

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：84305

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860457

研究課題名(和文)心腎連関進展予防の為に至適脂質指標と効果的脂質管理法に関するコホート研究

研究課題名(英文)A cohort study on an optimal biomarker of lipid profiles and effective treatment of dyslipidemia for the prevention of the development of cardio-renal connection

研究代表者

山陰 一 (Yamakage, Hajime)

独立行政法人国立病院機構(京都医療センター臨床研究センター)・糖尿病研究部・研究員

研究者番号：40598900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、本邦初の肥満症・糖尿病の多施設共同前向きコホート(JOMS/J-DOS)1,334例を構築した。JOMS登録肥満症425例の5年間の追跡率80%にて、脳心血管イベント発症は29例(累積発症率8%)であった。肥満症の脳心血管イベント発症には、全脂質マーカーのうち、Cox回帰分析によると男性で低HDL-Cが、女性でSAA-LDLが有意に関連していた。J-DOS登録肥満症・糖尿病468例において、MetS重症度の上昇に伴い、特に血清シスタチンC(S-CysC)の顕著な上昇を認め、特にeGFRcysはeGFRcreよりもフラミンガムスコアと高い正相関を認めた(Endocr J. 2015)。

研究成果の概要(英文)：In this study, we established two multicenter prospective cohorts of JOMS and J-DOS with 1334 obesity and/or diabetes patients. A total of 425 obese outpatients who were enrolled in a multicenter cohort JOMS, 300 (about 80%) of which were followed into the fifth year. During the study period, 29 cardio-vascular events occurred and CVD cumulative incidence rate was 8%. In the Cox multivariate analysis of adjusted models for traditional risk factors, low HDL-C was a significant factor for the incidence of events in men and SAA-LDL was in women.

In J-DOS, in 468 diabetic patients, serum cystatin C (S-CysC) and eGFRcys had significantly stronger correlations with the number of components of metabolic syndrome, and the 10-year Framingham CHD risk than serum creatinine (Cre), eGFRcre, and UACR. The ROC curves to distinguish the high-risk patients for CHD revealed significantly larger areas under the curve of S-CysC and eGFRcys than those of Cre, UACR, and eGFRcre.

研究分野：肥満症・糖尿病

キーワード：臨床 肥満 メタボリックシンドローム 心腎連関 シスタチンC 動脈硬化 脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

本邦では食生活の欧米化による肥満・メタボリックシンドローム (MetS) の急増に伴い、心血管病 (CVD) と慢性腎臓病 (CKD) 発症予防や医療費対策が重要課題となっている。近年 CVD と CKD の関連性 (心腎連関) が注目され、心腎連関進展の早期診断・予防法の確立が急務である。現在、心腎連関における血圧・血糖管理の重要性が提唱されているが (CKD 診療ガイド 2012)、脂質代謝異常の CKD 発症・心腎連関進展への関与の詳細は不明であり、心腎合併症予防の為に至適脂質指標・管理目標値や効果的脂質管理法に関する本邦の大規模研究や詳細な報告はない。

近年、beyond cholesterol の概念より CVD リスクとして、LDL-C 以外に中性脂肪、HDL-C や酸化 LDL 等の脂質代謝異常が重要視されている。米国フラミンガム心臓研究でも TC/HDL-C 比 >6 、LDL-C/HDL-C 比 >4 、non-HDL-C が心疾患リスクとして報告された (Circulation, 2009)。また、通常の LDL よりも小型の small dense LDL (sd-LDL) は超悪玉 LDL といわれ、容易に酸化 LDL に変性し、血管内のマクロファージに取り込まれ、動脈硬化を惹起しやすい。申請者らは、高血圧患者において sd-LDL が LDL よりも MetS 危険因子重積数や低アディポネクチン血症と有意な相関がある事を認めている (Circ J 72:932, 2008)。

申請者らは既に国立病院機構肥満症多施設共同研究 (Japan Obesity & Metabolic Syndrome Study : JOMS) (UMIN-ID: 000000559) において肥満症コホート 850 例を登録し、CVD/CKD リスクに関する多施設共同データベースを構築した。そこで、肥満症において酸化 LDL・Serum Amyloid A-LDL (SAA-LDL) が LDL に比べ、MetS 危険因子重積数と有意に関連する事を報告した (Atherosclerosis 204:526, 2009)。また、肥満症における CKD リスクとしてシスタチン C の有用性も認め、減量治療により酸化 LDL と共に動脈硬化指標・CAVI やシスタチン C が有意に低下する事も報告した (Hypertens Res, 2008, Clin J Am Soc Nephrol, 2011)。

今年改訂された、動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 では、脂質管理目標として non-HDL-C (TC-LDL-C) が導入されている。また、Apo B、Apo CIII や EPA/AA 比など様々な脂質指標と CVD 発症との関連が報告されている。フラミンガム研究では脂質代謝異常が CKD 発症に関連していた (JAMA 291, 2004)。そこで、本研究では是までの JOMS の成績を基に、連携研究者の森崎 (吹田研究) と小谷 (自治医大) の一般住民コホートにおいて、一般住民における脂質代謝異常と CVD/CKD リスクとの関連を解析する。

更に、協力施設を 14 に増やして糖尿病コホートを構築し、心腎連関進展予防に適した脂質管理指標を解明する事を旨とする (Japan Diabetes & Obesity Study: J-DOS) (UMIN-ID:

R000006517)。現在 J-DOS 登録数は 451 例 (JOMS 含め全 1,301 例) に達している。

以上の学術的背景と成果を踏まえ、「心腎連関進展予防の為に至適脂質指標と効果的脂質管理法の確立」を目指す研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

一般住民・肥満症・糖尿病コホートにて、各脂質代謝指標と CVD/CKD 発症・進展との関連を検討する。

(1) 登録時の各脂質指標と CVD リスクや CKD リスクとの関連 (横断解析): 主要アウトカム指標は CVD リスクとして動脈硬化指標 (CAVI)、CKD リスクとして推算糸球体濾過量 (eGFR) や尿中アルブミンを用い検討する。

(2) 登録後の体重変化 (一般住民)・減量治療 (肥満者) や薬物治療による各脂質指標の変化と CVD/CKD リスク指標の変化・CVD/CKD 発症との関連解析 (縦断解析): 薬物療法併用例は、各生活習慣病薬 (スタチン、フィブラート、EPA 等の高脂血症薬など) の有無別に関連を解析。

(3) 健常者・肥満・MetS・糖尿病の有無別に、CVD/CKD と最も関連が強い脂質指標を横断・縦断的に検討し、各々の CVD/CKD 発症予防の為に至適脂質指標とその目標値を同定する。

(4) CKD 指標のうち糸球体指標と尿細管障害指標別に各々に関連の強い脂質指標を同定する。

(5) CVD/CKD 発症・進展に影響する脂質関連遺伝子多型 (遺伝素因) の網羅的解析を施行する。基礎研究として、糖尿病や肥満モデル動物やマクロファージや平滑筋細胞などの血管構成細胞や腎メサングウム細胞を用い、酸化 LDL や EPA・AA を含む各脂肪酸の抗炎症・抗動脈硬化作用を解析し、その機序を検討する。以上、本邦住民における肥満の有無別における遺伝素因・体質を踏まえた、CVD/CKD 発症予防の為に効果的脂質管理プログラムの確立を目指す。

3. 研究の方法

平成 25 年度の計画

一般住民コホートと肥満・代謝症候群 (MetS)・糖尿病の多施設共同前向きコホートにおける検討:

(A) 吹田研究 (連携研究者・森崎) と自治医大 (連携研究者・小谷) の一般住民コホート及び (B) 肥満・代謝症候群・糖尿病の前向き多施設コホート集団 (JOMS, J-DOS) を対象に下記評価項目を測定し、横断解析する。(A) では経過観察し、(B) では減量・薬物治療を施行、下記の定期的測定を柱として縦断解析する。

1) 登録対象: 下記 (A) (B) の条件を満たす者。

(A) 一般住民コホート: 吹田コホート

(Atherosclerosis, 2009)と自治医大コホート(Hum Genet. 2010)の登録例。

(B)多施設共同肥満症コホート(JOMS)・糖尿病コホート(J-DOS):年齢20~80歳。

肥満症(BMI25以上、二次性肥満症患者を除く)、代謝症候群(日本肥満学会 MetS 基準)。

2型糖尿病(HbA1c [JDS] 6.1%以上)。現在登録数 JOMS 850 例、J-DOS 451 例(計 1,301 例)。

2)治療指針:食事・運動療法による減量治療を基本として、各学会の診療ガイドラインに準拠し、必要に応じて薬物療法(脂質異常改善薬、糖尿病薬、降圧剤)を併用する。

3)観察ポイント:減量前、減量治療 6, 12, 24, 36 ヶ月後。下記の評価項目を測定、調査。

4)臨床評価項目:

1.主要評価項目:空腹時採血による血清を用いる。

脂質代謝:1) TC, LDL-C, HDL-C, TG 及び non-HDL-C, TC/HDL-C 比, LDL-C/HDL-C 比の計算値、2)酸化 LDL:SAA-LDL, α 1AT-LDL, MDA-LDL、3) sd-LDL

2.主要アウトカム指標:

CVD リスク:動脈硬化指標(PWV/CAVI)、炎症指標(高感度 CRP)

CKD リスク:1) 推算糸球体濾過量(eGFR) CKDstage (CKD 診療ガイド 2012)

男性: $eGFR_{creat} (mL/分 /1.73m^2) = 194 \times Cr - 1.094 \times \text{年齢} \times 0.287$

$eGFR_{cys} (mL/分 /1.73m^2) = (104 \times Cys - C - 1.019 \times 0.996 \text{ 年齢}) - 8$

女性: $eGFR_{creat} (mL/分 /1.73m^2) = 194 \times Cr - 1.094 \times \text{年齢} \times 0.287 \times 0.739$

$eGFR_{cys} (mL/分 /1.73m^2) = (104 \times Cys - C - 1.019 \times 0.996 \text{ 年齢} \times 0.929) - 8$

Cr, 血清クレアチニン、Cys-C, 血清シスタチン C

2) 血中 Cr, 尿中 Alb, Cr, 血中・尿中シスタチン C, 尿中 L 型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)

3.副次評価項目:

肥満歴(生下時体重, 20 歳時体重, 過去最高体重)、糖尿病歴、家族歴(肥満, 糖尿病, 高血圧, 高脂血症, 心血管病など)、生活歴:喫煙, 飲酒の有無や継続年数、身体組成:体重, BMI, 腹囲、血圧, 血糖, HbA1c, インスリン抵抗性(HOMA-R)、MetS 危険因子重積度、レムナントリポ蛋白、アディポサイトカイン(TNF α , レプチン, アディポネクチン, PAI-1)

予後:総死亡, 合併症(高血圧・心疾患・脳卒中・腎障害等)の新規発症・進展を調査。

遺伝素因(SNPs):吹田・自治医大コホートを対象に、肥満関連候補遺伝子 712 SNPs と申請者らが選定した脂質・酸化/リポ蛋白関連 SNPs (アポ B/E, SAA 等)パネルについて TaqMan 法で網羅的に遺伝子型タイピングを施行し(1次スクリーニング)、肥満との関連が統計的に有意であった 143 遺伝子 217SNPs につき、同意取得者 DNA にて当院

肥満症例(BMI \geq 25) 500 例と一般集団 500 例で 2 次スクリーニングし、CVD/CKD リスク指標と有意な関連がある SNPs を同定する。横断・縦断解析により、CVD/CKD 発症・進展を規定する脂質関連遺伝素因を解明する。

5)データ解析(登録時横断解析):

各脂質指標と CVD リスクまたは CKD リスクとの関連を解析する。CVD/CKD リスクと最も強い関連がある脂質指標を同定する。

各脂質指標と副次評価項目との関連を解析する。

、ともに、健常者と肥満・MetS 別に解析する。

JOMS/J-DOS 等の予備検討では、既に脂質関連指標(non-HDL-C, SAA-LDL)と腎機能指標(尿 Alb, eGFR)において有意な関連を得ている。

平成 26 年度以降の計画

一般住民コホートと肥満症・糖尿病における臨床研究(縦断解析):連携研究者(佐藤・小谷・森崎)と連携して行う。前年度の追跡調査(登録 6 ヶ月, 1, 2, 3 年後)を行い、下記縦断解析を行う。

体重変化(一般住民)と食事・運動療法による減量治療(肥満症)による体重・脂質代謝指標の変化と CVD/CKD リスクの変化との関連を解析する。

薬物療法併用例では、各生活習慣病薬特に、スタチン, フィブラート, EPA 等の高脂血症薬の有無別に脂質関連指標の変化とその CVD/CKD リスク指標の変化に与える影響を解析する。

サブ解析:健常者・肥満・MetS 別に CVD/CKD リスク改善に関連が強い脂質指標を比較する。

II. 基礎研究

1)単球・マクロファージ系細胞などの血管構成細胞を用いた検討:

上記にて CVD/CKD に関連した脂質分子、酸化 LDL や EPA・AA 等各脂肪酸の抗炎症作用について、肥満/MetS 患者の単球、THP-1 細胞を用い、各脂質分子の脂肪細胞分化・炎症惹起・単球 M 機能などに及ぼす影響とその作用機序を in vitro で検証する。

2)肥満モデル動物における検討:肥満・糖尿病モデル(ob/ob, KK Δ y, 高脂肪食負荷)マウスに各脂肪酸を投与し、糖脂質・M 浸潤等を脂肪酸別に比較検討する。

以上、脂質異常の心腎連関進展への影響を明らかにし、肥満の有無別に遺伝素因・体質を踏まえ CVD/CKD 発症予防の為に至的脂質指標など効果的脂質管理法の確立を目指す。

4. 研究成果

(1)本研究では本邦初の肥満・MetS・糖尿病の多施設共同前向きコホート(JOMS/JDOS) 1,334 例を構築し、肥満・糖尿病に合併する

脂質代謝異常の心腎連関進展への影響を検討した。JOMS 登録肥満症 425 例のうち、追跡率 80%の追跡率で 5 年追跡症例数も 332 例に達し、5 年間での脳心血管イベント発症は 29 例（累積発症率 8.0%）であった。また、脂質代謝異常に関しては、SAA-LDL は LDL と違い、MetS の危険因子重積度や動脈硬化指標・CAVI と有意な相関を認め、3 ヶ月間の減量治療により有意な低下を認めた。さらに、肥満症の 5 年間における脳心血管イベント発症には、全脂質マーカーのうち、Cox 回帰分析によると男性で HDL-C が、女性で SAA-LDL が有意に関連していた（第 87 回日本内分泌学会学術総会、論文作成中）。

J-DOS 登録肥満症・糖尿病 468 例において、MetS 重症度の上昇に伴い、血清 Cre、UACR、血清シスタチン C (CysC) の有意な上昇を認め、特に CysC の顕著な上昇を認めた。また、Cre、UACR、eGFR、CysC は CAVI 及び心血管病発症リスクスコア (FS) と有意な相関を認め、特に CysC と eGFR_{creys} は Cre や eGFR_{cre} よりも FS と高い正の相関を認めた (Endocr J. 2015;62:201-7)。

(2)脂質異常症を有する肥満症 88 例を対象に無作為割付にて EPA の 3 ヶ月間投与により、炎症指標である高感度 CRP と動脈硬化指標である CAVI の有意な低下を認め、特に脂肪酸分画中、DHA/AA 比と違い、EPA/AA 比の変化量が CAVI の変化量と有意な相関があることを認めた (J Atheroscler Thromb, 21:248-260, 2014)。

(3)ヒト単球系細胞株 THP-1 由来 M₁ においては、酸化 LDL による脂肪滴蓄積が促進、活性酸素種 O₂-産生量の増大を認め、更に GLP-1 受容体作動薬により、酸化 LDL 誘導による脂肪蓄積が有意に抑制された (PLoS ONE in submission)。

(4) 肥満モデル動物において、オレイン酸投与に比較して、EPA 投与の方が、腹腔内 M₁ の遊走能・接着能が低下していた。

(5)肥満関連 272 遺伝子 712SNPs 遺伝子多型の調査が完了しており、CVD/CKD 発症・進展を規定する脂質関連遺伝素因として、PTP1B の SNPs が心血管病リスク因子と関連する傾向を認めた。

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 3 件)

Ito R, Yamakage H, Kotani K, Wada H, Otani S, Yonezawa K, Ogo A, Okajima T, Adachi M, Araki R, Yoshida K, Saito M, Nagaoka T, Toyonaga T, Tanaka T, Yamada T, Ota I, Oishi M, Miyanaga F,

Shimatsu A, Satoh-Asahara N, The Japan Diabetes and Obesity Study (J-DOS) Group. Comparison of Cystatin C- and Creatinine-based Estimated Glomerular Filtration Rate to Predict Coronary Heart Disease Risk in Japanese Patients with Obesity and Diabetes. Endocrine Journal. 査読有, Vol.62, 2015, p.201-207, DOI : 10.1507/endocrj.EJ14-0352.

Komiyama M, Wada H, Ura S, Yamakage H, Satoh-Asahara N, Shimada S, Akao M, Koyama H, Kono K, Shimatsu A, Takahashi Y, Hasegawa K. The effects of weight gain after smoking cessation on atherogenic α 1-antitrypsin-low-density lipoprotein. Heart Vessels. 査読有, online, 2014, DOI : 10.1007/s00380-014-0549-9.

Yamakage H, Ito R, Tochiya M, Muranaka K, Tanaka M, Matsuo Y, Odori S, Kono S, Shimatsu A, Satoh-Asahara N. The Utility of Dual Bioelectrical Impedance Analysis in Detecting Intra-abdominal Fat Area in Obese Patients during Weight Reduction Therapy in Comparison with Waist Circumference and Abdominal CT. Endocrine Journal. 査読有, Vol.61, 2014, p.807-819, DOI : 10.1507/endocrj.EJ14-0092.

〔学会発表〕(計 13 件)

Satoh-Asahara N, Matsuo Y, Tanaka M, Sasaki Y, Yamakage H, Muranaka K, Ikai I, Hata H, Shimatsu A, Inoue M, Tae-Hwa Chun. Sexually dimorphic, fat depot-dependent expression of a fibrogenic adipokine, thrombospondin 1 (THBS1) in human obesity. 2015 Keystone Symposia Conference, 2015 年 3 月 22-27 日, Kanada, British Columbia, Wistler

Tanaka M, Matsuo Y, Muranaka K, Yamakage H, Sasaki Y, Shimatsu A, Satoh-Asahara N. GLP-1 receptor agonist attenuates the oxidized-LDL-induced foam cell formation through autophagy in macrophages and monocytes. 2015 Keystone Symposia Conference, 2015 年 3 月 22-27 日, Kanada, British Columbia, Wistler

伊藤遼、山陰一、佐々木洋介、村中和哉、小島真司、河野茂夫、島津章、浅原哲子：糖尿病における心腎連関進展予測指標としての non HDL-C・参加 LDL の有用性、第 50 回日本糖尿病協会近畿地方会、2014 年 11 月 23 日、京都浅原哲子、佐々木洋介、山陰一、村中和哉、伊藤遼、小島真司、河野茂夫、島津章：DPP-4 阻害薬による末梢血単

球 M1/M2 タイプへの影響と抗動脈硬化作用, 第 50 回日本糖尿病協会近畿地方会, 2014 年 11 月 23 日, 京都

山陰一、小谷和彦、小鳥真司、大谷すみれ、米澤一也、小河淳、足立雅広、岡嶋泰一郎、荒木里香、吉田和朗、齋藤美穂、長岡匡、豊永哲至、田中剛史、山田努、太田逸朗、宮永史子、大石まり子、島津章、浅原哲子: 肥満症・糖尿病における心腎連関進展指標としてのシスタチン C の有用性 -NHO 多施設共同研究-, 第 35 回日本肥満学会, 2014 年 10 月 24-25 日, 宮崎

浅原哲子、村中和哉、佐々木洋介、山陰一、小谷和彦、山田努、荒木里香、岡嶋泰一郎、田邊真紀人、大石まり子、島津章: 多施設肥満症コホートにおける脳心血管イベント発症予測指標の探索-CAVI・新規酸化 LDL-, 第 35 回日本肥満学会, 2014 年 10 月 24-25 日, 宮崎
田中将志、松尾禎之、佐々木洋介、山陰一、村中和哉、塚原徹也、島津章、浅原哲子: 頸動脈プラーク浸潤マクロファージ及び末梢血単球の M1/M2 様形質に及ぼす肥満・糖尿病の影響, 第 35 回日本肥満学会, 2014 年 10 月 24-25 日, 宮崎

Noriko Satoh-Asahara, Masashi Tanaka, Yoshiyuki Matsuo, Hajime Yamakage, Kazuya Muranaka, Yousuke Sasaki, Shinji Odori, Shigeo Kono, Akira Shimatsu: Effect of Sitagliptin and Vildagliptin, Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors, on M1/M2-like Phenotypes of Peripheral Blood Monocytes and Arterial Stiffness in Type 2 Diabetic Patients. 9th Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes and Atherosclerosis Congress, 2014 年 9 月 12-14 日, 京都

浅原哲子、田中将志、松尾禎之、山陰一、村中和哉、森崎裕子、森崎隆幸、宮本恵宏、島津章: Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) 遺伝子多型は日本人の肥満発症及び減量治療抵抗性に関連する, 日本内分泌学会第 32 回内分泌代謝学サマーセミナー, 2014 年 7 月 10-12 日, 山梨

山陰一、伊藤遼、小谷和彦、小鳥真司、大谷すみれ、米澤一也、小河淳、岡嶋泰一郎、足立雅広、荒木里香、吉田和朗、齋藤美穂、長岡匡、豊永哲至、田中剛史、山田努、太田逸朗、大石まり子、宮永史子、島津章、浅原哲子: 肥満症・糖尿病における心腎連関指標としてのシスタチン C の有用性についての検討 NHO 多施設共同研究, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014 年 5 月 22-24 日, 大阪

浅原哲子、小谷和彦、山陰一、村中和哉、山田努、荒木里香、岡嶋泰一郎、

足立雅広、大石まり子、島津章: 多施設共同肥満症・糖尿病コホートにおける心腎連関進展早期評価系の確立 新規酸化 LDL とシスタチン C 測定の有用性, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014 年 5 月 22-24 日, 大阪

山陰一、島津章、浅原哲子: 多施設共同肥満症・糖尿病コホートにおける心腎連関進展早期評価系の確立-新規酸化 LDL とシスタチン C の有用性-, 第 87 回日本内分泌学会学術総会, 2014 年 4 月 24-26 日, 福岡

浅原哲子、村中和哉、佐々木洋介、山陰一、小谷和彦、山田努、荒木里香、岡嶋泰一郎、田邊真紀人、大石まり子、島津章: 多施設共同前向きコホート研究における肥満症の脳心血管イベント発症予測指標の探索-CAVI 測定-の臨床的意義-, 第 87 回日本内分泌学会学術総会, 2014 年 4 月 24-26 日, 福岡

〔図書〕

なし

〔産業財産権〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山陰 一 (Hajime Yamakage)

独立行政法人国立病院機構 京都医療センター臨床研究センター糖尿病研究部・研究員

研究者番号: 40598900

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

浅原 哲子 (Noriko Asahara)

独立行政法人国立病院機構 京都医療センター臨床研究センター糖尿病研究部・臨床代謝栄養研究室長

研究者番号: 80373512

小谷 和彦 (Kazuhiko Kotani)

自治医科大学臨床検査医学・准教授

研究者番号: 60335510

(4) 研究協力者

森崎 隆幸 (Takayuki Morisaki)

国立循環器病研究センター研究所 分子生物学部・部長