

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 年度 ～ 2009 年度
 課題番号：19500604
 研究課題名（和文）腹部肥満者の動脈硬化の進展に及ぼす終末糖化産物の関与と運動介入効果の検討
 研究課題名（英文）Decrease in advanced glycation end-product (AGE) by short-term lifestyle modification in non-diabetic obese subjects

研究代表者 藤本 繁夫 (FUJIMOTO SHIGEO)
 大阪市立大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号：90128752

研究成果の概要（和文）：肥満者における最終糖化産物（AGEs）の血液中での形成・集積状態と種々の運動・食事介入を行ったさいの同成分の変化を若年から中高年の幅広い年代で観察した。主として血清 CML 濃度は一日歩数の増加や体脂肪量の減量に伴い減少した。肥満者における生活指導は生体内 AGE 成分を減少させ、動脈硬化性疾患を予防できる有効なプログラムとなり得る可能性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：Advanced glycation end products (AGEs) play an important role in development of atherosclerosis. There is currently little information available on the effects of lifestyle modification (LM) on circulating AGEs in obese subjects. Serum levels of Ne-(carboxymethyl) lysine (CML), pentosidine, derivatives of reactive oxygen metabolites (d-ROMs), and adipokines were determined in obese population. The present findings shows that number of steps in daily walking and decreases in body fat mass were significantly correlated with decrease in serum CML level. The study suggests the possibilities that the LM could be a promising approach to prevent the development of atherosclerotic diseases by reducing the AGEs formation.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2007 年度 | 2,600,000 | 780,000 | 3,380,000 |
| 2008 年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 2009 年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：肥満、終末糖化産物、動脈硬化、運動療法

1. 研究開始当初の背景

最近、糖尿病や慢性腎不全による動脈合併症に関与する重要な物質として、3-デオキ

シグルコソン(3DG)、ペントシジン、カルボキシメチルリジン(CML)、メチルグリオキサール(MG)、メイラード反応物 X(MRX)など

の最終糖化産物(Advanced glycation end product、以下、AGEs)が注目されている。同物質群は、還元糖(グルコースやアルデヒド、ケトン体)とアミノ基(タンパク質、脂質、核酸など)が非酵素的反応(メイラード反応)を起こしてできるものである。主に高血糖や酸化ストレスが関与し、血管内皮や平滑筋組織などに徐々に蓄積され、その結果として動脈硬化が進展する過程が推測されている。肥満では生体内に耐糖能異常・酸化ストレスのような条件が重なるため、これらの物質が蓄積するように働くと考えられる。一方 AGEs 成分は内的環境のみならず、牛乳の加熱殺菌やベーカリー製品、コーヒー焙煎など加熱加工を経た食品の生成過程でも形成され、食事の際に体内に取り込まれる。動脈硬化と関連する AGEs 成分が、もし若年期あるいは明らかな発病前の時期から生体に蓄積され始めるならば、その個人の将来を考えると、すでに発病している患者群と同様(あるいはそれ以上に)深刻な問題になる。このような<AGEs>蓄積予備群と予想される者を早期に発見して、運動と食事両面からその蓄積を防ぐことは動脈硬化進展の初期予防に重要である。

2. 研究の目的

以下の被験者群における AGEs 成分(3DG、CML、ペントシジン)の生体内での形成・蓄積動態を、AGEs 成分と身体組成や血液の代謝マーカーとの関係から検討する。さらに、運動・栄養指導を行ったときの上記成分の変化を観察し動脈硬化の進展に与える影響について考察すること。

Study1 腹部肥満者を含めた一般若年者を対象とした生活指導による研究

Study2 肥満者を含めた中高年女性を対象にした陸上運動を中心とした生活指導

Study3 肥満者を含めた中高年女性を対象にした水中運動を中心とした生活指導

本研究の対象には、高血圧、心疾患等の循環器疾患を明らかに有する者は含まれておらず、何らかの薬物療法を実施していないことも確認した。また、定期的な運動や喫煙習慣を有する者も除外した。

また、Study1,2,3 の研究内容は大阪市立大学医学研究科の倫理委員会の承認を得ており、各対象者にも事前に検査の内容、プログラムの主旨、安全性について十分な説明を行った上で同意を得た。

3. 研究の方法

(1) Study1

①対象

対象は、大阪市立大学に所属する学生の中から、若年肥満者を中心に当大学保健管理センターでの運動指導・栄養指導を勧め、これを希望した 46 名(21±3.0 歳、体重: 83.2±18.1kg、BMI: 28.9±5.4kg/m²、体脂肪量: 23.5±10.4kg、男性 38 人、女性 8 人)である。全対象者に対して 6 ヶ月間の経過観察をするためにこの間 2~3 ヶ月ごとの来所を促したが、アルバイト・学業が忙しいなどの理由で 46 名(男子 38 名、女子 8 名)のうち 6 ヶ月後まで確実に経過観察できたのはわずか 8 名(男子 7 名、女子 1 名)のみであった。

②測定項目

初めに、全対象者 46 名に対して、身体組成(体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、筋肉量)を測定し、朝空腹時の条件で以下の血液中成分の測定を行った。

総コレステロール、HDL コレステロール、トリグリセリド、グルコース、HbA1c、インスリン、アディポネクチン、レプチン)、インスリン抵抗性(Homeostasis model assessment; HOMA 指数)、血清活性酸素濃度

(d-ROM; diacron-reactive oxygen metabolites)、および血清 AGEs 成分(3DG、ペントシジン、CML)

血中の活性酸素は、生体内の活性酸素やフリーラジカルにより酸化反応を受けた脂質・タンパク質・アミノ酸・核酸などの総ヒドロキシペルオキシド群(ROOH)の濃度を酸化呈色反応により測定することで評価した。一般成人の血清の d-ROM の基準値は、240 UCARR 以下である。血清 3DG 濃度は、血清検体を 2,3-Diaminonaphthalene(DAN)と反応させ、生じた 3DG-DAN 複合体を HPLC 法で測定した。また、血清 CML およびペントシジン濃度は、各々に対する特異的ポリクローナル抗体を用いた酵素免疫法で測定した。なお、これまでの報告によると、一般成人の血清を同様の方法で測定した結果、AGEs 成分濃度の基準値は、3DG が 3.76～18.14 ng/ml、CML が 2.65～6.23 μg/ml、ペントシジンが 24.1～113.7 pmol/ml である。

③指導方法

運動指導の内容は、各被験者にライフコーダー(スズケン)を2週間腰部に装着してもらい、そのデータから平均運動量(kcal)、歩数、総消費量(kcal)を算出した。このデータをもとに各被験者に日常の運動量を増すように(目標歩数;10,000万歩、目標運動量300kcal)指導した。

栄養指導の内容は、被験者の学生に対して7日間の食事内容を日記に記載してもらい、そのデータを栄養解析ソフト(エクセル栄養君 Ver.4.0(建帛社))に入力し、各被験者の平均の一日栄養摂取量、栄養素摂取比率、食品群別摂取量などを求めた。その上で、エネルギーの過多や栄養素の偏りなどを把握して、それを是正するように各被験者に具体的な指導を行った。なお、食事成分中に存在する AGEs 成分は、種々の食品に広

く存在し、学生に具体的な食事制限を行うのは困難であったため、AGEs 成分の摂取の制限に関する指導は行わなかった。

④指導経過での評価

上記指導を導入した後は、特に呼び出しや中間評価はせず、日常の学生各自の自主的な努力にまかせた。6ヶ月後、被験者46名のうち確実に経過観察できた8名に対して、再度、上記の測定項目を評価し、指導後の経過に伴う各測定項目の変化について検討を加えた。

(2) Study2

①対象

大阪市内の体育館で、中高年の女性を対象に運動習慣の獲得を主目的とした教室を開催する旨のアナウンスで参加者を募り、47名(35～70歳、56±8歳、体重:61.0±10.7kg、BMI:24.7±4.0kg/m²、体脂肪量:20.6±7.3kg)が教室に参加した。全例に対して教室の初日に体重・体組成の検査や血液検査を初めとしたスクリーニング検査を行った。そのうち、教室以前からすでに運動習慣を有する者や欠席多数のもの、ドロップアウトしたものを除き、17名を運動介入の解析に入れた(生活改善群:Life-style modification(LM)群)。一方、年齢を一致させた12名をコントロール群(C群)とした。

②測定項目

初めに、全対象者(47名)に対して身体組成・血液成分の測定を行い、介入が終了した3ヶ月後には再度、LM群(17名)とC群(12名)に対して同一の測定を行った。

身体組成および血液検査については「3. 研究の方法」⇒「(1) Study 1」⇒「②測定項目」を参照。

③運動指導

LM群(17名)の対象者に対して、運動介入

を行った。3ヶ月間、週1回の運動教室を開き、15分のウォーミングアップの後、60分の有酸素運動やボールエクササイズを実施した。また、運動教室以外の日にもウォーキングを勧め、自己の脈拍測定で予測最大心拍数の60%に相当する脈拍をターゲット強度とした歩行を行うように指導した。また、介入期間の日常の活動状態をモニターするために、簡易の歩数計を渡して記録をした。

栄養調査と指導は、「3. 研究の方法」⇒「(1) Study 1」⇒「③指導方法」を参照。

(3) Study3

①対象

Study2とは別に中高年女性の参加者を募り、26名(37~68歳、57±9歳、体重:60.2±7.1kg、BMI:24.5±3.1kg/m²、体脂肪量:20.6±5.8kg)が水中運動教室に参加した。全例に対して教室の初日に体重・体組成の検査や血液検査を初めとしたスクリーニング検査を行った。

②測定項目

全対象者26名に対して、介入前後で身体組成・血液成分の測定を行った。「3. 研究の方法」⇒「(1) Study 1」⇒「②測定項目」を参照。

③指導方法

水中トレーニングは週3回の頻度で2ヵ月実施した。運動内容の構成は、15分間の陸上での準備体操、ストレッチ、ウォーミングアップの後、60分の水中での主運動と、15分間のクールダウンとした。具体的には水中でのゆったりとした歩行から、大股歩行、蹴り足動作、股閉ジャンプ、水中での体丸めなどを行い、強度は“ややきつい”程度で行うように指導した。なお、この研究では栄養調査・指導は行わなかった。

4. 研究成果

(1) Study1

①指導前評価

運動・栄養指導前の血清AGEs成分濃度は、3DGは平均15±4.7ng/mlで、46例中14例は上記基準値より高値を示した。血清CMLでは、平均5.5±1.9µg/mlで9例が上記基準値よりも高値を示したが、血清ペントシジンは58.8±13.4pmol/mlと正常域にとどまった。血清CML濃度はインスリン、HOMA、アディポネクチン濃度、d-ROMおよび3-DG濃度と有意な相関を示した。さらに重回帰分析を行ったところ、血清CML濃度にはHOMA($P=0.029$)、d-ROM($P=0.005$)、3DG($P=0.006$)が関係していた。なお、血清ペントシジンや3DG濃度はいずれの指標とも相関関係を認めなかった。

②6ヶ月の経過後評価

指導6ヶ月後に再評価できた8名に関して血清AGEs成分濃度は、CML高値の2例を除き、いずれも基準値の範囲内であった。体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、空腹時血糖およびd-ROMは改善傾向を示した。また、血清3DGで増加4例/減少4例、ペントシジンで増加3例/減少5例、CMLで増加2例/減少6例と全体に有意な変化を認めなかったが、 Δ 体脂肪率と Δ CMLには有意な相関を認めた($P=0.007$)。すなわち、体脂肪率の減少が大きいほど、CML濃度がより低下した。

以上の①②の結果より、AGEs成分の中でも血清CML濃度はインスリン感受性、アディポネクチン濃度や活性酸素量と相関し、指導により体脂肪量の減量に伴う血清CMLの体内蓄積の軽減が認められた。若年期からの肥満解消への取り組みがAGEs蓄積軽減を通して将来への動脈硬化の予防に繋が

りうる可能性が示唆された。

(2) Study2

①指導前評価

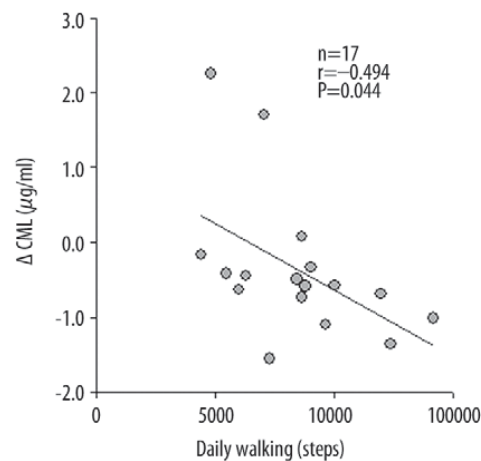
全対象者(47名)のCMLは $4.7 \pm 0.8 \mu\text{g/ml}$ 、ペントシジンは $118.9 \pm 32.1\text{pmol/ml}$ ($0.045 \pm 0.012 \mu\text{g/ml}$)であった。CMLは、体脂肪率($r=0.347$, $P=0.017$)、収縮期血圧($r=0.292$, $P=0.046$)、中性脂肪($r=0.353$, $P=0.015$)と有意な正の相関関係を示し、HDLコレステロール($r=-0.429$, $P=0.003$)、アディポネクチン($r=-0.296$, $P=0.043$)と有意な負の相関関係を示した。一方、ペントシジンは体重($r=-0.323$, $P=0.027$)、体脂肪率($r=-0.319$, $P=0.029$)、体脂肪量($r=-0.316$, $P=0.031$)、中性脂肪($r=-0.300$, $P=0.040$)、レプチン($r=-0.308$, $P=0.035$)、脂質摂取量($r=-0.341$, $P=0.019$)と有意な負の相関関係を示した。重回帰分析の結果、CMLの予測変数として、HDLコレステロール($r^2=0.411$, $P=0.003$)が選択された。一方、ペントシジンの予測変数として、体脂肪量($r^2=0.347$, $P=0.012$)と脂質摂取量($r^2=0.371$, $P=0.007$)が選択された。

②3ヶ月間の運動介入後の評価

介入前の各パラメーターは、2群間に有意な差を認めなかった。LM群における1日の平均歩数は 8418 ± 2702 であった。運動介入によって、LM群の体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、拡張期血圧、HDLコレステロール、CML、ペントシジンは有意に減少した一方、グルコース、インスリン、HOMA指数は有意な変化を示さなかった。LM群とC群の介入前後におけるCMLの変化量には、有意な差が認められた($0.710 \mu\text{g/ml}$ vs. $-0.358 \mu\text{g/ml}$; $P=0.017$)が、ペントシジンの変化量には、有意な差が認められなかった(-16.38pmol/ml vs. -21.73pmol/ml ; $P=0.675$)。LM群の1日の平均歩数は、CMLの変化量

と有意な負の相関関係を示した($r=-0.494$, $P=0.044$)(下図)。

以上の結果より、糖尿病や腎機能障害を有しない健康中高年女性においても、身体活動と食生活の変化の組み合わせた生活指導をすることで、生体内AGE形成・蓄積の減少が起こり、このような生活指導が、動脈硬化疾患を予防する効果的なプログラムであることが示唆された。



(3) Study3

①指導前後の評価

水中トレーニング中の整形外科的な外傷や障害はなくプログラムを終了することができた。2ヶ月間の水中トレーニングにより、体重($P<0.01$)、体脂肪率($P<0.01$)、体脂肪量($P<0.05$)は有意に減少し、拡張期血圧($P<0.05$)においても有意に減少した。血液HDL-cho($P<0.01$)は有意に増加し、中性脂肪($P<0.05$)や血糖値($P<0.05$)は有意に減少した。また、d-ROM($P<0.05$)や血中CML($P<0.01$)においても有意に減少し、血中ペントシジン濃度($P<0.001$)は有意に増加した。

以上の結果より、CMLや酸化ストレスが有意に減少することが示された。生活習慣病から動脈硬化への進展の予防のための生活指導を考案する際には、AGE成分の検討も必要なのかもしれない。

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)

- ① Yoshikawa T, Miyazaki A, Fujimoto S.
Decrease in serum levels of advanced glycation end-products by short-term lifestyle modification in non-diabetic middle-aged females. *Med Sci Monit* . 2009; 15:PH65-73.
査読有
- ② 吉川貴仁、藤本繁夫、塩野祐也、中雄勇人.
持久運動による若年期からの肥満予防—糖化・酸化ストレスと最終糖化産物(AGE)との関連. *デサントスポーツ科学*. 2008 ; 29: 38-45.査読有

[学会発表] (計 3 件)

- ① 吉川貴仁、藤本繁夫. 肥満者に対する運動介入が最終糖化産物(AGEs)に及ぼす影響. 第 24 回日本体力医学会近畿地方会. シンポジウム:生活習慣病の予防に関する最近の知見～メタボリック症候群を中心に～. 2010. 1.23 神戸
- ② 吉川貴仁、藤本繁夫、宮崎愛子 健常女性に対する運動介入が最終糖化産物(AGEs)に及ぼす影響. 第 54 回日本透析医学会学術集会. ワークショップ 7 透析患者に酸化的ストレスをどう抑えるか～薬剤から運動まで～. 2009.6. 7 横浜
- ③ 吉川貴仁、藤本繁夫. 健常中高年女性における最終糖化産物(AGE)の意義と運動介入による変化 . 第 19 回日本臨床スポーツ医学会総会 . 口頭発表. 2008.11. 2 東京

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/sportsmed/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤本 繁夫 (FUJIMOTO SHIGEO)
大阪市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号 : 90128752

(2) 研究分担者

吉川 貴仁 (YOSHIKAWA TAKAHIRO)
大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号 : 10381998