

血清の酸化ストレスマーカー (d-ROMs) と 各種代謝指標および炎症マーカー等との関係

広瀬 寛* 小宮 直子** 河邊 博史*
齊藤 郁夫*

現代の高脂肪食や運動不足などにより、わが国においても内臓脂肪型肥満やインスリン抵抗性を基盤とした糖尿病、高血圧、脂質代謝異常、動脈硬化症といった生活習慣病が増加し、社会問題となっている^{1), 2)}。これらの生活習慣病の病態は、いずれも動脈硬化や心血管病の強力な危険因子である。しかも、これらの各因子は特定の個人に集積しやすく、これらの因子が重複するほど動脈硬化による心血管病のリスクが相乗的に高まることが知られている³⁾。したがって、インスリン抵抗性を正すことは、動脈硬化症や心血管病の予防や管理に際して非常に重要である。このような背景から、2005年4月に日本内科学会など8学会からメタボリックシンドロームの診断基準が発表された⁴⁾。メタボリックシンドロームの病態としては、「LDL コレステロール（または総コレステロール）の高値はそれだけで独立した心血管病の危険因子であるが、それ以外に内臓脂肪蓄積やインスリン抵抗性をベースにして、耐糖能異常、トリグリセリド (TG) または HDL コレステロールの異常、血圧高値のうち2つ以上複合したのも、心血管病のハイリスクと考える」というものであった。今後、腹囲の値などが変更になる可能性があるものの、内臓脂肪蓄積の重要性を示したこ

の概念は大変重要であり、世界的にもそういう流れになっている⁵⁾。また、メタボリックシンドロームは糖尿病発症予防の対象としてもその意義は大変重要である。

最近、高感度 CRP (hsCRP) は心血管病の発症と強く関連するという大規模疫学調査の結果が相次いで報告されている^{6), 7)}。また、酸化ストレスも動脈硬化の発症および進展に深く関っており⁸⁾、炎症⁸⁾ および酸化ストレスマーカーと心血管リスクの関係が注目されている。そういった中で、イタリアの Diacron 社が開発した Reactive Oxygen Metabolites の測定系 (d-ROMs) は、生体のフリーラジカル産生能として血中のヒドロペルオキシドを定量化したもので、酸化ストレス度を短時間で簡便に測定できるのが特徴である^{9), 10)}。

我々は当大学の健康診断受診者を対象に、インスリン抵抗性指数 (HOMA-IR)¹¹⁾ や高分子量アディポネクチン^{12), 13)} の意義を報告してきた。今回は、健康診断受診者を対象に血清の酸化ストレスマーカーである d-ROMs を測定し、各種代謝指標および炎症マーカーなどとの関係を検討した。

* 慶應義塾大学保健管理センター

** 慶應義塾大学医学部内科

対象と方法

2007年度に当大学の定期健康診断を受診し、本研究に関してインフォームドコンセントの得られた25~65歳の123名(男性50名, 女性73名, 年齢 48.4 ± 8.9 歳, BMI $22.8 \pm 3.4 \text{ kg/m}^2$)を対象とした。

ライフスタイルや現病歴, 既往歴の問診, 一般健診項目, および血清インスリン (IRI), hsCRP, 高分子量アディポネクチン (HMW-ADP) 濃度を測定した。d-ROMs はウイスマー社の free radical elective evaluator (F.R.E.E.) を用いて, 血清 IRI 濃度は EIA にて, hsCRP はネフロメトリーにて, HMW-ADP は富士レジオ社の ELISA キットを用いて測定した。

統計解析には StatView 5.0-J を用い, データはすべて平均値 \pm 標準偏差 (SD) で表した。男女間の比較には Mann-Whitney の U 検定を, d-ROMs で 3 分割した際の群間比較には分散分析 (ANOVA) および Scheffe の多重比較を用いた。また, 比率の比較には χ^2 検定を用いた。P < 0.05 を統計学的に有意と解釈した。なお, hsCRP が $500 \mu\text{g/L}$ 以上の 6 名は血管以外の炎症の存在も考えられたため, 除外して解析した。

成 績

1. 血清 d-ROMs 濃度

d-ROMs は, 平均 341 ± 72 (範囲: 219 から 601) Carr Unit で, 同時測定の CV 値は $3.9 \pm 3.3\%$ であった。男性の平均値 333 単位に対し女性の平均値は 347 単位であり, 男女差はほとんどなかった。また, 喫煙者 9 名と非喫煙者 108 名の比較でも差は認められず, 糖尿病や高血圧, 脂質異常症の有無においても差は認められなかった。

2. 血清 d-ROMs 濃度と各種代謝指標との相関

\log [d-ROMs] と各種代謝指標との相関を見たところ, 男性 48 名では年齢と負の相関が ($r =$

-0.344 , $p = 0.0161$), hsCRP と正の相関が認められた ($r = 0.306$, $p = 0.0338$, 図 1) が, HOMA-IR などとの関連は認められなかった (表 1)。女性 69 名に関しては, 血清クレアチニンと負の相関が ($r = -0.293$, $p = 0.0141$), IRI ($r = 0.278$, $p = 0.0202$), HOMA-IR ($r = 0.286$, $p = 0.0170$), および hsCRP ($r = 0.487$, $p < 0.0001$) と正の相関が認められた (表 1, 図 1)。d-ROMs と HMW-ADP との関連は, 男女ともに認められなかった。

3. d-ROMs (log) を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析

ステップワイズ多重回帰分析では, d-ROMs は hsCRP との関連が最も強く (標準回帰係数 $R' = 0.528$, $R^2 = 24.4\%$), クレアチニン ($R' = -0.274$, R^2 増加分 8.4%) および年齢 ($R' = -0.323$, R^2 増加分 3.7%) との関連も認められた (表 2)。

4. 血清 d-ROMs 濃度による分類と各種代謝指標との関係

d-ROMs の値で 3 分割して各因子との関係を見たところ, d-ROMs が高値であるほど hsCRP が高いことが示された ($p < 0.001$) が, 糖代謝指標や脂質, HOMA-IR などとの関連は認められなかった (表 3)。

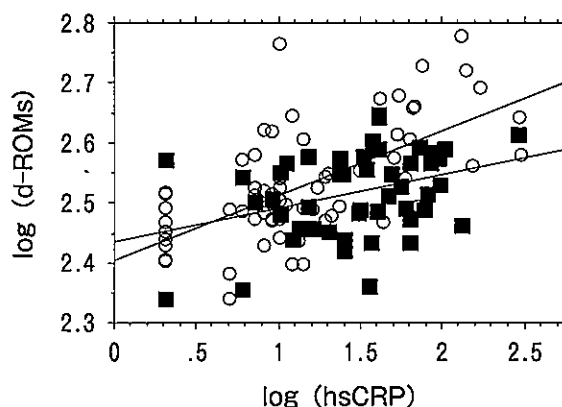


図 1 男女別の hsCRP と d-ROMs の散布図。
○: 女性, ■: 男性。

表 1 健診を受診した男性48名および女性69名における血清 d-ROMs 濃度と各種代謝指標との相関

vs. d-ROMs [#]		男性 (n=48)			女性 (n=69)		
		平均±SD	r	p	平均±SD	r	p
年齢	(歳)	48.4±10.2	-0.344	0.0161	48.1±8.1	-0.172	NS
BMI	(kg/m ²)	24.4±3.4	0.055	NS	21.7±3.0 **	-0.050	NS
腹囲	(cm)	85.6±9.3	0.019	NS	78.8±8.2 **	0.040	NS
収縮期血圧	(mmHg)	129±17	0.093	NS	114±19 **	-0.214	NS
拡張期血圧	(mmHg)	81±12	-0.109	NS	71±10 **	-0.232	0.0552
心拍数	(/min)	72±11	-0.232	NS	75±11	-0.012	NS
血糖	(mg/dL)	91±8	-0.272	NS	87±6 **	0.089	NS
インスリン [#]	(μU/mL)	5.3±3.4	-0.088	NS	4.1±2.1 *	0.278	0.0202
HOMA-IR [#]	(—)	1.19±0.74	-0.125	NS	0.89±0.45 **	0.286	0.0170
HMW-アディポネクチン [#]	(μg/mL)	3.8±3.6	0.162	NS	6.8±3.6 **	0.180	NS
LDL-コレステロール	(mg/dL)	128±26	-0.136	NS	116±29 *	-0.199	NS
HDL-コレステロール	(mg/dL)	59±13	0.006	NS	74±16 **	0.012	NS
中性脂肪 [#]	(mg/dL)	124±67	-0.035	NS	67±38 **	-0.070	NS
クレアチニン	(mg/dL)	0.85±0.13	-0.206	NS	0.62±0.09 **	-0.293	0.0141
高感度 CRP [#]	(μg/L)	45.1±46.6	0.306	0.0338	33.9±57.6	0.487	<0.0001

BMI : 体格指数, HMW : 高分子量, **p*<0.05, ***p*<0.01, vs. 男性群, NS : *p*>0.1.

[#] 相関の解析に対数を使用.

表 2 血清 d-ROMs 濃度 (log) を従属変数としたステップワイズ多重回帰分析の結果

変数	標準回帰係数	F 値	P 値	R ² の変化量
hsCRP (log)	0.528	48.4	<0.0001	24.4%
クレアチニン	-0.274	13.0	<0.0001	8.4%
年齢	-0.323	6.6	<0.0001	3.7%

R² = 36.5%

変数として, 上記の他に性別, BMI, 拡張期血圧, HOMA-IR, 高分子量アディポネクチンを解析に入れた。

表3 血清 d-ROMs 濃度による分類と各種代謝指標との関係

d-ROMs		低値群	中間群	高値群	p
男性 / 女性		15 / 24	16 / 23	17 / 22	NS
年齢	(歳)	50.1 ± 8.7	49.2 ± 9.1	45.4 ± 8.7	0.051
BMI	(kg/m ²)	22.8 ± 3.5	23.1 ± 3.3	22.5 ± 3.6	NS
腹囲	(cm)	81.5 ± 9.8	82.2 ± 9.0	81.2 ± 9.2	NS
収縮期血圧	(mmHg)	124 ± 22	119 ± 17	118 ± 19	NS
拡張期血圧	(mmHg)	78 ± 13	75 ± 11	72 ± 11	0.096
心拍数	(/min)	76 ± 13	73 ± 11	74 ± 10	NS
血糖	(mg/dL)	90 ± 8	89 ± 7	88 ± 7	NS
インスリン [#]	(μU/mL)	4.2 ± 1.9	4.6 ± 3.0	5.0 ± 3.1	NS
HOMA-IR [#]	(—)	0.94 ± 0.44	1.00 ± 0.67	1.10 ± 0.68	NS
HMW-アディポネクチン [#]	(μg/mL)	4.9 ± 3.2	5.3 ± 4.1	6.8 ± 4.2	NS
LDL-コレステロール	(mg/dL)	124 ± 28	125 ± 26	115 ± 32	NS
HDL-コレステロール	(mg/dL)	67 ± 20	68 ± 15	69 ± 16	NS
中性脂肪 [#]	(mg/dL)	94 ± 63	93 ± 63	84 ± 58	NS
クレアチニン	(mg/dL)	0.75 ± 0.18	0.70 ± 0.14	0.69 ± 0.16	NS
高感度 CRP [#]	(μg/L)	19.6 ± 24.1	26.2 ± 25.3	75.5 ± 83.2 *	<0.001

平均 ± SD を示す。解析には分散分析に続き、Scheffe の多重比較を用いた。

BMI：体格指数，HMW：高分子量，**p*<0.05 vs. 低値群，NS：*p*>0.1。

[#] 群間の解析に対数を使用。

考 察

血清の hsCRP 濃度は炎症マーカーの中で最も多く利用されているが^{6), 7)}，全身の炎症等の存在で容易に上昇してしまうのが難点とされている。また，血清中の d-ROMs も信頼できるバイオマーカーと報告されている^{6), 9), 10)}。すなわち，d-ROMs の測定は抗酸化治療の評価¹⁰⁾や，インフルエンザ脳症¹⁴⁾の重症度を評価するのに有用であると報告されている。さらに，d-ROMs 測定は比較的安価で，1 検体あたり 5～7 分で測定できるのが特徴である。

本研究では，血清 hsCRP 濃度は男性の方が女性より高い傾向であったが，d-ROMs と同様男女差は認められなかった。血清 d-ROMs 濃度は肥満度や代謝指標と関連することを想定して測定を開始したのだが，結果は違っていた。さらに，d-ROMs 濃度は喫煙の有無や糖尿病などの有無でも差は認められなかった。しかし，

これらの結果は症例数が各々 9 名（喫煙者）および 7 名（糖尿病患者）と少なかったことが影響したものと考えられた。これらに反し，血清 d-ROMs 濃度は男女とも hsCRP と強い正の相関が認められた。

血清 d-ROMs 濃度と hsCRP の正相関は，冠動脈疾患患者¹⁵⁾や透析患者^{16), 17)}ですでに報告されている。しかし，我々の検索したかぎり一般人での報告は一報しかなかった¹⁸⁾。その徳島県での報告では，対象の平均年齢が 65 ± 13 歳と高かったが，本研究 (48 ± 9 歳) と同様の結果であった。また最近，愛媛県の高齢者 (62 ± 13 歳) を対象として，HMW-ADP 低値と hsCRP の高値は相乗的に代謝異常の数と関連していることが報告された¹⁹⁾。我々も，2 型糖尿病患者 (男性 51 名，女性 32 名) において，hsCRP で低値から高値へスコアリングし，HMW-ADP は高値から低値へスコアリングして合算したところ，血圧や脂質，糖代謝指標でより多くの危険

因子との関連が認められた²⁰⁾。

以上まとめると、健康診断受診者を対象とした今回の検討において、血清 d-ROMs はインスリン抵抗性やアディポネクチンとの関連は認められなかったが、男女とも hsCRP と強い正の相関が認められた。d-ROMs は、インスリン抵抗性やアディポカイン異常よりも、炎症（おそらくは血管）に関与していることが示唆された。今後、メタボリックシンドロームの頻度などと比較・検討することで、心血管病のリスクとなりうるか等を検討していきたい。

総 括

1. 2007年度の健康診断受診者における、酸化ストレスマーカー（d-ROMs）と各種代謝指標、炎症マーカー等との関係を検討した。
2. 血清 d-ROMs 濃度は、平均 341 ± 72 （範囲：219-601）Carr Unitであった。男女差はなく、喫煙者 9 名と非喫煙者108名や、糖尿病 7 名と非糖尿病110名とで差は認められなかった。
3. log [d-ROMs] と各種代謝指標との相関は、男性48名では年齢と負の相関が、高感度 CRP（hsCRP）と正の相関が認められた。女性69名では、血清クレアチニンと負の相関が、インスリン、HOMA-IR、および hsCRP と正の相関が認められた。d-ROMs と高分子量アディポネクチンとの関連は、男女ともに認められなかった。
4. ステップワイズ多重回帰分析で、d-ROMs は hsCRP との関連が最も強かった（標準回帰係数 $R' = 0.528$, $R^2 = 24.4\%$ ）。
5. 健康診断受診者を対象とした今回の検討において、血清 d-ROMs 濃度は男女とも hsCRP と強い正の相関が認められた。d-ROMs は、インスリン抵抗性やアディポカイン異常よりも、炎症（おそらくは血管）に関与していることが示唆された。

文 献

- 1) Matsuzawa Y, et al: Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines · adipocyte-derived bioactive substances. *Ann NY Acad Sci* 892: 146-154, 1999
- 2) 広瀬 寛: メタボリックシンドロームと体質改善: 高分子量アディポネクチンを指標として. *日本体質医学会雑誌* 68: 85-89, 2006
- 3) Nakamura T, et al: Magnitude of sustained multiple risk factors for ischemic heart disease in Japanese employees: a case-control study. *Jpn Circ J* 65: 11-17, 2001
- 4) Matsuzawa Y: Metabolic syndrome: definition and diagnostic criteria in Japan. *J Jpn Soc Int Med* 94: 188-203, 2005
- 5) Zimmet P, et al: The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb* 12: 295-300, 2005
- 6) Ridker PM, et al: Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation* 109 (suppl. IV): 6-19, 2004
- 7) Ridker PM: Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 107: 363-369, 2003
- 8) Libby P, et al: Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 105: 1135-1143, 2002
- 9) Cesarone MR, et al: A simple test to monitor oxidative stress. *Int Angiol* 18: 127-130, 1999
- 10) Cornelli U, et al: Bioavailability and antioxidant activity of some food supplements in men and women using the d-ROMs test as a marker of oxidative stress. *J Nutr* 131: 3208-3211, 2001
- 11) Hirose H, et al: Insulin resistance index, HOMA-IR, and hypertension: seven-year follow-up study in middle-aged Japanese men (the KEIO study). *Hypertens Res* 26: 795-800, 2003
- 12) Yamamoto Y, et al: Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance: two-year follow-up study in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 87-90, 2004
- 13) Seino Y, et al: High molecular weight multimer form adiponectin as a useful marker to evaluate insulin resistance and metabolic syndrome in Japanese men. *Metabolism* 56: 1493-1499, 2007
- 14) Yamanaka G, et al: Diagnostic and predictive value of CSF d-ROM level in influenza virus-associated encephalopathy. *J Neurol Sci* 243: 71-

- 75, 2006
- 15) Kamezaki F, et al: Derivatives of reactive oxygen metabolites correlates with high-sensitivity C-reactive protein. *J Atheroscler Thromb* 15 : 206-212, 2008
- 16) Filiopoulos V, et al : Inflammation and Oxidative Stress in Patients on Hemodiafiltration. *Am J Nephrol* 28 : 949-957, 2008
- 17) Samouilidou E, et al : Reactive oxygen metabolites : a link between oxidative stress and inflammation in patients on hemodialysis. *Blood Purif* 25 : 175-178, 2007
- 18) Sakane N, et al : Oxidative stress, inflammation, and atherosclerotic changes in retinal arteries in the Japanese population : results from the Mima study. *Endocrine J* 55 : 485-488, 2008
- 19) Tabara Y, et al : Reduced high-molecular weight adiponectin and elevated hsCRP are synergistic risk factors for metabolic syndrome in a large scale middle-aged to elderly population : the J-SHIPP study. *J Clin Endocrinol Metab* 93 : 715-722, 2008
- 20) Saisho Y, et al : Combination of C-reactive protein and high molecular weight (HMW)-adiponectin reflects further metabolic abnormalities compared with each of them alone in Japanese type 2 diabetic subjects. *Endocrine J* 55 : 331-338, 2008