

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2016

課題番号：26702032

研究課題名(和文) 脂肪との共存を考えた糖尿病予防策の探求

研究課題名(英文) Investigation on how to prevent type 2 diabetes by the tolerance to adiposity

研究代表者

熊代 尚記 (KUMASHIRO, Naoki)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：20535207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,000,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪肝26名、非脂肪肝5名を対象に代謝性良性脂肪肝規定因子の探索を行った。血液・尿検査、生活習慣調査、体組成・内臓・皮下脂肪測定、1H-MRS、高インスリン正常血糖クランプ検査、肝生検、肝臓マイクロアレイ、血漿メタボローム解析を施行した。その結果、代謝性良性脂肪肝の特徴として、血中高分子アディポネクチンやミトコンドリア代謝物の高値と脂肪組織のインスリン感受性が良好であることが判明した。

研究成果の概要(英文)：Focusing on patients whose intrahepatic lipid content was >5% (n=26), we assessed putative markers in blood, body composition, tissue specific lipid accumulation by 1H-MRS, insulin sensitivity by hyperinsulinemic euglycemic clamp, pathological diagnosis and gene expression using liver biopsies, and the plasma metabolome. As results, H-IS assessed by % suppression of endogenous glucose production during the clamp was preserved in some NAFLD patients. Among all the parameters, citric acid, cis-aconitic acid, and succinic acid, which are the components of TCA cycle assessed by metabolome, adipose IS (% suppression of non esterified fatty acid during the clamp), and adiponectin were significantly higher in the upper tertile of H-IS than the lower (P<0.05). Interestingly, hepatic pyruvate carboxylase mRNA expression was 27% lower in the H-IS preserved group. In contrast, BMI, ALT, CRP, typeIV collagen, muscle IS, and tissue NAFLD activity score were not different between the two groups.

研究分野：糖尿病・代謝・内分泌学

キーワード：非アルコール脂肪肝 肝インスリン感受性 高分子アディポネクチン 脂肪組織インスリン感受性

### 1. 研究開始当初の背景

現在日本では4人に1人が65歳以上、と未曾有の超高齢化が進んでいる。

そして近年、生活習慣病として糖尿病が急増し続けており、2011年時点で1070万人、世界で6番目に多い国となっており、成人(20-79歳)の糖尿病人口の60%が60-79歳となっている(国際糖尿病連合 糖尿病アトラス第5版 2011年)。

糖尿病は3大合併症の終末像として失明(3000人/年)人工透析(1万5千人/年)足の壊疽を引き起こし、心血管疾患、脳卒中、癌のリスクも健常人の3倍ほど高く、痴呆との関連も報告されており、個人の生活の質を脅かすのみならず、経済・社会保障の面でも世界的に大きな問題となっており、早急にその予防策を確立してゆかなければならない(高齢者人口の割合の国際比較 総務省統計局解析データ)。

急増する2型糖尿病の主な病態はインスリン抵抗性であり、20-40代の若年から食事・運動・睡眠習慣の乱れにより肥満者が増え、インスリンの2大標的臓器である肝臓と筋肉への脂肪の蓄積がインスリン抵抗性を起こし(Samuel VT et al, Lancet, 2010) 40代以降の糖尿病急増につながっている。さらに、高齢になると筋肉量が減少して運動ができなくなり、サルコペニア肥満という形で悪循環を招いている。これらの解決のためには、食事・運動の生活習慣改善による筋肉増強・肥満改善が最も基本的で効果が高いことが多くのスタディにより明らかであるが、生活習慣介入には多くの人材と時間、費用を要し、遺伝や体質で太りやすい人もおり、個人や社会の努力で完全にカバーできない部分も存在する。また、これからの超高齢化社会における現実問題として、日々の食事が身近な楽しみであり、筋肉や関節が衰えた高齢者への食事・運動療法の徹底は難しく、別の角度からの検討が急務である。

そこで、食事・運動療法が徹底できない状況下で、いかにして栄養過剰状態に適応していくかを考えた。その結果、最も魅力的で根本的な解決に近いと考えたのが、脂肪との共存である。この発想の原点は私の大学院時代の研究に遡る(Kumashiro N et al. Diabetes 2008)。過食肥満2型糖尿病モデルマウスを用いた肝臓の酸化ストレスとインスリン抵抗性に関する研究において、肝臓の酸化ストレスを改善することが肝インスリン抵抗性を改善し、血糖値を低下させたが、驚いたことに肝臓の脂肪蓄積はインスリン抵抗性が改善するほど増加していた。その時は脂肪蓄積についての詳細な検討ができなかったが、血糖値が改善しながらも脂肪肝になって元気に太っていくマウスを見て、このメカニズムを解明して臨床応用できれば、食事・運動療法が不十分な人に対しても、糖尿病の発症や進行を抑制することができると興奮した。

近年の報告にも目を向けると、必ずしもイ

ンスリン標的臓器である筋肉や肝臓への脂肪の蓄積がインスリン抵抗性を伴わないことがヒトにおいても報告されており(Amati F et al. Diabetes 2011, Lehmann R and Franken H et al. Diabetes Care 2013)、私も留学中に脂肪肝によるインスリン抵抗性の研究を進めながらも(Kumashiro N et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, Kumashiro N et al. Hepatology, 2013, Kumashiro N et al. Diabetes, 2013) インスリン抵抗性を伴わない脂肪肝についての研究にも携わることができ(Cantley JL et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, Vatner DF et al. Am J Physiol Endocrinol and Metab, 2013) 益々この分野に興味を持つようになった。

そこで今回、ヒトにおいて、インスリン抵抗性や血糖値の上昇を起こさない(起こしにくい)ようなインスリン標的臓器(肝臓と筋肉)への脂肪蓄積の特徴を生活習慣・遺伝子解析など多方面から検討し、そのような脂肪蓄積を規定する因子や制御する方法を解明する目的で、以下に述べるような研究計画を立案した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、突入する超高齢化社会に適した糖尿病予防策を打ち出すことである。これまでの食事・運動療法とは異なり、食事・運動療法の徹底が困難な状況下で栄養過剰状態に適応するため、新規概念である“脂肪との共存”を考える。

具体的には、急増する2型糖尿病の主病態であるインスリン抵抗性を惹起しないような、インスリンの2大標的臓器である肝臓と筋肉への脂肪蓄積の特徴及び方法を、生活習慣・遺伝子・脂肪の組成や分布・肝臓と筋肉の相互関連を切り口として探求・解明し、糖尿病予防において社会に大きく貢献する成果を打ち出すことを目指す。

### 3. 研究の方法

(1)  $^1\text{H}$ -MRS法による前脛骨筋・ヒラメ筋・肝臓における細胞内脂質の定量(インスリン標的臓器毎の脂肪蓄積の定量)

(2) 安定同位体[6,6- $^2\text{H}_2$ ]glucoseを用いた高インスリン正常血糖クランプ検査(インスリン標的臓器毎のインスリン感受性の定量)

(3) 体脂肪量の測定(DEXA)、CTによる腹腔内脂肪・皮下脂肪量の定量(全身の脂肪分布)

(4) 生活習慣についての情報収集、食事内容:BDHQ質問紙、身体活動量:ライフコーダー(医療用携帯型活動計)、睡眠習慣:ピッツバーグ睡眠質問紙とMorning Evening Questionnaire (MEQ)

(5) 採血、尿(各種バイオマーカー測定と血漿メタボローム解析を用いた代謝物の網羅的解析)

(6) 使い捨て生検針を用いた肝生検(マイクロアレイと定量的PCR法による遺伝子発現解析)

(7)呼吸商測定(全身の脂肪・糖代謝のバランスを測定)

#### 4. 研究成果

【結果】肝細胞内脂肪量と肝インスリン感受性には相関を認めなかった。26名のうち肝インスリン感受性上位1/3の良群と下位1/3の悪群(内因性糖産生抑制率  $91.4 \pm 5.1$  vs.  $66.6 \pm 7.5\%$ )を比較したところ、肝細胞内脂肪量には差がなく(各  $28.3 \pm 16.1$  vs.  $20.4 \pm 9.9\%$ )同程度の脂肪蓄積でも肝インスリン感受性が良好に保たれている者と低下している者が存在した。全評価項目のうち肝インスリン感受性に有意に正相関するものとして、脂肪組織インスリン感受性と高分子アディポネクチンのみが挙げられ(各  $R=0.49, 0.44, P<0.05$ )、上記良群と悪群の比較でもこの2因子が良群で有意に高値を示した。一方、ALT、高感度CRP、Ⅲ型コラーゲン7s、組織のNAFLD activity scoreなどは肝インスリン感受性に関連せず、肝細胞内脂肪量と有意な正相関を示した。さらに、良群は悪群に比し糖新生遺伝子ピルビン酸カルボキシラーゼの有意な発現低下( $-28\%, P<0.05$ )と血漿クエン酸濃度の有意な上昇( $149 \pm 17.4$  vs.  $118 \pm 19.2 \mu\text{M}, P<0.01$ )を認め、高分子アディポネクチンとクエン酸には有意な正相関を認めた( $R=0.39, P<0.05$ )。【考察】脂肪組織インスリン感受性良好に伴う高アディポネクチン血症は脂肪酸合成の基質となるクエン酸の上昇と糖新生遺伝子の抑制に関連し、脂肪肝でありながら肝インスリン感受性を良好に保つ機序の一つと示唆された。【結語】網羅的な解析を通し、NAFLDにおける肝インスリン感受性保持に脂肪組織インスリン感受性と高分子アディポネクチンの重要性が示された。

#### 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0件)

〔学会発表〕(計14件)

鳴山文華、熊代尚記 「日本人NAFLD患者と肝インスリン感受性保持因子として、アディポネクチンとミトコンドリアクエン酸回路が関与する」第66回日本体質医学会総会 2016年9月3日 和歌山県JAビル(和歌山県和歌山市)

鳴山文華、熊代尚記 「脂肪組織インスリン感受性ならびにアディポネクチンは日本人NAFLD患者の肝インスリン感受性保持に関与する」第21回アディポサイエンス・シンポジウム 2016年8月20日 千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)

鳴山文華、熊代尚記 「日本人NAFLDの網羅的解析に基づいた脂肪肝における肝

インスリン感受性保持因子の探究」第3回肝臓と糖尿病・代謝研究会 2016年7月16日 石川県立音楽室(石川県金沢市)

熊代尚記、鳴山文華 「肝脂肪とインスリン抵抗性について、脂肪悪説の研究に基づいた“脂肪との共存”の提唱」第34回内分泌代謝学サマーセミナー 2016年7月15日 久山温泉 ホテル夢家(福岡県糟屋郡久山町)

Shigiyama F, Kumashiro N 「Mitochondria TCA Cycle and Adiponectin Are Associated with Preserved Hepatic Insulin Sensitivity in NAFLD Patients」76<sup>th</sup> Scientific Sessions American Diabetes Association(ADA) 2016年6月10日 New Orleans(USA)

鳴山文華、熊代尚記 「日本人NAFLD患者の肝インスリン感受性保持因子として、アディポネクチンとミトコンドリアクエン酸回路が関与する」第59回日本糖尿病学会年次学術集会 2016年5月20日 国立京都国際会館(京都府京都市)

鳴山文華 「日本人NAFLD患者の肝インスリン感受性保持因子としてアディポネクチンとミトコンドリアクエン酸回路が関与する」第147回東邦医学例会 2016年2月18日 東邦大学(東京都大田区)

熊代尚記、鳴山文華 「非アルコール性脂肪肝におけるインスリン抵抗性の病態と脂肪酸のエステル化の意義」第2回肝臓と糖尿病・代謝研究会 2015年5月23日 シーモールパレス(山口県下関市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊代 尚記 (KUMASHIRO, Naoki)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：20535207

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

嶋山 文華 (SHIGIYAMA, Fumika)