

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23680069

研究課題名(和文)「細胞内肥満仮説」の検証とその臨床応用

研究課題名(英文) Investigation for "intracellular obesity hypothesis" 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) 20,300,000円、(間接経費) 6,090,000円

研究成果の概要(和文)：アジア人に多い非肥満者の代謝異常の原因を探索した。対照は非肥満者85名、肥満メタボリックシンドローム(MS群)14名。骨格筋(IMCL)・肝臓(IHL)の細胞内脂質定量、安定同位体を用いたグルコースクランプにより肝臓、骨格筋のインスリン抵抗性(IR)を判定した。筋IRはIHL高値、TG高値、HDL低値と関連していた。筋IRの規定因子として最大酸素摂取量、内臓脂肪量、身体活動量が抽出された。非肥満者において肝臓、骨格筋のIRはそれぞれ独立して存在し、骨格筋については身体活動が重要な規定因子かもしれない。

研究成果の概要(英文)：We investigated the cause of metabolic disorders in non-obese subjects, frequently seen in Asian people. We recruited 85 non-obese subjects and obese subjects with metabolic syndrome (n=14). We measured intramyocellular lipid (IMCL) and intrahepatic lipid (IHL). We also evaluated insulin sensitivity in muscle and liver by glucose clamp with stable isotope. Muscle insulin resistance was associated with higher TG and IHL and lower HDL-C levels. Multiple regression analysis revealed that maximum oxygen uptake, visceral fat volume and physical activity levels are recognized as independent determinant of muscle IR. In non-obese subjects, IRs in muscle and liver are independently occurred and physical activity may be important determinant of muscle IR.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：インスリン抵抗性 異所性脂肪

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、早急に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、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 (BMI < 25 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。しかしながら、非肥満者のこれらの病態生理には不明な点が多く残されており、日本人などの東洋人の糖尿病や動脈硬化症の病態を考える上で、非肥満者の病態生理学の確立が必要である。

近年、 ^1H -magnetic resonance spectroscopy (MRS) 法による肝臓、骨格筋における細胞内脂質 (異所性脂肪) の測定技術が確立し、非肥満者における病態生理を解明する上で革新的なデータが得られつつある。我々の検討により、食事、運動療法による介入は体重減少が僅か (2~6%) であっても肝臓や骨格筋の異所性脂肪を 20~40% も減少させ、インスリン抵抗性を改善すること、たった3日間の高脂肪食でも骨格筋の異所性脂肪は 25% 程度増加しそれに応じてインスリン抵抗性が発生しうるということが明らかとなった。また、最近になって日本人では米国の白人男性に比較して低い BMI でも脂肪肝になり易いことが明らかとなってきた。

2. 研究の目的

日本人において高脂肪食、運動不足などの生活習慣は肥満になるより以前に、肝臓、

骨格筋における細胞内を直接「肥満状態」にさせ、それが非肥満者でもメタボリックシンドロームや2型糖尿病を発症する原因になっているという仮説、「細胞内肥満仮説」を立てた。本仮説を生理学的、分子生物学的に検証することを、本研究の目的とした。

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 ($n=25$)、BMI が $23 \sim 24.99 \text{ kg/m}^2$ で RF 0 個 ($n=25$)、RF 1 個 ($n=25$)、RF 2 個以上 ($n=10$)、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) ($n=14$) の計 99 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、MRI による腹腔内脂肪・皮下脂肪量の定量、筋生検を行った。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

すべての測定終了後、非肥満者で糖・脂質代謝異常、高血圧、脂肪肝を合併しない 44 名を正常群とした。正常群の肝インスリン感受

性の平均値は $71.6 \pm 16\%$ 、骨格筋のインスリン感受性の平均値は $6.9 \pm 1.7 \text{ mg/kg/min}$ であり、この値からインスリン感受性の正常値 ($\text{mean} \pm 2\text{SD}$) を設定し、臓器別の IR 保有者の臨床的特徴を比較した。

非肥満者 85 名の内、何らかの IR を有する者は 36 名存在し、肝臓でのみ IR を示す群 (L-IR) 7 名、骨格筋でのみ IR を示す群 (M-IR) 17 名、両臓器で IR を示す群 (LM-IR) 12 名であった。各群の臨床パラメーターを比較した所、L-IR 群では僅かな FBS の上昇と、正常群の約 2.5 倍 (49.7g/day) のアルコール摂取量が観察された。興味深いことに、肝細胞内脂質量を含む測定した他のパラメーターは正常群と同等であった。一方、M-IR 群では正常群と比較して、TG が有意に高く、HDL-C と最大酸素摂取量が有意に低かった。また、耐糖能は正常であったが糖負荷試験中のインスリン濃度の曲線下面積は正常群と比較して約 2 倍に増加していた。興味深いことに、骨格筋細胞内脂質量は正常群と同等であったが、肝細胞内脂質は約 3 倍で半数が脂肪肝であった。LM-IR 群では、M-IR 群に認めた特徴に加えて、FBS、血圧、内臓脂肪量が有意に高値で飲酒量は高い傾向にあり、肝臓、骨格筋の細胞内脂質量は M-IR 群と同等であった。これらの LM-IR 群に認められる特徴や IR の程度は、肥満 MS 群とほぼ同等であった。

次に、非肥満者における骨格筋の IR の規定因子について、内臓脂肪を始めとした既知因子や生活習慣の中から探索し、多変量解析を行った所、最大酸素摂取量 ($r=0.30, P<0.01$)、内臓脂肪量 ($r=-0.24, P<0.05$)、身体活動量 ($r=0.22, P<0.05$) が独立した規定因子として抽出された。最後に、骨格筋の IR と最も強く相関する臨床のパラメーターを検索した所、肝細胞内脂質量 ($r=-0.59, P<0.0001$) が抽出された。

興味深いことに、骨格筋のインスリン抵抗性は骨格筋細胞内脂質量の関連を調査すると、

フィットネスレベルが低い者では、骨格筋細胞内脂質と骨格筋 IR に負の弱い相関を認めしたが、フィットネスレベルが高い者では、それらの有意な関連性を認めなかった。

今回の検討により、非肥満者において、肝臓、骨格筋の IR はそれぞれ独立して存在し、相加もしくは相乗的に、全身の糖質代謝、脂質代謝、血圧の増悪に関連することが明らかとなり、両臓器に IR がある場合、その表現型は肥満のメタボリックシンドロームと同等であった。骨格筋 IR においては内臓脂肪量に加え、身体活動量、最大酸素摂取量が独立した因子として抽出され、臓器別インスリン抵抗性に対する個別の生活習慣介入の必要性が示唆された。IR はそれぞれの臓器の異所性脂肪蓄積量とほとんど関連せず、むしろ脂肪肝が骨格筋の IR を強く反映するマーカーであった。

過去の研究においては、生活習慣の悪化が内臓型肥満、アディポサイトカイン、FFA の異常を引き起こして、それがインスリン抵抗性を惹起するという仮説が支持されてきた。今回の検討では、非肥満者においてもそのような傾向を骨格筋で一部認めるものの、それ以外の運動不足や、アルコールの過剰摂取といった生活習慣そのものが直接的に、各臓器のインスリン抵抗性に強く関連することが明らかとなった。今後の介入調査が必要であるが、非肥満者においては、病態の改善のために、単に内臓脂肪量の減少を目指すのみならず、その方法やインスリン抵抗性の発生部位、原因に着目した介入法開発の必要性が示唆された。

今回の検討でヒトにおいて、アルコールと肝インスリン抵抗性の関連性を初めて明らかとした。これに関連して、疫学的に日本人では BMI 22kg/m^2 以下の男性ではアルコール過剰摂取が糖尿病の発症リスクとなることが知られていたが、そのメカニズムは未だ不明な部分が残されている。今回の検討から、

そのメカニズムとしてアルコールによる肝インスリン抵抗性の発生が関与している可能性があると考えられた。今後の介入研究で、因果関係などを明らかとすることが望まれる。

非肥満者において脂肪肝は肝臓のインスリン抵抗性とほとんど関連せず、むしろ骨格筋インスリン抵抗性の良いマーカーであることが明らかとなってきた。既報により骨格筋のインスリン抵抗性があると、骨格筋で取り込まれるはずのブドウ糖が、肝臓へ流入し De novo lipogenesis が亢進することにより肝臓での TG が増加するという、「筋肝連関」が存在することが示唆されており、これが今回の現象の一因である可能性が考えられた。

今回の検討により非肥満者では、肥満 MS 者と同等のインスリン抵抗性が各臓器別に、独立して存在しうることが明らかとなった。また、横断研究のため因果関係を証明したものでは無いが、各臓器のインスリン抵抗性は、それぞれ別個の臨床的ナリスクファクターと結び付き、それぞれ独立した規定因子が存在することが明らかとなった。今後介入研究などで、これらの因果関係が解明されることが望まれる。

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)

[学会発表](計2件)

1. 竹野景海, 田村好史, 川口美奈子, 渡邊隆宏, 船山崇, 櫻井裕子, 佐藤文彦, 山本理紗子, 金孟奎, 筧佐織, 池田真一, 島田和典, 藤谷与士夫, 弘世貴久, 代田浩之, 河盛隆造, 綿田裕孝

非肥満者における、肝臓、骨格筋のインスリン抵抗性の臨床的意義とその原因探索

第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会, 神奈

川県(日本) 平成 24 年 5 月

2. 竹野景海, 田村好史, 川口美奈子, 渡邊隆宏, 船山崇, 櫻井裕子, 佐藤文彦, 山本理紗子, 金孟奎, 筧佐織, 池田真一, 島田和典, 藤谷与士夫, 代田浩之, 河盛隆造, 綿田裕孝

非肥満者における、肝臓、骨格筋のインスリン抵抗性の臨床的意義とその原因探索

第 33 回日本肥満学会, 京都府(日本) 平成 24 年 10 月

3. Takeno K, Tamura Y et al. Characteristics of non-obese Japanese men with muscle and/or liver insulin resistance. American Diabetes Association 72nd Scientific Sessions. Philadelphia, USA 2012 年 06 月

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