

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム（2007.12）8巻1号:53～60.

平成18年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題1 生活習慣病に関する総合的研究—分子遺伝学的病態解析から予防・治療まで—

羽田勝計（研究班長）

依 頼 稿 (報告)

平成18年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題1 生活習慣病に関する総合的研究—分子遺伝学的病態解析から予防・治療まで—

羽 田 勝 計*

研究成果の概要

1) 心筋梗塞の病態形成におけるプロスタノイドの役割

研究代表者：牛首 文隆

[研究背景と目的]

近年、食事や生活習慣などの欧米化によって生活習慣病の一種である虚血性心疾患（心筋梗塞）の発症率が増加しており、その病態解明は重要な課題となっている。一方、プロスタノイドはプロスタグランジン（PG）とトロンボキサン（TX）より成る生理活性脂質であり、その作用は標的細胞に存在する各プロスタノイドに特異的な受容体を介して発揮される。現在まで、PGD₂、PGE₂、PGF₂α、PGI₂、TXA₂に対して、各々 DP、EP、FP、IP、TP 受容体が知られている。また、EP 受容体には、EP1~EP4 の 4 種類のサブタイプが存在する。従来、プロスタノイドのなかで、TXA₂ が虚血性心疾患増悪因子として、また、PGI₂ や PGE₂ がその保護因子として作用することが示唆されている。しかし、これらの作用が、心筋梗塞の病態形成にどの程度重要な役割を果たすのか、あるいはどのプロスタノイド受容体がこれに関与するのかは明らかではない。そこで、本研究は、各プロスタノイド受容体を欠損するマウスを用い、心筋梗塞の病態形成におけるプロスタノイドの役割を解明することを目的とする。

[研究方法]

1. *In vivo* の系を用いた解析

心筋梗塞モデルを用いた解析

各プロスタノイド受容体欠損マウスの冠動脈を結

紮し、急性心筋梗塞モデルを作成する。ついで、梗塞サイズ、組織像、心機能や生化学的変化を解析する。これにより、心筋の虚血・再灌流障害にどのプロスタノイドが、どの程度重要な役割を果たすかを明らかにする。

2. *In vitro* の系を用いた解析

a. 摘出灌流心臓を用いた解析

各プロスタノイド受容体欠損マウスから心臓を摘出してランゲンドルフ式に環流し、心臓に虚血・再灌流負荷を加える。ついで、傷害の程度を心機能、逸脱酵素、エネルギー代謝等を指標に解析する。

b. 培養心筋細胞を用いた検討

各プロスタノイド受容体欠損マウス新生児から心臓を摘出し、心筋細胞及び非心筋細胞の分離培養を行う。この系を用い、虚血障害に関与するプロスタノイドの産生細胞と受容体発現細胞を同定するとともに、プロスタノイドの作用機構を解析する。

[研究成果と考察]

1. *In vivo* の系を用いた解析

心筋梗塞モデルを用いた解析

PGE₂ 受容体サブタイプの一種である EP3 を欠損するマウスでは、野生型マウスと比較して心筋梗塞サイズが有意に増加していた。

2. *In vitro* の系を用いた解析

a. 摘出灌流心臓を用いた解析

EP3 受容体欠損マウスから心臓を摘出してランゲンドルフ式に環流し、虚血・再灌流負荷を加えた。

*旭川医科大学 内科学講座（病態代謝内科学分野）

その結果、野生型マウスの摘出心臓と比較して有意に心機能傷害の程度が増悪し、逸脱酵素の量も有意に増加していた。

b. 培養心筋細胞を用いた検討

EP3 受容体欠損マウス新生児から心臓を摘出し、心筋細胞及び非心筋細胞の分離培養を行った。この系を用い、EP3 受容体の発現を解析したところ、心筋細胞及び非心筋細胞の両者に発現が認められた。また、EP3 受容体特異的アゴニストを用いた解析では、EP3 受容体は Gi を刺激して、細胞内 cAMP 濃度を低下させた。

[まとめ]

急性心筋梗塞時に産生される PGE₂ は、その受容体である EP3 を介して、心臓を虚血・再灌流障害から保護する役割を果たすことが明らかとなった。

2) 酸化ストレスおよびサイトカインの修飾によるメタボリックシンドローム克服に向けた新たな戦略 一動脈硬化進展抑制をめざすストレス対策と癒しの医学の確立—

研究代表者：西條 泰明
長谷部直幸

研究 1 【高血圧患者への森林浴の効果】

[研究背景と目的]

森林揮発性物質による神経・内分泌・免疫関連の賦活化により自律神経系が安定化、その結果、血圧も安定することが推測される。健常人に対する森林揮発性物質 α -Pinene の血圧に対する効果を検討し、森林浴前後での高血圧患者の血圧、心拍、神経体液因子の変動について検討した。

[研究方法]

①森林揮発性物質 α -Pinene の血圧に対する効果の検討

対象は14名のボランティア。 α -Pinene 0.01% 溶液を作成し、就寝時枕もとから30cmの所に設置。 α -Pinene 暴露 1 週間前から家庭用血圧計にて 1 日 2 回朝、晩の血圧測定を行ってもらい、この間に Holter 心電図、採血（レニン、アルドステロン、コルチゾール）を行った。続く 2 週目は毎晩 0.01% α -Pinene を暴露し、6~7 日目に Holter 心電図、採血を行った。

②高血圧患者に対する森林浴の効果の検討

対象は20名の高血圧患者。20名を10名ずつ2群に分け、森林浴と街頭歩行の両方をそれぞれ行った（クロスオーバー試験）。各群は歩行開始前の朝 8 時30分に Holter 心電図を装着し、歩行は午後 1 時から 2 時までの 1 時間とし、歩行前後で血圧測定、採血を行った。

[研究成果と考察]

①森林揮発性物質 α -Pinene の血圧に対する効果の検討

α -Pinene 暴露翌朝から 10 mmHg 程度の降圧が得られた。早朝収縮期血圧は暴露前 120 ± 4 mmHg から 110 ± 6 mmHg に有意に低下した。拡張期血圧も同様に有意に低下していた。さらに、就寝前血圧についても早朝血圧同様拡張期、収縮期血圧両方で有意な降圧が認められた。レニンとアルドステロンともに α -Pinene 暴露後に有意な減少が認められ、スコルチゾールと ACTH についても暴露後に有意な減少を認めた。Holter 心電図による心拍変動解析の結果は、HF が夜間有意に上昇した。

②高血圧患者に対する森林浴の効果の検討

血圧は森林浴後に有意な低下が認められた。心拍数は逆に街頭歩行後で有意に上昇していた。体液因子は、街頭歩行後にレニンが有意に上昇していた。コルチゾールは両群で減少が認められたが、森林浴でより低下の幅が大きかった。Holter 心電図による心拍変動解析の結果は、HF が森林浴後の夜間で有意に上昇し、LF/HF は低下を示した。

本研究では森林揮発性物質 α -Pinene により早朝、就寝時血圧ともに降圧作用が確認された。そのメカニズムとしてとして、Holter ECG 解析から副交感神経の活性化と交感神経/副交感神経バランスが副交感神経に傾いたことが確認されている。さらに、昇圧効果をもたらすレニンやアルドステロンと言ったホルモンの分泌抑制がもたらされた。実際に高血圧患者には、森林浴と街頭歩行の両方を同じ条件で行ってもらい、森林浴の方で明らかな降圧が認められている。このメカニズムも Holter ECG 解析を行うと、副交感神経の活性化と交感神経/副交感神経バランスが副交感神経に傾いたことが確認された。Holter ECG による心拍変動解析の結果をみると、街頭歩行に比べ森林浴で終日副交感神経活性が高い事が分かり、特に夜間で有意差がついていた。この事は、森林浴の効果には持続作用があり、リラクゼーション効果ならびに血圧安定化

作用が持続している可能性を示唆する。今後、生体に効果をもたらす森林揮発性物質の濃度や種類について調査を行う必要があると考える。

[まとめ]

本研究は北海道の森林浴の効果をクロスオーバーの介入研究で証明した初めての報告である。森林揮発性物質 α -Pinene は自律神経系に作用して、ストレスホルモンの分泌抑制と血圧上昇抑制をもたらす可能性があり、森林浴は高血圧治療の補助療法として有用であると考えられる。

研究 2 【職業ストレスとサイトカイン遺伝子多型の高感度 CRP への影響】

[研究背景と目的]

職業ストレスが循環器疾患発症の危険因子であることが報告されている。さらに、ストレスは免疫系に影響することが知られている。本研究では、職業ストレスの C-reactive protein (CRP) 値への影響について、サイトカイン遺伝子多型との交互作用も含めて明らかにすることを目的としている。

[研究方法]

対象は健康診断を受診した35~60歳の男性347人。高感度法により血清中 CRP 濃度を測定した。その他の動脈硬化の危険因子は健康診断のデータを用いた。自記式質問調査票を用い、職業性ストレス指標として、高努力・低報酬を高ストレスと定義する努力-報酬不均衡モデル (ERI) と高要求・低裁量を高ストレスと定義する要求度コントロールモデル (DCM) を用いた。ERI では努力、報酬と ERI 高ストレス (努力と報酬の比) を 2 分位とし、またオーバーコミットメント (OC) は上位 3 分位を高 OC とした DCM は要求度、コントロール、ストレイン (要求度とコントロールの比) を 2 分位とした。Interleukin (IL)-1B-31C/T、IL-1B-511C/T、IL-6-634C/G、IL-10-1082A/G、Tumor necrosis factor (TNF)-A-1031T/C、TNF-A-857C/T の各遺伝子多型はリアルタイム PCR 法で解析した。CRP は log 変換して調整平均値 (年齢、BMI、収縮期血圧、総コレステロール、log TG、HDL、空腹時血糖、喫煙、飲酒、ホワイトカラーで調整) について ANCOVA を用いて比較した。

[研究成果と考察]

各ストレス指標の平均値の比較では、DCM 高要求度群が低要求度群に比較して CRP が高くなる傾向を認めた (0.051 vs. 0.042 mg/dl; $p=0.097$)。また、DCM 高コントロール群が低コントロール群に比べて、CRP が高くなる傾向を認めた (0.050 vs. 0.041 mg/dl; $p=0.074$)。ERI では高 OC 群が低 OC 群に比べ、有意に CRP が高かった (0.054 vs. 0.042 mg/dl; $p=0.046$)。その他のストレス指標では差を認めなかった。遺伝子多型では、TNF-857C/T において傾向性検定で有意な結果を認めた (CC : 0.044, CT : 0.043, TT : 0.081 mg/dl; $p=0.049$)。また、交互作用の検討では DCM 高要求度と IL6-634C/G 遺伝子多型に有意な交互作用 ($p=0.002$) をみとめ、高要求度群で IL6-634C/G 遺伝子多型の影響が大きくなっていた。

[まとめ]

本研究では職業ストレスの指標が、循環器疾患の危険因子としての炎症 (CRP) に影響し、それがストレスから循環器疾患発症のメカニズムに関連していることが考えられる。また、ストレスに対する個人間の反応の違いについては、遺伝子多型、特に今回は炎症性遺伝子多型が関与し、ストレスによる炎症を修飾する可能性が示唆された。しかし、サンプルサイズが少なく更なる検討が必要である。

3) 糖尿病性腎症進展予防に対する治療戦略標的としての Interleukin-18 (IL-18)

研究代表者：滝山 由美
羽田 勝計
(総括コーディネーター)

[研究背景と目的]

糖尿病性腎症は、1998年より本邦における透析導入疾患の第一位となり、透析導入後累積 5 年生存率約 50 % と予後不良であることから、成因の解明と早急な予防、治療が必要とされている。糖尿病性腎症患者における血清中および尿中 IL-18 濃度の上昇と糖尿病性腎症の病期との関連性についての報告が相次いでいる。糖尿病性腎症患者の血清・尿中 IL-18 上昇の原因、産生臓器としての腎臓の可能性について、ヒト腎生検組織標本及び、ヒト腎培養細胞を用い、腎臓における IL-18 の発現とその制御について検討した。

[研究方法]

1. 糖尿病性腎症腎臓における IL-18、IL-18 receptor (IL-18 R) 蛋白発現の免疫学的組織染色：糖尿病性腎症患者腎生検組織のパラフィン包埋切片を用いての検討。
2. ヒト近位尿管上皮細胞、ヒトメサンギウム細胞 (Cambrex 社) を用い、IL-18、IL-18 R 発現、その制御の検討：RT-PCR 法、real-time RT-PCR (Taqman 57-nuclease assay) 法、Western blot 法。

[研究成果と考察]

1. 2 型糖尿病性腎症の尿管細胞における IL-18 の高発現 (12 例中 10 例) を認めた。IL-18 受容体は、全例において尿管細胞と糸球体内のメサンギウム、ボウマン嚢上皮細胞、内皮細胞にその局在を認め、IL-18 が糖尿病性腎症の尿管細胞において autocrine に作用している可能性を示唆した。
2. ヒト尿管細胞培養細胞において、IL-18 mRNA は、恒常的に発現しており、その蛋白発現も確認した。IL-18 mRNA の発現は、TGF- β_1 刺激により MAPK 系の活性化を介し、濃度依存性に亢進した。

[まとめ]

糖尿病性腎症の成因において、発症進展増悪因子として、TGF- β が重要な役割を果たしていることが知られており、本研究の成績は、新たに TGF- β による糖尿病性腎症の進展機序における IL-18 の関与を示唆し、更には IL-18 を標的とする糖尿病性腎症治療戦略の可能性を提示するものである。

4) II 型糖尿病網膜症の初期病態の解明

—血中プロレニン値と網膜循環の関連性の検討—

研究代表者：横田 陽匡
吉田 晃敏

[研究背景と目的]

糖尿病網膜症は我が国における中途失明原因の主因をなしており、その予防法および治療法の確立は急務であるが、未だに確実に有効な治療法は確立されていない。現状では、糖尿病網膜症に対する治療法として血糖コントロールが大原則であるが、進行した網膜症に対しては網膜光凝固や硝子体手術が適応される。しかしこれらの治療法は、症例により多少の差異がある

にせよ、網膜や他の眼組織にダメージを与える事になり、網膜症の進行が阻止されたとしても、その視機能に重大な後遺症を残す事となる。糖尿病患者のより良い Quality of Life、Quality of Vision のためには、網膜症が発症、進行する前に血糖を厳格にコントロールすることに加え、血糖値のみならず網膜症発症および悪化を鋭敏にとらえる予知因子や、薬物治療が必要である。

最近の知見より、レニン—アンジオテンシン系を抑制する薬剤が、糖尿病網膜症や糖尿病性腎症の発症や進行の抑制に有効であることが報告されており、これはレニン—アンジオテンシン系が糖尿病網膜症の発症に深く関与している事を示唆している。さらに新しいレニン—アンジオテンシン系の展開として、プロレニンのレニン様活性が注目されている (図 1)。これまでプロレニンは、単なるレニンの不活性前駆体と考えられていたが、プロレニンが (プロ) レニンレセプターに結合し、構造が変化する事により活性部位が露出し、アンジオテンシノーゲンがアンジオテンシン I に変化する (図 1)。実際、レニン—アンジオテンシン系の最上流にあるプロレニンが、網膜症の発症前に上昇する事が、I 型糖尿病患者を対象にした臨床研究で確認されている。さらに我々は、II 型糖尿病患者を対象として、糖尿病網膜症が重症であるほど、血中プロレニン値が高値になることを報告した。これらの糖尿病患者におけるプロレニン濃度の上昇も、レニン—アンジオテンシン系が糖尿病網膜症の発症に関与している事を示唆していると考えられる。

以上の臨床研究の結果から、プロレニンのレニン様

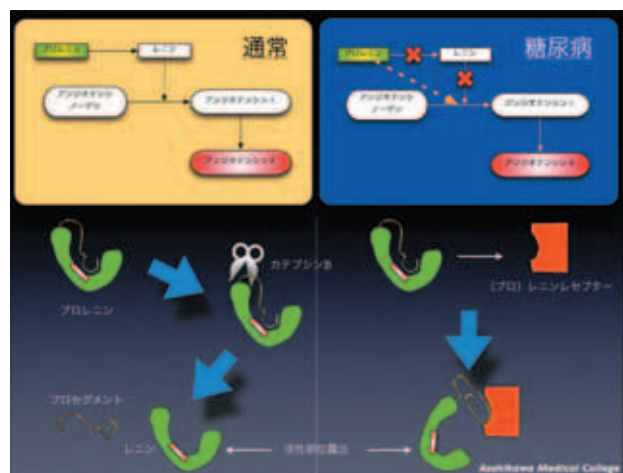


図 1

活性は糖尿病の血管合併症発症に深く関与していることが明らかとなった。これらのことから糖尿病ではプロレニンが増加し、そのレニン様活性でアンジオテンシンⅡの産生が亢進し、網膜症の発症や悪化が促進していると考えられる。実験動物でプロレニンがレニン様活性を発揮し、病態を形成する事は証明されているが、実際にプロレニンが、人体においてどのような影響を及ぼしているかは不明な点が多い。

今回我々は、レニン-アンジオテンシン系が強い血管収縮因子であることに注目し、Ⅱ型糖尿病患者を対象として、糖尿病により生じる網膜循環障害と血中プロレニン値の関連性を検討する事により、糖尿病網膜症の初期病態の解明と、血中プロレニン値の網膜症発症や悪化に対する予知因子としての有用性を検討したい。

【研究方法】

対象は旭川医科大学眼科の糖尿病外来を受診した男性77名、女性80名である。対象者は糖尿病網膜症を有しない、あるいは単純型網膜症を有する者を対象とした。単純型に関しては、糖尿病黄斑症を有するものも含めた。

検討項目

1. 網膜血流速度と血中プロレニン値の関係

キャノン社製レーザードップラー眼底血流計 (CLBF model 100) を用いて網膜血流速度を測定

2. 糖尿病網膜症の進行と血中プロレニン値の関係

糖尿病網膜症の変化に応じて、変化なし (網膜症なし)、変化なし (単純型)、悪化の3群に分け、初回測定値の血中プロレニン値を検討する。

【研究成果】

網膜血流速度と血中プロレニン値濃度に関しては、男性で $Y=460.2-6.1X$, $r=-0.25$, $p=0.031$ (図2A)、女性で $Y=195.2-1.62X$, $r=-0.16$, $p=0.14$ であった (図2B)。男性では血中プロレニン値が高いほど、網膜血流速度が低下していた。女性において、相関がなかった。

次に、網膜症の進行度に応じて、HbA1c と血中プロレニン値を比較したところ、HbA1c に関しては、群間で有意差がなかったが、血中プロレニン値に関しては、網膜症非発症群に比べ (148 ± 81 pg/mL)、糖尿病網膜症が発症、あるいは悪化した群 (258 ± 127

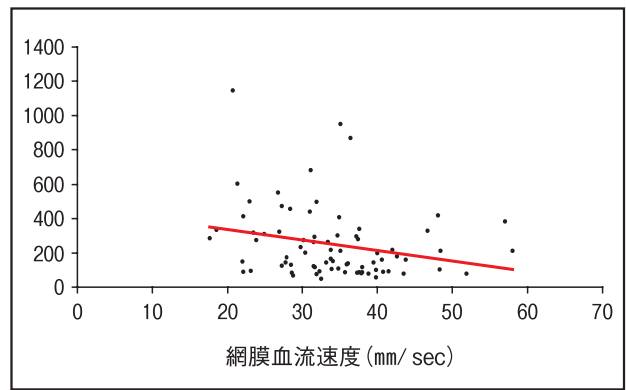


図2A 男性の網膜血流速度とプロレニン値

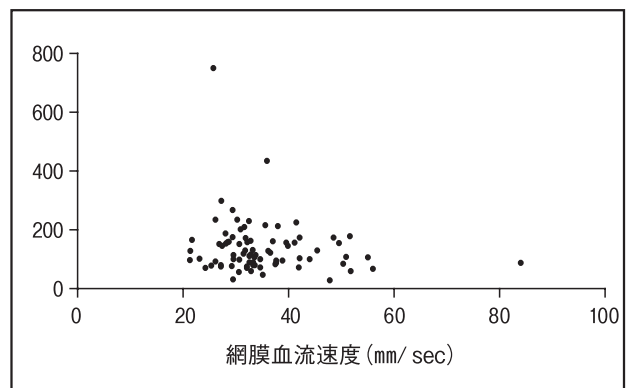


図2B 女性の網膜血流速度とプロレニン値

pg/mL) で、有意に高値を示していた。

今回我々は、Ⅱ型糖尿病患者の血中プロレニン値濃度と網膜循環障害の関連性を検討し、血中プロレニン値が高いほど、網膜循環が悪化していることを明らかにした。これまでの検討から、糖尿病患者では、網膜症の発症に先行して網膜循環障害が起きることが報告されている。今回の検討によりプロレニンのレニン様活性を介したレニン-アンジオテンシン系の亢進が、網膜症発症に深く関わっている網膜循環障害の発生に関与している可能性が示された。さらに糖尿病網膜症の進行と血中プロレニン値を検討したところ、糖尿病網膜症が発症、悪化した患者群で、血中プロレニン値が有意に高値であった。今回我々の検討から、血中プロレニン値が高い患者では、将来的に網膜症が発症、あるいは悪化したりする可能性を示す事ができた。以前にⅠ型糖尿病患者を対象として、網膜症の発症に先行して血中プロレニン値が上昇することが報告されているが、いままでにⅡ型糖尿病患者を対象とした検討はなされていない。今回の検討は、Ⅱ型糖尿病患者を対象として、網膜症の変化により群分けをし、群間で

1年以上前の血中プロレニン値に有意差がないかどうかを検討する後ろ向き研究となったが、Ⅱ型糖尿病患者においても、糖尿病網膜症の発症に先行してプロレニン値が上昇している可能性が示す事ができた。

以上の結果をふまえ、今後は追跡調査を継続し、血中プロレニン値の高低に応じて、Ⅱ型糖尿病患者において網膜循環動態および網膜症がどのように推移するかを検討し、血中プロレニン値が糖尿病網膜症の発症予知因子となりうるかどうかを検討したい。このような検討はこれまでなされておらず、世界的にみてもきわめてオリジナリティーの高い臨床研究となると考えられる。Ⅰ型糖尿病患者を対象とした糖尿病性腎症の検討では、糖尿病性腎症を発症した群では、5年前から血中プロレニン値が有意に上昇する事が報告されており、網膜症のみならず、他の糖尿病血管合併症に対しても血中プロレニン値の予知因子としての有用性があると考えられ、今後のⅡ型糖尿病患者に対する検討が待たれるところである。

最後に、今回我々はⅡ型糖尿病患者の血中プロレニン値と網膜循環との関連性を検討した。血中プロレニン値が高いほど、網膜循環が悪化していることが判明した。また糖尿病網膜症が発症、悪化した患者では、有意に血中プロレニン値が高値を示しており、糖尿病網膜症が発症、悪化する前に血中プロレニン値が上昇する事が示唆され、予知因子としての有用性が示された。今後の課題として、血中プロレニン値が高値である患者を追跡調査して、糖尿病網膜症に対する予知因子としての有用性を検討する必要がある、その他に血中プロレニン値に影響を及ぼす因子を検討する必要があると考えられた。

[考察とまとめ]

今回我々は、Ⅱ型糖尿病患者を対象として、血中プロレニン値と網膜循環の関連性を検討した。血中プロレニン値が高いほど、網膜循環は悪化していた。また糖尿病網膜症の進行度に応じて、進行前の血中プロレニン値濃度を検討したところ、網膜症が悪化した群で有意に血中プロレニン値が高いことが明らかになった。これらのことからプロレニンが網膜循環障害に関与し、糖尿病網膜症の初期病態を形成している可能性があり、今後基礎的研究による、プロレニンによる糖尿病網膜症発症機構の検証と、血中プロレニン値が高値である

患者の経過を追跡調査することにより、血中プロレニンの糖尿病網膜症発症に対する予知因子としての有用性の検討が必要であると考えられる。

5) 尿路結石症患者におけるメタボリックシンドロームの関連についての臨床的検討

研究代表者：加藤 祐司

柿崎 秀宏

【キーワード】 尿路結石症、メタボリックシンドローム、尿酸結石、インスリン抵抗性

[目 的]

本邦における上部尿路結石症（本症）の罹患率は増加傾向にあり、life style の欧米化による動物性蛋白質、脂肪摂取量の増加が、本症の発症増加の一因である可能性が示唆されている。また本症の患者は、糖尿病、高脂血症、高血圧症などの生活習慣病を合併する割合が多いという指摘もあり、今回、本症と metabolic syndrome (MS) の関連について、尿中結石関連物質と insulin resistance (IR) の観点から臨床的に検討を行った。

[対象・方法]

旭川医科大学泌尿器科において、2005年6月から2007年6月までに本症と診断された患者を対象とし、本邦の診断基準に準拠し MS の診断を行った。空腹時採血と24時間蓄尿検査による尿中結石関連物質を測定し、metabolic abnormality の有無を確認した。シュウ酸カルシウム (CaOx) とリン酸カルシウム (CaP) 結石の過飽和度の指標として、Ion-activity product (AP) index を算出した。排出された結石の成分分析を赤外線分光分析で同定した。IR の指標として HOMA-IR を算出し、血清 adipocytokine として leptin と adiponectin を ELISA kit で測定した。

[研究成果と考察]

207名の患者のうち、94名 (45.4%) が MS と診断された (男性51.8%、女性31.8%)。男女とも MS 患者は非患者と比較して BMI、ウェスト周囲径、中性脂肪、空腹時血糖、HbA1c は有意に高値であった。男性 MS 患者は非 MS 患者と比較して、高齢で (58.9 vs 51.7歳)、血清尿酸値 (6.30 vs 5.88 mg/dl)、leptin (6.57 vs 3.26 ng/ml)、insulin (17.4 vs 7.7 μu/ml)、

HOMA-IR (5.68 vs 1.88)、尿酸排泄量 (660.6 vs 523.2 mg/day) は有意に高値であり、尿 pH (6.13 vs 6.31) は有意に低値であった。また AP (CaOx) index、AP (CaP) index は MS 該当の有無で有意差を認めなかったが、男性 MS 患者では結石再発回数は有意に多く (2.80 vs 2.06回)、結石成分は尿酸結石の占める割合が多い傾向にあった (26.4 vs 9.4%)。adiponectin は MS 患者で低値の傾向にあったが、有意差を認めなかった。女性では同様の傾向を認めなかった。虚血性心疾患 (9.6 vs 0.9%) および高尿酸血症および痛風 (53.2 vs 21.2%) の既往または合併は、どちらも MS 患者で有意に多かった。高尿酸尿 (男性800、女性750 mg/day 以上) の割合は MS 患者で有意に高かった (16.8 vs 2.7%)。

[結 論]

MS に該当する本症男性患者では、動物性蛋白質の過剰摂取および IR による腎近位尿管でのアンモニア産生の抑制による尿 pH 低下と、プリン体摂取過剰および内因性の尿酸産生増加による尿中尿酸排泄量増加に起因した尿酸結石の易形成状態にあると推測された。本症の背景に存在する高尿酸血症は心血管系イベントおよび腎疾患発症に関連し、本症の中でも尿酸結石の患者を認めた場合には、血中および尿中尿酸値の確認と MS への該当の有無を診断することにより、血管系イベントの早期発見・予防につながるものと考ええる。逆に MS に該当する患者では、本症の再発回数が有意に多かったことから、一般の population よりも本症を発症しやすいことを念頭におくべきである。

6) 高脂肪食による肝細胞内脂肪蓄積メカニズムの解明

研究代表者：奥村 利勝

[研究背景と目的]

糖尿病、肥満、脂肪肝などの多くは脂質過剰の食生活や運動不足に起因する。従って、これらの治療には食生活の改善や日常の運動負荷を促進するなど必要性を解説し、生活習慣の改善を指導する。しかし、頭ではわかっているが、現実には実行継続できない場合がほとんどである。食べたくない、もしくは食べても内臓に脂肪が蓄積しない方法論が確立できれば、現在臨床の場で実行されている行動変容を促す生活指導に比べて患者サイドにも精神的に優しい治療法が提供でき、

その恩恵は計り知れない。以上の観点から、我々は食欲調節機構や内臓脂肪蓄積のメカニズム解明を目指し研究を重ねてきたが、今回は、高脂肪食による脂肪肝モデル動物の開発とそれを用いた肝細胞脂肪蓄積の分子メカニズム解明を試みた。

[研究方法]

C57Bl/6 male mice (9 weeks) を脂肪カロリー比82%の高脂肪食か、15%の通常食で飼育し、経時的に肝組織を採取し、組織学的及び分子生物学的検討を行った。一部の研究では培養肝細胞 HepG2 及びヒト脂肪肝組織を用いた。

[研究成果と考察]

高脂肪食負荷により肉眼的に明らかな脂肪肝を誘発するモデルを作成した。Oil-red O による組織学的検討では、脂肪食負荷4週から肝細胞内脂肪蓄積を認めた。普通食群と高脂肪食群の肝臓に発現する遺伝子を DNA microarray で網羅的に解析した結果、脂肪細胞分化に関与する PPAR γ の発現亢進が明らかにされた。経時的に行った real-time PCRでPPAR γ mRNA の発現亢進を組織学的脂肪蓄積以前の段階から認めた。PPAR γ を肝臓特異的に過剰発現させると肝臓に脂肪が蓄積すると報告されており、PPAR γ の発現亢進は高脂肪食による脂肪肝進展の病態のメカニズムの主要因と考えた。この PPAR γ の下流のシグナル伝達に関与する分子を検討した結果、脂肪滴表面蛋白である ADRP の発現亢進が明らかにできた。ヒト脂肪肝組織の免疫染色でも、脂肪肝組織の ADRP 免疫陽性産物の亢進を観察した。in vitro の系で培養肝細胞モデル HepG2 細胞に PPAR γ の ligand である troglitazone を添加すると ADRP mRNA 発現が亢進した。

[まとめ]

高脂肪食負荷による脂肪肝の病態解析マウスモデルを作成し、肝細胞内脂肪蓄積には高脂肪食による肝細胞 PPAR γ 発現亢進とそれによる ADRP 発現亢進がメカニズムの一部であることが明らかにできた。このシグナル伝達経路をターゲットに、いくら食べても内臓に脂肪が蓄積しない方法が開発できるかもしれない。

以上の知見は下記に公表した。

Inoue M, Ohtake T, Motomura W, Takahashi N, Hosoki Y, Miyoshi S, Suzuki Y, Saito H, Kohgo Y, Okumura T. Increased expression of PPAR γ in high fat diet-induced liver steatosis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 336, 215-222, 2005

Motomura W, Inoue M, Ohtake T, Takahashi N, Nagamine M, Tanno S, Kohgo Y, Okumura T. Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. *Biochem Biophys Res Commun* 340, 1111-1118, 2006

7) 医学部学生における生活習慣病リスクファクターの推移、およびこれに対する入学前生活の影響の検討—血清マグネシウム値を含めた検討—

研究代表者：川村祐一郎

〔研究背景と目的〕

当大学入学時健康診断により得られたデータを分析したところ、医学部学生生活 6 年間に於ける血圧、体重などの漸増が明らかであった。したがって入学後の生活指導は将来の生活習慣病の予防にきわめて重要と思われる。しかしこれら生活習慣病進展の兆しはすでに入学以前のライフスタイルに依存している可能性があるため、過去に遡っての調査が必要と考えられ、本研究を立案した。

〔研究方法〕

275 名（18 歳から 24 歳、男子 103 名、女子 172 名）の当大学新入学学生において、入学直前のライフスタイルについてアンケート調査を行い、1) 食事、2) 運動、3) 飲酒、4) 喫煙、5) 精神的ストレスの 5 項目をスコア化し、(各項目 1～5 点)、同一対象の入学時健康診断データと比較検討した。入学時健康診断においては一般検査項目すなわち身長、体重、BMI、血圧、心拍数、体脂肪率に加えて、生活習慣病の阻止という観点からみて有益なミネラルであり、また理想的な食生活をも反映する血清マグネシウム値も測定した。本研究で独創的な点は、血清マグネシウムを、通常臨床で

測定される総マグネシウムではなく、生体内で生理活性を有するイオン化マグネシウムとして直接測定したことにある。

〔研究成果と考察〕

アンケート 5 項目の総合点は男子 13.7 点、女子 12.3 点と、男子学生において有意な高スコア、すなわち理想的ではないライフスタイルの存在が推定された。項目毎の検討でも、運動不足の度合い以外は全て男子において有意に高スコアという結果であった。全学生において総スコアと有意な相関を示した身体所見は体重、BMI、収縮期および拡張期血圧であった。項目毎に検討すると、運動のスコアが収縮期および拡張期血圧と有意な相関を示した。このように、アンケート調査におけるスコアは、入学時点での肥満および血圧などの身体所見ときわめて密接に関連していた。

一方、男子では女子に比しファーストフードの摂取が高く緑黄色野菜の摂取が低く、その結果を反映してか、血清マグネシウム値は男子において有意に低値 (0.536 ± 0.038 vs 0.556 ± 0.031 mM, $p < 0.05$) を示した。この血清マグネシウム値は全学生の体重、BMI と負の相関を示した。すなわちマグネシウムと低値と肥満との関連が示唆された。さらにアンケートの項目別にみると、血清マグネシウムは運動、喫煙、精神的ストレスの各項目とも有意な負の相関を示した。マグネシウムはレニン-アンジオテンシン系やカテコラミンなど血圧上昇にあずかる系、あるいはカルシウムイオンに拮抗することにより、高血圧、心イベントを抑制する作用があることが知られているが、本研究により、その低値が、大学新入生という若年層においても、メタボリックシンドロームの発生に促進的に働いている可能性が示唆された。

〔まとめ〕

入学前のライフスタイルは入学時の身体所見に大きく影響し、そのことはマグネシウムなど有益なミネラルの値とも相互に関連し、生活習慣病の萌芽に寄与しているものと思われた。