

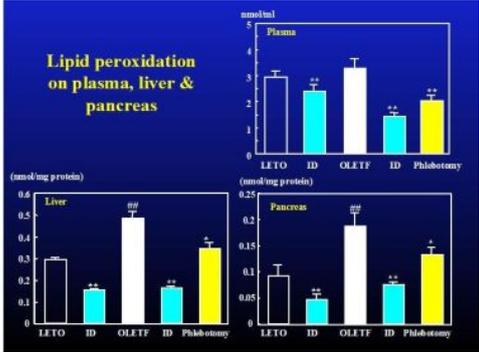
別紙様式 3

3 大学連携研究支援費に係る研究成果（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名)	(氏 名)
共同研究 代表者	京都府立大学	教授	南山幸子
研究組織 の体制	京都府立医科大学	准教授	内藤裕二
	京都工芸繊維大学	教授	竹谷 茂
研究の 名称	医療費削減を目指した瀉血療法による糖尿病治療効果とその機序についての検討		
研究のキ ーワード	糖尿病治療 瀉血療法 活性酸素 鉄 ヘム代謝		
研究の 概要	<p>2型糖尿病モデルラット(OLETFラット)を用いて、瀉血および低鉄食治療による鉄制限の有効性を明らかにし、酸化ストレスに対するプロテオーム解析により鉄制限の分子機構を明らかにし、糖尿病治療および合併症予防への新規ストラテジーを提案する。</p> <p>近年、世界中で糖尿病患者が激増しており、その予防・治療対策は急務である。申請者らは、肥満を伴う2型糖尿病ラット(OLETF)の解析から、ミトコンドリア由来活性酸素による酸化ストレスの糖尿病発症ならびに進展における関与を世界に先駆けて明らかにしてきた。さらに、糖尿病患者で増加する遊離脂肪酸の一つであるパルミチン酸が、鉄誘発酸化ストレスを増悪することも明らかになりつつある。臨床的には、鉄過剰症であるヘモクロマトーシスでは、脂肪酸、糖尿病を併発し、慢性C型肝炎に対する瀉血療法は肝炎症だけでなく、インスリン抵抗性を改善させる。以上の成果から、本研究では、鉄制御による糖尿病発症抑制、合併症治療をストラテジーとした計画を立案した。具体的には、南山(府立大)が全体の研究総括を行い、内藤(府立医大)が酸化ストレス解析を、竹谷(工織大)が鉄代謝解析を分担し、3大学の研究者が連携して研究を推進した。</p>		

<p>研究の背景</p>	<p>国際糖尿病連合（IDF）の発表によると、世界の糖尿病人口は2007年で2億4610万人、2010年は2億8500万人と3年間で約4000万人近く増加している。さらに、耐糖能異常の人口はそれに1億5000万人多い有病者数である。また、20年後には4億3500万人を超えると想定されている。このように糖尿病は日本を含む全世界で、保健政策での重要な課題になっている。国連は2010年9月に、糖尿病などの非感染症を国連総会のハイレベル会合の議題に採択した。糖尿病は損失、死亡、失われた経済成長の原因になっている。もっとも効果的な対策は糖尿病を予防し早期発見・治療することである。</p> <p>申請者らは糖尿病と酸化ストレスの観点から鉄が酸化ストレスを亢進することによって糖尿病発症と合併症進展に関与しているのではないかと考えた。そこで、糖尿病治療をC型肝炎と同じように瀉血療法や低鉄食によって治療できないかどうかを検討し、この治療方法が有効であれば貧しい地域でも施行が可能であると考えた。C型肝炎では、肝臓に蓄積された鉄分により活性酸素が発生し、肝炎症状の悪化を招く。このため肝臓に蓄積された鉄分を減らすために通常は鉄分を含む食品を取らないようにして症状の悪化を食い止めたり、既に鉄分が過剰に蓄積されている状態では、通常の新陳代謝ではなかなか状態が改善しないので、瀉血によりヘモグロビンの形で多量の鉄を内部にもつ赤血球を体外に排出させ、体内の鉄の総量を減少させる治療が行われている。糖尿病でも同治療し、効果があれば医療費削減と社会的損失を回避することができる。このことを目的として、まず2型糖尿病ラットにおいてそれを証明し、詳細なヘム代謝と分子生物学機序を解明したい。さらに、普段の食生活で低鉄食を取り入れることで二次的合併症リスクも制御できるのではないかと考えた。</p>
<p>研究手法</p>	<p>1. 自然発症Ⅱ型糖尿病ラット(OLETFラット)における酸化ストレスと鉄代謝の関連を明確にする</p> <p>これまで申請者らは糖尿病と酸化ストレスの観点から、抗酸化物質による有効性やその分子論的機序を検討し報告してきた。本研究ではOLETFラット(大塚製薬供与)およびその対照であるLETOラットを飼育し、瀉血(Ph)や低鉄食(ID)により糖尿病進展を改善するかどうかを検討する。本ラットは25週齢で糖尿病を発症するので、低鉄になるのに2ヶ月必要なため、15週齢より低鉄食にする群または発症後の28週齢から週に1回4 ml瀉血する治療を行い、42週齢で犠牲死させる。群分けは体重やHbA1cで群間に差がないようにした。血液生化学的パラメーターの経時変化および心臓、大動脈、腎臓、肝臓など臓器重量や鉄沈着評価のための組織学的検索および各種免疫染色、酸化ストレスの指標として脂質過酸化修飾タンパクや活性酸素関連酵素(SOD, Catalase, GPxなど)およびNO関連酵素(eNOSなど)とその代謝物質(nitrotyrosine)、グルタチオンなどの抗酸化物質の量を解析する。鉄代謝解析として血清鉄、血漿フェリチン量(ELISA法)を測定する。その</p>

	<p>他、変化のあったタンパクから仮定できるシグナル伝達系に関して遺伝子発現の状況も検討する。</p> <p>2. 臨床応用への準備</p> <p>瀉血治療が有効であれば実際の臨床応用に向けて倫理委員会などの承認に向け体制を整える。</p>
<p>研究の進捗状況と成果</p>	<p>研究の進捗状況</p> <p>本研究の基礎実験についてはほぼ結果が得られつつあるので、今後は臨床応用へ向け準備を進めたい。</p> <p>研究成果</p> <p>1. 糖尿病病態では血漿フェリチンおよび肝のフェリチンH、臓器（肝、脾）に鉄含量多く、低鉄食投与や瀉血により糖尿病が改善されることが判明した。</p> <div data-bbox="459 913 1267 1200"> </div> <p>2. 低鉄食投与または瀉血によりヘモグロビンA1cおよび膵臓のインスリン分泌が正常化した。</p> <div data-bbox="466 1323 1295 1632"> </div> <p>3. 肝のミトコンドリアヘム代謝に及ぼす影響を検討した。</p> <p>ヘム合成系の初発反応を触媒し、本合成系の律速酵素である5-アミノレブリン酸合成酵素(5-aminolevulinate synthase: ALAS1)およびヘム分解酵素のヘムオキシゲナーゼ(HO-1)はOLETFで発現が亢進していた。低鉄食では本増加を著明に低下させた。ヘム合成最終酵素であるferrochelataseはOLETFとLETOと同程度であったが、低鉄食では低下、瀉血では亢進した。このことより、糖尿病病態で</p>

	<p>はヘムの合成、分解のアンバランスがおこっているが、低鉄食および瀉血ではそのアンバランスを是正していることが覗えた。</p> <p>4. 肝ミトコンドリア呼吸系酵素群のなかでは NADH-cytochrome c reductase 活性がOLETF での低下が認められたが、succinate dehydrogenaseとcytochrome c oxidaseの活性はLETOとOLETFではほとんど変化が無かった。</p> <p>5. 血漿、肝臓、膵臓では酸化ストレスの指標である過酸化脂質量は糖尿病では上昇し、低鉄食および瀉血で低下することが判明した。その他の酸化ストレスマーカーであるNε-(propanoyl)lysine (PRL), Nε-(hexanoyl)lysine (HEL)については現在解析中である。</p>  <p>以上のことより、糖尿病病態は鉄代謝異常による鉄過剰を伴い、それによって酸化ストレスが亢進し全身の合併症につながると考えられるため、治療には除鉄療法と抗酸化療法が有効であることが示唆された。</p>
地域への研究成果の還元状況	現時点では地域医師会や栄養士会などに還元できていないが、本研究の論文化や学会発表を通してまずは還元したいと考えている。
研究成果が3大学連携にもたらす意義	京都府立大学（動物モデルによる病態解明）および京都工芸繊維大学（ミトコンドリア機能とヘム代謝）による基礎的な糖尿病研究、京都府立医科大学による酸化修飾タンパク等のアプローチにより今後どのように臨床応用していくかという手がかりが得られ、その実現に向けても医大との連携は大きいと考えられる。
研究発表	第47回日本肝臓学会総会（東京）で一部発表した。