

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月18日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700706

研究課題名（和文）メタボリック症候群における細胞外スーパーオキシドジスムターゼの役割に関する研究

研究課題名（英文）A role of extracellular superoxide dismutase on metabolic syndrome

## 研究代表者

亀崎 文彦（KAMEZAKI FUMIHIKO）

産業医科大学・医学部・修練指導医

研究者番号：40535225

研究成果の概要（和文）：本研究は、中年日本人男性労働者においてメタボリック症候群と心血管系における主要な抗酸化酵素である細胞外スーパーオキシドジスムターゼの関係を検討した結果、細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度がメタボリック症候群を有する対象者群で有意に減少していることを明らかにした。本研究結果は、細胞外スーパーオキシドジスムターゼを標的とした治療がメタボリック症候群に対する新規治療指針となる可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：We examined a relationship between metabolic syndrome and extracellular superoxide dismutase, a major antioxidant in the cardiovascular system, in middle-aged Japanese male workers. This study demonstrated that plasma levels of extracellular superoxide dismutase were significantly increased in subjects with metabolic syndrome than in those without. This finding indicates that a therapy targeted to extracellular superoxide dismutase may be a new strategy for metabolic syndrome.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：生活習慣病

## 1. 研究開始当初の背景

過剰な活性酸素種、特にスーパーオキシドアニオンは血管内皮障害などの組織損傷を生じ、様々な心血管疾患の病因・進展において重要な役割を担っているが、最近、メタボリック症候群の発症や進展にスーパーオキシドアニオンなどの酸化ストレスの増加が関与している可能性が示唆されている。メタボリック症候群は、腹部内臓肥満に脂質異常・

血圧高値・血糖高値（耐糖能障害）が重複した病態であり、早期に動脈硬化を惹起し、心筋梗塞・脳卒中などの動脈硬化性疾患の原因となることが判明している。動脈硬化性疾患は、日本人の主要な死亡原因であり、その予防は日本国民の健康保持・増進に極めて重要であり、平成20年4月からは我が国においてメタボリック症候群をターゲットにした特定健康診断、特定保健指導が開始されてい

る。

スーパーオキシドアニオンに対する重要な抗酸化防御機構にスーパーオキシドジスムターゼが存在し、スーパーオキシドアニオンが過酸化水素と酸素になる相互反応を触媒する。その唯一の細胞外アイソフォームである細胞外スーパーオキシドジスムターゼは、血管の細胞外間隙における主要な抗酸化酵素であり、血管平滑筋細胞や線維芽細胞より分泌されている。細胞外スーパーオキシドジスムターゼは、ヘパラン硫酸プロテオグリカン、コラーゲン、フィブリン-5に結合することで細胞外マトリックスや内皮細胞表面に存在している。このような特徴は、細胞外スーパーオキシドジスムターゼが効果的にスーパーオキシドアニオンを除去することを可能にし、他の活性酸素種の直接及び間接反応を減弱させる。更に、細胞外スーパーオキシドジスムターゼは、心血管機能の決定的な制御因子である一酸化窒素の生物学的利用能の主要な決定因子とされ、細胞外抗酸化防御機構において中心的な役割を担っている。これまでのエビデンスは、細胞外スーパーオキシドジスムターゼが動脈硬化性疾患だけでなく、高血圧、脂質異常症、糖尿病などの多様な疾患の発症・進展において重要な役割を担っている可能性を示唆してきたが、メタボリック症候群との関係は十分に解明されていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、メタボリック症候群では酸化ストレスが増加するだけでなく、抗酸化酵素である細胞外スーパーオキシドジスムターゼの分泌が障害されているという仮説を検討することである。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究対象者

平成22年6月に健康診断を受診した40歳以上の男性労働者969名のうち840名(86.7%)が研究参加に同意した。本研究では、心血管病の既往がある者および細胞外スーパーオキシドジスムターゼの遺伝子異常が疑われる者(血漿濃度が200ng/mL以上)を除外した792名(平均50歳)を最終的に検討した。健康診断時の内科医診察で病歴、喫煙状況、内服薬の有無などの聴取が行われ、加えて、身長、体重、ウエスト周囲径、血圧、脈拍数などの理学所見データを収集した。中性脂肪、HDLコレステロール、血糖などの採血データは健康診断項目として自動分析器で測定された。なお、本研究はヘルシンキ宣言を遵守して実施された。

### (2) 細胞外スーパーオキシドジスムターゼの評価

全ての研究対象者から空腹時血液サンプルを採取した。採取した検体は、遠心分離(3000回転、15分)後、上清を解析まで-80度で凍結保存した。細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度は、凍結検体を融解後にELISA法(two-step)で測定した。今回用いた測定系は、他のスーパーオキシドジスムターゼアイソフォームに交差反応は示さず、加えて、細胞外スーパーオキシドジスムターゼ活性と相関する。

### (3) 血漿窒素酸化物濃度の測定

細胞外スーパーオキシドジスムターゼは一酸化窒素の決定因子であり、本研究では一酸化窒素の代謝産物である窒素酸化物(亜硝酸塩/硝酸塩)の血漿濃度をGriess法で測定した。Griess法による窒素酸化物測定の特徴は、硫酸亜鉛-水酸化ナトリウム系除蛋白法と組み合わせることにより高い感度と精度が得られることである。

### (4) メタボリック症候群の定義

本研究では、腹部肥満を必須項目とせず、腹部肥満(ウエスト周囲径85cm以上)、中性脂肪高値(中性脂肪150mg/dL以上)、HDLコレステロール低値(HDLコレステロール40mg/dL未満)、血圧高値(血圧130/85mmHg以上)、そして空腹時血糖高値(空腹時血糖100mg/dL以上)の5項目の内、3項目以上に該当する場合、メタボリック症候群と診断した。

### (5) インスリン抵抗性の評価

メタボリック症候群の前段階であるインスリン抵抗性をインスリン抵抗性指数(HOMA-IR)で評価した。HOMA-IRは、 $[\text{空腹時インスリン}(\mu\text{IU/mL}) \times \text{空腹時血糖}(\text{mg/dL}) / 405]$ の公式を用いて計算した。本研究では、HOMA-IR値で3分位に分けて、血漿細胞外スーパーオキシドジスムターゼ濃度を比較検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 研究の主な成果

#### ①研究対象者の特徴

本研究には792名の男性労働者(平均50歳)が参加した。研究参加者のウエスト周囲径、中性脂肪、HDLコレステロール、収縮期および拡張期血圧、空腹時血糖の平均値はそれぞれ83.9cm、118mg/dL、65mg/dL、127/75mmHg、90mg/dLであり、HOMA-IRの平均値は0.96であった。研究対象者におけるメ

タボリック症候群の頻度は12.6% (n=100)であり、腹部肥満、中性脂肪高値、HDLコレステロール低値、血圧高値、空腹時血糖高値の基準を満たす者の割合はそれぞれ38.9% (n=308)、27.1% (n=215)、3.0% (n=24)、42.8% (n=339)、12.5% (n=99)であった。

## ②メタボリック症候群、インスリン抵抗性と血漿細胞外スーパーオキシドジスムターゼ濃度の関係

細胞外スーパーオキシドジスムターゼの平均血漿濃度は、メタボリック症候群と診断されなかった対象者群より診断された対象者群で有意に減少していた(57.9 ng/mL対50.9 ng/mL)。メタボリック症候群の構成因子のうち、細胞外スーパーオキシドジスムターゼの平均血漿濃度は腹部肥満の基準に該当する対象者群で該当しない対象者群より有意に減少していた(n=308、53.8 ng/mL対n=484、59.1 ng/mL)。また、統計学上の有意差は存在しなかったが、平均血漿NO<sub>x</sub>濃度はメタボリック症候群と診断された対象者群で低値であった(37.6 μmol/L対41.7 μmol/L)。

一方、HOMA-IR値の3分位で群分けした場合、第1分位(≤0.68、n=265)、第2分位(0.69-1.05、n=273)、そして第3分位(≥1.06、n=254)における細胞外スーパーオキシドジスムターゼの平均血漿濃度はそれぞれ58.2 ng/mL、58.3 ng/mL、54.5 ng/mLであり、3群間で同等であった。

## (2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

人体での細胞外酸化防御機構において中心的な役割を担っている細胞外スーパーオキシドジスムターゼは、心血管病だけでなく高血圧、糖尿病、脂質異常といった様々な疾患の病因・進展に関与していると考えられている。近年、メタボリック症候群において酸化ストレスの増加が関与することが判明しているが、細胞外スーパーオキシドジスムターゼの関与を検討した報告は今までに存在しない。本研究は、メタボリック症候群を有する対象者群で細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度が有意に減少していることを明らかにしており、学術的なインパクトが存在する。また、メタボリック症候群の構成因子のうち、腹部肥満の基準に該当する対象者群で細胞外スーパーオキシドジスムターゼの血漿濃度が有意に減少していたが、メタボリック症候群の前段階であるインスリン抵抗性と細胞外スーパーオキシドジ

スムターゼには明らかな関連性は存在しなかった。以上の結果は、メタボリック症候群の予防、特に腹部肥満の予防が酸化防御機構の観点から重要であり、現在、我が国で実施されている特定健康診断および特定保健指導の有用性を支持するものである。

## (3) 今後の展望

本研究結果は、我が国において非常に社会的関心の高いメタボリック症候群に対し、酸化防御機構、特に細胞外スーパーオキシドジスムターゼを標的とした新たな治療指針の可能性を示唆し、今後、更なるエビデンスの蓄積が期待される。

## 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5件)

- ① 亀崎文彦、園田信成、中田靖、岡崎昌博、田村雅仁、安部治彦、竹内正明、尾辻豊、Elevated depressive symptoms are associated with hypertriglyceridemia in Japanese male workers、Internal Medicine、査読有、50巻、2011、2485-2490、DOI: 10.2169/internalmedicine.50.5667
- ② 亀崎文彦、園田信成、友常祐介、湯中弘美、尾辻豊、Seasonal variation in metabolic syndrome prevalence、Hypertension Research、査読有、33巻、2010、568-572、DOI:10.1038/hr.2010.32
- ③ 亀崎文彦、園田信成、友常祐介、湯中弘美、尾辻豊、Seasonal variation in serum lipid levels in Japanese workers、Journal of Atherosclerosis and Thrombosis、査読有、17巻、2010、638-643、DOI:10.551/jat.3566
- ④ 亀崎文彦、園田信成、中田靖、尾辻豊、A direct measurement for LDL-cholesterol increases hypercholesterolemia prevalence: comparison with Friedewald calculation、Journal of UOEH、査読有、32巻、2010、211-220、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20857815>
- ⑤ 亀崎文彦、園田信成、尾辻豊、メタボリックシンドロームの季節変動、血圧、査読無、17巻、2010、744-745、[http://www.sentan.com/cgi-bin/db.cgi?mode=view\\_backno&no=736](http://www.sentan.com/cgi-bin/db.cgi?mode=view_backno&no=736)

[学会発表] (計8件)

- ① 亀崎文彦、Proposed cutoff levels of

waist circumference in Japanese men: evaluation by homeostasis model assessment of insulin resistance and adiponectin levels、第76回日本循環器学会学術集会、2012年3月18日、福岡国際会議場（福岡）

- ② 亀崎文彦、Decreased extracellular superoxide dismutase level in Japanese men with metabolic syndrome、第76回日本循環器学会学術集会、2012年3月18日、福岡国際会議場（福岡）
- ③ 亀崎文彦、Association of seasonal variation in metabolic syndrome prevalence with insulin resistance、第76回日本循環器学会学術集会、2012年3月16日、マリンメッセ福岡（福岡）
- ④ 亀崎文彦、血清脂質値の季節変動と加齢の影響、第22回日本老年医学会九州地方会、2012年3月3日、佐賀大学医学部臨床講堂（佐賀）
- ⑤ 亀崎文彦、メタボリックシンドローム有病率の季節変動、第4回福岡県医学会総会、2012年1月29日、福岡県医師会館（福岡）
- ⑥ 亀崎文彦、メタボリックシンドローム診断の現況と最近の知見、第4回福岡心血管リスクフォーラム、2011年10月28日、ホテルオークラ福岡（福岡）
- ⑦ 亀崎文彦、Elevated depressive symptoms increase metabolic syndrome prevalence through hypertriglyceridemia in Japanese male workers、第75回日本循環器学会学術集会、2011年8月3日、パシフィコ横浜（横浜）
- ⑧ 亀崎文彦、細胞外スーパーオキシドジスムターゼの遺伝子導入はラットにおける肺高血圧症を軽減する、第27回福岡循環器フォーラム、2011年7月15日、西鉄グランドホテル（福岡）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

亀崎 文彦 (KAMEZAKI FUMIHIKO)  
産業医科大学・医学部・修練指導医  
研究者番号：40535225

### (2) 研究協力者

尾辻 豊 (OTSUJI YUTAKA)  
産業医科大学・医学部・教授  
研究者番号：30264427  
竹内 正明 (TAKEUCHI MASAOKI)  
産業医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：302336434  
園田 信成 (SONODA SHINJO)  
産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：90299610

中田 靖 (NAKATA SEI)

産業医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：20535223

足立 哲夫 (ADACHI TETSUO)

岐阜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40137063