

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007～2008
課題番号：19500591
研究課題名(和文) 凝固線溶系からみた小児期メタボリックシンドロームの特徴と効果的介入法に関する研究
研究課題名(英文) A Study on Coagulation and Fibrinolytic Characteristics and Effective Interventions for Childhood Metabolic Syndrome
研究代表者
堀米 仁志 (HORIGOME HITOSHI)
筑波大学 大学院人間総合科学研究科 准教授
研究者番号：50241823

研究成果の概要：生活習慣病やメタボリックシンドロームの起源は胎児期から小児期にあると考えられているが、小児期における血液学的指標の標準値は確立されていない。健康な小学 4 年生の計 148 名（男児 71：女児 77 名）を対象とし、腹囲を含む身体計測、血圧測定と朝空腹時採血による凝固線溶系指標、アディポカインを含む血液検査を行った。腹部脂肪の蓄積と凝固促進・線溶低下を示す血液学的指標およびレプチンとの相関がみられた。これらが小児期からの病態進展に関与し、診断の鋭敏な指標となる可能性があると考えられた。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 2,900,000 | 870,000 | 3,770,000 |
| 2008年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学、応用健康科学

キーワード：生活習慣病、凝固線溶系

1. 研究開始当初の背景

日本経済のバブル期以降、幼児期から小学校低学年にかけての肥満児の頻度は著しく増加し、全学童の10%以上に達している。成人期のメタボリックシンドロームの起源は胎児期から小児期にあるということを裏付ける研究成果が増える中、我が国でも小児期メタボリックシンドロームの診断基準の確立が求められている。メタボリックシンドロ

ームは成人では内臓肥満（腹囲の増加）を前提として、それ以外に高血糖、脂質異常、高血圧の中から2つ以上を満たす場合に診断されるのが一般的であるが、他の血液生化学的指標も重要であり、脂肪細胞が分泌するアディポネクチンやレプチンなどのアディポカインのみならず、凝固線溶系指標、血管内皮機能の指標が注目されている。実際、凝固線溶系、内皮機能は動脈硬化病変の進展に密接

な関係があり、成人期メタボリックシンドロームの診断において重要なマーカーとなり得る。しかし、小児においてはこれらの指標の標準値すら十分に確立されているとは言えず、世界的に見ても知見が少ない。これらの指標の中には日内変動の大きいものがあり、指標として用いるために空腹時採血を必須とする項目もある。

2. 研究の目的

本研究は、健常小児を対象として血液生化学指標、アディポカイン、凝固線溶系・内皮機能の指標の基準値を確立し、BMIや生活習慣病の指標との関連を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

茨城県常総市(人口66,000人)の教育委員会および小中学校の校長会においてメタボリックシンドロームの概念と小児期からの介入の重要性についての説明会を行った。その後、保護者に対しても講演会を行い、研究の重要性を説明した。

研究対象は本人および保護者の同意が得られた健康な小学4年生148名(男児71:女児77名、BMI $18.1 \pm 3.3 \text{ kg/m}^2$)とした。

検査項目は1)身長、体重、腹囲、血圧(3回測定)、2)血液生化学指標:総コレステロール、HDL-コレステロール、空腹時血糖、インスリン、ALT、尿酸、高感度CRP、3)アディポカイン:アディポネクチン、レプチン、4)血液凝固線溶系指標:フィブリノーゲン、プロテインC抗原、フリープロテインS抗原、凝固第VII、X因子活性(FVII, FX)、トータルプラスミノゲン・アクチベータ・インヒビター-1(PAI-1)とした。検診当日は空腹時採血を徹底し、日内変動の影響を避けるため、すべて朝9:00~10:30に採血した。検体はその場で遠心分離、氷冷し、

測定まで -20°C 以下に冷凍して保存した。

<倫理面の配慮>

本研究は臨床研究に関する倫理指針(文部科学省・厚生労働省)を遵守し、筑波大学臨床研究倫理審査委員会の承認(平成18年10月26日付承認)を得た上で行った。はじめに保護者を対象として研究の重要性について講演会を開催して説明した。続いて研究の目的と方法を文書で説明し、個人情報に関して十分な配慮をすること、検診結果は本研究の目的以外には使用しないこと、研究会・学会や学術誌へ発表する際は個人を特定できない形式で行うこと、本研究への協力は個人の自由な意思に基づいたものであり、いつでも協力を撤回できることを伝え、書面で保護者の同意を得た上で行った。

<検討方法>

(1)上記の各項目について、全対象、男児、女児における最大値、最小値、平均±標準偏差、および5、10、50、90、95パーセンタイル値を求めた。

(2)全対象においてBMIが90パーセンタイル値以上の群と未満の群の2群に分け、血圧、生化学・アディポカイン・凝固・線溶系の各指標について両群の差の検定にはマン・ホイットニ検定を用いた。

(3)独立変数として、メタボリックシンドロームの診断と関連する腹囲、BMI、血圧(収縮期血圧、拡張期血圧のいずれか)、インスリン、トリグリセリド、HDL-コレステロールを選び、従属変数として生化学、アディポカイン、凝固・線溶系指標を選び、両者の相関を検討した。具体的には、後者が前者の何によって規定されているか、その因子をstepwise regressionを用いて検討した。

いずれも、 $p < 0.05$ を統計学的有意水準と

した。

4. 研究成果

(1) 体格、心拍数、血圧、血液学的指標の平均±標準偏差、範囲を表1に、およびそれぞれの指標の10、50、90パーセンタイル値について、表2示した。身体計測値に男女差はなかった。

表1.

| 検査項目 | Mean ± SD | (Min-Max) |
|---------------------------|--------------|-------------|
| 身長 (cm) | 135.5±6 | (117-149) |
| 体重 (kg) | 33.5±7.9 | (20-64.3) |
| BMI (kg/m ²) | 18.1±3.3 | (13.8-31.9) |
| 収縮期血圧 (mmHg) | 104.8±10.1 | (79-126) |
| 拡張期血圧 (mmHg) | 55.6±6.8 | (31-70) |
| 腹囲 (cm) | 62.8±9.5 | (49-94) |
| Total-cholesterol (mg/dL) | 180±27.1 | (119-282) |
| HDL-cholesterol (mg/dL) | 64.8±13.1 | (35-105) |
| LDL-cholesterol (mg/dL) | 106.5±24.9 | (67-201) |
| ALT (IU/L) | 17.9±18.9 | (7-179) |
| グルコース (mg/dL) | 93.9±6.3 | (76-109) |
| 中性脂肪 (mg/dL) | 66.8±41 | (19-230) |
| 尿酸 (mg/dL) | 4.44±0.9 | (2.3-7.3) |
| 第VII因子 (%) | 93.6±11.7 | (69-125) |
| 第X因子 (%) | 93.4±11.9 | (60-127) |
| FBG (mg/dL) | 236.9±47.4 | (122-393) |
| PAI-1 (ng/mL) | 26.7±16.5 | (10-97) |
| レプチン (ng/mL) | 6.04±5.64 | (0.8-28.4) |
| インスリン (μIU/mL) | 7.81±6.46 | (0.3-49.3) |
| プロテインC (%) | 94.6±17 | (62-166) |
| プロテインS (%) | 94.7±14 | (67-137) |
| 高感度CRP (ng/mL) | 779.2±2176.8 | (50-23,500) |

表2

| 検査項目 | 10th | 50th | 90th |
|---------------------------|-------|-------|-------|
| 身長 (cm) | 127.4 | 136 | 142.8 |
| 体重 (kg) | 26.1 | 31.3 | 45 |
| BMI (kg/m ²) | 14.7 | 17.3 | 22.7 |
| 収縮期血圧 (mmHg) | 91 | 106 | 117.1 |
| 拡張期血圧 (mmHg) | 47 | 56 | 65 |
| 腹囲 (cm) | 54.2 | 59.3 | 75.2 |
| Total-cholesterol (mg/dL) | 146.9 | 178 | 216.2 |
| HDL-cholesterol (mg/dL) | 49 | 62 | 84 |
| LDL-cholesterol (mg/dL) | 79.9 | 101 | 140 |
| ALT (IU/L) | 9 | 13 | 27.1 |
| グルコース (mg/dL) | 85.9 | 94 | 102.1 |
| 中性脂肪 (mg/dL) | 1.456 | 1.724 | 2.101 |
| 尿酸 (mg/dL) | 3.29 | 4.4 | 5.6 |
| 第VII因子 (%) | 78 | 94 | 108.4 |
| 第X因子 (%) | 76.6 | 94 | 108.4 |
| FBG (mg/dL) | 181.6 | 227 | 297.6 |
| PAI-1 (ng/mL) | 11 | 22 | 46.4 |
| レプチン (ng/mL) | 1.5 | 4.2 | 13.48 |
| インスリン (μIU/mL) | 2.27 | 6.27 | 15.7 |
| プロテインC (%) | 74 | 94 | 116 |
| プロテインS (%) | 75 | 95 | 113.4 |
| 高感度CRP (ng/mL) | 50 | 203 | 2030 |

(2) 全対象においてBMIが90パーセンタイル値以上の群(n=14)と未満の群(n=134)の2群に分けて差を検定した結果を表3に示した。

表3.

| 検査項目 | < 90 | >90 | p |
|---------------------------|--------------|---------------|--------|
| 身長 (cm) | 135.0±5.9 | 140.4±4.7 | 0.0009 |
| 体重 (kg) | 31.6±5.3 | 51.3±6.4 | 0.0001 |
| 収縮期血圧 (mmHg) | 104.2±10.1 | 109.8±9.4 | 0.060 |
| 拡張期血圧 (mmHg) | 55.4±6.7 | 57.8±7.7 | 0.353 |
| 腹囲 (cm) | 60.6±6.6 | 83.9±7.0 | 0.0001 |
| Total-cholesterol (mg/dL) | 179.4±27.3 | 185.6±24.6 | 0.329 |
| HDL-cholesterol (mg/dL) | 65.9±12.9 | 54.0±9.8 | 0.0002 |
| LDL-cholesterol (mg/dL) | 104.9±23.8 | 122.0±30.0 | 0.0284 |
| ALT (IU/L) | 14.8±9.0 | 47.7±46.4 | 0.0001 |
| グルコース (mg/dL) | 93.8±6.2 | 94.9±8.0 | 0.770 |
| 中性脂肪 (mg/dL) | 63.4±36.1 | 108.9±59.9 | 0.0011 |
| 尿酸 (mg/dL) | 4.3±0.9 | 5.1±1.0 | 0.0039 |
| 第VII因子 (%) | 92.3±11.1 | 105.6±11.3 | 0.0003 |
| 第X因子 (%) | 92.0±11.0 | 106.6±12.6 | 0.0001 |
| FBG (mg/dL) | 231.2±43.4 | 290.6±51.1 | 0.0001 |
| PAI-1 (ng/mL) | 24.6±14.1 | 46.3±23.5 | 0.0003 |
| レプチン (ng/mL) | 4.7±3.4 | 19.0±5.9 | 0.0001 |
| インスリン (μIU/mL) | 6.6±4.1 | 18.9±12.1 | 0.0001 |
| プロテインC (%) | 93.6±17.1 | 103.5±13.7 | 0.019 |
| プロテインS (%) | 93.7±13.3 | 103.5±17.3 | 0.057 |
| 高感度CRP (ng/mL) | 674.9±2212.6 | 1754.9±1547.1 | 0.0001 |

両群間に有意の差がみられた指標は、拡張期血圧、HDLコレステロール、LDLコレステロール、ALT、中性脂肪、尿酸、凝固第VII因子、凝固第X因子、フィブリノーゲン、トータルPAI-1、レプチン、インスリン、プロテインC、高感度CRPであった。

(3) Stepwise regression 解析により、生化学・アディポカイン・凝固・線溶系指標のなかでメタボリックシンドロームの構成要素と相関を認めたのは、レプチン、アディポネクチン、高感度CRPであった(表4)。

表 4 ステップワイズ解析による相関

従属変数：レプチン

| 独立変数 | パラメータ推定値 | 標準誤差 | P |
|------|----------|-------|--------|
| 腹囲 | 0.232 | 0.114 | 0.0001 |
| 中性脂肪 | 0.043 | 0.017 | 0.0007 |

従属変数：アディポネクチン

| 独立変数 | パラメータ推定値 | 標準誤差 | P |
|------|----------|-------|--------|
| 腹囲 | -0.320 | 0.200 | 0.0045 |

従属変数：高感度 CRP

[考案]

今回の研究は健常小児で構成される集団を対象としたため、BMI の 10 パーセンタイル=14.7、90 パーセンタイル=22.7、95 パーセンタイル=25.1 で、明らかな肥満児はほとんど含まれず、得られた値（特に 90 パーセンタイル未満のデータ）は小児（小学 4 年生）の標準データとして使用できると考えられる。また、身長、体重、腹囲、BMI、血圧は男女差がなかったため、男児、女児共通の基準値を設定できることが示唆された。

BMI が 90 パーセンタイル以上の小児では拡張期血圧、LDL コレステロール、中性脂肪、インスリン値が有意に高値を示し、メタボリックシンドローム診断基準に関連した項目が小児期からすでに変動していることを示している。メタボリックシンドローム診断基準には含まれない項目のなかでも、ALT、凝固第 VII 因子、第 X 因子、フィブリノーゲン、トータル PAI-1、レプチン、プロテイン C、高感度 CRP が有意に高値を示し、小児期からメタボリックシンドロームの進展に凝固亢進、線溶低下や炎症が関与していることを示唆している。また、レプチンの高値は内臓脂肪の蓄積が小児期からすでに始まっていることを示唆している。

PAI-1 を代表とする線溶系指標は日内変動を示すことが知られているが、今回の研究では採血時間を一定とし、さらに検診会場で血液検体を分離凍結処理しているため、正確な評価ができていていると考えられる。また、今回の研究は肥満児がほとんど含まれない健常幼児の集団を対象としているにもかかわらず、腹部脂肪の程度を反映してレプチンや凝固線溶活性が変動していることは、これらの血液学的指標がメタボリックシンドロームの診断に鋭敏な指標として小児期から使用可能であることを示唆している。

Stepwise regression を用いた解析では、レプチンが腹囲、中性脂肪、トータル PAI-1 と強い相関を認めたこと以外に、アディポネクチン、高感度 CRP が、腹囲、中性脂肪などメタボリックシンドローム構成要素に関連していることが示された。これらのことは、小児期からメタボリックシンドロームが進行する場合、凝固線溶系も関連する可能性を示唆している。

小児、特に幼児においては必ずしも腹囲が内臓脂肪の蓄積を反映しているとは限らない。脂肪組織を内分泌臓器と考える場合、内臓脂肪の量が問題となるが、小児では内臓脂肪、皮下脂肪の区別が成人ほどには意味を持たず、むしろ全身の脂肪量を指標とした方が適切かもしれない。この年代において、肥満の指標として腹囲と BMI のどちらが優れているかは明確にはなっていない。

[結語]

本研究における生活習慣病関連血液データは小児期メタボリックシンドロームのスクリーニングに役立つことが期待される。また、小児期でも肥満がみられる場合は、インスリン抵抗性のみならず、アディポカインの変動、凝固促進、線溶低下の傾向があり、小児期からメタボリックシンドロームが進展

し得ることが示唆された。

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7件)

(1)Iwasaki Y, Horigome H, Takahashi M, Kato Y, Razzaque MA, Matsuoka R. Coronary artery dilatation in LEOPARD syndrome. A child case and literature review. **Congenital Heart Disease** 2009;4:38-41. (査読有り)

(2)Miyamoto T, Horigome H, Kawano S, Sumazaki R. Apical hypertrophic cardiomyopathy in childhood: A long-term follow-up report of two cases. **Pediatric Cardiology** 2009;30:343-346(査読あり)

(3)加藤愛章、堀米仁志、高橋実穂、平松祐司、仁科秀崇、舩山康則. **日本小児循環器学会雑誌** 2009;25:56-60(査読あり)

(4) Katayama Y, Horigome H, Takahashi H, Tanaka K, Yoshinaga M. Determinants of blood rheology in healthy adults and children using the microchannel array flow analyzer. **Clin Appl Thromb Hemost** 2009(in press) (査読あり)

(5)Horigome H, Iwashita H, Yoshinaga M, Shimizu W. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology** 2008;19:334-335(査読有り)

(6)Seki Y, Kandori A, Kumagai Y, Ohnuma M, Ishiyama A, Ishii T, Nakamura Y, Horigome H, Chiba T. **The Review of scientific instruments** 2008 ;79:36106(査読有り)

(7)Murakami T, Horigome H, Tanaka K, Nakata Y, Katayama Y, Matsui A. Effects of diet with or without exercise on leptin and anticoagulation proteins levels in obesity. **Blood Coagul Fibrinolysis** 2007;18: 389-394(査読あり)

〔学会発表〕(計3件)

(1)堀米仁志、片山靖富、宮本朋幸、吉永正夫. 幼児におけるメタボリックシンドローム関連指標と血液凝固系. **第55回日本心臓病学会学術集会** 2007年9月10日(浦安)

(2)堀米仁志、片山靖富、宮本朋幸、花木啓二、吉永正夫. 幼児におけるメタボリックシンドローム関連指標と血液凝固線溶系. **第111回小児科学会学術集会** 2008年4月26日

(東京)

(3)堀米仁志、片山靖富、宮本朋幸、花木啓二、吉永正夫. 幼児における生活習慣病関連指標の基準値. **第111回小児科学会学術集会** 2008年4月26日(東京)

〔図書〕(計1件)

(1)堀米仁志、メタボリックシンドロームと血栓. 五十嵐隆編、**小児科ピクシス(小児メタボリックシンドローム)** 2009、中山書店、東京、102-105

6. 研究組織

(1)研究代表者

堀米 仁志 (HORIGOME HITOSHI)
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号: 50241823

(2)研究分担者

花木 啓一 (HANAKI KEIICHI)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号: 20238041

嶋田 知博 (KAMODA TOMOHIRO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号: 50224704

(3)連携研究者

なし