

論 文 要 旨

Relationship Between Bilirubin Concentration, Coronary Endothelial Function, and Inflammatory Stress in Overweight Patients

肥満患者における血清ビリルビン濃度と冠動脈内皮機能及び炎症反応との関係について

吉 野 聡 史

【序論および目的】 (適宜、項目をたてて、必ず2頁で記載する)

ビリルビンは、動脈硬化の進展に対する保護作用を有する。またメタボリック症候群の患者において、血清ビリルビン濃度上昇に伴いインスリン抵抗性が改善するという報告がある。肥満患者におけるビリルビンと動脈硬化の関係について評価するため、血清ビリルビン値と冠血管機能、脂質・糖代謝項目及び炎症メディエーターの関連について検討した。

【材料および方法】

2000年1月から2008年3月までの間、冠動脈に有意狭窄を認めなかった連続107名を対象とし、BMI 25以上の肥満群(36名)とBMI 25未満の非肥満群(71名)の2群比較を行った。冠動脈血管機能検査を施行、冠動脈における血流依存性血管拡張反応(FMD)を評価するため、左冠動脈にパパベリンを投与し造影を行い、対照血管径の増大率(%)を反応性充血により生じた%FMDとした。総ビリルビン、高感度CRP、HDL-C(高密度脂蛋白コレステロール)、空腹時血糖及びインスリンを測定、インスリン抵抗指数(HOMA-IR)を算出した。

【結 果】

肥満群において、%FMDは対数変換した総ビリルビンとのみ正の相関を示した($r=0.38$, $p<0.05$)。対数変換した総ビリルビンは、HDL-C値と正の相関を示し($r=0.30$, $p<0.05$)、対数変換した高感度CRP値及びHOMA-IR値と負の相関を示した($r=-0.45$, $p<0.01$, $r=-0.44$, $p<0.05$)。重回帰分析では、高感度CRP値のみが血清総ビリルビンに対する独立した予測因子であった。

非肥満群において、%FMDは各パラメーターと相関関係を認めなかった。対数変換した総ビリルビンは、年齢及び対数変換したHOMA-IR値と負の相関を示した($r=-0.26$, $p<0.05$, $r=-0.40$, $p<0.01$)。重回帰分析では、独立した予測因子を認めなかった。

【結論及び考察】

ビリルビンの作用として、抗酸化作用の他に抗炎症効果、インスリン抵抗性改善作用、HDL-コレステロール上昇作用が報告されている。

肥満患者において、ビリルビン濃度が高値であることは良好な冠動脈内皮機能と関連し、その作用には抗炎症効果が強く関与していることが示唆される。

(Journal of atherosclerosis and thrombosis 2011年 掲載)

論文審査の要旨

報告番号	総研第 129 号		学位申請者	吉野 聡史
審査委員	主査	坪内 博仁	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	上村 裕一	副査	井本 浩
	副査	竹中 俊宏	副査	新村 英士

Relationship between bilirubin concentration, coronary endothelial function, and inflammatory stress in overweight patients

(肥満患者における血清ビリルビン濃度と冠動脈内皮機能および炎症反応との関係)

体質性黄疸である Gilbert 症候群では、ビリルビンは虚血性心疾患発症に対する保護作用を有するが、低ビリルビン血症では同疾患の発症が増加する。また、メタボリックシンドロームの小児患者では、血清ビリルビン濃度が高値であるとインスリン抵抗性は良好であると報告されている。そこで、学位申請者らは肥満者及び非肥満者において、ビリルビンと冠血管機能、炎症メディエーター、脂質・糖代謝項目との関係について比較検討した。冠動脈造影にて有意狭窄病変を認めなかった 107 名を対象とし、BMI \geq 25 を肥満群、BMI $<$ 25 を非肥満群とした。それぞれの群をさらに低ビリルビン群 (0.7 mg/dl 未満) と高ビリルビン群 (0.7 mg/dl 以上) に分けた。冠血管機能検査を施行、冠動脈における血流依存性血管拡張反応 (flow-mediated dilatation: FMD) を評価するために、Papaverine 投与時の冠血管径変化率を算出し、%FMD とした。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) 単回帰分析において、対数変換した血清総ビリルビンは、肥満群の %FMD とのみ正の相関を示したが、非肥満群の %FMD とは相関関係を認めなかった。
- 2) 肥満患者の高ビリルビン群における %FMD は、低ビリルビン群に比し有意に高値であった。
- 3) 肥満群において、血清総ビリルビンは血清 HDL-コレステロールと正の相関を示し、対数変換した高感度 CRP 及び homeostasis model assessment insulin resistance index (HOMA-IR) と負の相関を示した。
- 4) 肥満群における重回帰分析では、高感度 CRP のみが血清総ビリルビンに対する独立した因子であった。
- 5) 肥満患者の高ビリルビン群における高感度 CRP は、低ビリルビン群に比し有意に低値であった。

以上の結果から、肥満者においてビリルビンは冠動脈内皮保護作用を有し、その機序として、メタボリックシンドロームの心血管イベントとして重要な炎症に対するビリルビンの抑制作用や、HDL-コレステロール及び HOMA-IR などに及ぼす効果に関連することが示唆された。

本研究は、肥満患者における血清ビリルビン濃度と冠動脈内皮機能および炎症反応との関係を検討し、その結果、肥満患者では、血清ビリルビン濃度が高値であることは良好な冠動脈内皮機能と関連し、その機序として抗炎症効果が強く関与していることを明らかにした極めて興味深い研究である。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 129 号	学位申請者	吉野 聡史
審査委員	主査	坪内 博仁	学位 博士 (医学)・歯学・学術)
	副査	上村 裕一	副査 井本 浩
	副査	竹中 俊宏	副査 新村 英士

主査および副査の5名は、平成23年5月16日、学位申請者吉野 聡史 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) パパベリンは冠動脈内皮機能にどのように働いて、冠動脈血流依存性血管拡張反応を測定できるのか。

(回答) パパベリンは抵抗血管の平滑筋に直接作用し抵抗血管を拡張させる。それにより抵抗血管及び導管血管の血流が増加し、導管血管に対するずり応力 (shear stress)が増大することでNO産生が増加し、導管血管が拡張する。以上より導管血管径の変化率を測定することで冠動脈血流依存性血管拡張反応を測定することができる。

質問2) 血管拡張において、shear stressにより放出される血管内皮拡張物質はNOだけか。

(回答) 血管拡張ガスメディエーターはNOが主体であるが、他にはCOもあげられる。

質問3) COや鉄イオンが過酸化物質に働くという報告はあるか。

(回答) COや鉄イオンも抗酸化作用を発揮するとする報告がある。

質問4) 本研究のビリルビンの正常上限値は正常より少し高い程度であるが、それより高値であると、どうなるのか。

(回答) 適正範囲内でのビリルビンは抗酸化作用を発揮するが、それ以上の濃度では肝機能障害を伴う可能性が高いことと、脳血流閉門を通過し神経障害を引き起こす可能性があることより、有害となると考えられる。

質問5) 血清ビリルビンを高くする方法はあるか。

(回答) 現時点でビリルビンをコントロールする方法はなく本研究の限界であるが、薬剤や手術による体重減少によりビリルビン濃度が高値となり、抗酸化作用が得られたとする報告はある。

質問6) ビリルビンには直接型と間接型があるが、その差はないのか。

(回答) 代謝から考えると、間接ビリルビンが抗酸化作用を有することは明らかであるが、直接ビリルビンも抗酸化作用を有するとする報告がある。本研究では総ビリルビンを測定しているが、双方の効果であったと考えられる。

質問7) BMI \geq 25を肥満者としているが、30以上で検討したらどうであったか。

(回答) BMI \geq 30以上の母集団は6名となり、統計学的信頼性が低いと判断したので、それは検討していない。

質問8) 本研究では血液検査は一人1回であるが、複数採血で個人の変動はみているか。

(回答) 本研究では血液検査は一人1回であるので、変動に関しては評価していない。

質問9) BMIで2群に分けているが、その他の指標(冠危険因子)で群別して検討を行っているか。

(回答) 糖代謝異常群(血糖 \geq 100 mg/dl)と糖代謝正常群(血糖 $<$ 100 mg/dl)の2群間で解析した結果、本研究とほぼ同様の結果を得ることができた。

質問10) 酸化ストレスが強いほうが、ビリルビンは保護作用を発揮するのか。

(回答) 酸化ストレスが大きいほどビリルビンが抗酸化作用を発揮していると考えている。

最終試験の結果の要旨

質問 1 1) Fig. 2 で非肥満者における%NTG が 30%を超えるものが散見されるが、これだけでみると肥満者と非肥満者で NTG に対する反応が違うように思える。

(回答) 両群間の平均値は、統計学的に差は認めない。NTG の血管拡張は中膜に直接作用することで得られるが、肥満者においてその反応が障害されている可能性はある。

質問 1 2) ビリルビン値の高低を決める定義はなにか。肥満者でビリルビンが低い人に対して、ビリルビンを上昇させる方法があるか。

(回答) 過去の文献では、0.5 mg/dl 以下を低ビリルビン群、1.0 mg/dl 以上を高ビリルビン群とする報告がある。先の質問の回答のように、薬剤や手術により体重減少させると、ビリルビン値が上昇し酸化作用が改善したという報告がある。

質問 1 3) 疾患以外で正常範囲内のビリルビンの値を決める要因はなにか。

(回答) 先天的要因では遺伝、後天的要因では酸化ストレスに対する反応が主と考える。

質問 1 4) 肥満群において、ビリルビンの値により高感度 CRP の値に差が出ているが、非肥満群においてはどうか。

(回答) 非肥満群においては、統計学的有意差はでていない (肥満群: 0.36 mg/dl, 非肥満群: 0.18 mg/dl, $p=0.06$)。

質問 1 5) 非肥満群の低ビリルビン群と高ビリルビン群で%FMD と高感度 CRP は差がなかったということか。

(回答) 非肥満群の低ビリルビン群と高ビリルビン群で%FMD と高感度 CRP は差がなかった。

質問 1 6) 肥満者のみでビリルビンの値により冠血管機能や抗炎症効果に差が出ているが、非肥満者においてこの差がみられないのはなぜか。

(回答) 肥満者と非肥満者を比較すると、肥満者において LDL-コレステロール、インスリン、HOMA-IR が高値である。肥満者が酸化ストレスにより多くさらされている結果として、本研究で得られた差が生じたと考えられる。非肥満者では酸化ストレスにさらされていない症例が多く、差が出なかったのではないかと考えている。

質問 1 7) 高ビリルビン群と低ビリルビン群を 0.7 mg/dl で群分けしているが、他の段階的な群分けはどうだったか。

(回答) 過去の文献では、ビリルビン値で 4 段階に層別化し比較検討を行っているが、本研究では肥満者 36 名であり、同様に層別化を行うと統計学的な信頼が弱まる可能性があり、平均値で 2 群に分けて比較検討を行った。

質問 1 8) 肥満者は脂肪肝の合併が多いと考えられるが、脂肪肝との関連はどうか。

(回答) 脂肪肝との関連性は詳しく検討していない。脂肪肝により肝機能障害が存在する症例においては、酸化ストレスが増大し、虚血性心疾患の発生率が高いという報告がある。

質問 1 9) ビリルビンの役割は冠動脈血管機能を改善するという考察であったがそれでよいか。抗炎症効果のメカニズムは酸化ストレスを改善させることであり、炎症発症機序の上流を抑えているという考え方でよいか。

(回答) よいと思う。

質問 2 0) 冠動脈造影上有意狭窄がない症例を対象であるが、狭窄病変を有する虚血性心疾患の症例ではどうか。

(回答) 個々の症例でという条件であるが、複雑病変に対するステント留置例で、6 ヶ月後 restudy 時の評価で再狭窄を認めず、ビリルビン値が高い症例であったという経験がある。

質問 2 1) ビリルビンは遺伝的素因でも規定されているのではないか。

(回答) 食生活などの後天的な要因により酸化ストレスが増大し、ビリルビンの値が変化すると考えられるが、当然酵素活性を含めた遺伝的素因で規定される場合もあると考えられる。

質問 2 2) 弁置換後の症例で、溶血によりビリルビンが上昇していたらどうなるか。

(回答) 本研究では検討していない。過去の文献にも記載みられず、今後検討する課題と考える。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。