

機関番号：24402

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591068

研究課題名（和文）メタボリックシンドロームにおける頸動脈硬化症の2元的特性に関する臨床的意義の確立

研究課題名（英文）The establishment of clinical implications regarding dual properties of carotid atherosclerosis in metabolic syndrome

研究代表者

絵本 正憲 (EMOTO MASANORI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：90275248

研究成果の概要（和文）：糖尿病、脂質異常症、肥満を含むメタボリックシンドロームにおいて、頸動脈硬化症の形態的変化である内膜中膜複合体肥厚（IMT）と機能的変化である stiffness parameter β は、危険因子、新規バイオマーカー（fetuin-A, TRAIL）、血管内皮・平滑筋機能、心血管疾患との関連性において部分的に異なる特性をもつことが明らかとなった。本知見は、早期動脈硬化性病変の2面性より同時に定量診断することが診断治療により重要となることを示した。

研究成果の概要（英文）：In metabolic syndrome including diabetes mellitus, dyslipidemia, and obesity, the morphological and functional changes of atherosclerosis of carotid artery, intima-media thickness (IMT) and stiffness parameter, were found to be differently associated with classical risk factors, novel biomarkers (fetuin-A and TRAIL), endothelial and smooth muscle dysfunction, and cardiovascular diseases. These findings indicate that simultaneous quantitative measurements of these dual properties of early atherosclerotic changes are of great importance in view of diagnosis, monitoring and treatment for atherosclerotic diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：メタボリックシンドローム、糖尿病、動脈硬化、超音波法、サロゲートマーカー、インスリン抵抗性、人工膵臓

1. 研究開始当初の背景

（1）メタボリックシンドロームは、主要な死因である心血管疾患のハイリスクグループとして、医療機関における臨床分野のみならず、保健所・企業などの公衆衛生・産業衛生の分野においても重要視されてきた。しか

し、アジア人種における心血管疾患やイベント発症に対する臨床的・疫学的意義に関する臨床研究成績は、端野壮警町研究や中国北京での研究などに限定されているのが現状である。心血管疾患の発症予防には、メタボリックシンドロームにおける動脈硬化の早期診断、イベントの予知、および治療介入する

ことが必須である。そのためには、病態と関連のある動脈硬化病変の早期変化をより正確に把握することが重要である。高解像度超音波法による頸動脈硬化症の早期診断は、非侵襲的に反復実施可能な心血管疾患発症進展のサロゲートマーカーとして、スクリーニング、治療効果モニタリングに加えて、対象者の生活習慣改善への動機付けとしても有用であることから、メタボリックシンドロームの対策にも重要な役割を果たす。

(2) 我々は、これまでメタボリックシンドロームの基本病態であるインスリン抵抗性と超音波法により頸動脈硬化症の早期動脈硬化性変化として、形態的変化として内膜中膜複合体肥厚度 (intima-media thickness, IMT) と機能的変化の指標である stiffness parameter β について、その病態や臨床的意義を以下のように明らかにしてきた。

①インスリン抵抗性

1994年よりヒトにおいてインスリン抵抗性の評価のゴールドスタンダードである人工膵臓を用いたグルコースクランプ法を用いて、簡便なインスリン抵抗性の臨床指標および諸病態との関連性を明らかにしてきた。簡易インスリン抵抗性指数である Homeostasis model assessment (HOMA-IR) とその逆数、Quantitative Insulin Check Index (QUICKI) は、スルホニル尿素薬治療 (Emoto M, et al. Diabetes Care 22:818-22, 1999)、肥満度 (Yokoyama H, Emoto M, et al. Diabetes Care 26:2426-2432, 2003)、空腹時血糖値 (Yokoyama H, Emoto M, et al. J Clin Endocrinol Metab 89:1481-1484, 2004)、糖尿病性腎症の影響 (Shoji T, Emoto M, et al. Nephron 89:348-349, 2001) をうけず、インスリン抵抗性推定に有用であった。さらに、治療応用としてインスリン抵抗性解除薬ピオグリタゾン治療時の指標 (Araki T, Emoto M, et al. Osaka City Med J 51:19-25, 2005)、アディポネクチンとの混合指標 (Matsuhisa M, Emoto M, et al. Diabetes Res Clin Pract 77:151-154, 2007) としての臨床的意義を明らかにした。

②高解像度超音波法による頸動脈硬化症の早期診断と治療応用

2型糖尿病を中心に、Phase-locked echotracking system を搭載した超音波診断装置を用いて、IMT および stiffness parameter β について、腎機能低下による進展 (Taniwaki H, et al. Diabetes Care 21:1848-1855, 1998)、アンギオテンシン変換酵素遺伝子多型性 (Taniwaki H, et al. Diabetes Care 22:1858-1864, 1999)、血小板 P-selectin 発現 (Koyama H, et al.

Circulation 108:524-529, 2003) との関連を示してきた。

③インスリン抵抗性と早期動脈硬化の関連

インスリン抵抗性が早期動脈硬化性変化の成因としての意義を明らかにするために、横断的研究により総頸動脈および大腿動脈の IMT と stiffness parameter β とグルコースクランプ法により評価したインスリン抵抗性指数との関連性について検証した。インスリン抵抗性は、他の動脈硬化の危険因子と独立して stiffness parameter β と IMT と有意の負の関連を認めたが (Emoto M, et al. Diabetes Care 21:1178-1182, 1998; Fujiwara S, et al. J Atheroscler Thromb 10:246-52, 2003)、IMT ではその関連性は弱いことが明らかとなった。

さらに、比較的短期間の有酸素運動療法によるインスリン抵抗性に対する治療介入により、その前後でグルコースクランプ法によるインスリン抵抗性と stiffness parameter β を評価した結果、対照群の食事療法群のみでは stiffness parameter β の改善は認めなかったが、運動療法群ではインスリン抵抗性の改善程度に応じて stiffness parameter β も改善を示した (Yokoyama H, Emoto M, et al. Diabetes Res Clin Pract 65:85-93, 2004) ことより、動脈硬化は比較的短期間にも可逆的であることや治療時のモニタリング指標としての有用性が示された。

2. 研究の目的

糖尿病・肥満・脂質異常症患者を対象に、高解像度超音波法を用いて、頸動脈硬化症の形態的変化として内膜中膜複合体肥厚度 IMT および機能的変化として動脈壁弾性指数である stiffness parameter β および初期動脈硬化変化を表す血管拡張反応 (内皮依存性およびニトログリセリン発誘性) を定量評価し、

(1) 動脈硬化危険因子や心血管疾患との関連性、(2) 動脈硬化の新たな候補危険因子の寄与、および (3) グルコースクランプ法により評価したインスリン抵抗性の寄与について検証し、早期動脈硬化の血管特性について、形態と機能からの多角的なアプローチをおこなうことにより、早期動脈硬化症の 2 元的特性の臨床的意義を確立する。

3. 研究の方法

(1) 対象

①大阪市立大学医学部附属病院の生活習慣病・糖尿病センターの受診者のうち、肥満・

糖尿病・脂質異常症・高血圧を有する対象者のうち、文書による同意を得られた者、および、②これまでに同施設において以下の同じ方法で既に動脈硬化評価を行い、文書による同意を得られてデータベースに登録された肥満・糖尿病・脂質異常症・高血圧を有する者を対象とした。

(2) 方法

①頸動脈の早期硬化評価

前述の既報に基づいて、phase-locked echo tracking system 搭載による超音波診断装置 (SSD6500, Aloka Co.Ltd., Tokyo) により、血管弾性機能指数である stiffness parameter β および形態的变化として確立されている内膜中膜複合体肥厚度 IMT の測定を頸動脈の同一部位にて同時に評価を行った。

②上腕動脈における血管内皮機能検査

初期動脈硬化変化を表す血管拡張反応 (内皮依存性血管拡張反応 flow-mediated dilatation (FMD) およびニトログリセリン発誘性血管拡張反応 nitroglycerin-induced dilatation (NMD) を、既報の国際ガイドラインに準じて新規の血管内皮機能専用の超音波診断装置である UNEXEF18G (Unex Co. Ltd. Nagoya, Japan) を用いて定量的に評価した。

③動脈硬化のバイオマーカー新規候補の測定

新規バイオマーカー候補として注目されている fetuin-A (α 2-Heremans Schmid glycoprotein) および TRAIL (Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) の血中濃度を各々の enzyme-linked immunosorbent assay kit (fetuin-A, BioVender Laboratory Medicine, Modrice, Czech Republic; TRAIL, R&D systems, Minneapolis, USA) により測定し、前記の動脈硬化サロゲートマーカーとの関連を検討した。

④グルコースクランプ法によるインスリン抵抗性評価

最新型人工膵臓 (モデル STG-55、日機装社、東京) を用いて、正常血糖高インスリンクランプ法を 120 分間行い、インスリン抵抗性指数を算出し定量評価し、前記動脈硬化サロゲートマーカーとの関連を検討する。

(3) 解析

数値は特に記載がない限り、平均値 \pm SDにて表記した。前記の動脈硬化サロゲートマーカーと従来の動脈硬化危険因子、新規バイオマーカー、心血管疾患などの血管合併症との関連

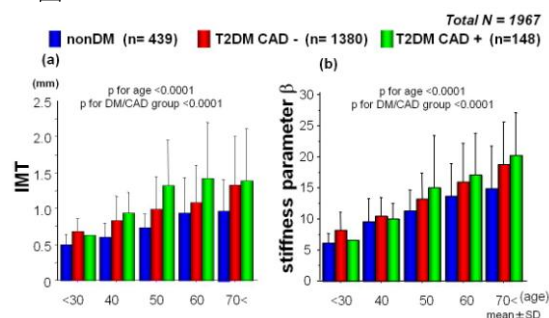
性について、 χ^2 test、Student's t-test、一元配置分散分析、回帰分析、ロジスティック回帰分析、ROC 解析などを用いて解析した。p < 0.05 未満にて統計学的有意とした。

4. 研究成果

(1) IMT/stiffness parameter β と危険因子・冠動脈疾患合併との関係

2 型糖尿病、高血圧、脂質異常症を合併する 2 型糖尿病 1528 例と健常対象者 439 例において、超音波法により頸動脈の早期動脈硬化の形態的变化である intima-media thickness (IMT) および血管弾性機能である stiffness parameter β について評価し、両者と冠動脈疾患合併との関連性について比較検討をおこなった。冠動脈疾患については、冠動脈造影、心筋シンチグラフィ、心電図などにより診断した。IMT および stiffness parameter β は、健常対象者に比較して、年代別に調整して冠動脈疾患非合併糖尿病、冠動脈疾患合併糖尿病の順に高値を示した (p < 0.001) < 図 1 >。

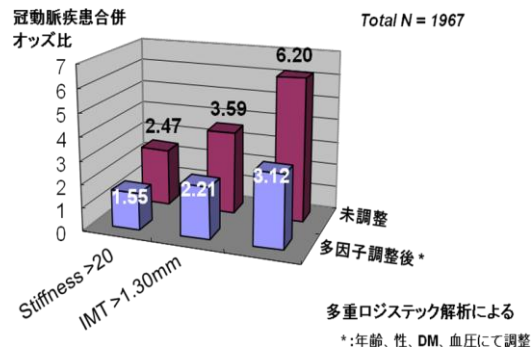
< 図 1 >



さらに、多重ロジスティック回帰分析では、IMT 高値群 (1.30mm 以上) の冠動脈疾患合併に対する年齢・性・血圧・糖尿病有無の多因子調整後オッズ比は 2.21 (p < 0.001)、Stiffness parameter 高値群 (20 以上) のオッズ比は 1.55 (p < 0.05) と有意に関連した因子であることが示された。さらに、両者が高値を示した場合の多因子調整オッズ比は 3.115 (p = 0.0001) と IMT、stiffness parameter 各々の単独のオッズ比より明らかに高値を示した < 図 2 > (文献⑦)。

本知見により、メタボリックシンドロームの構成である糖尿病、高血圧、脂質異常症を示す対象において頸動脈の早期動脈硬化性病変を形態的变化と機能的変化の 2 面性より同時に定量評価診断することにより、単独評価診断よりもより強く冠動脈疾患合併との関連性を検出しうる事が多数例の検討により明らかとなった。

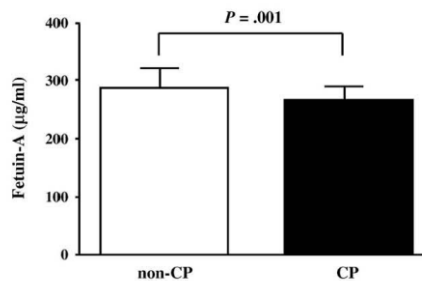
< 図 2 >



(2) 動脈硬化の新たな候補危険因子の寄与

早期動脈硬化の新規の危険因子・バイオマーカー候補として腎不全患者での血管石灰化との関連で注目されている多機能糖蛋白である fetuin-A (α 2-Heremans Schmid Glycoprotein) の血中濃度と頸動脈および大腿動脈 IMT および石灰化プラークとの関連性について、腎不全を合併しない 2 型糖尿病患者 416 例において検討した。血中 fetuin-A 濃度は、頸動脈石灰化プラークを示す群では、石灰化プラークを示さない群に比較して有意に低値を示した (263 ± 57 vs 282 ± 65 μ g/mL, $p=0.001$) < 図 3 >。

< 図 3 >



また、多重ロジスティック解析では、石灰化プラーク合併に対して、オッズ比 0.753 (95%信頼区間: 0.608 - 0.933) と古典的な危険因子と独立して有意な寄与因子を見出し、腎不全を有しない糖尿病では形態的な石灰化プラークに対しては抑制的に作用する可能性を初めて報告した (文献③) < 表 1 >。

< 表 1 >

Odds ratios for clinical factors, including fetuin-A, for the presence of calcified plaque

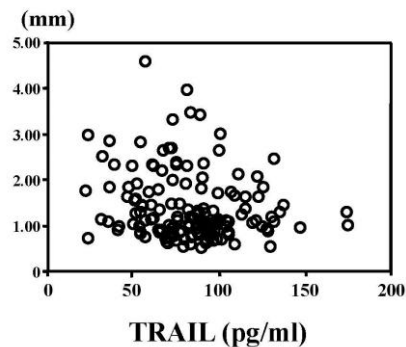
	OR	95% CI	P
Age (per 1-SD increase)	1.104	0.884-1.378	.382
Male sex	0.689	0.406-1.169	.168
Duration of diabetes	1.050	1.025-1.075	<.0001
Smoking	2.057	1.235-3.427	.006
Hypertension	1.650	1.049-2.596	.030
Hypercholesterolemia	0.954	0.625-1.455	.826
Fetuin-A (per 1-SD increase)	0.753	0.608-0.933	.010

$R^2 = 0.081, P < .0001$

Results from multivariate logistic regression analysis. One-SD increase in age = 6.6 years; 1-SD increase in fetuin-A = 61.7 μ g/mL.

また、新しい動脈硬化候補因子として、血管構成細胞のアポトーシスと関連することから注目されている TRAIL (Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) 濃度を測定し、蓄積したデータベースからの 2 型糖尿病 416 例における頸動脈 IMT との関連を検討し、心血管疾患合併例では IMT と有意な負相関 ($p=0.034$) を認め < 図 4 >、新たなバイオマーカーの可能性が示され、報告した (文献②)

< 図 4 >

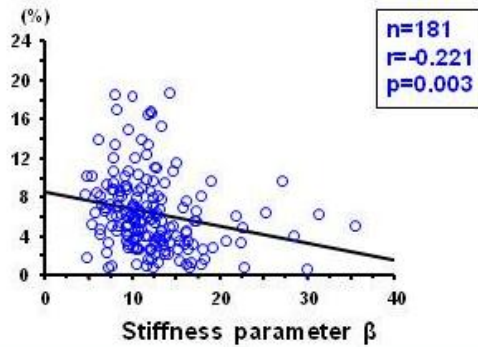


(3) IMT/stiffness parameter β と血管拡張反応との関係

糖尿病患者 181 名 (年齢 64 ± 11 歳 (SD)、罹病年 12 ± 10 年) を対象に、動脈硬化の初期変化である血管拡張反応として上腕動脈内皮依存性血管拡張反応 (FMD) およびニトログリセリン発誘性血管拡張反応 (NMD) と頸動脈の IMT および stiffness parameter β の相互関連性を検討した。

単回帰分析では、FMD は、IMT ($r=0.031, p=0.681$) と有意な関連性を認めなかったが、stiffness parameter β とは有意の負の相関を認めた ($r=-0.221, p=0.003$) < 図 5 >。一方、NMD は、IMT ($r=-0.243, p=0.003$)、stiffness parameter β ($r=-0.193, p=0.019$) の両者と有意な負の相関を認めた。

<図5>



重回帰分析では、年齢、収縮期血圧に加えて、FMD では HbA1c、喫煙、総コレステロール、NMD ではウェスト周囲径が独立した寄与因子であった。

これらの知見は、頸動脈の IMT/stiffness parameter と血管拡張反応である FMD/NMD とは、関与する危険因子やその寄与度が異なること、血管合併症との関連性においても異なる特性をもつことを示し、動脈硬化発症機序および、サロゲートマーカーとしての臨床意義の観点からも興味ある新規の知見であり、平成 23 年 6 月 27 日アメリカ糖尿病学会での発表に採択された。

(4) 最新型人工膵臓 STG - 55 (日機装社製) によるインスリン抵抗性評価は、製造会社による同装置システムの修正があり当初の予定より遅れたが、現在、新システムにより 4 例順調に実施しており、今後継続してデータ収集を行う予定である。

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 12 件)

- ① Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-A: A multifunctional protein. Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery. (査読有), 2011, In press.
- ② Kawano N, Mori K, Emoto M, et al. Association of serum TRAIL levels with atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract (査読有), 91(2), 2011, p. 316-320
- ③ Emoto M, Mori K, Lee E, Kawano N, Yamazaki Y, Tsuchikura S, Morioka T, Koyama H, Shoji T, Inaba M, Nishizawa Y. Fetuin-A and atherosclerotic calcified plaque in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism (査読有), 59 (6), 2010, p. 873-878

④ Mori K, Ikari Y, Jono S, Emoto M, Shioi A, Koyama H, Shoji T, Ishimura E, Inaba M, Hara K, Nishizawa Y. Fetuin-A is associated with calcified coronary artery disease. Coron Artery Dis (査読有), 21(5), 2010, p. 281-5

⑤ Mori K, Ikari Y, Jono S, Shioi A, Ishimura E, Emoto M, Inaba M, Hara K, Nishizawa Y. Association of serum TRAIL level with coronary artery disease. Thromb Res (査読有), 125(4), 2010, p. 322-5

⑥ Mori K, Jono S, Emoto M, Kawagishi T, Yasumoto H, Konishi T, Furumitsu Y, Shioi A, Shoji T, Inaba M, Nishizawa Y. Effects of pravastatin on serum osteoprotegerin levels in patients with hypercholesterolemia and type 2 Diabetes. Angiology (査読有), 61(1), 2010, p. 86-91

⑦ Lee E, Emoto M, Teramura M, Tsuchikura S, Ueno H, Shinohara K, Morioka T, Mori K, Koyama H, Shoji T, Okuno Y, Inaba M, Nishizawa Y. The combination of IMT and stiffness parameter beta is highly associated with concurrent coronary artery disease in type 2 diabetes. J Atheroscler Thromb (査読有), 16 (1), 2009, p. 33-39

⑧ Araki T, Emoto M, Konishi T, Ikuno Y, Lee E, Teramura M, Motoyama K, Yokoyama H, Mori K, Koyama H, Shoji T, Nishizawa Y. Glimepiride increases high-density lipoprotein cholesterol via increasing adiponectin levels in type 2 diabetes mellitus. Metabolism (査読有), 58 (2), 2009, p. 143-148

⑨ Mori K, Emoto M, Araki T, Yokoyama H, Lee E, Teramura M, Koyama H, Shoji T, Inaba M, Nishizawa Y. Effects of pioglitazone on serum fetuin-A levels in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism (査読有), 57 (9), 2008, p. 1248-1252

⑩ Yokoyama H, Mori K, Emoto M, Araki T, Teramura M, Mochizuki K, Tashiro T, Motozuka K, Inoue Y, Nishizawa Y. Non-oxidative glucose disposal is reduced in type 2 diabetes, but can be restored by aerobic exercise. Diabetes Obes Metab (査読有), 10 (5), 2008, p. 400-407

⑪ 絵本正憲, 他 最新のデータに基づく日本人の糖尿病治療, 日本人 2 型糖尿病の本質にせまる - グルコースクランプ法からみたインスリン抵抗性の臨床指標, 糖尿病診療マスター (査読無), 7(3), 2009, p. 219-224

⑫ 駒津光久, 絵本正憲, 他 ベッドサイド型人工膵臓を用いたグルコースクランプ法の標準化, プラクティス (査読有), 26(5), 2009, p. 557-562

〔学会発表〕(計 11 件)

- ① 絵本正憲. スルホニル尿素薬の適切な使用法. 第 45 回糖尿病学の進歩, 2011 年 2 月 19 日, 福岡国際会議場 (福岡市)
- ② Kawano N, Emoto M, Mori K, et al. Endothelial function evaluated by a novel ultrasound equipment is associated with carotid arterial stiffness, but not with IMT in type 2 diabetic patients. 第 70 回アメリカ糖尿病学会, 2010 年 6 月 25 日, オランダ (アメリカ合衆国)
- ③ 浦田博美, 絵本正憲, 他. 2 型糖尿病におけるインスリン抵抗性とその推定値に関する臨床的検討-人工膵臓による標準的グルコースクランプ法の成績から-. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2010 年 5 月 27 日, 岡山コンベンションセンター (岡山市)
- ④ 川野直也, 絵本正憲, 他. 糖尿病における血管内皮機能と頸動脈硬化症. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2010 年 5 月 28 日, 岡山コンベンションセンター (岡山市)
- ⑤ 絵本正憲, 西沢良記. シンポジウム 2 新テクノロジーを糖尿病治療へ-CSII, CGMS, 人工膵臓とフロンティア S2-3. 人工膵臓の臨床応用-現状と新たな展開-, 第 9 回日本糖尿病情報学会, 2009 年 8 月 8 日, 東京国際フォーラム (東京)
- ⑥ 森克仁, 絵本正憲, 他. Fetuin A と様々な血管石灰化調節因子との関係. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2010 年 5 月 28 日, 岡山コンベンションセンター (岡山市)
- ⑦ 川野直也, 森克仁, 絵本正憲, 他. 血中 fetuin-A 濃度と血管内皮機能との関連性. 第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2009 年 5 月 21 日, 大阪国際会議場 (大阪市)
- ⑧ Lee E, Emoto M, et al. Carotid atherosclerosis, IMT and stiffness parameter, is associated with concurrent coronary artery disease in type 2 diabetes. 第 68 回アメリカ糖尿病学会, 2008 年 6 月 6 日, サンフランシスコ (アメリカ合衆国)
- ⑨ Kawano N, Emoto M, et al. Clinical Implications of a Novel Index of Arterial Stiffness by Ultrasound, PWV β , in Type 2 Diabetes. 第 68 回アメリカ糖尿病学会, 2008 年 6 月 6 日, サンフランシスコ (アメリカ合衆国)
- ⑩ 川野直也, 絵本正憲, 他. 糖尿病における体表動脈の局所動脈硬化指数 PWV β とインスリン抵抗性. 第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2008 年 5 月 22 日, 東京国際フォーラム (東京)
- ⑪ 和田憲嗣, 絵本正憲, 他. 2 型糖尿病における冠動脈疾患合併に対する頸動脈内膜肥厚の臨床意義. 第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2008 年 5 月 22 日, 東京国際フォー

ラム (東京)

〔図書〕(計 7 件)

- ① 絵本正憲 他, 新興医学出版社, 頸動脈エコーの臨床, 山崎義光編集, IV-7. 頸動脈エコーと末梢動脈疾患, III-5. 頸動脈病変の評価-Stiffness parameter β , 2010, 総ページ数 135, 担当 p. 52-56, p. 93-96
- ② 絵本正憲 他, 日本糖尿病学会編, 診断と治療社, 人工膵臓の現状と未来 標準グルコースクランプ法, 糖尿病学の進歩 2009 第 43 集, 2009, 総ページ数 235, 担当 p. 106-110
- ③ 絵本正憲, 他, フジメディカル出版, 河盛隆造編集 見直されたビッグアナイド改訂版メトホルミン. II メトホルミンの再評価と理由-その他, 2009, 総ページ数 206, 担当 p. 92-100
- ④ 絵本正憲 他, 分子糖尿病学の進歩: 基礎から臨床まで 2008, 糖尿病透析患者における血糖管理指標と臨床的意義, 2008, 担当 p. 106-113
- ⑤ 絵本正憲 他, 日本臨床社, 薬物併用療法とその有用性 ビッグアナイド薬とチアゾリジン誘導体, 日本臨床 66(増刊 7 新時代の糖尿病学(3)), 2008, p. 328-332
- ⑥ 絵本正憲 他, 日本臨床社, インスリン分泌能の評価 アルギニン負荷試験, 日本臨床 66(増刊 4) 新時代の糖尿病学(2), 2008, p. 189-192
- ⑦ 絵本正憲, 森克仁 他, 日本臨床社, 糖尿病と耐糖能低下の成因分類と発症機序 2 型糖尿病 インスリン抵抗性にかかわる因子骨格筋グリコーゲン合成酵素, 日本臨床 66(増刊 3 新時代の糖尿病学(1)), 2008, p. 485-489

6. 研究組織

(1) 研究代表者

絵本正憲 (EMOTO MASANORI)
大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 90275248

(2) 研究分担者

森 克仁 (MORI KATSUHITO)
大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 60382040

(3) 連携研究者

なし