

博士学位論文

成人肥満男性における生活習慣改善が動脈ステイ
フネスおよび血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響

令和元年度

筑波大学大学院人間総合科学研究科スポーツ医学専攻

朴 志娟

目次

研究業績

第1章 序論

1-1 本研究の背景	1
1-2 本研究の目的	3
1-3 本研究の仮説	3

第2章 文献研究

2-1 肥満	4
2-1-1 肥満と心血管疾患	4
2-1-2 肥満と炎症	5
2-2 動脈ステイフネス	6
2-2-1 動脈の構造・機能	6
2-2-2 動脈ステイフネスとは	7
2-2-3 動脈ステイフネスの評価	7
2-2-4 動脈ステイフネスと肥満	9
2-2-5 動脈ステイフネスと脂肪組織	10
2-2-6 動脈ステイフネスと炎症	11
2-2-7 動脈ステイフネスと食習慣改善	12
2-2-8 動脈ステイフネスと有酸素性運動	13
2-3 ANGPTL2	15
2-3-1 ANGPTL2 とは	15
2-3-2 ANGPTL2 と肥満	16

2-3-3	ANGPTL2 と心血管疾患	17
2-3-4	ANGPTL2 と生活習慣の改善	18
第 3 章	課題設定	19
第 4 章	研究課題 1: 肥満男性における脂肪と動脈スティフネスの関連性に関する検討：内臓脂肪、筋細胞内脂肪・筋細胞外脂肪における検討	
4-1	諸言	21
4-2	方法	22
4-3	結果	26
4-4	考察	30
4-5	まとめ	32
第 5 章	研究課題 2: 肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスの関連性に関する検討	
5-1	諸言	33
5-2	方法	34
5-3	結果	37
5-4	考察	41
5-5	まとめ	42
第 6 章	研究課題 3: 肥満男性における生活習慣の改善が血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスに及ぼす影響の検討	

6-1 諸言	43
6-2 研究課題 3-1：肥満男性における食習慣改善が動脈ステイフネスと 血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響	
6-2-1 目的	44
6-2-2 方法	44
6-2-3 結果	49
6-2-4 考察	55
6-2-5 まとめ	57
6-3 研究課題 3-2：肥満男性における定期的な有酸素性運動が動脈ステイフネ スと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響	
6-3-1 目的	58
6-3-2 方法	58
6-3-3 結果	63
6-3-4 考察	69
6-3-5 まとめ	71
第7章 総合討論	72
第8章 結論	76
謝辞	77
参考文献	78

研究業績

本博士論文は、下記の研究業績に未発表の実験結果がまとめられている。

【原著論文】

Jiveon Park, Youngju Choi, Kanae Myoenzono, Toru Yoshikawa, Kaname Tagawa, Tomonori Isobe, Kousaku Saotome, Yoshiyuki Sankai, Nobutake Shimojo and Seiji Maeda. Effects of aerobic exercise training on the arterial stiffness and intramyocellular or extramyocellular lipid in overweight and obese men. *Clin Exp Hypertens*. 2019 Aug 8: 1-7. DOI: 10.1080/10641963.2019.1649686.

Jiveon Park, Youngju Choi, Ryoko Mizushima, Toru Yoshikawa, Kanae Myoenzono, Kaname Tagawa, Masahiro Matsui, Kiyoji Tanaka and Seiji Maeda. Dietary modification reduces serum angiopoietin-like protein 2 levels and arterial stiffness in overweight and obese men. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2019: 23(3): 39-44.

第1章 緒言

1-1 研究の背景

WHO (World Health Organization)によると、全世界の18歳以上の成人の39%が過体重あるいは肥満に分類され、肥満はこの40年間で約3倍に増加している (WHO, 2018)。日本人における肥満の割合は、男性が31.3%、女性が20.6%であり、特に男性の肥満者が増加していることが報告されている (厚生労働省, 2017)。現在、肥満は世界の主要な健康問題の一つであり、インスリン抵抗性や糖尿病などの代謝疾患と密接に関係するだけでなく、心血管疾患の独立した危険因子でもある (Jia et al., 2015)。また、肥満は心血管疾患の強力な危険因子である動脈スティフネスの増大を引き起こす (Zebekakis et al., 2005; Safar, 2006)。

肥満による脂肪組織の増大は、脂肪細胞の機能障害を引き起こし、内臓脂肪や骨格筋、心臓、肝臓などの周辺に蓄積する異所性脂肪の増加を促進させる (Després JP & Lemieux I., 2006; Van Gaal et al., 2006)。これまでに内臓脂肪は心血管疾患の強力な危険因子である動脈スティフネスと密接に関連し、肥満者における内臓脂肪の蓄積は動脈スティフネス増大の予測因子になることが明らかにされている (Strasser et al., 2015)。近年、内臓脂肪とは別に、心血管疾患の危険因子として異所性脂肪の増加が注目されている。健常者において、内臓脂肪と心臓の外膜に蓄積される心外膜脂肪 (Epicardial adipose tissue: EAT) は、代謝・循環疾患 (Cardiometabolic disease) に関係する因子と関連性があることが報告されている (Elianne et al., 2014)。また、心血管疾患患者において、EATの増加は動脈スティフネスを増加させることが報告されている (Ai-Talabany et al., 2018)。さらに、糖尿病患者や標準体重者を対象とした研究では、骨格筋内に蓄積されている異所性脂肪は頸動脈内膜中膜複合体厚 (carotid intima-media thickness: C-IMT) や動脈スティフネスと関連することが示されている (Kim et al., 2010; Hasegawa et al., 2015)。これらのことから、異所性脂肪は動脈スティフネスと関連している可能性が示唆されているが、

肥満者における異所性脂肪と動脈スティフネスの関連性については全く明らかになっていない。

肥満による動脈スティフネスの増大は、脂肪の増加に伴う慢性的な炎症状態が原因の一つと考えられる。肥満による脂肪組織の肥大は、脂肪細胞の機能障害や炎症を引き起こし、脂肪細胞での炎症性アディポカインの産生を増加させる (Ouchi et al., 2011)。肥満者は標準体重者と比較して炎症性アディポカインが増加しており、このことが動脈スティフネスの増大と関連していることが報告されている (Safar., 2006; Mathieu et al., 2010)。近年、肥満と密接に関連し、血管の炎症を引き起こす炎症性アディポカインである angiopoietin-like protein 2 (ANGPTL2) が注目されている。ANGPTL2 は主に脂肪組織で発現し、肥満モデルマウスや肥満者で ANGPTL2 の産生が増加していることが報告されている (Tabata et al., 2009; Kim et al., 2018)。また、ANGPTL2 は血管内皮障害やアテローム性動脈硬化と関連していることから (Horio et al., 2014)、肥満者における動脈スティフネスの増大に ANGPTL2 が影響を与えている可能性が考えられる。しかし、肥満者における ANGPTL2 と動脈スティフネスの関連性に関しては全く不明である。

これまでに、肥満者における食習慣改善や定期的な有酸素性運動は、動脈スティフネスを改善させることが明らかにされているが (Maeda et al., 2015)、そのメカニズムは不明な点が多い。一方、肥満者における体重減少が血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが報告されているが (Muramoto et al., 2011)、肥満者における食習慣改善や定期的な有酸素性運動による動脈スティフネスの低下に、血中 ANGPTL2 濃度の変化が関与するかについては明らかになっていない。

1-2 研究の目的

本研究では、成人肥満男性における脂肪組織、動脈ステイフネス、血中 ANGPTL2 濃度について検討することを目的とした。さらに、成人肥満男性における食習慣改善または定期的な有酸素性運動による生活習慣の改善が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。

1-3 研究の仮説

成人肥満男性における脂肪組織の蓄積（内臓脂肪及び異所性脂肪）は、動脈ステイフネスと関連性がある。また、成人肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度と動脈ステイフネスは関連性があり、生活習慣の改善（食習慣の改善または定期的な有酸素性運動）による動脈ステイフネスの変化に血中 ANGPTL2 濃度の変化が関連する。

第2章 文献研究

2-1 肥満

2-1-1 肥満と心血管疾患

世界保健機関（WHO）によると、肥満は全世界で高い頻度で発生し、この40年間で約3倍に増加し、年齢や性別に関係なく増えている（WHO, 2018）。また、日本においても肥満はこの40年間で増加し、肥満の割合は男性が31.3%、女性が20.6%である。特に、男性の肥満者が増加していることが報告されており（厚生労働省, 2017b）、深刻な社会問題となっている。追跡研究によると、過体重あるいは肥満者では心血管疾患の罹患率および死亡率が上昇することが報告されている（Twig et al., 2016）

（Figure 2-1）。心血管疾患は、心臓・血管などの循環器における疾患で、世界の死亡率で最も高い疾患である。日本においても、心血管疾患は、死因全体の約4分

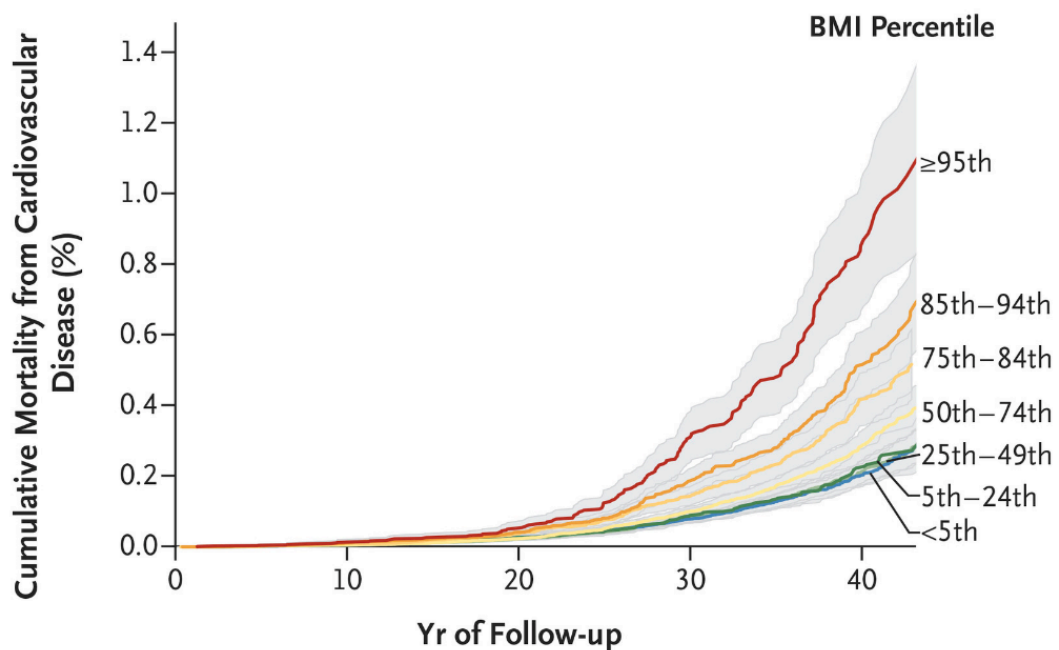


Figure 2-1. BMI and subsequent cardiovascular mortality (Twig et al., 2016)

の1を占めている(厚生労働省, 2017a)。実際、肥満は糖尿病や心血管疾患の発症リスクを高めることが報告されており (Gaal et al., 2006)、心血管疾患の独立した危険因子であることが数多く報告されている (Hubert et al., 1983; Czernichow et al., 2001)。

2-1-2 肥満と炎症

脂肪組織は、leptin、adiponectin、interleukin-6 (IL-6)、tumour necrosis factor- α (TNF- α) のような様々なサイトカインや生理活性因子を分泌する内分泌器官である。脂肪組織から分泌されるサイトカインは、体重の恒常性だけでなく、インスリン抵抗性、脂質レベル、血圧、炎症、血管内皮細胞の障害やアテローム動脈硬化症の発症にも関与することが報告されている (Ntaios et al., 2013)。肥満による過度な脂肪組織の増大は、炎症性アディポカインの分泌を増加させ、全身の慢性的な炎症状態を引き起こす。特に、内臓脂肪組織の増加は、動脈硬化を促進する多様な炎症性アディポカインを産生し、メタボリックシンドロームや心血管疾患の発症と関連していることが報告されている (Mahabadi et al., 2009; Farb & Gokce, 2015)。したがって、肥満による慢性炎症は、心血管疾患リスクの重要な原因の一つであることが示唆されている (Mathieu et al., 2010)。

2-2 動脈スティフネス

2-2-1 動脈の構造・機能

動脈は、血液を心臓から末梢に送り出す血管で、弾性動脈、筋性動脈、細動脈に分類される。心臓が押し出した血液の流れる管で、その高い圧力に耐えるため、動脈壁は外膜・中膜・内膜の3層の膜から構成されている (Figure 2-2)。また、柔軟性に富むため、心臓の収縮時と拡張時の血圧の差を吸収できるようになっている。外膜は、主に結合組織によって構成され、血管の保護や血管を調節する神経と血管自体の栄養を司る血管を受け入れる役割を有する。中膜は、血管平滑筋や弾性線維および膠原線維によって構成され、血管の収縮および弛緩を調節する役割を持つ。内膜は、内皮細胞と結合組織によって構成され、内側には内皮細胞がある。血管内皮細胞は血液と平滑筋層間の隔壁の役割を有するとともに、様々な血管作動性物質を産生および分泌し、血管機能の維持において重要であることが報告されている (Michiels., 2003)。

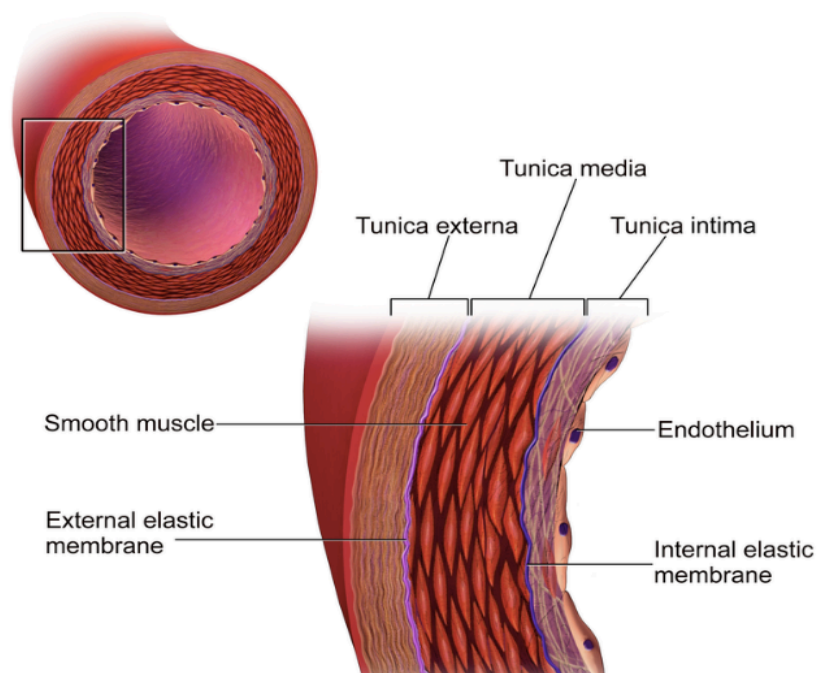


Figure 2-2. Structure of artery (Blausen.com staff., 2014)

2-2-2 動脈スティフネスとは

動脈スティフネス (Arterial stiffness) は、動脈が硬くなることである。伸展性の高い動脈は、左心室の収縮期に拍出された血液により生じる拍動流成分を緩衝することで、末梢動脈に伝わる血流を平滑化して収縮期血圧の上昇および左室後負荷の増加を抑制する。しかし、動脈スティフネスが増加すると、収縮期血圧の上昇および左室後負荷の増加を引き起こす。

動脈スティフネスは、動脈壁の器質的・構造的な異常だけでなく、血圧などの外的要因に伴う機能的・可逆的な変化を反映する。動脈スティフネスは、主に動脈壁の中膜の状態の影響を受け、長年にわたって続く動脈壁への周期的な拍動性ストレスが中膜の弾性線維の劣化や変性を引き起こす。動脈スティフネスの増加は、加齢に伴う血圧の上昇が重要な原因であるが、高血圧、糖尿病、脂質異常、肥満、神経ホルモン系の活性、酸化ストレス、炎症なども影響を与えることが報告されている (Zieman et al., 2005; Shirwany & Zou, 2010)。また、動脈スティフネスは、血圧に独立して脳梗塞、冠動脈疾患、心不全などの心血管疾患の予測因子になることが明らかにされている (Laurent et al., 2001)。これらのことから、動脈スティフネスの増大を抑制することは、心血管疾患リスクを軽減するために重要になる。

2-2-3 動脈スティフネスの評価

脈波伝播速度

心臓から駆出された血液によって発生した大動脈内の拍動 (脈波) は、動脈伸展性の影響を受けて動脈壁に沿って末梢に伝播される。脈波伝播速度 (pulse wave velocity: PWV) は、この脈波が伝わる速度を表す指標であり、動脈の硬さあるいは伸展性を評価する方法である。血管の伸展性が保たれている場合、動脈脈波の伝播はゆっくりであるが、動脈壁が硬く、厚く、血管内径が小さく、血液密度が小さいほど、PWV

は速くなる。また、血圧が高いほど、血管壁張力が増加し、コンプライアンスが低下するので PWV が速くなる。現在、PWV が動脈ステイフネスを評価する最も簡便で再現性がある方法として、近年、臨床現場でもよく使われている。

PWV は体表面で測定可能な部位 2 箇所（頸動脈と大動脈）で脈波を記録し、2 点間の距離と動脈の時間差から PWV を算出する（Figure 2-3）。中心動脈ステイフネスの指標として頸動脈-大動脈間 PWV（carotid-femoral PWV: cfPWV）、全身の動脈ステイフネスの指標として上腕-足首間 PWV（brachial-ankle PWV: baPWV）がある。また、baPWV と cfPWV は高い相関関係があることが報告されている（Tanaka et al., 2009）。

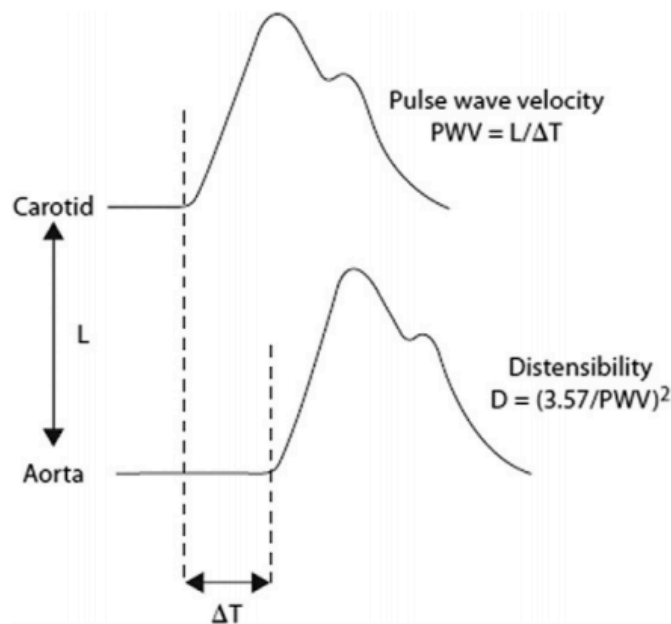


Figure 2-3. Measurements of arterial stiffness and distensibility

(Cavalcante et al., 2011)

頸動脈エコー検査

頸動脈エコー検査による動脈伸展性の評価の指標として、動脈コンプライアンスと β -ステイフネスインデックスがある。頸動脈は、弾性動脈である中心動脈で測定

可能な部位であることから、中心動脈スティフネスの評価として、よく用いられている。動脈コンプライアンスと β -スティフネスインデックスは、得られた画像から血管径を測定し、血圧変化に対する血管径の変化により算出する。動脈コンプライアンスは数値が高いほど、 β -スティフネスインデックスは数値が低いほど動脈伸展性が高いことを意味する。 β -スティフネスインデックスは計算式により血圧の影響を最小化した算出方法である。

2-2-4 動脈スティフネスと肥満

肥満は、中心および末梢動脈スティフネスを増大させることが明らかにされている。動脈スティフネスは加齢の影響が強いが、同じ年齢の標準体重者より過体重者あるいは肥満者で動脈スティフネスが高いことが報告されている (Schiffirin, 2004) (Figure 2-4)。

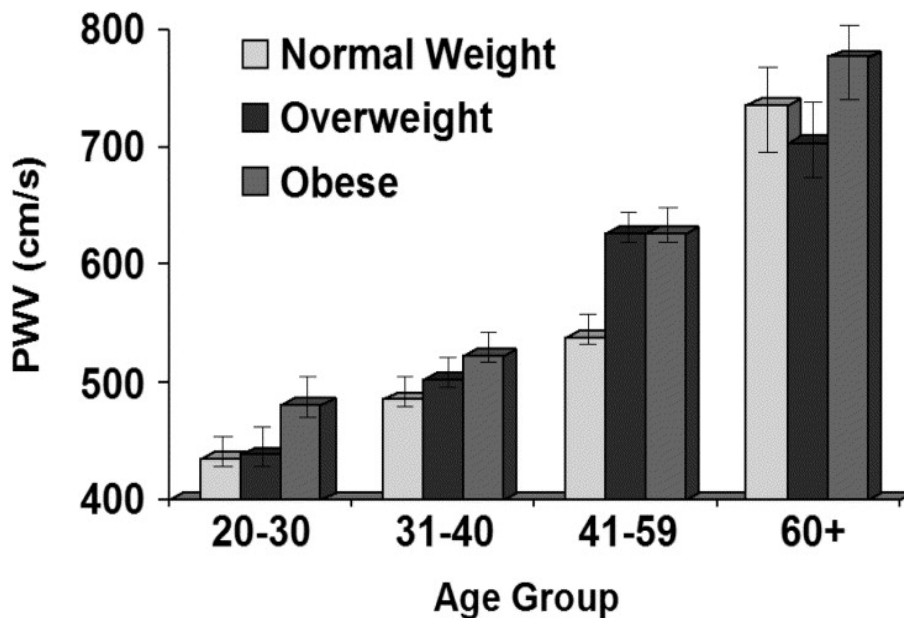


Figure 2-4. PWV in obese, overweight, and normal weight individuals

(Schiffirin, 2004)

肥満者における長期間の追跡研究によると、動脈スティフネスの指標である PWV が高いほど心血管疾患の罹患率および死亡率のリスクが増加することが報告されている (McGee., 2005)。また、成人を対象とした研究 (Sutton-Tyrrell et al., 2001; Wildman et al., 2003) や子供を対象とした研究において (Tounian et al., 2001)、肥満者は血圧レベル、人類、年齢と独立して大動脈スティフネスと関連性があることが報告されている。

2-2-5 動脈スティフネスと脂肪組織

動脈スティフネスの増加は、BMI よりウエスト周囲径や内臓脂肪の増加とより高い関連性を示すことが報告されており (Czernichow et al., 2005; Hegazi et al., 2003)、内臓脂肪の増加は、動脈スティフネスの危険因子になる可能性が示されている。また、内臓脂肪細胞は、脂肪分解活性 (lipolytic activity) を増加させ、門脈を通じて遊離脂肪酸を放出させる。これらは肝臓、心臓、骨格筋などに蓄積する異所性脂肪の蓄積を増加させる (Safar et al., 2006)。近年、異所性脂肪の蓄積も動脈スティフネスおよび心血管系のリスクと関連している可能性が示されている。健常者において、内臓脂肪と心臓の外膜に蓄積される心外膜脂肪 (Epicardial adipose tissue: EAT) は、代謝・循環疾患 (Cardiometabolic disease) と関連する因子と関連性があることが報告されている (Elianne et al., 2014)。また、EAT は、心血管疾患患者で増加し、動脈スティフネスと関連性があることが報告されている (Ai-Talabany et al., 2018)。肝臓に脂肪が蓄積することから生じる非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) においても、動脈スティフネスが増大していることが報告されている (Chou et al., 2015)。また、糖尿病患者や標準体重者を対象にした研究では、骨格筋内に蓄積されている筋細胞内脂肪および筋細胞外脂肪は、頸動脈内膜中膜複合体厚 (carotid intima-media thickness, C-IMT) や動脈スティフネスと関連することが示さ

れている (Kim et al., 2010; Hasegawa et al., 2015)。これらのことから、全身の脂肪の蓄積が動脈スティフネスを増大させるだけでなく、脂肪の蓄積部位も動脈スティフネスの増大に影響を及ぼす可能性が示されている。

2-2-6 動脈スティフネスと炎症

炎症は、動脈壁のスティフネスの増大に重要な役割を果たすことが明らかにされている (Park & Lakatta., 2012; Patel et al., 2011)。炎症は、アテローム性動脈硬化 (atherosclerosis)、動脈硬化症 (arteriosclerosis)、内皮機能障害、平滑筋細胞遊走 (smooth muscle cell migration)、血管石灰化、マトロプロテイナーゼ活性の増加、細胞外マトリクス分解 (extracellular matrix degradation)、酸化ストレス、弾力線維分解 (elastolysis)、コラーゲン分解と関連していることが報告されている (Savoia et al., 2011)。現在、多くの研究において、動脈のスティフネスと様々な炎症性マーカー (white blood cell count, neutrophil/lymphocyte ratio, adhesion molecules, fibrinogen, C-reactive protein, cytokines, microRNAs, cyclooxygenase-2 など) に関する検討が行われている (Park & Lakatta., 2012)。炎症性サイトカイン発現の増加は、内皮機能の障害や血管の炎症を引き起こすことにより、動脈スティフネスの増大と関連することが明らかにされている。全身の炎症状態を表す指標である C-reactive protein (CRP) は、内皮機能障害と関連し、心血管系リスクの独立した予測因子であることが明らかにされている (Piccardi et al., 2017)。さらに、McEniery らは、20 年間の追跡研究の結果、血圧、CRP、グルコース、ウエストサイズが動脈スティフネスの指標である PWV の独立した予測因子であることを報告し (McEniery et al., 2010)、慢性的な炎症状態も動脈スティフネスの発症に重要な因子であることが示唆されている。一方、炎症の減少は、動脈スティフネスを低下させることが報告されている。関節リウマチの患者における anti-tumor necrosis factor- α の治療は、PWV を有意に低下させ (Maki-

Petäjä et al., 2006)、炎症性マーカーが動脈ステイフネスの変化に関与する可能性が示されている。

2-2-7 動脈ステイフネスと食習慣

食習慣の改善およびサプリメントや食品の摂取が動脈ステイフネスに及ぼす影響に関する研究は多く報告されている。特に、肥満は動脈ステイフネスの増大と密接に関連しており、肥満者において動脈ステイフネスを改善するためには、生活習慣による減量が重要である。先行研究によると、肥満者における食習慣改善（カロリー制限）による体重の減少は動脈伸展性および血管内皮機能を改善させることが明らかにされている（Miyaki et al., 2009a）。また、健常者や糖尿病患者におけるカロリー制限介入により、収縮期血圧および拡張期血圧、平均血圧が低下することが報告されている（Raitakari et al., 2004; Ruggenenti et al., 2017）。さらに、メタアナリシスによると、長期間のヘルシーな食習慣改善は、血管作動性メディエーターの生物学的利用度を増加させ、酸化ストレスや炎症性物質を低下させることで、血管機能を改善させることが報告されている（Pase et al., 2011）。

サプリメントや食品に関する研究では、omega(ω)-3、soy isoflavones、カフェイン、ラクトバチルス・ヘルベティカス（*Lactobacillus helveticus*）発酵乳の摂取、塩分の制限が動脈ステイフネスに影響を与えることが報告されている。過体重、メタボリックシンドローム、糖尿病や高血圧患者における omega(ω)-3 fatty acids の摂取は、動脈ステイフネスを改善させることが明らかにされている（Pase et al., 2011）。また、閉経後の女性におけるラクトトリペプチド（LTP）の定期的な摂取は、頸動脈コンプライアンスや血管内皮機能を改善させること（Yoshizawa et al., 2009; Yoshizawa et al., 2010）、高血圧患者における LTP 摂取は血圧および PWV を低下させる（Cicero et al., 2011）ことが報告されている。

2-2-8 動脈スティフネスと有酸素性運動

非活動（セデンタリーな生活）と比較して、身体活動を増やすと心血管疾患は 35% 減少し、総死亡率は 33% 減少することが報告されている (Nocon et al., 2008)。また、身体活動は心血管疾患の死亡率や冠動脈疾患のリスクと負の関連性があることが報告されている (Schuler et al., 2013)。運動は心血管疾患の危険因子である体重、血圧、血中の脂質レベルだけでなく、血管内皮機能、動脈のリモデリングやコンプライアンスなどの血管血行動態にも影響を与えることが多数の研究にて明らかにされている。さらに、様々な運動のタイプ（有酸素性運動、レジスタンス運動、またはコンバインド運動）は血管内皮機能や動脈スティフネスに効果的であることが報告されている (Munk et al., 2009; Olson et al., 2006; Vona et al., 2009)。有酸素性運動は強度に関係なく、動脈スティフネスを低下させるが (Sugawara et al., 2004; Sugawara et al., 2006)、高強度のレジスタンス運動は動脈スティフネスを増加させること (Miyachi et al., 2004) が報告されている。すなわち、運動タイプにより、血管機能や動脈スティフネスへの効果は異なる可能性があると考えられるが、まだ一致した見解は得られていない。

心肺体力は動脈スティフネスと関連性があり (Fernberg et al., 2017)、持久系のアスリートは、運動習慣の無い者に比較して、動脈スティフネスが低いことが報告されている (Edwards & Lang, 2005)。また、定期的な有酸素性運動を実施している中高齢者は、運動習慣のない同じ年齢の人と比較して、動脈スティフネスが低いことが報告されている (Tanaka et al., 2003; Moreau et al., 2006)。肥満者における有酸素性運動トレーニングは動脈スティフネスおよび血管内皮機能を改善させることが報告されている (Miyaki et al., 2009b)。メタアナリシスによると、有酸素性運動介入は動脈スティフネスを有意に減少させるが、有酸素性運動トレーニングの効果は、ベースラインの動脈スティフネスのレベル (PWV > 8m/s) が高い人ほど、介入期間が長いほ

ど PWV の減少が大きいことが報告されている (Ashor et al., 2014)。有酸素性運動トレーニングが動脈ステイフネスを改善させるメカニズムとしては、有酸素性運動による一酸化窒素 (NO) 活性の増加やエンドセリン-1 (ET-1) の低下 (Van Guilder et al., 2007; Taddei et al., 2000)、炎症性アディポカイン (IL-6、TNF- α) の減少や抗炎症性サイトカイン (IL-4、IL-10) の増加が (Teixeira-Lemos et al., 2011) 動脈ステイフネスの変化に関与する可能性が報告されている。

2-3 ANGPTL2

2-3-1 ANGPTL2 とは

アンジオポエチン様タンパク質(ANGPTL, Angiopoietin-like protein)は、血管新生因子であるアンジオポエチンの構造上の特徴である coiled-coil ドメインと fibrinogen-like ドメインを有する分泌型タンパク質で、これまでに7種類の ANGPTL が同定されている (Figure 2-5)。

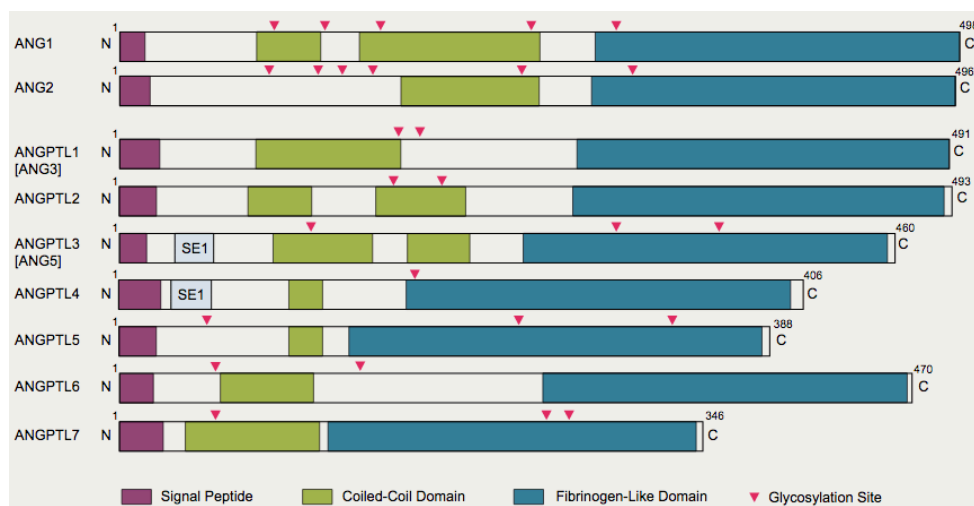


Figure 2-5. Angiopoietin [ANG] and ANGPTL protein structures

ANGPTL ファミリーは、それぞれアンジオポエチンとは異なる生理学的な機能を有することが報告されている。ANGPTL ファミリーの多様な生理学的作用は、メタボリックシンドロームなどの生活習慣病や癌の新しい治療標的として注目されている。ANGPTL3 や ANGPTL4 は脂質代謝 (Hato et al., 2008)、AGF (Angiopoietin-like growth factor)/ANGPTL6 はエネルギーや糖代謝において重要な役割を果たすことが報告されている (Oike et al., 2004)。一方、ANGPTL2 は血管新生に関与し、組織修復を介して生体の恒常性を維持することが生理学的な役割である (Kadomatsu et al., 2014)。

しかし、生体の内的および外的なストレスによる ANGPTL2 の持続的な産生は、局所の慢性炎症に関連する様々な疾患の病態の発症や進展へ関与し、肥満、動脈硬化に関与している可能性が報告されている (Horio et al., 2014; Oike & Tabata, 2009)。また、癌においては、発癌、癌細胞浸潤や転移促進因子として機能することも報告されている (Aoi et al., 2011)。ANGPTL2 による慢性炎症誘導の分子メカニズムとして、ANGPTL2 は $\alpha 5 \beta 1$ インテグリンを介して血管内皮細胞に作用し、低分子量 Rho GTPase である Rac を活性化することで細胞の運動能を促進するだけでなく、nuclear factor- κ B (NF- κ B) の抑制因子である nuclear factor- κ B (I κ B) の分解とそれに続く NF- κ B の核内移行を促進することで、炎症関連遺伝子の発現を活性化させ、組織リモデリングを促進することが明らかにされている (Oike & Tabata, 2009)。ANGPTL2 の受容体については、B 細胞や骨髄系細胞などで発現される leukocyte immunoglobulin-like receptor B2 (LILRB2) が同定された (Zheng et al., 2012)。LILRB2 を介した ANGPTL2 シグナルは造血幹細胞や白血病幹細胞の分化制御、幹細胞性維持と関連することが報告されている (Zheng et al., 2012)。

2-3-2 ANGPTL2 と肥満

ANGPTL2 は、身体の様々な組織から分泌されるが、特に脂肪組織で多く発現していることが明らかにされている (Tabata et al., 2009; Kim et al., 2018)。脂肪組織から分泌される ANGPTL2 は、血管新生促進、脂肪細胞やマクロファージから分泌される matrix metalloproteinases (MMPs) の活性を増加し、脂肪組織の可逆的リモデリングにおいて重要な役割を有することが報告されている (Kodamatsu et al., 2014)。先行研究によると、高脂肪食負荷の肥満マウスの脂肪組織では、血管の炎症やマクロファージ浸潤が促進されることが明らかにされている (Sun et al., 2011)。また、ANGPTL2 KO のマウスでは、脂肪組織へのマクロファージの浸潤や IL-6、TNF- α の

炎症性サイトカインが減少し、脂肪組織内の炎症が改善することが明らかにされている (Tabata et al., 2009)。これらの結果より、脂肪組織から分泌される ANGPTL2 は、脂肪組織内で慢性的な炎症を惹起する可能性が示されている。

2-3-3 ANGPTL2 と心血管疾患

ANGPTL2 は脂肪組織で多く発現し、血管の炎症を引き起こすことが明らかにされている。日本人成人男女における長期間の追跡調査の結果では、血中 ANGPTL2 濃度が高いほど、心血管疾患の発症率が高いことが報告されている (Figure 2-6) (Hata et al., 2016)。これらの結果より、血中 ANGPTL2 濃度の上昇は、新しい心血管疾患の予測マーカーになる可能性が示された。また、冠動脈疾患患者や血管内皮機能障害を有する者では、血中 ANGPTL2 濃度が上昇していることが示されている (Tabata et al., 2009)。加えて、健常な若年者と比較して心血管リスクおよび心血管疾患を有する者の血管組織、特に動脈硬化プラークで ANGPTL2 が多く発現していることが報告されている (Farhat et al., 2013)。

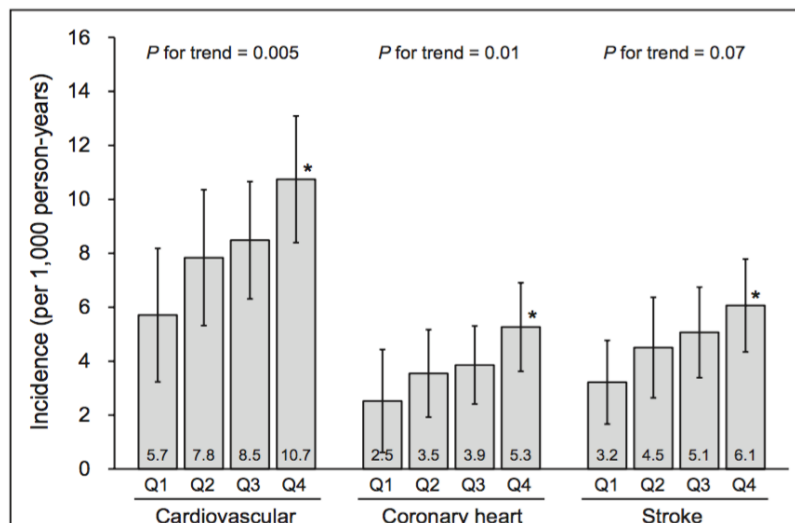


Figure 2-6. Incidence rates of cardiovascular disease and quartiles of serum

ANGPTL2 concentration (adjusted Age and Sex). (Hata et al., 2016)

一般的に、血管内皮細胞における ANGPTL2 の分泌が増加することで、生体の応答機構として血管組織のリモデリングが誘導される。しかし、心血管疾患発症の高リスク病態の持続により、血管内皮細胞における ANGPTL2 の分泌が持続することで、血管組織の慢性炎症や不可逆的なリモデリングが引き起こされ、血管内皮機能障害や動脈硬化性プラーク形成が促進される。

2-3-4 ANGPTL2 と生活習慣の改善

Muramoto らは、肥満者において減量を目的とした 12 週間の生活習慣改善カウンセリングプログラムを実施した結果、血中 ANGPTL2 濃度が有意に減少したことを報告した (Muramoto et al., 2011)。また、血中 ANGPTL2 濃度の減少は、体重や脂肪の減少と関連性があった。さらに、血中 ANGPTL2 濃度の変化量は CRP および TG の変化量と関連したことから、血中 ANGPTL2 濃度の低下は、生活習慣の改善による炎症や脂質の改善に関与している可能性が示された。

一方、急性冠動脈疾患患者における 12 週間の有酸素性運動により、血中 ANGPTL2 濃度は有意に低下したが、血中 ANGPTL2 濃度の変化と体重および脂肪の変化の間には関連性が認められなかったことが報告されている (Thorin-Trescases et al., 2016a)。エピネフリンは ANGPTL2 の mRNA と関連していることから (Meng et al., 2013)、運動によるエピネフリンの分泌が ANGPTL2 の発現を抑制させる可能性が推察されているが、今後検討が必要である。

第3章 課題設定

本研究では、肥満男性における脂肪組織、動脈スティフネス、血中 ANGPTL2 濃度について検討する。また、肥満男性における、食習慣改善または定期的な有酸素性運動による動脈スティフネスの変化に、血中 ANGPTL2 濃度が関与するか否かを検討することを目的とした。そこで、本研究の目的を達成するために、以下の研究課題を設定した。

研究課題 1. 肥満男性における脂肪組織と動脈スティフネスの関連性に関する検討

: 内臓脂肪、筋細胞内脂肪・筋細胞外脂肪における検討

これまでに肥満者においては、心血管疾患の強力な予測因子である動脈スティフネスが増大し、内臓脂肪が動脈スティフネスと関連していることが明らかにされている。しかし、肥満者における骨格筋の異所性脂肪 (IMCL・EMCL) と動脈スティフネスの関連性については不明である。

研究課題 2. 肥満男性における動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度の関連性に関する検討

肥満による炎症状態は、動脈スティフネスが増大する原因の一つと考えられる。そこで、研究課題 2 では脂肪組織から多く産生され、血管の炎症を引き起こす炎症性アディポカイン ANGPTL2 に着目し、動脈スティフネスとの関連性について検討することを目的とした。

研究課題 3. 肥満男性における生活習慣の改善が動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響

肥満者における生活習慣の改善は、動脈ステイフネスを低下させることが明らかにされている。しかし、生活習慣改善による動脈ステイフネスの変化に血中 ANGPTL2 濃度の変化が関与するかについては不明である。そこで、研究課題 3 では肥満者における生活習慣の改善が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。その目的を達成するために研究課題を下記のように 2 つに分けて検討を行った。

研究課題 3-1. 肥満男性における食習慣改善が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響

研究課題 3-2. 肥満男性における定期的な有酸素性運動が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響

第4章 研究課題1. 肥満男性における脂肪組織と動脈スティフネスの関連性に

関する検討：内臓脂肪、筋細胞内脂肪・筋細胞外脂肪における 検討

4-1 緒言

肥満による脂肪組織の増加は、内臓脂肪や骨格筋、心臓、肝臓などの周辺に蓄積する異所性脂肪の増加を促進させる (Safar et al., 2006)。内臓脂肪や異所性脂肪の増加は、心血管系のリスクと関連することが報告されている (Safar et al., 2006; Elianne et al., 2014)。先行研究によると、腹部の内臓脂肪は、動脈スティフネスと密接に関連し、動脈スティフネス増大の独立した予測因子になることが明らかにされている (Czernichow et al., 2005; Hegazi et al., 2003)。

一方、内臓脂肪細胞は、脂肪分解活性を増加させ、門脈を通じて遊離脂肪酸を多く放出させることにより、肝臓、心臓、骨格筋などに蓄積される異所性脂肪を増加させることが報告されている (Safar et al., 2006)。近年、異所性脂肪の蓄積も、動脈スティフネスおよび心血管系のリスクと関連している可能性が報告されている (Ai-Talabany et al., 2018; Chou et al., 2015)。すなわち、単に全身の脂肪量だけでなく、脂肪蓄積の局在も動脈スティフネスや心血管系のリスクの増大に重要である可能性が考えられる。実際、健常者における内臓脂肪と心臓の外膜に蓄積される心外膜脂肪 (Epicardial adipose tissue, EAT) は、代謝・循環疾患と関連する因子と関連性があることが示唆されている (Larochelliere et al., 2014)。特に、EAT は心血管疾患患者で増加し、動脈スティフネスと関連性があることが報告されている (Ai-Talabany et al., 2018)。また、肝臓に脂肪が蓄積されることから生じる非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) は、動脈スティフネスの増大と関連性があることが示唆されている (Chou et al., 2015)。

異所性脂肪の中でも、最近注目されているのが骨格筋内に保存される筋細胞内脂

肪 (intramyocellular lipid : IMCL) と筋細胞外脂肪 (extramyocellular lipid : EMCL) である。IMCL は骨格筋の細胞内に、EMCL は細胞間の脂肪組織に保存される。IMCL と EMCL は、肥満者で増加していることが報告されている (Sinha et al., 2002)。また、標準体重の成人男女を対象にした研究では、IMCL および EMCL が動脈ステイフネスと関連していることが示されている (Hasegawa et al., 2015)。しかし、肥満者における IMCL および EMCL と動脈ステイフネスの関連性については全く不明である。そこで、本研究では、成人肥満男性を対象に、内臓脂肪と骨格筋の異所性脂肪である IMCL および EMCL に着目し、動脈ステイフネスとの関連性を検討することを目的とした。

4-2 方法

4-2-1 対象者

本研究の対象者は地域の新聞広告を用いて募集した。選択基準は、BMI 25 kg/m^2 以上の肥満男性とした。本研究では、WHO のガイドラインにより肥満の定義は BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ とした。除外基準は、心疾患または脳血管疾患に現在罹患しているか、既往歴がある者とした。対象者の中から、測定データに不備があった者を除外し、最終的に肥満男性 95 名を解析対象とした。また、IMCL および EMCL 量のデータ解析人数は 24 名である。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施し、全ての対象者に対して研究の目的と内容を事前に説明し、研究に参加する同意を得た。

4-2-2 測定項目

対象者には、測定の 24 時間前から激しい運動を避けるように、12 時間前からカフェインやアルコールを控えるように指示した。全ての測定は 20 分以上の安静後、室

温 24–26°Cの静かな部屋で実施した。

形態・身体組成指標

身長は 0.1 cm 単位 (Digital height meter AD-6227; A&D, Tokyo, Japan)、体重は 0.1 kg 単位 (InBody 770 ; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) で計測し、BMI は体重/身長² (kg/m²) として算出した。体脂肪率、骨格筋量はインボディ (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) を用いて、0.1%単位で測定した。ウエスト周囲径は非伸縮性のメジャーを用いて、0.1 cm で 2 回測定し、その平均値を採用した。

腹部の内臓脂肪面積

腹部の内臓脂肪面積は、デュアルインピーダンス法 (HDS-2000; Omron Healthcare, Kyoto, Japan)を用いて測定した。測定は、DUALSCAN 専用マットに 仰臥位にて実施した。0.1 cm²で 2 回測定し、その平均値を採用した。臨床試験にて、デュアルインピーダンス法より推定された内臓脂肪面積と X 線 CT 画像解析による内臓脂肪面積には高い相関関係 ($r = 0.888, p < 0.001$) があることが確認されている (Shiga et al., 2009)。

IMCL および EMCL 量の測定

IMCL および EMCL 量は、磁気共鳴診断装置 (3T MR scanner Philips Achieva, Philips, Amsterdam, Nederland) と six-channel Torso coil を用いて ¹H-MR Spectroscopy (¹H-MRS)法にて測定した。¹H-MRS のデータは PRESS (point-resolved spatially localized spectroscopy) シーケンスを用いて得られた。シーケンスの条件は、TR:3000ms ; TE:40ms ; bandwidth:2000Hz/pixel ; 1024 sampling points:1024 ; repetitions:96 に設定し、Shimming と tuning は自動的に行った。測定部位は、右足の外側広筋とし、

大転子と副膝蓋骨の中間点で脂肪、血管、神経などを避けるように VOI (15 mm×15 mm×30 mm の single voxel) を設定した。取得した MRS のデータは、解析ソフト (LCModel ver 6.3 software, LCMODEL Inc., Oakville, ON, Canada) を用いて解析を行った (Isobe et al., 2016)。

上腕血圧、心拍数、脈波伝播速度の測定

血圧脈波検査装置 (form PWV/ABI; コーリンメディカルテクノロジー社製) を用いて、仰臥位にて右上腕血圧、心拍数、上腕-足首脈波伝播速度 (baPWV) を測定した。baPWV は、両上腕・両足首にオシロメトリックセンサーを内蔵したカフを装着し、2 地点における測定部位間の距離を脈波が通過する時間差で除した値を baPWV とした。測定は 3 回行い、その平均値を採用した。

頸動脈コンプライアンス、 β -スティフネスインデックスの評価

頸動脈のコンプライアンスは超音波画像診断装置 (En Visor; Philips 社製) と high-resolution linear array transducer リニアプローブ (7.5 MHz) を用いて、右総頸動脈の横断面画像を記録した (Laurent et al. 2006)。頸動脈洞から 1-2cm の位置に総頸動脈の長軸に対して 90° に当て、血管壁の境界線が確認できるポイントで記録した。画像の解析は、Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) を用いて、最大血管径 (心収縮期) と最小血管径 (心拡張期) を測定した。1 心拍につき 3 ヶ所、収縮期と拡張期に一致するポイントにおいて 10 心拍分を計測し、その平均値を採用した。また、左総頸動脈の波形をアプラネーションとのメトリーセンサー (form PWV/ABI) を用いて記録し、上腕の平均血圧および拡張期血圧によって補正した値を使用した。頸動脈コンプライアンスおよび β -スティフネスインデックスは、以下の計算式により算出した (Tanaka et al., 2004)。

$$\text{頸動脈コンプライアンス} = [(D1 - D0) / D0] / [2(P1 - P0)] \pi(D0)^2$$

$$\beta\text{-スティフネスインデックス} = \ln[(P1 / P0) / [(D1 - D0) / D0]]$$

※D1、心収縮期最大頸動脈径; D0、心拡張期最大頸動脈径; P1、心収縮期頸動脈血圧;
P0、心拡張期頸動脈血圧

血液生化学データ

12 時間以上の絶食条件下で、熟練した看護師あるいは臨床検査技師が肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、総コレステロール、high-density lipoprotein (HDL) コレステロール、low-density lipoprotein (LDL) コレステロール、中性脂肪を測定した。

4-2-4 統計処理

データは、「平均値 ± 標準偏差」、「頻度(%)」のいずれかで示した。Shapiro-Wilk 検定によって、変数が正規分布をしているかを確認した。各変数間の関連性は、Pearson の積率相関係数 (r) もしくは Spearman の順位相関係数 (r_s) を用いて検討した。さらに、動脈スティフネスに対して、脂肪組織の中で独立して貢献している因子を検討するために重回帰分析を行った。全ての統計処理では、IBM SPSS statistics 24.0 (IBM 社製) を用い、危険率 5%未満 (両側) を統計学的に有意と見なした。

4-3 結果

対象者の身体的特性を Table 4-1 に示す。平均年齢は 50 歳、平均 BMI は 28.0 kg/m^2 であった。まず、本研究では肥満の指標として体重、BMI、体脂肪率、腹部の内臓脂肪面積、異所性脂肪として骨格筋内の IMCL および EMCL 量と動脈スティフネスの関連性を検討した (Table 4-2)。腹部の内臓脂肪面積は、動脈コンプライアンスと有意な負の相関関係を示し、 β -スティフネスインデックスと有意な正の相関関係を示した。また、IMCL 量は baPWV と有意な負の相関関係を示し、EMCL 量は baPWV、 β -スティフネスインデックスと有意な正の相関関係を示した。これらの相関関係は年齢、または年齢、服薬習慣、喫煙習慣に補正後でも有意な関連性を示した。しかし、体重、BMI、体脂肪率、ウエスト周囲径と動脈スティフネスの指標の間には有意な関連性は認められなかった。また、動脈スティフネスに対して独立した関連要因を検討するために重回帰分析を行った結果、腹部の内臓脂肪面積が動脈コンプライアンス、 β -スティフネスインデックスと独立した関連性を示した (Table 4-3)。

Table 4-1. Participants characteristics

Variable	
Age, years	50 ± 10
Height, cm	170.9 ± 6.3
Body mass, kg	81.8 ± 9.4
Body mass index, kg/m ²	28.0 ± 2.6
Total body fat, %	28.2 ± 5.1
Skeletal muscle mass, kg	32.9 ± 3.7
Waist circumference, cm	96.1 ± 6.9
Abdominal visceral fat area, cm ²	106.7 ± 33.8
IMCL, mmol/kg wet weight [#]	4.2 ± 0.7
EMCL, mmol/kg wet weight [#]	8.8 ± 1.0
Total cholesterol, mg/dL	204 ± 29
HDL cholesterol, mg/dL	52 ± 9
LDL cholesterol, mg/dL	126 ± 26
Triglyceride, mg/dL	147 ± 101
Fasting Glucose, mg/dL	105 ± 13
Systolic blood pressure, mm Hg	134 ± 15
Diastolic blood pressure mm Hg	86 ± 11
Heart rate, beats/min	63 ± 9
baPWV, cm/sec	1400 ± 210
Arterial compliance, mm ² /mmHg	0.12 ± 0.04
β-stiffness index, AU	2.74 ± 0.92
Medications, n (%)	17 (18)
Hypertension, n (%)	11 (12)
Diabetes, n (%)	7 (7)
Dyslipidemia, n (%)	4 (4)
Current smoking, n (%)	7 (7)

Values are means ± SD or frequency counts (%), as appropriate.

[#]Data were available in 24 subjects.

Abbreviations: IMCL, intramyocellular lipid; EMCL, extramyocellular lipid; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; baPWV, brachial-ankle pulse wave velocity.

Table 4-2. Correlations between arterial stiffness or blood pressure and fat distribution.

	Arterial compliance	β -stiffness index	baPWV	SBP	DBP
BMI	0.036	0.107	-0.149	-0.066	-0.125
Total body fat	-0.048	0.091	-0.158	-0.151	-0.181
Abdominal visceral fat area	-0.208*	0.279**	-0.003	0.079	0.059
IMCL [#]	0.198	-0.238	-0.464*	-0.398	-0.316
EMCL [#]	-0.277	0.445*	0.558**	0.452*	0.377

Partial correlation was adjusted for age. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

[#]Data were available in 24 subjects.

Table 4-3. Independent associations between arterial stiffness and lipid distribution

Predictor	Arterial compliance		β -stiffness index		baPWV	
	Standardized Beta	P-value	Standardized Beta	P-value	Standardized Beta	P-value
Abdominal visceral fat area	0.202	0.048	0.269	0.034	-0.017	0.838
IMCL#	-0.030	0.877	0.121	0.566	-0.080	0.705
EMCL#	-0.029	0.887	0.079	0.723	0.186	0.403

Adjusted for TC, HDL, TG, SBP, HR and smoking habit.

#Data were available in 24 subjects.

4-4 考察

本研究では、肥満男性における脂肪組織、特に、内臓脂肪や骨格筋の異所性脂肪に着目し、動脈スティフネスとの関連性について検討を行った。その結果、腹部の内臓脂肪面積と IMCL および EMCL 量は動脈スティフネスと有意な相関関係を示した。しかし、体重、BMI、体脂肪率、ウエスト周囲径は、動脈スティフネスと有意な相関関係が認められなかった。さらに、腹部の内臓脂肪面積は、動脈スティフネスと独立した関連性を示した。これらのことから、肥満男性において、内臓脂肪や IMCL および EMCL は、動脈スティフネスと関連性があり、特に、内臓脂肪の蓄積が動脈スティフネスの増大に大きく影響を与えていることが示唆された。

摂取カロリーの増加や身体活動の不足は肥満を引き起こし、肥満による脂肪組織の増加は内臓脂肪や異所性脂肪の蓄積を増加させる。肥満者は、標準体重者と比較して、内臓脂肪や異所性脂肪が増加している (Després JP & Lemieux I., 2006; Van Gaal et al., 2006)。これらの内臓脂肪や異所性脂肪の増加は、糖尿病や脂質異常症などに関与し、メタボリックシンドロームや心血管疾患と関連することが明らかにされている (Fabbrini et al., 2009)。特に、内臓脂肪の増加は、動脈スティフネスおよび血管内皮機能障害を引き起こすことが報告されており、心血管疾患の独立した予測因子であることが明らかにされている (Czernichow et al., 2005; Hegazi et al., 2003)。本研究でも、内臓脂肪の面積は動脈スティフネス、特に、中心動脈スティフネスと独立した関連性が認められ、多数の先行研究と一致した結果を示した (Lefferts et al., 2017; Yang et al., 2004)。内臓脂肪は、肥満の gold standard である BMI より動脈スティフネスとの関連性がより高いことが報告されている (Czernichow et al., 2005; Hegazi et al., 2003)。本研究でも、BMI や体脂肪率と動脈スティフネスの間には有意な関連性が認められなかったことから、肥満男性において、内臓脂肪は動脈スティフネスの観点から重要な指標であると考えられる。

内臓脂肪細胞は、脂肪分解活性を増加させ、門脈を通じて遊離脂肪酸を放出させることにより、肝臓、心臓、骨格筋での異所性脂肪の蓄積を増加させることが報告されている (Safar et al., 2006)。本研究では、異所性脂肪の中で、骨格筋内に蓄積する IMCL および EMCL に着目して、動脈ステイフネスとの関連性について検討を行った。その結果、EMCL 量は、動脈ステイフネス (baPWV、 β -ステイフネスインデックス) と正の相関関係を示し、標準体重者を対象にした先行研究と一致した結果を示した (Hasegawa et al., 2015)。すなわち、肥満男性においても EMCL の蓄積は、動脈ステイフネスに悪影響を与える可能性が示された。EMCL の蓄積によって動脈ステイフネスが増大するメカニズムは不明であるが、EMCL は皮下脂肪や内臓脂肪のように脂肪組織に蓄積される脂質であるため、EMCL から分泌された炎症性アディポカインが動脈ステイフネスに影響を与える可能性が考えられる。

一方、標準体重者を対象にした先行研究では、心肺体力の低い高齢女性において IMCL と動脈ステイフネスに関連があることが報告されている (Hasegawa et al., 2015)。本研究でも、先行研究と同様に、IMCL 量は baPWV と負の相関関係を示し、肥満者における IMCL は動脈ステイフネスと関連している可能性が示された。一般的に、IMCL は肥満者や糖尿病患者で増加し、インスリン抵抗性と関連性があることが報告されている (Virkamaki et al., 2001; Gemmink et al., 2017)。しかし、IMCL は心肺体力との関連性もあり、持続性運動トレーニングは IMCL を増加させることが報告されている (McCormack et al., 2014)。さらに、持続性アスリートでは、IMCL が増加しており、この現象は“アスリートパラドックス”と呼ばれている (Goodpaster et al., 2001)。最近、糖尿病のない過体重者における IMCL 量は、糖尿病を有する過体重者や持続性アスリートより IMCL が低値を示し、運動習慣のない標準体重者と類似のレベルを示した (Gemmink et al., 2018)。本研究の対象者は、運動習慣のない肥満男性であり、インスリン抵抗性や感受性が正常なレベルであった。また、本研究の肥満男性に

における IMCL 量は、先行研究の過体重および肥満者の IMCL 量より低値を示した (Shida et al., 2018)。したがって、標準体重者だけでなく、正常なインスリンレベルを有する肥満者においても低い IMCL 量は動脈ステイフネスの増大と関連する可能性が考えられる。

4-5 まとめ

本研究では、肥満男性における内臓脂肪、IMCL および EMCL と動脈ステイフネスの関連性について検討した。その結果、肥満男性の内臓脂肪の面積、IMCL および EMCL は動脈ステイフネスと有意な相関関係を示した。このことから、肥満男性において、内臓脂肪や骨格筋内の異所性脂肪 (IMCL および EMCL) は動脈ステイフネスと関連する可能性が示された。さらに、これらの中でも、内臓脂肪の蓄積は、肥満男性における動脈ステイフネスの増大に重要であることが示唆された。

第 5 章 研究課題 2: 肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスの 関連性に関する検討

5-1 緒言

研究課題 1 において、肥満男性における内臓脂肪や骨格筋内の異所性脂肪の蓄積は動脈スティフネスと関連していることが明らかにされた。さらに、肥満男性においては、腹部の内臓脂肪の増加が動脈スティフネスの増大に重要な要因であることが示唆された。内臓脂肪の増加が、動脈スティフネスを増大させるメカニズムについては十分に明らかにされていないが、内臓脂肪の増加による全身または慢性的な炎症状態が重要な原因の一つであることが報告されている (Tchernof & Després, 2013)。

近年、肥満と密接に関連し、血管の炎症を引き起こす炎症性アディポカインである *angiopoietin-like protein 2* (ANGPTL2) が注目されている。先行研究によると、血中 ANGPTL2 濃度は、全身のインスリン抵抗性や炎症と関連し (Tabata et al., 2009)、肥満、心血管疾患、慢性腎臓病、糖尿病、癌などの疾患と関連していることが報告されている (Thorin-Trescases & Thorin, 2017)。ANGPTL2 は様々な組織から分泌されるが、脂肪組織が主な源であり、特に内臓脂肪から多く産生することが報告されている (Tabata et al., 2009)。また、ANGPTL2 は血管内皮障害やアテローム性動脈硬化と関連していることが明らかにされている (Horio et al., 2014)。したがって、肥満者における動脈スティフネスの増大に ANGPTL2 が関与する可能性が考えられる。しかし、肥満者における ANGPTL2 と動脈スティフネスの関連性に関しては全く不明である。そこで本研究では、成人肥満男性における動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度の関連性について検討することを目的とした。

5-2 方法

5-2-1 対象者

本研究の対象者は地域の新聞広告を用いて募集した。選択基準は、BMI 25 kg/m²以上の肥満男性とした。本研究では、WHO のガイドラインにより肥満の定義を BMI \geq 25 kg/m²とした。除外基準は、心疾患または脳血管疾患に現在罹患しているか既往歴がある者とした。対象者の中から、測定データに不備があった者を除外し、最終的に肥満男性 49 名を解析対象とした。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施し、全ての対象者に対して研究の目的と内容を事前に説明し、研究に参加する同意を得た。

5-2-2 測定項目

対象者には、測定の 24 時間前から激しい運動を避けるように、12 時間前からカフェインやアルコールを控えるように指示した。全ての測定は 20 分以上の安静後、室温 24–26°C の静かな部屋で実施した。

形態・身体組成指標

身長は 0.1 cm 単位 (Digital height meter AD-6227; A&D, Tokyo, Japan)、体重は 0.1 kg 単位 (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) で計測し、BMI は体重/身長² (kg/m²) として算出した。体脂肪率、骨格筋量はインボディ (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) を用いて、0.1% 単位で測定した。ウエスト周囲径は非伸縮性のメジャーを用いて、0.1 cm で 2 回測定し、その平均値を採用した。

腹部の内臓脂肪面積

腹部の内臓脂肪面積は、デュアルインピーダンス法 (HDS-2000; Omron Healthcare,

Kyoto, Japan)を用いて測定した。測定は、DUALSCAN 専用マットに仰臥位にて実施した。0.1 cm²で2回測定し、その平均値を採用した。

上腕血圧、心拍数、脈波伝播速度の測定

血圧脈波検査装置 (form PWV/ABI; コーリンメディカルテクノロジー社製) を用いて、仰臥位にて右上腕血圧、心拍数、上腕-足首脈波伝播速度 (baPWV) を測定した。baPWV は、両上腕・両足首にオシロメトリックセンサーを内蔵したカフを装着し、2地点における測定部位間の距離を脈波が通過する時間差で除した値を baPWV とした。測定は3回行い、その平均値を採用した。

頸動脈コンプライアンス、β-スティフネスインデックスの評価

頸動脈のコンプライアンスは超音波画像診断装置 (En Visor; Philips 社製) と high-resolution linear array transducer リニアプローブ (7.5 MHz) を用いて、右総頸動脈の横断面画像を記録した (Laurent et al. 2006)。頸動脈洞から 1-2cm の位置に総頸動脈の長軸に対して 90° に当て、血管壁の境界線が確認できるポイントで記録した。画像の解析は、Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) を用いて、最大血管径 (心収縮期) と最小血管径 (心拡張期) を測定した。1心拍につき3ヶ所、収縮期と拡張期に一致するポイントにおいて10心拍分を計測し、その平均値を採用した。また、左総頸動脈の波形をアプラネーションとのメトリーセンサー (form PWV/ABI) を用いて記録し、上腕の平均血圧および拡張期血圧によって補正した値を使用した。頸動脈コンプライアンスおよび β-スティフネスインデックスは、以下の計算式により算出した (Tanaka et al., 2004)。

$$\text{頸動脈コンプライアンス} = [(D1 - D0) / D0] / [2(P1 - P0)] \pi(D0)^2$$

$$\beta\text{-スティフネスインデックス} = \ln[(P1 / P0) / [(D1 - D0) / D0]]$$

※D1、心収縮期最大頸動脈径; D0、心拡張期最大頸動脈径; P1、心収縮期頸動脈血圧;
P0、心拡張期頸動脈血圧

血液生化学データ

12 時間以上の絶食条件下で、熟練した看護師あるいは臨床検査技師が肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離し、血清を -80°C で保存した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、総コレステロール、high-density lipoprotein (HDL) コレステロール、low-density lipoprotein (LDL) コレステロール、中性脂肪を測定した。

血清 ANGPTL2 濃度

血清 ANGPTL2 濃度は Human ANGPTL2 Assay kit (Code No. 27745, Immunobiological Laboratories, Tokyo, Japan) を用いて ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) 法により測定した。ANGPTL2 の測定プロトコルに従って、Tetra Methyl Benzidine による発色後、マイクロプレートリーダー (iMark; BIORAD) を用いて 450nm で吸光度を測定し、比色定量した。

5-2-4 統計処理

データは、「平均値 ± 標準偏差」、「頻度(%)」のいずれかで示した。Shapiro-Wilk 検定によって、変数が正規分布をしているかを確認した。各変数間の関連性は、Pearson の積率相関係数 (r) もしくは Spearman の順位相関係数 (r_s) を用いて検討した。全ての統計処理では、IBM SPSS statistics 24.0 (IBM 社製) を用い、危険率 5% 未満 (両側) を統計学的に有意と見なした。

5-3 結果

対象者の身体的特性を Table 5-1 に示す。平均年齢は 52 歳、平均 BMI は 28.1 kg/m^2 であった。本研究では、肥満の指標として体重、BMI、体脂肪率、腹部の内臓脂肪面積、ウエスト周囲径と血中 ANGPTL2 濃度の関連性を検討した。その結果、血中 ANGPTL2 濃度と腹部の内臓脂肪面積の間には、年齢で補正した後、有意な正の相関関係が認められた (Figure 5-1)。しかし、血中 ANGPTL2 濃度と BMI、体重、体脂肪率、ウエスト周囲径との間には有意な関連性は認められなかった。また、血中 ANGPTL2 濃度と動脈ステイフネスの指標の関連性を検討した結果、血中 ANGPTL2 濃度は、年齢または年齢、服薬習慣で補正した後、baPWV と有意な正の相関関係を示した (Figure 5-2)。しかし、血中 ANGPTL2 濃度と動脈コンプライアンス、 β -ステイフネスインデックスの間には有意な関連性は認められなかった。

Table 5-1. Participants characteristics

Variable	
Age, years	52 ± 11
Height, cm	170.3 ± 6.6
Body mass, kg	81.6 ± 10.3
Body mass index, kg/m ²	28.1 ± 2.3
Total body fat, %	29.2 ± 4.8
Skeletal muscle mass, kg	32.3 ± 4.1
Waist circumference, cm	97.9 ± 7.2
Abdominal visceral fat area, cm ²	110.1 ± 39.1
Total cholesterol, mg/dL	201 ± 31
HDL cholesterol, mg/dL	52 ± 8
LDL cholesterol, mg/dL	126 ± 26
Triglyceride, mg/dL	144 ± 111
Fasting Glucose, mg/dL	106 ± 14
ANGPTL2, ng/mL	3.26 ± 1.00
Systolic blood pressure, mm Hg	128 ± 13
Diastolic blood pressure mm Hg	81 ± 9
Heart rate, beats/min	61 ± 8
baPWV, cm/sec	1365 ± 229
Arterial compliance, mm ² /mmHg	0.12 ± 0.05
β-stiffness index, AU	2.98 ± 1.09
Medications, n (%)	17 (35)
Hypertension, n (%)	11 (22)
Diabetes, n (%)	7 (14)
Dyslipidemia, n (%)	4 (8)
Current smoking, n (%)	7 (14)

Values are means ± SD or frequency counts (%), as appropriate.

Abbreviations: HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein;

baPWV, brachial-ankle pulse wave velocity.

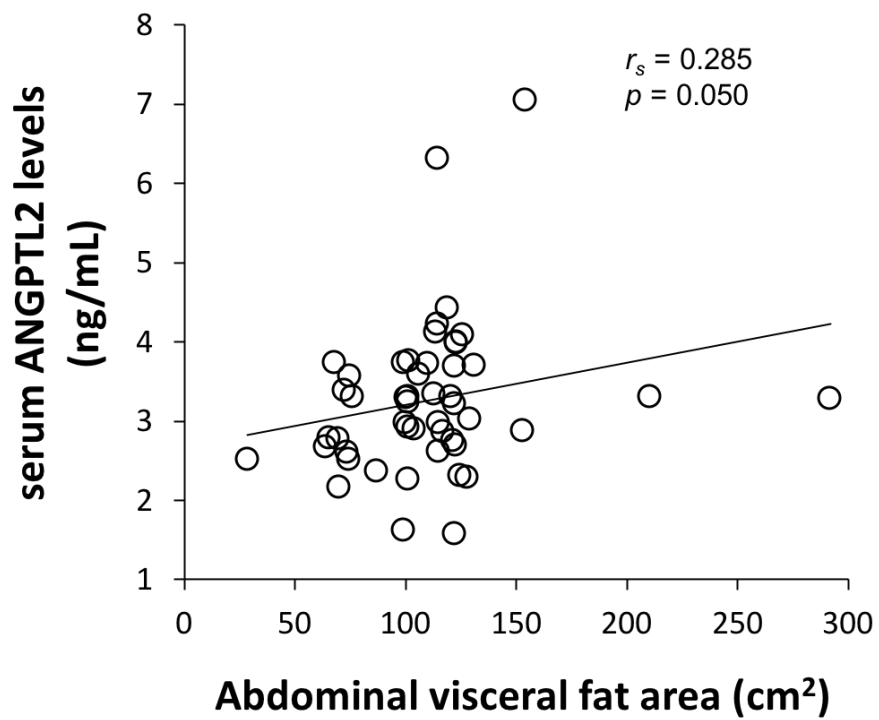


Figure 5-1. Association between the serum ANGPTL2 concentration and Abdominal visceral fat area. Partial correlation was adjusted for age.

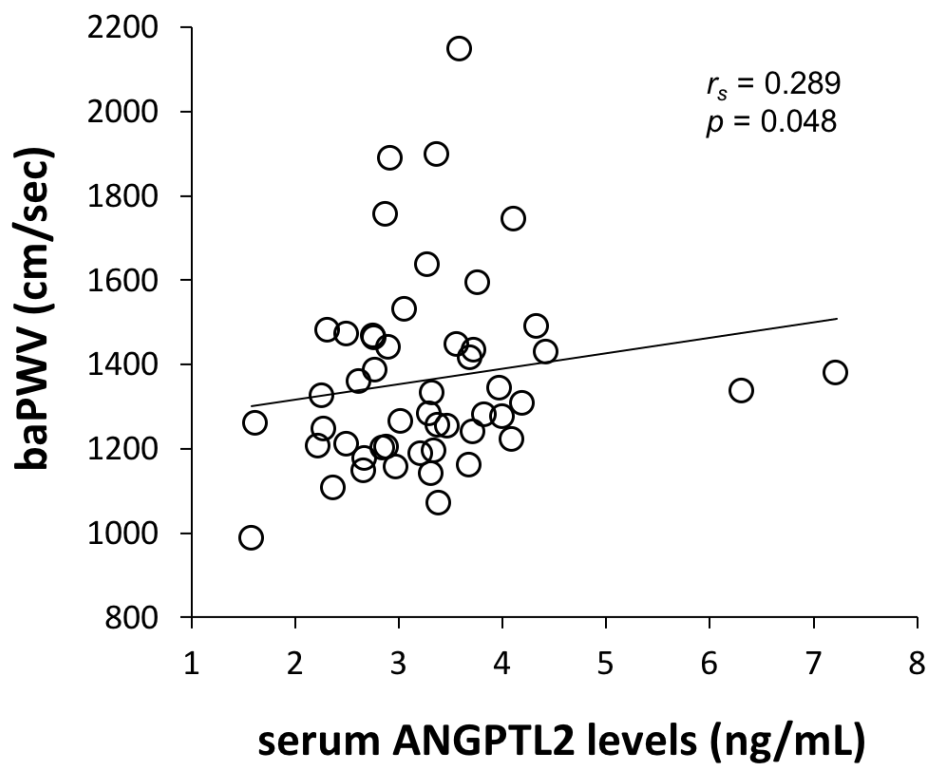


Figure 5-2. Association between the serum ANGPTL2 concentration and baPWV. Partial correlation was adjusted for age.

5-4 考察

本研究では、肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスの関連性について検討した。その結果、血中 ANGPTL2 濃度は、全身動脈スティフネスの指標である baPWV と有意な相関関係を示した。すなわち、肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度の増加は動脈スティフネスの増大と関連する可能性が示された。

健常な標準体重者では炎症性・抗炎症性アディポカインのバランスが良く、メタボリック恒常性が維持されている (Ouchi et al., 2011)。しかし、肥満者では過度な脂肪蓄積による脂肪細胞の機能障害により、炎症性アディポカインの産生が増加し、抗炎症性アディポカインの産生が低下する (Johnson et al., 2012; Longo et al., 2019)。その結果、全身および慢性的な炎症が生じ、このことはメタボリックシンドロームや糖尿病、動脈硬化症などの心血管疾患の一因になることが明らかにされている (Longo et al., 2019)。さらに、炎症は心血管疾患の独立した予測因子である動脈スティフネスと関連していることが報告されている (Park & Lakatta, 2012; Patel et al., 2011)。

先行研究において、日本人の成人男女における長期間の追跡調査では、血中 ANGPTL2 濃度が高いほど心血管疾患の発症率が高いことが報告されている (Hata et al., 2014)。また、糖尿病患者における血中 ANGPTL2 濃度は頸動脈の IMT と関連し (Jung et al., 2015)、慢性腎臓病 (CKD) 患者における血中 ANGPTL2 濃度は cfPWV と関連していることが報告されている (Desjardins et al., 2017)。本研究では、肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度は動脈スティフネス (baPWV) と有意な関連性を示したことから、肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度の増加は動脈スティフネスの増大に影響を与えている可能性が示された。

脂肪組織の中でも、内臓脂肪の増大は、動脈硬化や心臓病などの循環器疾患に代表される生活習慣病と関連している (Mathieu et al., 2008)。一方、ANGPTL2 は局所的な炎症だけでなく、血管の炎症にも重要な役割を果たしていることが報告されてい

る (Thorin-Trescases et al., 2017)。そこで本研究では、内臓脂肪の組織から多く発現する炎症性アディポカインである ANGPTL2 に着目して検討を行った。その結果、血中 ANGPTL2 濃度は動脈スティフネスだけでなく、内臓脂肪の面積とも有意な相関関係を示した。Tabata らの研究において、肥満モデルマウスは血中 ANGPTL2 濃度の増加とともに内臓脂肪組織での ANGPTL2 発現や脂肪組織の炎症が増大していることが報告されている (Tabata et al., 2009)。これらのことより、本研究では肥満における内臓脂肪の蓄積により血中 ANGPTL2 濃度が増加し、このことは動脈スティフネスと関連していることが推察される。

5-5 まとめ

本研究では、成人肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスの関連性について検討することを目的とした。その結果、血中 ANGPTL2 濃度は、全身動脈スティフネスの指標である baPWV と関連性を示し、腹部の内臓脂肪面積との関連性も認められた。すなわち、肥満男性における内臓脂肪の蓄積は血中 ANGPTL2 濃度と関連し、さらに血中 ANGPTL2 濃度の増加は動脈スティフネスの増大と関連する可能性が示された。

第6章 研究課題3: 肥満男性における生活習慣の改善が血中 ANGPTL2 濃度と動脈 スティフネスに及ぼす影響の検討

6-1 緒言

研究課題2にて、肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度の増加は動脈スティフネスの増大と関連することが示された。一方、肥満者において、減量または生活習慣の改善は、肥満と関連する心血管リスクを改善するために効果的であることが明らかにされている (Sacre et al., 2014)。これまでに肥満者における定期的な有酸素性運動や食習慣改善は、様々な炎症性マーカーを低下させ、動脈スティフネスを改善させることが報告されている (Miyaki & Maeda., 2012; Kumagai et al., 2018)。

一方、肥満男性における減量のためのカウンセリングプログラムを実施した結果、血中 ANGPTL2 濃度が有意に低下し (Muramoto et al., 2011)、血中 ANGPTL2 濃度の変化は体重減少と関連性があったことから、肥満者における体重減少は血中 ANGPTL2 濃度を低下させる可能性が示されている。一方、冠動脈疾患患者における一過性もしくは定期的な有酸素性運動は、血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが報告されている (Larouche et al., 2015; Thorin-Trescases et al., 2016)。これらのことから、食事指導や運動を中心とした生活習慣の改善は血中 ANGPTL2 濃度を低下させる可能性が示されているが、肥満者における食習慣の改善または定期的な運動による生活習慣の改善が、血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響は不明である。さらに、生活習慣の改善による動脈スティフネスの変化に、血中 ANGPTL2 濃度の変化が関連するかについても全く明らかになっていない。そこで本研究では、肥満男性における食習慣改善または有酸素性運動トレーニングの介入を実施し、動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。

6-2 研究課題 3-1. 肥満男性における食習慣改善が動脈ステイフネスと

血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響

6-2-1 目的

肥満男性における食習慣改善は、動脈ステイフネスを改善させることが明らかにされている (Miyaki & Maeda., 2012)。また、肥満男性における減量は、血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが報告されている (Muramoto et al., 2011)。しかし、肥満男性における食習慣改善が動脈ステイフネスをと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響は不明である。したがって、本研究では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。

6-2-2 方法

6-2-2-1 対象者

本研究の対象者は地域の新聞広告を用いて募集した。選択基準は、BMI 25 kg/m²以上の肥満男性とした。本研究では、WHO のガイドラインにより肥満の定義を BMI ≥ 25 kg/m²とした。除外基準は、心疾患または脳血管疾患に現在罹患しているか既往歴がある者とした。これらの条件を満たす者 26 名が介入に参加したが、対象者の中から、ドロップアウト 1 名、測定データに不備があった者 2 名、服薬に変動があった者 1 名を除外し、最終的に肥満男性 22 名を解析対象とした。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施し、全ての対象者に対して研究の目的と内容を事前に説明し、研究に参加する同意を得た。

6-2-2-2 測定項目

対象者には、測定の 24 時間前から激しい運動を避けるように、12 時間前からカフェインやアルコールを控えるように指示した。全ての測定は 20 分以上の安静後、室

温 24–26°Cの静かな部屋で実施した。

形態・身体組成指標

身長は 0.1 cm 単位 (Digital height meter AD-6227; A&D, Tokyo, Japan)、体重は 0.1 kg 単位 (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) で計測し、BMI は体重/身長² (kg/m²) として算出した。体脂肪率、骨格筋量はインボディ (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) を用いて、0.1%単位で測定した。ウエスト周囲径は非伸縮性のメジャーを用いて、0.1 cm で 2 回測定し、その平均値を採用した。

腹部の内臓脂肪面積

腹部の内臓脂肪面積は、デュアルインピーダンス法 (HDS-2000; Omron Healthcare, Kyoto, Japan)を用いて測定した。測定は、DUALSCAN 専用マットに仰臥位にて実施した。0.1 cm²で 2 回測定し、その平均値を採用した。

上腕血圧、心拍数、脈波伝播速度の測定

血圧脈波検査装置 (form PWV/ABI; コーリンメディカルテクノロジー社製) を用いて、仰臥位にて右上腕血圧、心拍数、上腕-足首脈波伝播速度 (baPWV) を測定した。baPWV は、両上腕・両足首にオシロメトリックセンサーを内蔵したカフを装着し、2 地点における測定部位間の距離を脈波が通過する時間差で除した値を baPWV とした。測定は 3 回行い、その平均値を採用した。

頸動脈コンプライアンス、β-スティフネスインデックスの評価

頸動脈のコンプライアンスは超音波画像診断装置 (En Visor; Philips 社製) と high-resolution linear array transducer リニアプローブ (7.5 MHz) を用いて、右総頸動脈の

横断面画像を記録した (Laurent et al. 2006)。頸動脈洞から 1-2cm の位置に総頸動脈の長軸に対して 90° に当て、血管壁の境界線が確認できるポイントで記録した。画像の解析は、Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) を用いて、最大血管径 (心収縮期) と最小血管径 (心拡張期) を測定した。1 心拍につき 3 ヶ所、収縮期と拡張期に一致するポイントにおいて 10 心拍分を計測し、その平均値を採用した。また、左総頸動脈の波形をアプラネーションとのメトリーセンサー (form PWV/ABI) を用いて記録し、上腕の平均血圧および拡張期血圧によって補正した値を使用した。頸動脈コンプライアンスおよび β -スティフネスインデックスは、以下の計算式により算出した (Tanaka et al., 2004)。

$$\text{頸動脈コンプライアンス} = [(D1 - D0) / D0] / [2(P1 - P0)] \pi(D0)^2$$

$$\beta\text{-スティフネスインデックス} = \ln[(P1 / P0) / (D1 - D0) / D0]$$

※D1、心収縮期最大頸動脈径; D0、心拡張期最大頸動脈径; P1、心収縮期頸動脈血圧; P0、心拡張期頸動脈血圧

血液生化学データ

12 時間以上の絶食条件下で、熟練した看護師あるいは臨床検査技師が肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離し、血清を -80°C で保存した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、総コレステロール、high-density lipoprotein (HDL) コレステロール、low-density lipoprotein (LDL) コレステロール、中性脂肪を測定した。

血清 ANGPTL2 濃度

血清 ANGPTL2 濃度は Human ANGPTL2 Assay kit (Code No. 27745, Immunobiological Laboratories, Tokyo, Japan) を用いて ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent

Assay) 法により測定した。ANGPTL2 の測定プロトコルに従って、Tetra Methyl Benzidine による発色後、マイクロプレートリーダー (iMark; BIORAD) を用いて 450nm で吸光度を測定し、比色定量した。

食事調査 (FFQg)

食事調査は、食物摂取頻度調査 (Food Frequency Questionnaire Based on Food Groups : FFQg) を用いて行った。FFQg は、食品群別に分けられた 29 の食品グループと 10 種類の調理法から構成された簡単な質問により、最近 1 - 2 ヶ月程度の期間の栄養素および食品群別摂取量を推定する方法である (Takahashi et al., 2001)。栄養素摂取量・食品群別摂取量は、エクセル栄養君 FFQg Ver. 4.0 を用いて算出した。

6-2-2-3 介入方法

食習慣改善

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の食事教室に参加した。教室は、1 回 2 時間で計 8 回、12 週間集団指導を行った。指導内容は、4 群点数法を用いて (香川, 2002)、1 日あたり 1680 kcal 程度を目標に、バランスよく摂取エネルギー量を制限するよう指導した。4 群点数法は、食品を 4 つの群に分類し、80kcal を 1 点として栄養計算する方法である (Kagawa et al., 1983)。具体的には、1 日あたり、第 1 群 (牛乳・乳製品、卵) から 3 点 (240 kcal)、第 2 群 (魚介類、肉類、豆・豆製品) から 3 点 (240 kcal)、第 3 群 (野菜、芋類、きのこ・海藻、果物) から 3 点 (240 kcal)、第 4 群 (穀物、砂糖、油脂、その他の嗜好品) から 12 点 (960 kcal) の範囲内で、対象者自身が食品を選択して摂取するように指導した。参加者には、テキストと食事記録ノートを配布し、介入期間中の毎食の食事内容を記録させた。食事記録ノートを集団指導の際に指導者が確認し、必要に応じて個別指導を行った。

6-2-2-4 統計処理

データは、「平均値 ± 標準偏差」で示した。Shapiro–Wilk 検定によって、介入前および介入後の変数が正規分布しているかを確認した。正規性を確認できた変数は、対応のある t 検定によって介入効果を検討した。正規性を確認できなかった変数は、Wilcoxon の符号順位検定によって介入効果を検討した。各変数間の関連性は、Pearson の積率相関係数 (r) もしくは Spearman の順位相関係数 (r_s) を用いて検討した。さらに、動脈コンプライアンスの変化に対して、BMI、腹部の内臓脂肪面積、血中 ANGPTL2、SBP の変化量の中で独立して貢献している因子を検討するために重回帰分析を行った。全ての統計処理では、IBM SPSS statistics 24.0 (IBM 社製) を用い、危険率 5%未満 (両側) を統計学的に有意と見なした。

6-2-3 結果

12 週間の食習慣改善の介入前後における対象者特性を Table 6-1 に示す。介入前において、対象者の平均年齢は 56 歳、平均 BMI は 28.6 kg/m^2 であった。12 週間の食習慣改善により、体重、BMI、体脂肪率、骨格筋量、ウエスト周囲径、腹部の内臓脂肪面積、総コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪、血圧、心拍数は有意に低下した。また、介入前と比較して介入後、総エネルギー摂取量、三大栄養素（炭水化物、タンパク質、脂質）の摂取量にも有意な低下が認められた。12 週間の介入により、動脈コンプライアンスは有意に増加し、 β -スティフネスインデックスは有意に低下した (Figure 6-1)。しかし、12 週間の介入により、baPWV に有意な変化は認められなかった。一方、12 週間の食習慣改善の介入により、血清 ANGPTL2 濃度は有意に低下した (Figure 6-2)。

動脈コンプライアンスの変化量と血中 ANGPTL2 濃度の変化量の間には、有意な負の相関関係があり、年齢・服薬、または年齢・服薬・喫煙習慣に補正した後でも有意な関連性を示した。さらに、 β -スティフネスインデックスの変化量と血中 ANGPTL2 濃度の変化量の間には、正の相関関係の傾向が見られたが、年齢・服薬、または年齢・服薬・喫煙習慣に補正した後、有意な正の相関関係を示した (Figure 6-3)。12 週間の食習慣改善における腹部の内臓脂肪面積の変化量は、動脈コンプライアンスの変化量及び SBP の変化量と有意な負の相関関係を示した (Table 6-2)。重回帰分析の結果、動脈コンプライアンスの変化には、血中 ANGPTL2 濃度の変化 ($\beta = -0.41$ 、 $p < 0.05$) と腹部の内臓脂肪面積の変化 ($\beta = -0.47$ 、 $p < 0.05$) が有意な関連性を示したが、BMI の変化 ($\beta = 0.24$ 、 $p = 0.33$) や SBP の変化 ($\beta = -0.10$ 、 $p = 0.65$) とは有意な関連性が認められなかった。

Table 6-1. Participants characteristics

	Before	After
Age, years	56 ± 11	—
Height, cm	170.1 ± 7	—
Body mass, kg	82.6 ± 12.2	77.0 ± 12.3 ***
Body mass index, kg/m ²	28.6 ± 3.5	26.7 ± 3.7 ***
Total body fat, %	29.8 ± 5.4	27.0 ± 6.1 ***
Skeletal muscle mass, kg	32.4 ± 4.8	31.2 ± 4.3 ***
Waist circumference, cm	99.6 ± 7.9	92.8 ± 7.9 ***
Abdominal visceral fat area, cm ²	126.9 ± 44.7	91.9 ± 40.1 ***
Total cholesterol, mg/dL	195 ± 29	183 ± 29 *
HDL cholesterol, mg/dL	50 ± 8	48 ± 8
LDL cholesterol, mg/dL	124 ± 23	113 ± 21 **
Triglycerides, mg/dL	126 ± 47	101 ± 39 ***
Systolic blood pressure, mm Hg	127 ± 13	123 ± 14 *
Diastolic blood pressure, mm Hg	80 ± 9	77 ± 10 **
Heart rate, beats/min	59 ± 7	56 ± 6 *
baPWV, cm/sec	1398 ± 269	1368 ± 263
Total energy intake, kcal/day	2643 ± 897	1562 ± 390 ***
Carbohydrate intake, g/day	368 ± 92	198 ± 45 ***
Protein intake, g/day	84 ± 28	61 ± 17 **
Fat intake, g/day	75 ± 30	53 ± 19 **
Medications, n (%)	10 (45)	—
Hypertension, n (%)	7 (32)	—
Diabetes, n (%)	4 (18)	—
Dyslipidemia, n (%)	2 (9)	—
Current smoking, n (%)	5 (23)	—

Values are means ± SD. Abbreviations: HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. before the intervention

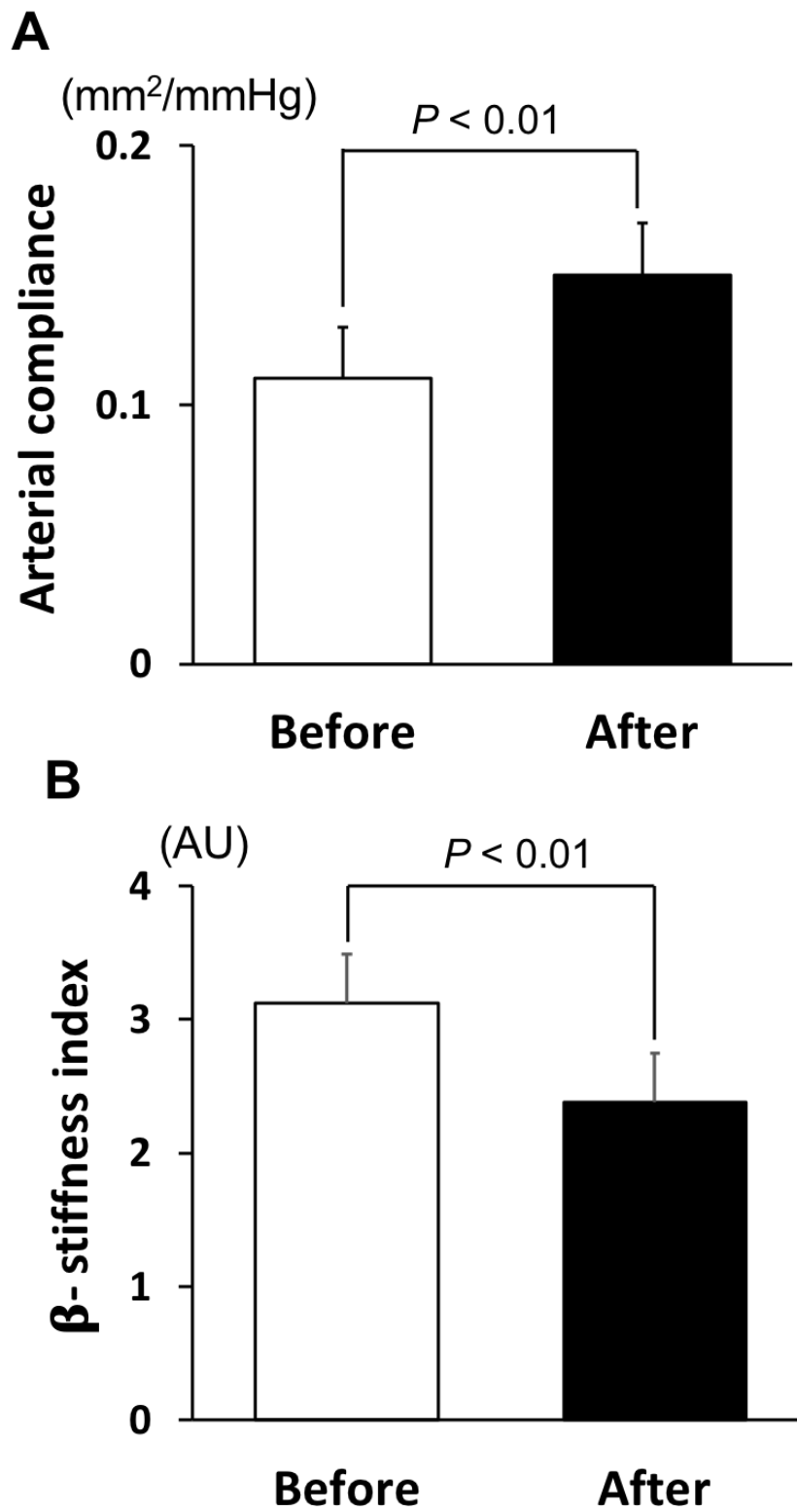


Figure 6-1. Arterial compliance (A) and β -stiffness index (B) before and after the 12-week dietary modification program.

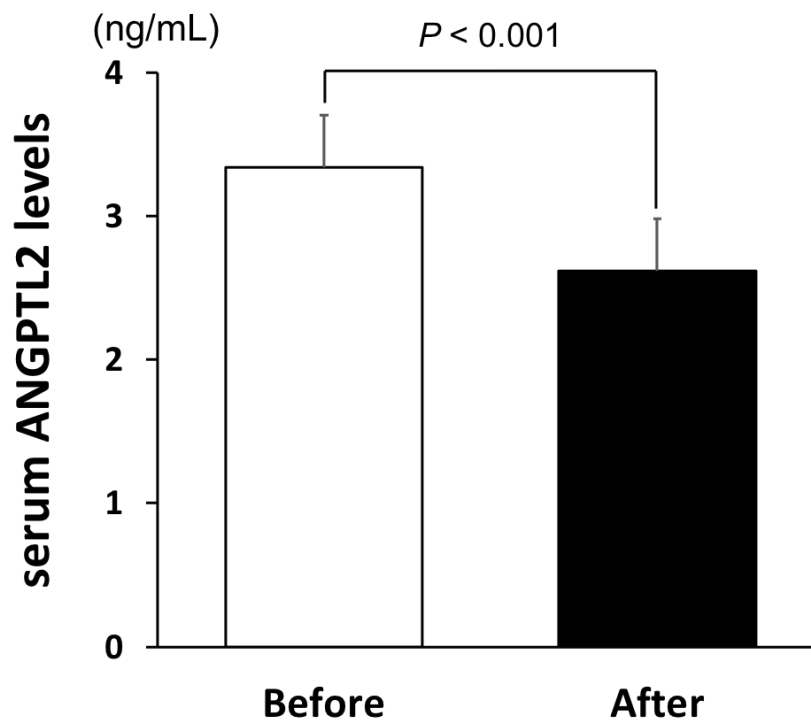


Figure 6-2. Serum ANGPTL2 levels before and after the 12-week dietary modification program.

Table 6-2. Correlations between changes in blood pressure or arterial stiffness and changes in adiposity or serum ANGPTL2 levels.

	Δ Arterial compliance	Δ β -stiffness index	Δ baPWV	Δ SBP	Δ DBP
Δ BMI	-0.403	0.158	0.468*	0.457*	0.466*
Δ Total body fat	-0.317	0.151	0.471*	0.375	0.539*
Δ Abdominal visceral fat area	-0.618**	0.363	0.378	0.549*	0.361

Partial correlation was adjusted for age, medication and current smoking. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

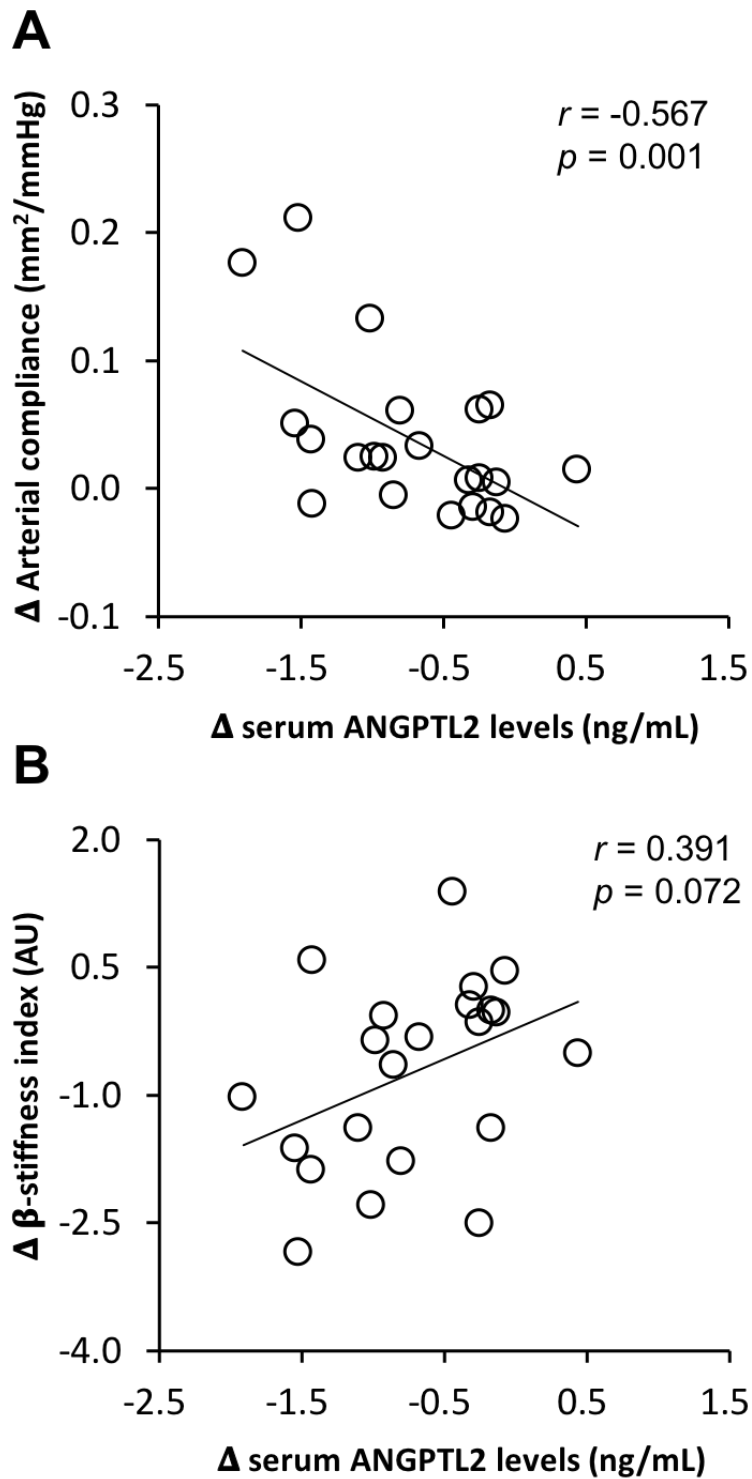


Figure 6-3. Correlations between the changes in ANGPTL2 and arterial compliance (A) and β -stiffness index (B) following the 12-week dietary modification program.

6-2-4 考察

本研究では、肥満男性を対象に 12 週間の食習慣改善の介入を実施し、動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響について検討した。その結果、肥満男性における食習慣改善により、動脈ステイフネスは低下し、血中 ANGPTL2 濃度は減少した。また、食習慣改善による血中 ANGPTL2 濃度の変化量は動脈コンプライアンスおよび β -ステイフネスインデックスの変化量と相関関係を示した。さらに、動脈コンプライアンスの変化には、血中 ANGPTL2 濃度の変化と腹部の内臓脂肪面積の変化が独立して関連することが示された。これらの結果より、肥満男性における 12 週間の食習慣改善により、血中 ANGPTL2 濃度が減少し、これは動脈ステイフネスの改善に影響を与えることが示唆された。

これまでに肥満男性を対象として、減量が血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響について報告した研究は 1 つだけである。この研究では生活習慣の改善を目標としたカウンセリングプログラムの実施により、体重の減少とともに血中 ANGPTL2 濃度が低下し、これらの変化量の間には有意な相関関係が示された (Muramoto et al., 2011)。しかし、Muramoto らの研究では、体重減量のためのモチベーションレクチャーおよびカウンセリング形式のプログラムを中心とした支援プログラムのみであった。本研究では、カロリーを制限すると共に栄養バランスの良い食事を摂取する食習慣改善指導教室を 12 週間実施した。その結果、体重および体脂肪量が著明に減少するとともに、血中 ANGPTL2 濃度が有意に低下した。また、血中 ANGPTL2 濃度の変化量は、BMI や内臓脂肪の面積の変化量と関連する傾向が示された。炎症性アディポカインである ANGPTL2 は 脂肪組織、特に、内臓脂肪組織から多く発現され (Horio et al., 2014)、脂肪組織からの過度な ANGPTL2 の発現は、脂肪組織の炎症を引き起こすことが報告されている (Tabata et al., 2009)。これらのことより、本研究では肥満者における食習慣改善による減量および脂肪組織の減少は、血中 ANGPTL2 濃度の

低下と関連している可能性が示された。

本研究では、肥満者における 12 週間の食習慣改善により、血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスが有意に低下し、これらの変化量の間には有意な相関関係が認められた。動脈スティフネスは、非肥満者と比較して肥満者で増加していることが報告されており、肥満者における減量は、動脈スティフネスを改善させることが明らかにされている (Miyaki et al., 2009a; Miyaki & Maeda., 2012)。また、内臓脂肪の蓄積は、動脈スティフネスの増大と密接な関連性があり、内臓脂肪の減少は動脈スティフネスの改善と関連することが報告されている (Park & Shim, 2005; Romero-Corral et al., 2010)。本研究では 12 週間の食習慣改善により、腹部の内臓脂肪面積が低下し、内臓脂肪面積の変化量は、動脈コンプライアンスの変化量、血中 ANGPTL2 濃度の変化量とそれぞれ有意な相関関係を示した。さらに、内臓脂肪面積の変化と血中 ANGPTL2 濃度の変化は、BMI や血圧の変化の影響と独立して動脈コンプライアンスの変化と有意な相関関係を示した。これらの結果より、肥満男性における食習慣改善により、動脈スティフネスが改善したメカニズムの一部に、内臓脂肪面積の減少と血中 ANGPTL2 濃度の低下が関連している可能性が示された。

一方、食習慣改善による血中 ANGPTL2 濃度の低下のメカニズムは不明である。動脈スティフネスは、血管内皮機能やアテローム性動脈硬化度の進行などの影響を受けることが知られている。ANGPTL2 は脂肪組織で多く産生されるが、血管内皮細胞、アテローム性プラークからも産生されることが報告されており、ANGPTL2 の発現は、内皮機能障害やアテローム性動脈硬化症の進展にも影響を与える可能性が考えられる。メタアナリシスによると、長期間の健康的な食習慣改善は、血管作動性因子の生物学的利用度を増加させ、酸化ストレスや炎症性マーカーを低下させることにより、血管内皮機能を改善させる可能性が報告されている (Pase et al., 2011; Miyaki and Maeda., 2012)。これらのことから、肥満者における食習慣改善による ANGPTL2

の低下は、血管内皮機能を改善させることにより、動脈スティフネスに影響を及ぼしたのかもしれない。

6-2-5 まとめ

本研究では、肥満男性を対象に 12 週間の食習慣改善の介入を実施し、動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響について検討した。その結果、12 週間の食習慣改善により、動脈スティフネスは有意に低下し、血中 ANGPTL2 濃度は有意に減少した。また、食習慣改善による血中 ANGPTL2 濃度の変化量は動脈コンプライアンスおよび β -スティフネスインデックスの変化量と関連することが認められた。これらの結果より、肥満男性における 12 週間の食習慣改善により、血中 ANGPTL2 濃度が減少し、このことは動脈スティフネスの改善に影響を与えている可能性が示された。

6-3 研究課題 3-2. 肥満男性における定期的な有酸素性運動が動脈ステイフネスと 血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響

6-3-1 目的

定期的な有酸素性運動は、動脈ステイフネスを低下させることが報告されている (Sacre et al., 2013; Ashor et al., 2014)。一方、肥満男性における減量は、血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが報告されている (Muramoto et al., 2011)。また、冠動脈疾患患者における定期的な有酸素性運動は体重の減少と関係なく、血中 ANGPTL2 濃度を低下させるとの報告もある。しかし、肥満男性における定期的な有酸素性運動が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響については不明である。本研究では、肥満男性における 12 週間の有酸素性運動が動脈ステイフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。

6-3-2 方法

6-3-2-1 対象者

本研究の対象者は地域の新聞広告を用いて募集した。選択基準は、BMI 25 kg/m²以上の肥満男性とした。本研究では、WHO のガイドラインにより肥満の定義を BMI ≥ 25 kg/m²とした。除外基準は、心疾患または脳血管疾患に現在罹患しているか既往歴がある者とした。これらの条件を満たす者 25 名が介入に参加したが、対象者の中から、ドロップアウト 4 名、食習慣に大きな変動があった者 1 名を除外し、最終的に肥満男性 20 名を解析対象とした。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施し、全ての対象者に対して研究の目的と内容を事前に説明し、研究に参加する同意を得た。

6-3-2-2 測定項目

対象者には、測定の 24 時間前から激しい運動を避けるように、12 時間前からカフェインやアルコールを控えるように指示した。全ての測定は 20 分以上の安静後、室温 24–26°C の静かな部屋で実施した。

形態・身体組成指標

身長は 0.1 cm 単位 (Digital height meter AD-6227; A&D, Tokyo, Japan)、体重は 0.1 kg 単位 (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) で計測し、BMI は体重/身長² (kg/m²) として算出した。体脂肪率、骨格筋量はインボディ (InBody 770; インボディ・ジャパン, 東京, 日本) を用いて、0.1% 単位で測定した。ウエスト周囲径は非伸縮性のメジャーを用いて、0.1 cm で 2 回測定し、その平均値を採用した。

腹部の内臓脂肪面積

腹部の内臓脂肪面積は、デュアルインピーダンス法 (HDS-2000; Omron Healthcare, Kyoto, Japan) を用いて測定した。測定は、DUALSCAN 専用マットにあお向けに寝た状態で実施した。0.1 cm² で 2 回測定し、その平均値を採用した。

上腕血圧、心拍数、脈波伝播速度の測定

血圧脈波検査装置 (form PWV/ABI; コーリンメディカルテクノロジー社製) を用いて、仰臥位にて右上腕血圧、心拍数、上腕-足首脈波伝播速度 (baPWV) を測定した。baPWV は、両上腕・両足首にオシロメトリックセンサーを内蔵したカフを装着し、2 地点における測定部位間の距離を脈波が通過する時間差で除した値を baPWV とした。測定は 3 回行い、その平均値を採用した。

頸動脈コンプライアンス、 β -スティフネスインデックスの評価

頸動脈のコンプライアンスは超音波画像診断装置（En Visor; Philips 社製）と high-resolution linear array transducer リニアプローブ（7.5 MHz）を用いて、右総頸動脈の横断面画像を記録した（Laurent et al. 2006）。頸動脈洞から 1-2cm の位置に総頸動脈の長軸に対して 90° に当て、血管壁の境界線が確認できるポイントで記録した。画像の解析は、Image J（National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA）を用いて、最大血管径（心収縮期）と最小血管径（心拡張期）を測定した。1 心拍につき 3 ヶ所、収縮期と拡張期に一致するポイントにおいて 10 心拍分を計測し、その平均値を採用した。また、左総頸動脈の波形をアプラネーションとのメトリーセンサー（form PWV/ABI）を用いて記録し、上腕の平均血圧および拡張期血圧によって補正した値を使用した。頸動脈コンプライアンスおよび β -スティフネスインデックスは、以下の計算式により算出した（Tanaka et al., 2004）。

$$\text{頸動脈コンプライアンス} = [(D1 - D0) / D0] / [2(P1 - P0)] \pi(D0)^2$$

$$\beta\text{-スティフネスインデックス} = \ln[(P1 / P0) / [(D1 - D0) / D0]]$$

※D1、心収縮期最大頸動脈径; D0、心拡張期最大頸動脈径; P1、心収縮期頸動脈血圧;
P0、心拡張期頸動脈血圧

血液生化学データ

12 時間以上の絶食条件下で、熟練した看護師あるいは臨床検査技師が肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離し、血清を -80°C で保存した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、総コレステロール、high-density lipoprotein (HDL) コレステロール、low-density lipoprotein (LDL) コレステロール、中性脂肪を測定した。

血清 ANGPTL2 濃度

血清 ANGPTL2 濃度は Human ANGPTL2 Assay kit (Code No. 27745, Immunobiological Laboratories, Tokyo, Japan) を用いて ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) 法により測定した。ANGPTL2 の測定プロトコルに従って、Tetra Methyl Benzidine による発色後、マイクロプレートリーダー (iMark; BIORAD) を用いて 450nm で吸光度を測定し、比色定量した。

食事調査 (FFQg)

食事調査は、食物摂取頻度調査 (Food Frequency Questionnaire Based on Food Groups: FFQg) を用いて行った。FFQg は、食品群別に分けられた 29 の食品グループと 10 種類の調理法から構成された簡単な質問により、最近 1-2 ヶ月程度の期間の栄養素および食品群別摂取量を推定する方法である。栄養素摂取量・食品群別摂取量は、エクセル栄養君 FFQg Ver. 5.0 を用いて算出した。

歩数

1 日の歩数は、3 軸加度計 (Active style Pro HJA-750C; オムロン ヘルスケア, 京都, 日本) を用いて評価した。対象者には、加度計を介入開始前から介入終了まで装着するように指示した。加度計は起床から就寝まで常時腰部に装着し、入浴や水泳などの水中活動および接触の可能性のあるスポーツ活動時は外すよう指示した。先行研究に基づき、介入前の 1-2 週間におけるデータの平均値を介入前の値とし、介入期間中の平均値を介入後の値とした (辻本ら, 2014)。

最高酸素摂取量

自転車エルゴメータを用いた運動負荷試験を行った。20W で 2 分間ウォーミング

アップを実施し、この後毎分 15W ずつ段階的に負荷を高める多段階漸増負荷法により、主観的限界に至るまで運動させた。最高酸素摂取量は、自動呼気ガス分析機 (AE300S; Minato Medical Science 社製) を用い、主観的限界に至る直前の 30 秒間の平均値を採用した。主観的限界の基準は、自覚的運動強度 (Borg's scale) > 19 または、対象者の年齢から予測された最大心拍数の 95% に至ることとした。

6-3-2-3 介入方法

定期的な有酸素性運動

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の運動教室に参加した。運動教室は 1 回 70–90 分間、週に 3 回の頻度で実施した。運動内容は、ウォーミングアップセッション 15 分、ウォーキングやジョギングなどの有酸素性運動セッション 40–60 分、クールダウンセッション 15 分の構成で実施した。有酸素性運動の運動強度は、介入期間にかけて、参加者の最大心拍数の 60% から 85% まで (中等強度) 漸進的に増加した。また、介入期間中に、積極的に自宅での運動を行うように指導した。なお、食生活に関しては、介入期間中は普段の食習慣を変更しないように指示した。

6-3-2-4 統計処理

データは、「平均値 ± 標準偏差」で示した。Shapiro–Wilk 検定によって、介入前および介入後の変数が正規分布しているかを確認した。正規性を確認できた変数は、対応のある t 検定によって介入効果を検討した。正規性を確認できなかった変数は、Wilcoxon の符号順位検定によって介入効果を検討した。各変数間の関連性は、Pearson の積率相関係数 (r) もしくは Spearman の順位相関係数 (r_s) を用いて検討した。全ての統計処理では、IBM SPSS statistics 24.0 (IBM 社製) を用い、危険率 5% 未満 (両側) を統計学的に有意と見なした。

6-3-3 結果

12 週間の有酸素性運動トレーニング前後における対象者特性を Table 6-3 に示す。介入前において、対象者の平均年齢は 49 歳、平均 BMI は 27.4 kg/m^2 であった。12 週間の有酸素性運動トレーニングにより、体重、BMI、体脂肪率、ウエスト周囲径、腹部の内臓脂肪面積、中性脂肪、心拍数は有意に低下し、 VO_2peak と歩数は有意に増加した。総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、血圧、総エネルギー摂取量には有意な変化が認められた。また、介入前と比較して介入後、動脈コンプライアンス、 β -スティフネスインデックス、baPWV は有意に変化しなかったが (Figure 6-4)、血清 ANGPTL2 濃度は有意に減少した (Figure 6-5)。

12 週間の有酸素性運動トレーニングにおける BMI、腹部の内臓脂肪面積の変化量は、動脈コンプライアンスの変化量と有意な負の相関関係を示したが (Table 6-4)、血中 ANGPTL2 濃度の変化量は、BMI や腹部の内臓脂肪面積の変化量と有意な相関関係を示さなかった。また、12 週間の有酸素性運動トレーニングにおける血中 ANGPTL2 濃度の変化量と動脈コンプライアンス、 β -スティフネスインデックスの変化量の間にも有意な相関関係は認められなかった。一方、血中 ANGPTL2 濃度の変化量は、歩数の変化量と年齢に補正後有意な負の相関関係を示し (Figure 6-6)、 VO_2peak の変化量と負の相関関係の傾向を示した。

Table 6-3. Participants characteristics

	Before	After
Age, years	49 ± 10	—
Height, cm	170.5 ± 6.7	—
Body mass, kg	79.9 ± 8.3	77.8 ± 8.5 ***
Body mass index, kg/m ²	27.4 ± 2.2	26.7 ± 2.2 ***
Total body fat, %	27.9 ± 4.2	26.4 ± 3.8 **
Skeletal muscle mass, kg	32.3 ± 3.6	32.1 ± 3.6
Waist circumference, cm	95.7 ± 6.5	92.5 ± 6.4 ***
Abdominal visceral fat area, cm ²	89.3 ± 25.5	79.0 ± 21.1 **
Total cholesterol, mg/dL	204 ± 32	204 ± 33
HDL cholesterol, mg/dL	54 ± 9	55 ± 10
LDL cholesterol, mg/dL	128 ± 30	130 ± 30
Triglycerides, mg/dL	133 ± 93	100 ± 40 *
Systolic blood pressure, mm Hg	126 ± 14	128 ± 17
Diastolic blood pressure, mm Hg	82 ± 10	80 ± 10
Heart rate, beats/min	61 ± 6	57 ± 8 **
baPWV, cm/sec	1308 ± 190	1319 ± 211
VO ₂ peak, ml(kg · min) ⁻¹	25.7 ± 3.6	29.8 ± 4.3 ***
Step counts, steps/day	8362 ± 4551	10357 ± 3168 **
Total energy intake, kcal/day	1939 ± 465	1902 ± 674
Medications, n (%)	4 (20)	—
Hypertension, n (%)	4 (20)	—
Diabetes, n (%)	2 (10)	—
Dyslipidemia, n (%)	2 (10)	—
Current smoking, n (%)	2 (10)	—

Values are means ± SD. Abbreviations: HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density
 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. before the intervention

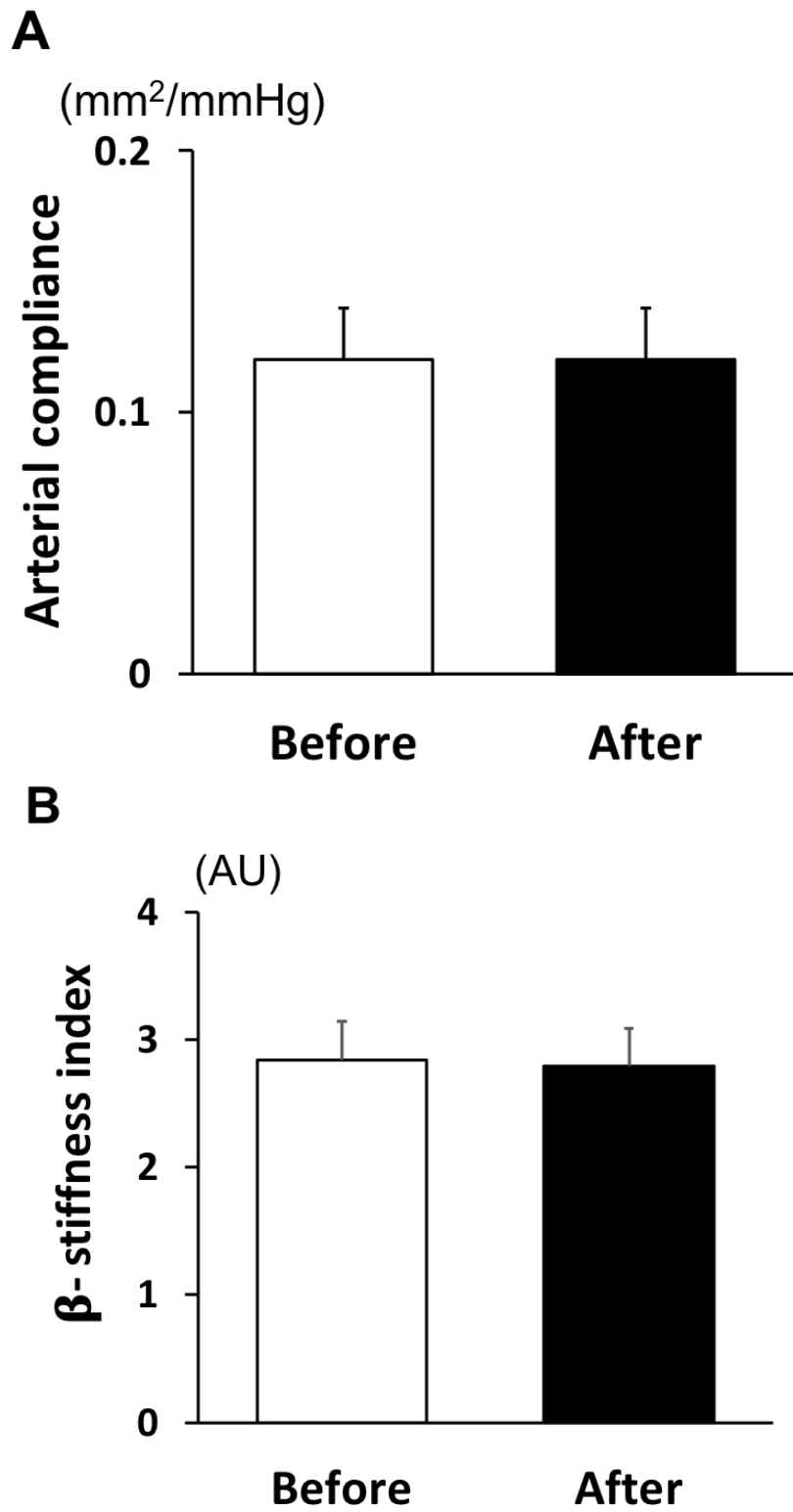


Figure 6-4. Arterial compliance (A) and β -stiffness index (B) before and after the 12-week aerobic exercise program.

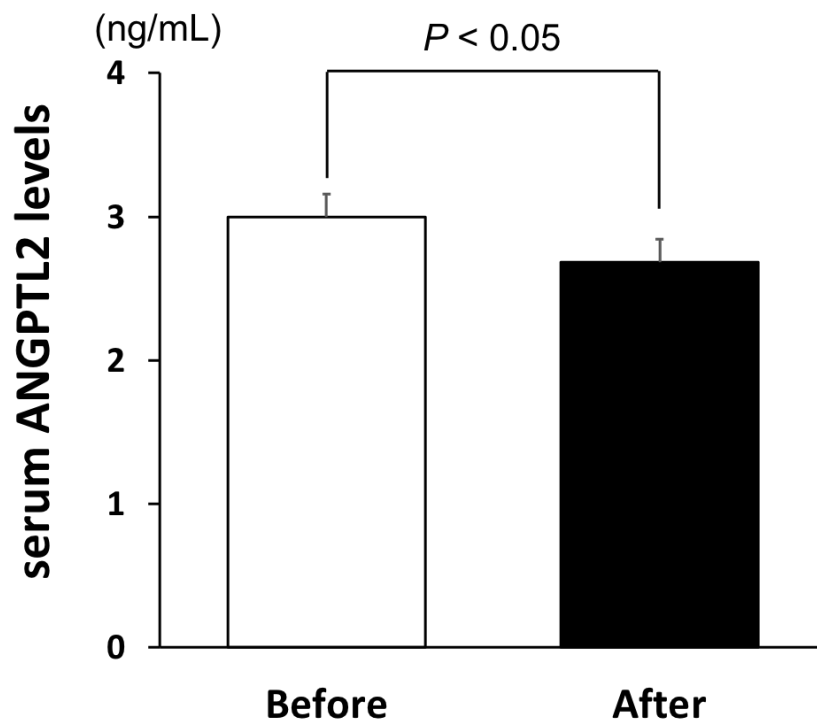


Figure 6-5. Serum ANGPTL2 levels before and after the 12-week aerobic exercise program.

Table 6-4. Correlations between changes in blood pressure or arterial stiffness and changes in adiposity or serum ANGPTL2 levels.

	Δ Arterial compliance	Δ β -stiffness index	Δ baPWV	Δ SBP	Δ DBP
Δ BMI	-0.647**	0.165	-0.030	0.117	0.217
Δ Total body fat	-0.440	0.294	0.189	0.267	0.311
Δ Abdominal visceral fat area	-0.491**	0.089	-0.015	-0.302	-0.022

Partial correlation was adjusted for age, medication and current smoking. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

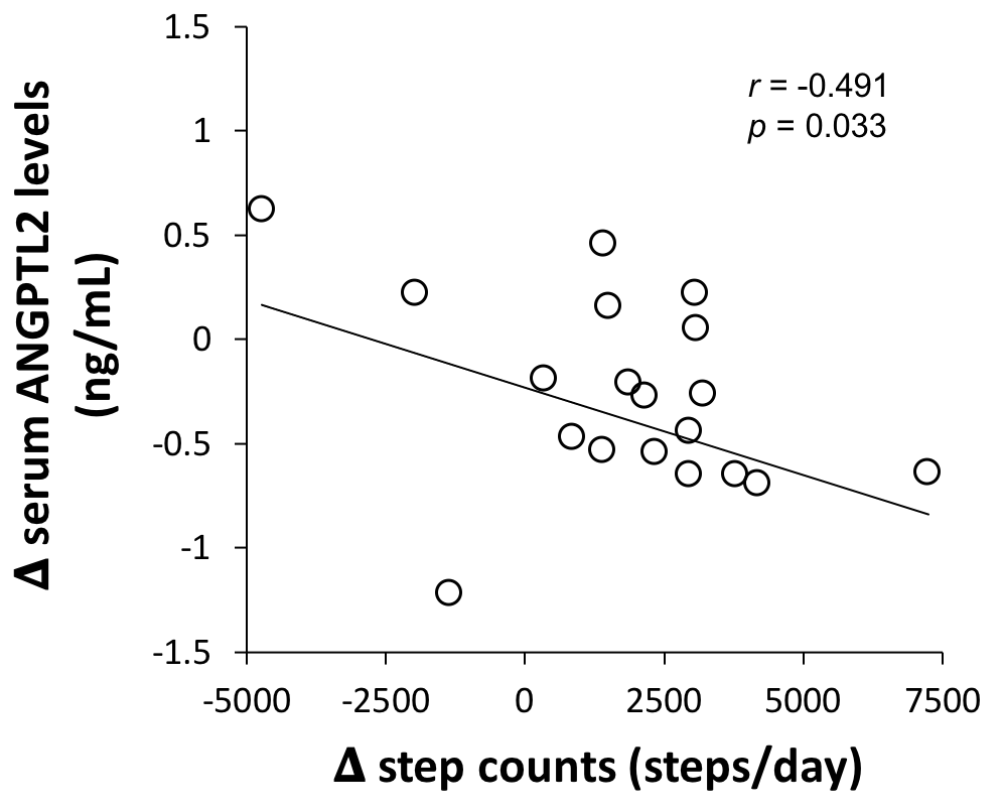


Figure 6-6. Correlation between the changes in serum ANGPTL2 levels and step counts following the 12-week dietary modification program. Partial correlation was adjusted for age.

6-3-4 考察

本研究では、肥満男性における 12 週間の有酸素性運動トレーニングにより、血中 ANGPTL2 濃度が有意に低下したが、動脈コンプライアンスは改善しなかった。また、有酸素性運動トレーニングによる身体活動の増加は、血中 ANGPTL2 濃度の変化量と相関関係を示し、肥満男性における定期的な有酸素性運動は、血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが示唆された。

先行研究によると、冠動脈疾患患者における一過性の有酸素性運動は、血中 ANGPTL2 濃度を有意に低下させ、運動後の 72 時間まで血中 ANGPTL2 濃度の減少が維持されたことが報告されている (Larouche et al., 2015)。また、急性冠動脈疾患患者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングにより、血中 ANGPTL2 濃度が有意に低下したことが報告されている (Thorin-Trescases et al., 2016)。本研究では、肥満男性における 12 週間の有酸素性運動トレーニングにより血中 ANGPTL2 濃度が有意に低下し、運動介入による身体活動や $VO_2\text{peak}$ の変化量と血中 ANGPTL2 濃度の変化量の間に関連関係があることが認められた。先行研究と本研究の結果から、定期的な有酸素性運動は、血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが示された。定期的な身体活動は、炎症性サイトカインを減少し、慢性的な抗炎症効果があることが明らかにされている。また、肥満者における 4 週間の有酸素性運動により、体重の変化はなかったが、炎症性マーカーである $TNF-\alpha$ が有意に低下し、身体活動は体重や脂肪の変化に独立して炎症レベルを改善させることが示唆されている (Koh et al., 2017)。 $TNF-\alpha$ は脂肪細胞からの ANGPTL2 発現を促進させることから (Zheng et al., 2011)、有酸素性運動トレーニングによる $TNF-\alpha$ の低下が血中 ANGPTL2 濃度の発現を抑制させた可能性が考えられる。また、運動中に多く放出されるエピネフリンは ANGPTL2 の発現や産生を抑制させることが報告されている (Meng et al., 2013)。これらのことより、急性および慢性的な運動によるエピネフリンの増加は、

ANGPTL2 の低下に影響を与えている可能性が考えられる。さらに、エピネフリンは TNF- α の産生を抑制することも報告されている (A.M. Petersen & B.K. Pedersen, 2005)。したがって、運動に伴う TNF- α やエピネフリンの変化が血中 ANGPTL2 濃度の変化に影響を与えた可能性が考えられる。

本研究では、肥満男性において 12 週間の有酸素性運動トレーニングにより、血圧および動脈ステイフネスは有意に変化しなかった。これまでに肥満者における定期的な有酸素性運動は、動脈ステイフネスを低下させることが報告されている (Miyaki & Maeda, 2012; Ashor et al., 2014)。先行研究によると、定期的な有酸素性運動による NO の活性や ET-1、IL-6、TNF- α などの減少が動脈ステイフネスの低下に影響を与えていることが報告されている (Miyaki&Maeda, 2012; Kumagai et al., 2018)。また、いくつかの報告において、高血圧患者や肥満者では、動脈ステイフネスに対する有酸素性運動のポジティブな効果が得られないことが指摘されている (Montero D et al., 2014^a, Montero D et al., 2014^b)。実際、動脈ステイフネスに対する有酸素性運動トレーニングの効果は、ベースラインの動脈ステイフネスが高く (PWV > 8m/s)、介入期間が長く、運動強度が強いほど PWV の減少が大きいことが報告されている (Ashor et al., 2014)。さらに、運動に対する効果には個人差があることも報告されており (Hecksteden et al., 2015)、これらの様々な要因により、本研究では有酸素性運動トレーニングによる動脈ステイフネスの改善が認められなかった可能性が考えられる。

本研究では、12 週間の有酸素性運動トレーニングによる動脈ステイフネスの変化量と血中 ANGPTL2 濃度の変化量の間には、有意な関連性が認められなかった。本研究課題 3-1 にて、12 週間の食習慣改善により、体重減量による内臓脂肪の減少や血中 ANGPTL2 濃度の低下が動脈ステイフネスの改善に影響を及ぼすことが示唆された。一方、本研究の有酸素性運動介入は、食習慣介入と比較して、体重や内臓脂肪、血中 ANGPTL2 濃度の減少量が少なかったため、動脈ステイフネスの変化まで

には影響を与えなかった可能性が考えられる。したがって、より長期間の運動介入を実施することで血中 ANGPTL2 濃度が大きく低下すると、動脈スティフネスの低下に好影響を与えるかもしれない。また、有酸素性運動による動脈スティフネスの改善が起こる前に血中 ANGPTL2 濃度が変化する可能性も考えられる。今後は、肥満男性における長期間の運動介入を含むさらなる検討を行い、本研究の結果をより明確にする必要があると考えられる。

6-3-5 まとめ

本研究では、肥満男性における定期的な有酸素性運動が血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスに及ぼす影響について検討した。その結果、12 週間の有酸素性運動トレーニングにより、血中 ANGPTL2 濃度は有意に低下したが、動脈スティフネスには有意な変化が認められなかった。これらのことから、肥満男性における 12 週間の有酸素性運動トレーニングは、血中 ANGPTL2 濃度を低下させることが明らかになったが、血中 ANGPTL2 濃度の変化が動脈スティフネスに影響を及ぼすかについては明らかにできなかった。

第7章 総合討論

本博士論文では、成人肥満男性における内臓脂肪および異所性脂肪、血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスの間の関連性について検討し、肥満男性における食習慣改善または定期的な有酸素性運動が動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。本博士論文の仮説は、「成人肥満男性における脂肪組織の蓄積（内臓脂肪及び異所性脂肪）は、動脈スティフネスと関連性がある。また、成人肥満男性における血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスは関連性があり、生活習慣改善（食習慣の改善または定期的な有酸素性運動）による動脈スティフネスの変化に血中 ANGPTL2 濃度の変化が関連する」とし、この仮説を検証するために3つの検討を行った。

研究課題1では、成人肥満男性を対象に、内臓脂肪と骨格筋の異所性脂肪である IMCL および EMCL に着目して、動脈スティフネスとの関連性を検討した。その結果、成人肥満男性における内臓脂肪面積や骨格筋内の異所性脂肪の蓄積は動脈スティフネスと関連することが明らかになった。さらに、成人肥満男性においては、腹部の内臓脂肪の増加が動脈スティフネスの増大に重要な因子であることが示唆された。そこで研究課題2では、内臓脂肪から多く発現し、血管の炎症を引き起こす炎症性アディポカインである ANGPTL2 に着目して、成人肥満男性における動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度の関連性を検討した。その結果、血中 ANGPTL2 濃度は、全身動脈スティフネスの指標である上腕-足首間脈波伝播速度（baPWV）と有意な関連性を示し、血中 ANGPTL2 濃度と腹部の内臓脂肪面積の間にも関連性があった。研究課題1と2の結果から、成人肥満男性における内臓脂肪の蓄積は血中 ANGPTL2 濃度と関連し、血中 ANGPTL2 濃度の増加は動脈スティフネスの増大と関連する可能性が示された。肥満により内臓脂肪が過度に蓄積すると、内臓脂肪組織からの ANGPTL2 が多く産生されるだけでなく、内皮細胞やマクロファージ (macrophages)、

血管周囲の脂肪組織 (perivascular adipose tissue) からの ANGPTL2 の分泌を促進させる (Oike et al., 2017)。さらに、これら ANGPTL2 の増加は血管の炎症を引き起こし、内皮障害やアテローム性動脈硬化に影響を与えることが報告されている (Oike et al., 2017)。これらのことより、肥満者における血中 ANGPTL2 濃度は、内臓脂肪と血管機能の両者を反映する新しい炎症性マーカーになる可能性が考えられる。

一方、肥満者における食習慣改善や定期的な有酸素性運動は、動脈スティフネスを改善させることが明らかにされているが (Maeda et al., 2015)、肥満者における食習慣改善や定期的な有酸素性運動による動脈スティフネスの低下に、血中 ANGPTL2 濃度の変化が関与するかについては明らかになっていない。そこで、研究課題 3 では食習慣改善と有酸素性運動介入を実施し、成人肥満男性における生活習慣の改善が血中 ANGPTL2 濃度と動脈スティフネスに及ぼす影響について検討した。研究課題 3-1 では、成人肥満男性における 12 週間の食習慣改善により、腹部の内臓脂肪面積と血中 ANGPTL2 濃度が有意に減少し、動脈スティフネス (動脈コンプライアンス、 β -スティフネスインデックスにて評価) が有意に低下した。また、食習慣改善による血中 ANGPTL2 濃度の変化量は、動脈スティフネスの変化量と関連することが認められた。さらに、動脈コンプライアンスの変化には、内臓脂肪面積の変化と血中 ANGPTL2 濃度の変化が独立して関連することが示された。これらの結果より、成人肥満男性における食習慣改善による内臓脂肪面積の減少と血中 ANGPTL2 濃度の低下は、動脈スティフネスの低下に影響を与えることが示唆された。研究課題 3-2 では、成人肥満男性における 12 週間の有酸素性運動トレーニングを実施した結果、腹部の内臓脂肪面積と血中 ANGPTL2 濃度が有意に低下したが、動脈スティフネスの指標には有意な変化がなく、これらの変化量の間にも有意な関連性は認められなかった。しかし、血中 ANGPTL2 濃度の変化量は、身体活動の変化量と有意な相関関係を示した。これらの結果より、成人肥満男性における定期的な有酸素性運動は、血

中 ANGPTL2 濃度を低下させることが示唆されたが、有酸素性運動による血中 ANGPTL2 濃度の変化が動脈ステイフネスに及ぼす影響までには確認できなかった。

本研究課題 3 の食事介入と運動介入の結果を比較すると、運動介入に比べ、食事介入による体重（食事：-5.6 kg vs 運動：-2.1kg、 $p < 0.01$ ）や内臓脂肪面積（食事：-35.0 cm² vs 運動：-10.3 cm²、 $p < 0.001$ ）の減少量が大きかった。さらに、運動介入と比較して、食事介入における血中 ANGPTL2 濃度の変化量（食事：-0.72 ng/mL vs 運動：-0.29 ng/mL、 $p < 0.05$ ）、動脈ステイフネスの指標である動脈コンプライアンス（食事：0.038 mm²/mmHg vs 運動：0.002 mm²/mmHg、 $p < 0.05$ ）や β -ステイフネスインデックス（食事：-0.74 vs 運動：-0.05、 $p < 0.05$ ）の変化量も大きいことが示された。すなわち、運動介入において、内臓脂肪や血中 ANGPTL2 濃度は有意に低下したものの、内臓脂肪や血中 ANGPTL2 濃度の減少量が少なかったことから、動脈ステイフネスの改善が認められなかったのかもしれない。これらのことより、成人肥満男性における生活習慣の改善による動脈ステイフネスの低下には、内臓脂肪の減少による血中 ANGPTL2 濃度の低下が関与する可能性が示された。

これまでに、食習慣改善および定期的な運動などの生活習慣の改善は、メタボリックシンドロームや心血管疾患と関連する様々な因子を改善させることが報告されている（Horton, 2009; Schuler et al., 2013）。特に、肥満はメタボリックシンドロームおよび心血管疾患と密接に関連することから、肥満の改善は社会的に重要な課題である。さらに、肥満は心血管疾患の強力な予測因子である動脈ステイフネスと関連する。本研究では、先行研究と同様に、肥満による内臓脂肪の増加が動脈ステイフネスの増大に重要であることが明らかになった。内臓脂肪が動脈ステイフネスを増大させるメカニズムは十分に明らかにされていないが、内臓脂肪細胞からの炎症性サイトカインの分泌が動脈ステイフネスに一部影響を与えている可能性が示されている（Mahabadi et al., 2009; Farb & Gokce, 2015）。本研究で着目した ANGPTL2 は、主

に脂肪組織（特に、内臓脂肪組織）から多く産生され、血管の炎症を引き起こす特徴を持つ炎症性アディポカインであるが、肥満男性における生活習慣の改善が血中 ANGPTL2 濃度に及ぼす影響については一切明らかにされていなかった。本博士論文は成人肥満男性を対象として、生活習慣改善による減量において、動脈スティフネスと血中 ANGPTL2 濃度との関係を明らかにした初めての研究であることから、その意義は非常に大きいと考えられる。さらに、肥満者における生活習慣の改善による動脈スティフネスの変化に、内臓脂肪と血管機能を反映する新しい炎症性マーカーである血中 ANGPTL2 濃度が一部関与することが明らかになり、その臨床的意義も大きいと考えられる。

本研究では、全ての研究課題でサンプルサイズが少なく、また各研究課題では対照群（非肥満者）を設けておらず、肥満男性単一群における横断検討や介入検討を採用した。本研究で得られた介入の効果を確立するためには、今後、ランダム化比較試験など、エビデンスレベルの高い研究デザインを用いた検討や様々な対象者における検討が必要である。本研究では 20–69 歳の肥満男性を対象を限定したため、それ以外の対象者（女性肥満者、幼児肥満者など）においても同様の結果が得られるかは不明である。また、本研究の介入研究では、地域の新聞広告で研究参加者を募集したため、対象者の選択バイアスが存在する可能性がある。先行研究によると、omega(ω)-3、soy isoflavones、カフェイン、ラクトバチルス・ヘルベティカス発酵乳の摂取、塩分の制限が動脈スティフネスに影響を与えることが報告されている。本研究の食事介入では、FFQ を用いた食事の内容、頻度、総摂取エネルギーなどを評価したが、これら食品やサプリメントの影響については検討していない。また、運動介入では、介入期間中、積極的に自宅でも運動を行うように指示したが、これにより各対象者間の運動の強度や頻度で差が生じた可能性が考えられる。今後は、これらの影響を最小化できる介入方法を用いて検討する必要があると考えられる。

第 8 章 結論

成人肥満男性における内臓脂肪と骨格筋の異所性脂肪は、動脈ステイフネスの増大と関連しており、特に、内臓脂肪の蓄積が動脈ステイフネスの増大と密接に関連することが示唆された。また、成人肥満男性における食習慣改善による動脈ステイフネスの改善には、内臓脂肪および血中 ANGPTL2 濃度の低下が関与する可能性が示された。一方、成人肥満男性における定期的な有酸素性運動は、動脈ステイフネスを改善しなかったが、血中 ANGPTL2 濃度を低下させる可能性が示された。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、2017年に私を学生として受け入れて頂き、研究生の時から親切丁寧なご指導・ご助言を賜りました指導教員である筑波大学体育系教授の前田清司先生に厚く御礼申し上げます。また、医学的・臨床的な観点から博士論文の質を向上させる的確なご指摘・ご助言をくださいました副指導教員である筑波大学医学医療系教授の竹越一博先生、筑波大学医学医療系教授の宮内卓教授、筑波大学体育系助教の下山寛之先生に心より感謝申し上げます。

韓国で留学を準備している時から実験や結果の解析、論文の作成まで、多大なるご指導・ご協力を親切丁寧に賜りました Inha University・Institute of Sports & Arts Convergence の崔 英珠氏に深く感謝いたします。また、本研究のデータ収集にあたり、介入研究の運営を主導してくださいました筑波大学人間総合科学研究科の妙園園香苗氏、医薬基盤・健康・栄養研究所 国立健康・栄養研究所の水島諒子研究員、京都薬科大学の棚橋嵩一郎助教に心より感謝申し上げます。さらに、3ヶ月間の介入研究に参加し、早朝からの測定に快くご協力いただきました参加者の皆様に深く感謝いたします。そして、測定へのご協力や多くのご助言をいただきました前田研究室の皆様に深く感謝申し上げます。

最後に、突然仕事を辞めて、急に留学を決めた私を絶えず暖かく見守ってくれた韓国の両親と弟に心より感謝申し上げます。また、金 賢宰氏にも心より感謝の意を表します。

参考文献

- Amy R. Johnson, J. Justin Milner, and Liza Makowski. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev.* 2012; 249(1): 218-238.
- Aoi J, Endo M, Kadomatsu T, Miyata K, Nakano M, Horiguchi H, Ogata A, Odagiri H, Yano M, Araki K, Jinnin M, Ito T, Hirakawa S, Ihn H, Oike Y. Angiotensin-like protein 2 is an important facilitator of inflammatory carcinogenesis and metastasis. *Cancer Res.* 2011; 71(24): 7502-7512.
- Ashor AW, Lara J, Siervo M, Celis-Morales C, Mathers JC. Effects of exercise modalities on arterial stiffness and wave reflection: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One.* 2014; 9(10): e110034.
- B Strasser M, Arvandi EP, Pasha AP, Haley P, Stanforth H, Tanaka. Abdominal obesity is associated with arterial stiffness in middle-aged adults. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015; 25: 495-502.
- Blausen.com staff. "Medical gallery of Blausen Medical 2014". *WikiJournal of Medicine.* 2014; 1(2). DOI:10.15347/wjm/2014.010. ISSN 2002-4436.
- Cavalcante JL1, Lima JA, Redheuil A, Al-Mallah MH. Aortic stiffness: current understanding and future directions. *J Am Coll Cardiol.* 2011; 57(14): 1511-1522.

- Chou CY, Yang YC, Wu JS, Sun ZJ, Lu FH, Chang CJ. Non-alcoholic fatty liver disease associated with increased arterial stiffness in subjects with normal glucose tolerance, but not pre-diabetes and diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2015; 12(5): 359-365.
- Cicero AF, Colletti A, Rosticci M, Cagnati M, Urso R, Giovannini M, Borghi C, D'Addato S. Effect of Lactotriptides (Isoleucine-Proline-Proline/Valine-Proline-Proline) on Blood Pressure and Arterial Stiffness Changes in Subjects with Suboptimal Blood Pressure Control and Metabolic Syndrome: A Double-Blind, Randomized, Crossover Clinical Trial. *Metab Syndr Relat Disord*. 2016; 14(3): 161-166.
- Czernichow S, Bertrais S, Oppert JM, Galan P, Blacher J, Ducimetière P, Hercberg S, Zureik M. Body composition and fat repartition in relation to structure and function of large arteries in middle-aged adults (the SU.VI.MAX study). *Int J Obes (Lond)*. 2005; 29(7): 826-832.
- Czernichow S, Mennen L, Bertrais S, Preziosi P, Hercberg S, Oppert JM. Relationships between changes in weight and changes in cardiovascular risk factors in middle-aged French subjects: effect of dieting. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26(8): 1138-1143.
- De Larochellière E, Côté J, Gilbert G, Bibeau K, Ross MK, Dion-Roy V, Pibarot P, Després JP, Larose E. Visceral/epicardial adiposity in nonobese and apparently healthy young adults: association with the cardiometabolic profile. *Atherosclerosis*. 2014; 234(1): 23-29.

Desjardins MP, Thorin-Trescases N, Sidibé A, Fortier C, De Serres SA, Larivière R, Thorin E, Agharazii M. Levels of Angiotensin-Like-2 Are Positively Associated With Aortic Stiffness and Mortality After Kidney Transplantation. *Am J Hypertens*. 2017; 30: 409-416.

Després JP & Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006; 444(7121): 881-887.

Edwards DG & Lang JT. Augmentation index and systolic load are lower in competitive endurance athletes. *Am J Hypertens*. 2005; 18(5 Pt 1): 679-683.

ES Horton. Effects of Lifestyle Changes to Reduce Risks of Diabetes and Associated Cardiovascular Risks: Results From Large Scale Efficacy Trials. *Obesity*. 2009; 17(S3) : S43-S48.

Fabbrini E, Magkos F, Mohammed BS, Pietka T, Abumrad NA, Patterson BW et al. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci*. 2009; 106: 15430-15435.

Farhat N, Thorin-Trescases N, Mamarbachi M, Villeneuve L, Yu C, Martel C, Duquette N, Gayda M, Nigam A, Juneau M, Allen BG, Thorin E. Angiotensin-like 2 promotes atherogenesis in mice. *J Am Heart Assoc*. 2013; 2(3): e000201.

Farb MG & Gokce N. Visceral adiposity: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2015; 21(2): 125-136.

Fernberg U, Fernström M, Hurtig-Wennlöf A. Arterial stiffness is associated to cardiorespiratory fitness and body mass index in young Swedish adults: The Lifestyle, Biomarkers, and Atherosclerosis study. *Eur J Prev Cardiol.* 2017; 24(17): 1809-1818.

Gemmink A, Daemen S, Brouwers B, Huntjens PR, Schaart G, Moonen-Kornips E et al. Dissociation of intramyocellular lipid storage and insulin resistance in trained athletes and type 2 diabetes patients; involvement of perilipin 5? *J Physiol.* 2018; 596: 857-868.

Gemmink A, Goodpaster BH, Schrauwen P, Hesselink MKC. BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids Intramyocellular lipid droplets and insulin sensitivity, the human. *BBA - Mol Cell Biol Lipids.* 2017; 1862: 1242-1249.

Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance- trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(12): 5755-5761.

Hasegawa N, Kurihara T, Sato K, Homma T, Fujie S, Fujita S et al. Intramyocellular and extramyocellular lipids are associated with arterial stiffness. *Am J Hypertens.* 2015; 28: 1473-1479.

Hata J, Mukai N, Nagata M, Ohara T, Yoshida D, Kishimoto H, Shibata M, Hirakawa Y, Endo M, Ago T, Kitazono T, Oike Y, Kiyohara Y, Ninomiya T. Serum Angiopoietin-Like Protein 2 Is a Novel Risk Factor for Cardiovascular Disease in the Community: The Hisayama Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016; 36: 1686-1691.

- Hato T, Tabata M, Oike Y. The role of angiopoietin-like proteins in angiogenesis and metabolism. *Trends Cardiovasc Med.* 2008; 18(1): 6-14.
- Hecksteden XA, Kraushaar J, Scharhag-rosenberger F, Theisen D, Senn S, Meyer T. Individual response to exercise training - a statistical perspective. *J Appl Physiol.* 2015; 118: 1450-1459.
- Hegazi RA, Sutton-Tyrrell K, Evans RW, Kuller LH, Belle S, Yamamoto M, Edmundowicz D, Kelley DE. Relationship of adiposity to subclinical atherosclerosis in obese patients with type 2 diabetes. *Obes Res.* 2003; 11(12): 1597-1605.
- Horio E, Kadomatsu T, Miyata K, Arai Y, Hosokawa K, Doi Y, Ninomiya T, Horiguchi H, Endo M, Tabata M, Tazume H, Tian Z, Takahashi O, Terada K, Takeya M, Hao H, Hirose N, Minami T, Suda T, Kiyohara Y, Ogawa H, Kaikita K, Oike Y. Role of endothelial cell-derived angptl2 in vascular inflammation leading to endothelial dysfunction and atherosclerosis progression. *Atheroscler Tromb Vasc Biol.* 2014; 34: 790-800.
- Hubert, H. B., Feinleib, M., McNamara, P. M., & Castelli, W. P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 1983; 67(5): 968-977.
- Isobe T, Okamoto Y, Hirano Y, Ando H, Takada K, Sato E et al. Effect of biological factors on successful measurements with skeletal-muscle 1H-MRS. *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2016; 12: 1133-1137.

- Jia G, Aroor AR, DeMarco VG, Martinez-Lemus LA, Meininger GA, Sowers JR. Vascular stiffness in insulin resistance and obesity. *Front Physiol.* 2015; 6: 1-8.
- Jung CH, Lee WJ, Lee MJ, Kang YM, Jang JE, Leem J, La Lee Y, Seol SM, Yoon HK, Park JY. Association of serum angiopoietin-like protein 2 with carotid intima-media thickness in subjects with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2015; 14: 35.
- Kadomatsu T, Endo M, Miyata K, Oike Y. Diverse roles of ANGPTL2 in physiology and pathophysiology. *Trends Endocrinol Metab.* 2014; 25(5): 245-254.
- Kagawa A. The four-food-group-point-method (in Japanese). *J Kagawa Nutr Univ.* 1983; 14: 5-12.
- Kim J, Lee SK, Jang YJ, Park HS, Kim JH, Hong JP, Lee YJ, Heo YS. Enhanced ANGPTL2 expression in adipose tissues and its association with insulin resistance in obese women. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 13976.
- Koh Y, Park KS. Responses of inflammatory cytokines following moderate intensity walking exercise in overweight or obese individuals. *J Exerc Rehabil.* 2017; 13(4): 472-476.
- Kumagai H, Zempo-Miyaki A, Yoshikawa T, Eto M, So R, Tsujimoto T, Nishiyasu T, Tanaka K, Maeda S. Which cytokine is the most related to weight loss-induced decrease in arterial stiffness in overweight and obese men? *Endocr J.* 2018; 65(1): 53-61.

- Laurent S, Cockcroft J, Van BL, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *European heart journal*. 2006; 27: 2588-2605.
- Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001; 37(5): 1236-1241.
- Larouche JF, Yu C, Luo X, Farhat N, Guiraud T, Lalongé J, Gayda M, Juneau M, Lambert J, Thorin-Trescases N, Thorin E, Nigam A. Acute High-Intensity Intermittent Aerobic Exercise Reduces Plasma Angiopoietin-Like 2 in Patients With Coronary Artery Disease. *Can J Cardiol*. 2015; 31(10): 1232-1239.
- Lefferts WK, Sperry SD, Jorgensen RS, Kasprovicz AG, Skilton MR, Figueroa A, Heffernan KS. Carotid stiffness, extra-media thickness and visceral adiposity in young adults. *Atherosclerosis*. 2017; 265: 140-146.
- Maeda, S., Zempo-Miyaki, A., Sasai, H., Tsujimoto, T., So, R., & Tanaka, K. Lifestyle modification decreases arterial stiffness in overweight and obese men: dietary modification vs. exercise training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2015; 25(1): 69-77.
- Mahabadi AA, Massaro JM, Rosito GA, Levy D, Murabito JM, Wolf PA, O'Donnell CJ, Fox CS, Hoffmann U. Association of pericardial fat, intrathoracic fat, and visceral abdominal fat with cardiovascular disease burden: the Framingham Heart Study. *Eur Heart J*. 2009; 30(7): 850-856.

- Mäki-Petäjä KM, Hall FC, Booth AD, Wallace SM, Yasmin, Bearcroft PW, Harish S, Furlong A, McEniery CM, Brown J, Wilkinson IB. Rheumatoid arthritis is associated with increased aortic pulse-wave velocity, which is reduced by anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Circulation*. 2006; 114(11): 1185-1192.
- Mathieu P, Lemieux I, Després JP. Obesity inflammation, and cardiovascular risk. *Clin Pharmacol Ther*. 2010; 87(4): 407-416.
- Mathieu P, Pibarot P, Larose É, Poirier P, Marette A, & Després JP. Visceral obesity and the heart. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008; 40(5): 821-836.
- McCormack SE, McCarthy MA, Harrington SG, Farilla L, Hrovat MI, Systrom DM et al. Effects of exercise and lifestyle modification on fitness, insulin resistance, skeletal muscle oxidative phosphorylation and intramyocellular lipid content in obese children and adolescents. *Pediatr Obes*. 2014; 9: 281-291.
- McEniery CM, Spratt M, Munnery M, Yarnell J, Lowe GD, Rumley A, Gallacher J, Ben-Shlomo Y, Cockcroft JR, Wilkinson IB. An analysis of prospective risk factors for aortic stiffness in men: 20-year follow-up from the Caerphilly prospective study. *Hypertension*. 2010; 56(1): 36-43.
- McGee DL. Body mass index and mortality: a meta-analysis based on person-level data from twenty-six observational studies. *Ann Epidemiol*. 2005; 15(2): 87-97.
- Meng QX, Wen L, Chen XY, Zhong HJ. Association of serum angiopoietin-like protein 2 and epinephrine levels in metabolically healthy but obese individuals: in vitro and in vivo evidence. *Exp Ther Med*. 2013; 5: 1631-1636.

Michele Longo, Federica Zatterale, Jamal Naderi, Luca Parrillo, Pietro Formisano, Gregory Alexander Raciti, Francesco Beguinot, Claudia Miele. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(9): 2358.

Michiels C. Endothelial cell functions. *J Cell Physiol*. 2003; 196(3): 430-443.

Miyachi M, Kawano H, Sugawara J, Takahashi K, Hayashi K, Yamazaki K, Tabata I, Tanaka H. Unfavorable effects of resistance training on central arterial compliance: a randomized intervention study. *Circulation*. 2004; 110(18): 2858-2863.

Miyaki A & Maeda S. Arterial stiffness and lifestyle modification. *J Phys Fit Sports Med*. 2012; 1(2): 205-210.

Miyaki A, Maeda S, Yoshizawa M, Misono M, Saito Y, Sasai H, Endo T, Nakata Y, Tanaka K, Ajisaka R. Effect of weight reduction with dietary intervention on arterial distensibility and endothelial function in obese men. *Angiology*. 2009a; 60(3): 351-357

Miyaki A, Maeda S, Yoshizawa M, Misono M, Saito Y, Sasai H, Kim MK, Nakata Y, Tanaka K, Ajisaka R. Effect of habitual aerobic exercise on body weight and arterial function in overweight and obese men. *Am J Cardiol*. 2009b; 104 (6): 823-828.

Munk PS, Staal EM, Butt N, Isaksen K, Larsen AI. High-intensity interval training may reduce in-stent restenosis following percutaneous coronary intervention with stent implantation A randomized controlled trial evaluating the relationship to endothelial function and inflammation. *Am Heart J*. 2009; 158: 734-741.

Muramoto A, Tsushita K, Kato A, Ozaki N, Tabata M, endo M, Oike Y, Oiso Y.

Angiotensin-like protein 2 sensitively responds to weight reduction induced by lifestyle intervention on overweight Japanese men. *Nutrition and Diabetes*. 2011; 1; e20.

Moreau KL, Silver AE, Dinunno FA, Seals DR. Habitual aerobic exercise is associated with smaller femoral artery intima-media thickness with age in healthy men and women. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2006; 13(5): 805-811.

Montero D, Roche E, Martinez-Rodriguez A. The impact of aerobic exercise training on arterial stiffness in pre- and hypertensive subjects: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2014a; 173: 361-368.

Montero D, Roberts CK, Vinet A. Effect of aerobic exercise training on arterial stiffness in obese populations : a systematic review and meta-analysis. *Sports Med*. 2014b; 44: 833-843.

Nathalie Thorin-Trescases, Eric Thorin. High Circulating Levels of ANGPTL2: Beyond a Clinical Marker of Systemic Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017: 1096385.

Nathalie Thorin-Trescases, Doug Hayami, Carol Yu, Xiaoyan Luo, Albert Nguyen, Jean-François Larouche, Julie Lalongé, Christine Henri, André Arsenault, Mathieu Gayda, Martin Juneau, Jean Lambert, Eric Thorin, Anil Nigam. Exercise Lowers Plasma Angiotensin-Like 2 in Men with Post-Acute Coronary Syndrome. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164598.

- Nocon M, Hiemann T, Müller-Riemenschneider F, Thalau F, Roll S, Willich SN. Association of physical activity with all-cause and cardiovascular mortality: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2008; 15(3): 239-246.
- Ntaios G, Gatselis NK, Makaritsis K, & Dalekos GN. Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2013; 227(2): 216-221.
- Olson TP, Dengel DR, Leon AS, Schmitz KH. Moderate resistance training and vascular health in overweight women. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38: 1558-1564.
- Oike Y, Kadomatsu T, & Endo M. The role of ANGPTL2-induced chronic inflammation in lifestyle diseases and cancer. *Inflammation and Regeneration.* 2015; 35(4): 193-202.
- Oike Y & Tabata M. Angiotensin-like proteins--potential therapeutic targets for metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Circ J.* 2009; 73(12): 2192-2197.
- Oike Y, Akao M, Kubota Y, Suda T. Angiotensin-like proteins: potential new targets for metabolic syndrome therapy. *Trends Mol Med.* 2005; 11(10): 473-479.
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011; 2: 85-97.
- Patel RS, Al Mheid I, Morris AA, Ahmed Y, Kavtaradze N, Ali S, Dabhadkar K, Brigham K, Hooper WC, Alexander RW, Jones DP, Quyyumi AA. Oxidative stress is associated with impaired arterial elasticity. *Atherosclerosis.* 2011; 218(1): 90-95.

- Pase MP, Grima NA, Sarris J. The effects of dietary and nutrient interventions on arterial stiffness: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93(2): 446-454.
- Park S, Lakatta EG. Role of inflammation in the pathogenesis of arterial stiffness. *Yonsei Med J.* 2012; 53(2): 258-261.
- Park SH and Shim KW. Reduction in Visceral Adiposity is Highly Related to Improvement in Vascular Endothelial Dysfunction among Obese Women: An Assessment of Endothelial Function by Radial Artery Pulse Wave Analysis. *Yonsei Med J.* 2005; 46(4): 511-518.
- Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005; 98(4): 1154-1162.
- Raitakari M, Ilvonen T, Ahotupa M, Lehtimäki T, Harmoinen A, Suominen P, Elo J, Hartiala J, Raitakari OT. Weight reduction with very-low-caloric diet and endothelial function in overweight adults: role of plasma glucose. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(1): 124-128.
- Piccardi B, Giralt D, Bustamante A, Llombart V, García-Berrocó T, Inzitari D, Montaner J. Blood markers of inflammation and endothelial dysfunction in cardioembolic stroke: systematic review and meta-analysis. *Biomarkers.* 2017; 22(3-4): 200-209.
- Romero-Corral A, Sert-Kuniyoshi FH, Sierra-Johnson J, Orban M, Gami A, Davison D, Singh P, Pusalavidyasagar S, Huyber C, Votruba S, Lopez-Jimenez F, Jensen MD, Somers VK. Modest visceral fat gain causes endothelial dysfunction in healthy humans. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56(8): 662-666

- Ruggenenti P, Abbate M, Ruggiero B, Rota S, Trillini M, Aparicio C, Parvanova A, Petrov I, Iliev I, Pisanu G, Perna A, Russo A, Diadei O, Martinetti D, Cannata A, Carrara F, Ferrari S, Stucchi N, Remuzzi G, Fontana L; C.RE.S.O. Study Group. Renal and Systemic Effects of Calorie Restriction in Patients With Type 2 Diabetes With Abdominal Obesity: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes*. 2017; 66(1): 75-86.
- Sacre JW, Jennings GL, Kingwell BA. Exercise and dietary influences on arterial stiffness in cardiometabolic disease. *Hypertension*. 2014; 63(5): 888-893.
- Safar ME. Obesity, Arterial Stiffness, and Cardiovascular Risk. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17: S109-S111.
- Savoia C, Sada L, Zezza L, Pucci L, Lauri FM, Befani A, Alonzo A, Volpe M. Vascular inflammation and endothelial dysfunction in experimental hypertension. *Int J Hypertens*. 2011; 2011: 281240.
- Schiffrin EL. Vascular stiffening and arterial compliance. Implications for systolic blood pressure. *Am J Hypertens*. 2004; 17: 39S-48S
- Schuler G, Adams V, Goto Y. Role of exercise in the prevention of cardiovascular disease: results, mechanisms, and new perspectives. *Eur Heart J*. 2013; 34(24): 1790-1799.
- Shaween Al-Talabany, Ify Mordi, J. Graeme Houston, Helen M. Colhoun, Jonathan R. Weir-McCall, Shona Z. Matthew, Helen C. Looker, Daniel Levin, Jill J. F. Belch, Fiona Dove, Faisal Khan and Chim C. Lang. Epicardial adipose tissue is related to arterial stiffness and inflammation in patients with cardiovascular disease and type 2 diabetes. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018; 18: 31.

Shida T, Akiyama K, Oh S, Sawai A, Isobe T, Okamoto Y et al. Skeletal muscle mass to visceral fat area ratio is an important determinant affecting hepatic conditions of non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2018; 53: 535-547.

Shiga T, Hamaguchi T, Oshima Y, Kanai H, Hirata M, Hosoda K et al. A new simple measurement system of visceral fat accumulation by bioelectrical impedance analysis. WC 2009, IFMBE Proceedings 25/VII, 2009; 338-341.

Shirwany NA, & Zou MH. Arterial stiffness : a brief review. *Acta Pharmacol Sin*. 2010; 31(10): 1267-1276.

SK Kim, SW Park, IJ Hwang, YK Lee and YW Cho. High fat stores in ectopic compartments in men with newly diagnosed type 2 diabetes: an anthropometric determinant of carotid atherosclerosis and insulin resistance. *Int J Obes*. 2010; 34: 105-110.

Sinha R, Dufour S, Petersen KF, LeBon V, Enoksson S, Ma YZ, Savoye M, Rothman DL, Shulman GI, Caprio S. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes*. 2002; 51(4): 1022-1027.

Sugawara J, Otsuki T, Tanabe T, Hayashi K, Maeda S, Matsuda M. Physical activity duration, intensity, and arterial stiffening in postmenopausal women. *American journal of hypertension*. 2006; 19(10): 1032-1036.

Sugawara J, Inoue H, Hayashi K, Yokoi T, Kono I. Effect of low-intensity aerobic exercise training on arterial compliance in postmenopausal women. *Hypertension Research*. 2004; 27(12): 897-901.

Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest*. 2011; 121(6): 2094-2101.

Sutton-Tyrrell K, Newman A, Simonsick EM, Havlik R, Pahor M, Lakatta E, Spurgeon H, Vaitkevicius P & Health ABC Investigators. Aortic stiffness is associated with visceral adiposity in older adults enrolled in the study of health, aging, and body composition. *Hypertension*. 2001; 38(3): 429-433.

Tabata M, Kadomatsu T, Fukuhara S, Miyata K, Ito Y, Endo M, Urano T, Zhu HJ, Tsukano H, Tazume H, Kaikita K, Miyashita K, Iwawaki T, Shimabukuro M, Sakaguchi K, Ito T, Nakagata N, Yamada T, Katagiri H, Kasuga M, Ando Y, Ogawa H, Mochizuki N, Itoh H, Suda T, Oike Y. Angiopoietin-like protein 2 promotes chronic adipose tissue inflammation and obesity-related systemic insulin resistance. *Cell Metab*. 2009; 10(3): 178-188.

Taddei S, Galetta F, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Franzoni F, Giusti C, Salvetti A. Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. *Circulation*. 2000; 101(25): 2896-2901.

Tanaka H, Munakata M, Kawano Y, Ohishi M, Shoji T, Sugawara J, Tomiyama H, Yamashina A, Yasuda H, Sawayama T, Ozawa T. Comparison between carotid-

- femoral and brachial-ankle pulse wave velocity as measures of arterial stiffness. *J Hypertens.* 2009; 27(10): 2022-2027.
- Tanaka C, Yoshida H, Amano H, Kumagai S, Fujiwara Y, Tsuchiya Y, Shinkai S. Physical activity level and physical, mental and social factors in community-dwelling elderly people. *Nihon Koshu Eisei Zasshi.* 2006; 53(9): 671-680.
- Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation.* 2000; 102: 1270-1275.
- Takahashi K, Yoshimura Y, Kaimoto T, Kunji D, Komatsu T, Yamamoto S. Validation of a food frequency questionnaire based on food groups for estimating individual nutrient intake. *Jpn J Nutr.* 2001; 59: 221-232.
- Tchernof A & Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013; 93(1): 359-404.
- Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovasc Diabetol.* 2011; 10: 12.
- Tian Z, Miyata K, Tazume H, Sakaguchi H, Kadomatsu T, Horio E, Takahashi O, Komohara Y, Araki K, Hirata Y, Tabata M, Takanashi S, Takeya M, Hao H, Shimabukuro M, Sata M, Kawasuji M, Oike Y. Perivascular adipose tissue-secreted angiopoietin-like protein 2 (Angptl2) accelerates neointimal hyperplasia after endovascular injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2013; 57: 1-12.

Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Varille V, Guy-Grand B, Sidi D, Girardet JP, Bonnet D.

Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet*. 2001; 358(9291): 1400-1404.

Twig G, Tirosh A, Leiba A, Levine H, Ben-Ami Shor D, Derazne E, Haklai Z, Goldberger N, Kasher-Meron M, Yifrach D, Gerstein HC, Kark JD. Diabetes Care. BMI at age 17 years and diabetes mortality in midlife: a nationwide cohort of 2.3 million adolescents. *Diabetes Care*. 2016; 39(11): 1996-2003.

Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006; 444: 875.

Van Guilder GP, Westby CM, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. *Hypertension*. 2007; 50(2): 403-409.

Vona M, Codeluppi GM, Iannino T, Ferrari E, Bogousslavsky J, von Segesser LK. Effects of different types of exercise training followed by detraining on endothelium-dependent dilation in patients with recent myocardial infarction. *Circulation*. 2009; 119: 1601-1608.

Virkkamaki A, Korshennikova E, Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Goto T, Halavaara J, et al. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle. *Diabetes*. 2001; 50: 2337-2343.

Wildman RP, Mackey RH, Bostom A, Thompson T, Sutton-Tyrrell K. Measures of obesity are associated with vascular stiffness in young and older adults. *Hypertension*. 2003; 42(4): 468-473.

World Health Organization. Obesity and overweight. 2018; Retrieved from <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Yang F, Wang G, Wang Z, Sun M, Cao M, Zhu Z, Fu Q, Mao J, Shi Y, Yang T. Visceral adiposity index may be a surrogate marker for the assessment of the effects of obesity on arterial stiffness. *PLoS One*. 2014; 9(8): e104365.

Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Choi Y, Shimojo N, Ajisaka R, Tanaka H. Additive beneficial effects of lactotripeptides and aerobic exercise on arterial compliance in postmenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 297(5): 1899-1903.

Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Choi Y, Shimojo N, Ajisaka R, Tanaka H. Additive beneficial effects of lactotripeptides intake with regular exercise on endothelium-dependent dilatation in postmenopausal women. *Am J Hypertens*. 2010; 23(4): 368-372.

Zebekakis PE, Nawrot T, Thijs L, Balkestein EJ, van der Heijden-Spek J, Van Bortel LM et al. Obesity is associated with increased arterial stiffness from adolescence until old age. *J Hypertens*. 2005; 23: 1839-1846.

Zheng J, Umikawa M, Cui C, Li J, Chen X, Zhang C, et al. Inhibitory receptors bind ANGPTLs and support blood stem cells and leukaemia development. *Nature*. 2012; 485: 656-660.

Zheng JY, Zou JJ, Wang WZ, Feng XY, Shi YY, Zhao Y, Jin G, Liu ZM. Tumor necrosis factor- α increases angiopoietin-like protein 2 gene expression by activating Foxo1 in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*. 2011; 339(1-2): 120-129.

Zieman SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25(5): 932-943.

厚生労働省 (2017a) 平成 28 年 人口動態統計(確定数)の概況

厚生労働省 (2017b) 平成 28 年 国民健康・栄養調査結果の概要

辻本 健彦, 蘇 リナ, 金 甫建, 加藤 千晶, 小林 奈美, 鈴木 駿, 田中 喜代次. 肥満男性における生活習慣改善に伴う低強度身体活動時間の増加はインスリン抵抗性を改善させる. *体力科学*. 2014; 63(4): 415-423.