この10年間男性の約3割、女性の約2割が肥満(BMI>25 kg/m²)の状態が続いており、肥満改善への取り組みのみでは限界があると思われる。

さらに、日本では4人に1人が65歳以上と未曾有の超高齢化が進んでおり(総務省統計局)成人(20 - 79歳)の糖尿病人口の約6割が60 - 79歳となっている。したがって、高齢者の糖尿病対策が重要なカギを握るが、超高齢社会における現実問題として、日々の食事が身近な楽しみであり、筋肉や関節が衰えた高齢者への食事・運動療法の徹底は難しく、別の角度からの検討が急務である。

そこで、食事・運動療法が徹底できない状況下で、いかに栄養過剰状態に適応していくかを考えた結果、“脂肪との共存”という新規概念を提唱するに至った。この着想の原点は後述する10年前の大学院時代の研究にさかのぼり、将来の“脂肪との共存”の実現に向けて着実に動き始めている。国内外では代謝性に健康的な肥満(metabolically healthy obese)や代謝性良性脂肪肝(metabolically benign fatty liver)というテーマでの報告があるが、動物モデルや欧米人でなく日本人を対象にした研究は2014年に若手研究Aを取得して開始した私の研究が初めてである。

2. 研究の目的

我々は、食事・運動療法の徹底が困難な超高齢社会で栄養過剰状態に適応していく方法を考え、“脂肪との共存”という新規概念を打ち出し、研究を行ってきた(平成26 - 28年度若手研究A)。その結果、脂肪肝を有しながらもインスリン感受性が良好なヒトの存在を見出し、その特徴を明らかにして国内外で高く評価された。本研究では、ヒトでの詳細な代謝評価のノウハウを生かし、2型糖尿病の主病態であるインスリン抵抗性を惹起しないような、インスリンの2大標的臓器(肝臓と筋肉)への脂肪蓄積の特徴及び方法について探求を進める。生活習慣・遺伝子・脂肪分布など多角的に、長期観察研究と介入研究により予防・治療標的を絞り込む。そして、“脂肪との共存”を実現しうる、超高齢社会に適した画期的な糖尿病抑制策の確立に貢献することを目指す。

3. 研究の方法

長期にわたりインスリン標的臓器(肝臓・筋肉)に脂肪蓄積を認めながらもインスリン感受性を保持することが可能なヒトの生活習慣や遺伝子発現の特徴を明らかとする。

(対象被験者)

- ・20から70歳の脂肪肝を有し、筋肉への脂肪蓄積も疑われる男女30名。
- ・脂肪肝は採血上の肝逸脱酵素ALT>30 IU/Lと腹部超音波検査にてスクリーニングを実施する。前回の横断研究から、脂肪肝を有する者は概ねBMI25 kg/m²以上の肥満者で、脂肪筋も有することが分かっている。
- ・糖尿病の有無は問わないが、インスリン感受性の良悪を比較するために、極力偏りないようにエントリーする。ただし、糖尿病患者においては、内服薬はインスリン抵抗性やインスリン分泌に影響の少ない薬剤に限り、極端な代謝失調を来していない者(HbA1c<9%)とする。
- ・高血圧症、脂質異常症は許可するが、心疾患、脳卒中、癌、感染症や膠原病など生活習慣病以外の疾患を有する者は除外する。

基本的には先行の横断研究(ベースライン)でデータを取得したヒトについてフォローアップデータを取得する。ベースラインとフォローアップの試験の間隔は1年以上あける。しかし、フォローアップ中に脂肪肝ではなくなった者もあり、今回の研究目的・意義を踏まえて、脂肪肝の状態が持続しているヒトを対象にフォローアップデータを取得する。先行研究の被験者の脱落も考慮して、新規エントリーも行う。

(評価項目)

同意が得られた被験者に対して、以下に挙げるパラメーターについてデータを収集する。

(1) ^1H -MRS 法による前脛骨筋・ヒラメ筋・肝臓における細胞内脂質の定量

(**インスリン標的臓器毎の脂肪蓄積の定量**)

(2) 安定同位体 $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]\text{glucose}$ を用いた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 $40\text{ mU/m}^2/\text{min}$)(**インスリン標的臓器毎のインスリン感受性の定量**)

(3) 全身体脂肪量・筋肉量(DEXA)、腹腔内脂肪量・皮下脂肪量(CT)の定量

(全身の脂肪分布)

(4) 75g 経口ブドウ糖負荷試験(全身の糖代謝とインスリン分泌)

(5) 生活習慣についての情報収集

食事内容:BDHQ 質問紙、身体活動量:ライフコーダー(医療用携帯型活動計)、

睡眠習慣:ピッツバーグ睡眠質問紙と Morning Evening Questionnaire (MEQ)

(6) 採血、尿(各種バイオマーカー測定と血漿メタボローム解析を用いた代謝物の網羅的解析)

(7) 使い捨て生検針を用いた**肝生検(マイクロアレイと定量的 PCR 法による遺伝子発現解析)**

(8) 呼吸商測定(全身の脂肪・糖代謝のバランスを測定)

4. 研究成果

先行の横断研究の結果から、肝臓への脂肪蓄積の程度は肝インスリン感受性と有意に相関しないことが判明した(Shigiyama F et al. 2017 Hepatol Commun)。その原因の一つとして ^1H -MRS 法による肝臓への脂肪蓄積の測定法に限界があることが考えられ、新規の正確な脂肪蓄積の測定法を考案し、確立することとした。具体的には、Dixon 法を用いた腹部 MRI の水画像と脂肪画像の肝臓が写っている全スライスより肝臓画像を切り出し、脂肪/(水+脂肪)画像を作成した。そこに含まれる voxel の数と体積を用いて、全肝臓体積、全肝臓中の脂肪体積を算出可能とした。これにより、 ^1H -MRS 法では 1 部分に ROI を設定して測定することによる誤差や再現性の欠如があったが、全肝臓中の脂肪蓄積量を客観的に絶対定量することができるようになった。この方法の妥当性は、 ^1H -MRS 法による脂肪蓄積の測定結果と比べて、肝生検による肝脂肪蓄積の程度をどれほど正確に診断できるのか、ROC 解析を用いて検討して証明した(Igarashi H, et al. 2019 Hepatol Res)。この客観的な絶対定量法の大きな利点は、一回の正確性のみならず、縦断研究で肝脂肪蓄積をフォローする際も ROI の設定を気にしないで肝臓全体で測定することにより、正確なデータの推移を評価することができる点である。また、その画像中の各 voxel の脂肪割合の程度を段階的に色で示すことにより、肝臓全体の脂肪分布をカラーマップで示すことも可能とした。これらの成果は大変注目され、全国にプレスリリースされた。この新規脂肪肝の測定法を用いて、脂肪肝における肝インスリン感受性の規定因子を横断研究のデータで探ったところ、全肝臓の脂肪蓄積量や脂肪割合よりも脂肪が蓄積していない部分の体積(除脂肪肝臓体積)が肝インスリン感受性と強く負に相関していることが分かった。この結果の要旨については学会で報告し、更なる考察を加えて現在論文を投稿しているところである。

縦断的な解析については、脱落症例も多く、データの蓄積に苦労したが、この3年間で総計25名のフォローアップデータを取得することができた。しかし、検査結果のばらつきが大きく、統計解析に耐えられないことが予想されたため、急遽目標症例数を50名に増やして、研究を継続することとした。さらに、2020年度の科研費の申請も無事採択されたので、確固たるデータにして報告する予定である。

今後は、脂肪肝における肝インスリン感受性保持(脂肪との共存)に影響する因子の一つとして除脂肪肝臓体積に着目し、その意義や、除脂肪肝臓体積の調節因子まで検討を進めていく予定である。ヒトでの縦断的研究を進めつつ、肝生検試料を用いてマイクロアレイ解析を行い、調節遺伝子の候補を捉えて、マウスでの介入研究も展開していく。そして、臨床診断や治療に役立つデータの獲得に全力を注いでいく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Igarashi H, Shigiyama F, Wakui N, Nagai H, Shibuya K, Shiraga N, Hirose T, Kumashiro N	4. 巻 2019 Dec
2. 論文標題 Whole hepatic lipid volume quantification and color mapping by multi-slice and multi-point magnetic resonance imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 HepatoI Res	6. 最初と最後の頁 1374-1385
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.13408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 淵上彩子, 嶋山文華, 熊代尚記	4. 巻 49
2. 論文標題 メトホルミンの肝臓におけるミトコンドリア complex I 阻害非依存性作用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 内分泌・糖尿病・代謝内科	6. 最初と最後の頁 184-188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shigiyama F, Kumashiro N, Tsuneoka Y, Igarashi H, Yoshikawa F, Kakehi S, Funato H, Hirose T	4. 巻 315
2. 論文標題 Mechanisms of sleep deprivation-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Physiol endocrinol Metab	6. 最初と最後の頁 E848-E858
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpendo.00072.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 熊代尚記	4. 巻 34
2. 論文標題 合併症予防と QOL 向上を意識した糖尿病治療戦略	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 東京内科医会誌	6. 最初と最後の頁 376-380
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shigiyama F, Kumashiro N, Furukawa Y, Funayama T, Takeno K, Wakui N, Ikehara T, Nagai T, Taka H, Fujimura T, Uchino H, Tamura Y, Watada H, Nemoto T, Shiraga N, Sumino Y, Hirose T	4. 巻 1
2. 論文標題 Characteristics of hepatic insulin-sensitive nonalcoholic fatty liver disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hepatology Communications	6. 最初と最後の頁 634-647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep4.1077	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 嶋山文華, 熊代尚記	4. 巻 35
2. 論文標題 内臓脂肪・異所性脂肪の蓄積 - 体脂肪分布の意義とは?	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 232-238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Igarashi H, Shigiyama F, Hiruma S, Hirose T, Kumashiro N
2. 発表標題 Impact of lean hepatic volume on hepatic insulin resistance in human NAFLD
3. 学会等名 79th American Diabetes Association Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 嶋山文華、熊代尚記、五十嵐弘之、蛭間重典、渋谷和俊、弘世貴久
2. 発表標題 日本人NAFLDの網羅的解析による新規の肝インスリン感受性規定因子、徐脂肪肝臓体積の同定
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊代尚記
2. 発表標題 脂肪との共存を実現する肝インスリン感受性保持機構の追究
3. 学会等名 第69回日本体質医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊代尚記
2. 発表標題 脂肪との共存を実現する肝インスリン感受性保持機構の追究
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigiyama F, Kumashiro N, Yoshikawa F, Tsuneoka Y, Funato H, Hirose T
2. 発表標題 Mechanisms of Hepatic Steatosis and Insulin Resistance Induced by Sleep Deprivation in Mice
3. 学会等名 78th Scientific Sessions American Diabetes Association (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 嶋山文華、熊代尚記、弘世貴久
2. 発表標題 肝脂肪蓄積時の肝インスリン感受性保持機構の探求
3. 学会等名 第36回内分泌代謝学サマーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊代尚記
2. 発表標題 超高齢社会での糖尿病対策を考える
3. 学会等名 第9回抗加齢内分泌研究会（日本抗加齢医学会分科会）（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	弘世 貴久 (Hirose Takahisa) (40384119)	東邦大学・医学部・教授 (32661)	