

死の四重奏と血中TNF- α レベル河村 孝彦¹⁾²⁾³⁾, 茂木 順子¹⁾²⁾, 中村 清範²⁾中井 規隆²⁾, 金井 彰夫³⁾, 佐野 隆久³⁾中部労災病院勤労者予防医療センター¹⁾, 健診部²⁾, 代謝内分泌内科³⁾

(平成15年2月21日受付)

要旨:目的:死の四重奏と言われる糖尿病, 肥満, 高血圧, 高脂血症とインスリン抵抗性の一要因として脂肪細胞から分泌されるTNF- α レベルとの関連を検討し, 血中TNF- α レベルの測定の意義並びに動脈硬化発症・進展の予防への活用について検討を行った. 対象と方法:45歳以上の心脳血管障害を有さない138名を対象に血中可溶性TNF- α と二つのレセプター(TNF-R1, TNF-R2)や各種生化学検査を行い, さらに総頸動脈の内膜中膜複合体(IMT)や腹部CTによる内臓脂肪面積の測定を行った. 結果:TNF- α は性差, ウエスト, 空腹時血糖, インスリン値, HOMA-R, HDL-コレステロール, 中性脂肪と有意な相関を示した. 二つのレセプターレベルもほぼ同様な相関を示したが, TNF-R2がTNF-R1に比し, より多くの代謝因子と相関を示した. また, TNF- α とそのレセプターはともにIMTやプラークスコアと有意な相関を示し, 特にその相関はTNF-R2で強く認められた. CT検査による脂肪分布からはTNF- α およびそのレセプターは皮下脂肪面積ではなく, 内臓脂肪面積と有意な相関を示した. 糖尿病, 肥満, 高血圧, 高脂血症の各危険因子の集積とともにBMI, HLD-コレステロール, 中性脂肪, 空腹時血糖, HOMA-R, 収縮期血圧, IMTは上昇し, TNF- α およびそのレセプターレベルも増加した. 結論:糖尿病, 高脂血症, 高血圧そして肥満, 特に内臓肥満は可溶性のTNF- α やそのレセプターを発現させ, インスリン抵抗性などの病態を介してsubclinicalな動脈硬化の進展に関与し, さらに危険因子の集積が病態の一層の悪化につながる事が明らかとなった. 以上からTNF- α やそのレセプター, なかでもTNF-R2レベルを測定し, 病態を把握し, 早期に介入することが動脈硬化の発症・進展阻止のために重要であると思われる.

(日職災医誌, 51:220—224, 2003)

—キーワード—

死の四重奏, TNF- α , 動脈硬化

はじめに

心筋梗塞や脳梗塞といった動脈硬化性疾患は, 生活様式の変化や高齢化社会が進む中, 我が国において急増している. 動脈硬化の危険因子としては, 耐糖能異常(糖尿病), 肥満, 高血圧, 高脂血症が死の四重奏(あるいはシンドロームX)として有名であるが¹⁾²⁾, これらは生活習慣と密接に関連しているため生活習慣病と呼ばれている. そして, これらの病態の中心的な役割を担っているものは高インスリン血症(インスリン抵抗性)と考えられている³⁾⁴⁾. そのため生活習慣病に関連したインスリン抵抗性と, その結果生ずる動脈硬化の発症といっ

た一連の機序を解明し, その対策を行うことは動脈硬化の予防につながり重要である.

近年, インスリン抵抗性の一要因として脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインであるtumor necrosis factor- α (TNF- α)が注目されている⁵⁾⁶⁾. このTNF- α は糖尿病の発症に関与するばかりでなく, 脂肪組織以外において単球/マクロファージからも分泌されIL-1 β と共に各種接着分子を発現させ動脈硬化の伸展にも関与している⁷⁾⁸⁾. またTNF- α には2つのレセプターが存在し, それぞれ機能が異なっていることが報告されている⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾. 本研究では, 動脈硬化の危険因子を有する対象の血中TNF- α とそのレセプターであるTNF- α -レセプターIとIIの可溶性成分および血圧, 脂質などの種々のパラメーターを測定し, 死の四重奏と言われる各種疾患との関連を検討, 血中TNF- α レベルの測定意義並びに動

表1 TNF- α およびそのレセプターと臨床・生化学検査との関連

	TNF- α	TNF- α R1	TNF- α R2
Age	.110 (n.s.)	.149 (n.s.)	.240 (0.005)
Sex	.188 (0.027)	.197 (0.021)	.193 (0.023)
BMI	.153 (n.s.)	.035 (n.s.)	.066 (n.s.)
Waist	.209 (0.025)	.193 (0.036)	.268 (0.004)
Waist/hip ratio	.089 (n.s.)	.074 (n.s.)	.151 (n.s.)
HbA1c	.137 (n.s.)	.263 (0.002)	.422 (< 0.001)
Fasting blood glucose	.288 (0.006)	.383 (< 0.001)	.483 (< 0.001)
Fasting insulin	.368 (< 0.001)	.101 (n.s.)	.096 (n.s.)
HOMA-R	.359 (< 0.001)	.145 (n.s.)	.239 (0.008)
Systolic blood pressure	.136 (n.s.)	.250 (0.003)	.204 (0.016)
Diastolic blood pressure	.053 (n.s.)	.024 (n.s.)	.022 (n.s.)
Total-cholesterol	.056 (n.s.)	.089 (n.s.)	.111 (n.s.)
HDL-cholesterol	.347 (< 0.001)	.186 (0.029)	.227 (0.008)
Triglycerides	.409 (< 0.001)	.281 (0.001)	.209 (0.014)
IMT	.244 (0.004)	.168 (0.049)	.290 (0.001)
Plaque scores	.236 (0.006)	.406 (< 0.001)	.428 (< 0.001)
subcutaneous fat	.198 (n.s.)	.151 (n.s.)	.183 (n.s.)
visceral fat	.460 (< 0.001)	.304 (0.012)	.245 (0.044)

数値は回帰係数を、() の数値は p 値を示している。n.s. は有意差なし

脈硬化発症・進展の予防への活用について検討を行った。

対象と方法

45歳以上の中高年で脳卒中や心筋梗塞の既往がなく、また重篤な血管合併症を有さない2型糖尿病患者、高血圧患者、高脂血症患者および健常者の計138名（男性63名、女性75名、平均年齢 61.5 ± 0.7 歳）を対象に同意を得た後、空腹時採血を行い、種々の生化学検査や血中可溶性TNF- α をCLEIA法にて、またそのレセプターであるTNF- α RI（55kDa、以下TNF-R1と略す）とRII（75kDa、以下TNF-R2）をMicroplate Readerを用いてsingle-step sandwich ELISA法にて測定した。動脈硬化の指標としては既に報告したごとく7.5MHzのプロープを有するリニア型超音波装置（SSA-260A, Toshiba Co., Tokyo, Japan）を用い、総頸動脈の内膜中膜複合体（IMT）を測定し、さらに総頸動脈、分岐部及び内頸動脈プラークの合計をプラークスコア（PS）とした¹¹⁾¹²⁾。また68名に腹部CT検査を施行、臍部での皮下脂肪と内臓脂肪面積の測定を行った。なおインスリン抵抗性の指標としてはHOMA-R（空腹時血糖 \times 空腹時インスリン/405）を用いた¹³⁾。数値は平均 \pm SEMで表示し、統計処理はt検定及びANOVA検定を使用、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

① TNF- α およびそのレセプターと各種因子との比較

表1に示した各種因子（IMT, PSおよび内臓、皮下脂肪面積は除く）とTNF- α およびそのレセプターとの関連についてステップワイズ多変量解析を行ったとこ

ろ、TNF- α はHDL-コレステロール（HDL-C）やHOMA-R（ $p < 0.0001$, $F = 13.97$ ）、TNF-R1はHDL-C（ $p = 0.0004$, $F = 13.24$ ）、TNF-R2は年齢、空腹時血糖値（FBS）、HDL-C（ $p < 0.0001$, $F = 10.40$ ）が独立した因子であった。また単回帰分析からTNF- α は性差、ウエスト、FBS、インスリン値、HOMA-R、HDL-C、中性脂肪と有意な相関を示した。一方、TNF-R1は性差、ウエスト、HbA_{1c}、収縮期血圧、HDL-C、中性脂肪とTNF-R2はTNF-R1の因子に加え、年齢、FBS、HOMA-Rとも有意に相関した。しかし、TNF- α やそのレセプターレベルとBMI、体脂肪率や総コレステロール間には有意な関連は認められなかった（表1）。

頸動脈硬化との関連では、IMTおよびPSはともにTNF- α やそのレセプターと有意な相関を示し、特にTNF-R2と強い相関が認められた。また、性差によってTNF- α およびそのレセプターレベルが影響されるため、性別による検討を行ったところ、TNF- α は男女ともIMTと相関傾向を示し、TNF-R1とは相関はみられず、一方、TNF-R2は男女ともそれぞれ有意な相関が見られた。CT検査による脂肪分布からはTNF- α やそのレセプターは皮下脂肪面積とは関連せず、内臓脂肪面積と有意な相関を示した（表1）。

② TNF- α およびそのレセプターや各種因子と死の四重奏の危険因子との関連

肥満者（BMIが25以上、48名）、糖尿病（83名）、高血圧（66名）、高脂血症（81名）の4つの危険因子の集積数によって0～4までの5群に分類し（0群：4名、1群：44名、2群：47名、3群：32名、4群：11名）、TNF- α やそのレセプターとの関連について検討を行った。BMI、HDL-C、中性脂肪、空腹時血糖値、HOMA-

表2 危険因子の集積による臨床・生化学検査値の比較

number of risk factor	0	1	2	3	4	p value
Body mass index (kg/m ²)	20.6 ± 0.8	21.4 ± 0.4	23.3 ± 0.4	25.9 ± 0.5	27.5 ± 0.8	p < 0.001
Total cholesterol (mg/dl)	192.3 ± 11.3	209.3 ± 4.4	207.9 ± 4.8	214.7 ± 6.1	210.5 ± 6.4	p = 0.690
HDL-C (mg/dl)	71.8 ± 6.1	63.7 ± 2.7	60.2 ± 2.5	54.3 ± 2.8	50.9 ± 3.6	p = 0.031
Triglycerides (mg/dl)	84.5 ± 17.9	97.6 ± 5.4	114.7 ± 7.1	161.4 ± 13.6	179.5 ± 21.8	p < 0.001
Fasting glucose (mg/dl)	100.8 ± 5.8	121.4 ± 4.8	134.3 ± 6.8	163.9 ± 10.2	169.7 ± 13.6	p < 0.001
Fasting insulin (μU/ml)	3.93 ± 0.49	7.56 ± 1.31	8.62 ± 0.69	10.45 ± 1.09	12.53 ± 1.16	p = 0.053
HOMA-R	0.99 ± 0.15	1.88 ± 0.16	2.74 ± 0.25	4.44 ± 0.93	5.28 ± 0.60	p = 0.002
Systolic blood pressure (mmHg)	130.0 ± 9.1	123.4 ± 2.3	138.2 ± 2.2	135.9 ± 3.7	143.4 ± 6.4	p < 0.001
Diastolic blood pressure (mmHg)	75.5 ± 5.9	67.7 ± 1.4	74.7 ± 1.8	73.1 ± 2.3	73.0 ± 5.4	p = 0.073

数値は平均 ± SEM で示し、有意差はANOVA 検定にて評価した。

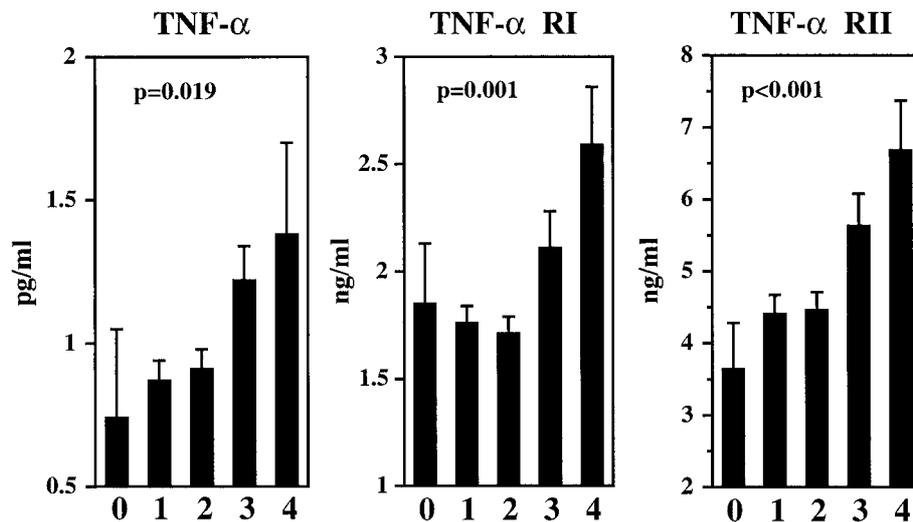


図1 TNF- α およびそのレセプターと危険因子数の集積との関連
数値は平均 ± SEM, p 値はANOVA 検定による

R, 収縮期血圧は危険因子の集積とともに有意に悪化を示した(表2)。

TNF- α やそのレセプターについても、図1に示すように危険因子の集積とともにそのレベルは有意に増加した。なかでもTNF-R2での増加が著明であった(図1)。

頸動脈硬化との関連では、IMTは図2に示す如く危険因子の集積とともに0群の 0.78 ± 0.05 (mm) から1群で 0.86 ± 0.03 , 2群で 0.93 ± 0.03 , 3群で 1.02 ± 0.04 , 4群で 1.05 ± 0.08 と段階的に有意に増加した。しかしPSについては有意な変化は認められなかった(data not shown)。

考 察

TNF- α は脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインの一つであるが、これはインスリン抵抗性の一要因として糖尿病の発症に関与しているばかりでなく、各種接着因子の発現を介して動脈硬化の発症にも関連している⁸⁾¹⁴⁾。実際に動脈硬化巣においてTNF- α の存在が示されており⁷⁾、動脈硬化の危険因子や血管内皮障害との関連、さらには心疾患との関係を論ずる報告がなされてい

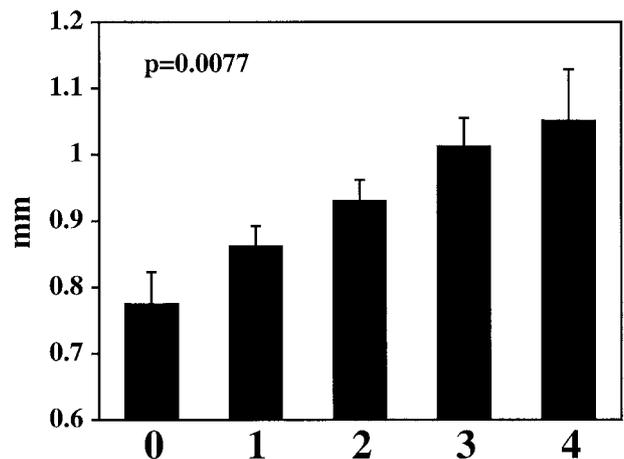


図2 総頸動脈の内膜中膜複合体 (IMT) と危険因子数の集積との関連
数値は平均 ± SEM, p 値はANOVA 検定による

る⁸⁾¹⁵⁾。しかし、subclinicalな動脈硬化との関連を見た報告は少ない¹⁶⁾。

本研究においてTNF- α レベルは性差、血糖値、HDL-C、中性脂肪など動脈硬化の危険因子とされる各種因子

と関連を示したが、BMIや体脂肪率などとは相関せず、おもにインスリン抵抗性と関連していた。また皮下脂肪面積ではなく、内臓脂肪面積やウエスト値といった内臓肥満の指標と有意な関係が得られ、これは過去の報告ともほぼ一致するものであった¹⁷⁾¹⁸⁾。

動脈硬化と血中のTNF- α との関連について、Blannはその関連性に否定的であり¹⁹⁾、我々と同じように頸動脈硬化を検討したElkindらの報告でも有意な相関は得られていなかった¹⁶⁾。しかし、我々の成績ではTNF- α レベルとIMTやプラークスコアとの間に有意な相関が認められており、この相違は頸動脈硬化の測定方法の違い、あるいは後で述べる様なTNF- α の血中での不安定性などが関与しているかもしれない。また人種差、あるいは今回我々の研究とした対象者の半数以上が糖尿病患者であるという偏りによることも考えられる。そのため、この点についてはさらに検討の必要があるものと思われる。

我々はつぎに肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症の死の四重奏と呼ばれる4つの因子の集積の影響について検討を行った。危険因子の数の増加とともに臨床的および生化学的データは有意に悪化し、同時にTNF- α レベルやIMTの増加も観察された。この結果から、インスリン抵抗性などを介した危険因子の集積がsubclinicalな動脈硬化の進展につながる事が推測され、この病態の進行にはTNF- α が大きく関与している可能性が考えられた。また血中のTNF- α レベルの動向は病態の変化を反映するマーカーとしても有用と思われる。

血中のTNF- α レベルは食事療法などによる減量によって⁶⁾¹⁸⁾、またインスリン抵抗性改善薬やある種の血糖降下薬、アンジオテンシン変換酵素阻害剤などによってもその低下が報告されており⁶⁾²⁰⁾、生活習慣の改善による減量や薬物療法によりこの血中レベルを低下させることが動脈硬化の発症、進展を阻止するうえで大切と考えられる。

TNF- α には2つのレセプター、すなわち55kDaのTNF-R1と75kDaのTNF-R2があり、それらは(1) antagonistとしてTNF- α を抑制する、(2) 結合タンパクとしてTNF- α に結合し、その移送を行う、(3) TNF- α の活性を安定化、あるいは増強させ、その有効血中濃度を調節する、といった働きを有していると考えられているが、生理的役割や機序については未だ明らかではない⁹⁾¹⁰⁾。またTNF-R1がTNF-R2に対してpredominantに働くことが知られているが、Fernandez-Realらや我々の成績から示されるようにTNF-R2はTNF-R1よりインスリン抵抗性などの代謝因子との関連が強い²¹⁾。頸動脈硬化に関して、ElkindらはTNF- α とは相関が見られなかったものの、そのレセプターレベル、特にTNF-R2とは関連すると報告しており、レセプターレベルと頸動脈硬化の関連は今回の我々の成績とも一致してい

た¹⁶⁾。血中に存在するTNF- α は素早く代謝され、しかもpgという非常に低濃度のレベルで存在するのに対して、レセプターのレベルはngと約1,000倍高く、そのため測定による誤差が少なく、しかもレセプタータンパクの安定性が高いことなどが報告されている⁹⁾¹⁰⁾。また2つのレセプターはTNF- α とよく相関するため、病態の把握や、治療効果の有無を検討するにはTNF- α レセプター、特にTNF-R2の測定が良い指標になりうると考えられた。

結 語

本研究より糖尿病、高脂血症、高血圧そして肥満、特に内臓肥満が可溶性のTNF- α やそのレセプターを発現させ、インスリン抵抗性などの病態を介してsubclinicalな動脈硬化の進展に関与していることが明らかとなった。さらに危険因子の集積が病態の一層の悪化につながる事が示された。またTNF- α に比べ、そのレセプター、特にTNF-R2レベルは血中での安定性が高く、各種の代謝因子との相関もよいため、これらを測定する事によって、現状の病態を把握し、早期に介入を行うことが動脈硬化の発症・進展阻止のために重要であると思われる。

なお本研究は労働福祉事業団医学計画研究の助成をうけて行われ、その概要については第50回日本職業災害医学会にて発表した。

文 献

- 1) Reaven GM : Role of insulin resistance in human disease, *Diabetes* 37 : 1595—1607, 1988.
- 2) Kaplan NM : The deadly quartet, *Arch Intern Med* 149 : 1514—1520, 1989.
- 3) DeFronzo R, Ferrannini E : Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dislipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease, *Diabetes Care* 14 : 173—194, 1991.
- 4) Suzuki M, Shinozaki K, Kanazawa A, et al : Insulin resistance as an independent risk factor for carotid wall thickening, *Hypertension* 28 : 593—598, 1996.
- 5) Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM : Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance, *Science* 259 : 87—91, 1993.
- 6) Ledgerwood EC, Prins JB : Tumor necrosis factor alpha, *The diabetes Annual/12* : edited by Marshall SM, Rizza RA. Elsevier Science B.V., 1999, pp 161—180.
- 7) Rus HG, Niculescu F, Vlaicu R : Tumor necrosis factor-alpha in human arterial wall with atherosclerosis, *Atherosclerosis* 89 : 247—254, 1991.
- 8) Paleolog EM, Delasalle S-A J, Buurman WA, Feldmann M : Functional activities of receptors for tumor necrosis factor- α on human vascular endothelial cells, *Blood* 84 : 2578—2590, 1994.
- 9) Tartaglia LA, Weber RF, Figari IS, et al : The two different receptors for tumor necrosis factor mediate dis-

- tinct cellular responses, Proc Natl Acad Sci 88 : 9292—9296, 1991.
- 10) Diez-Ruiz A, Tilz GP, Zangerle R, et al : Soluble receptors for tumor necrosis factor in clinical laboratory diagnosis, Eur J Haematol 54 : 1—8, 1995.
 - 11) Kawamura T, Umemura T, Kanai A, et al : The incidence and characteristics of silent cerebral infarction in elderly diabetic patients : association with serum-soluble adhesion molecules, Diabetologia 41 : 911—917, 1998.
 - 12) Takeuchi N, Kawamura T, Kanai A, et al : The effect of cigarette smoking on soluble adhesion molecules in middle-aged patients with Type 2 diabetes mellitus, Diabet Med 19 : 57—64, 2002.
 - 13) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al : Homeostasis model assessment : insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man, Diabetologia 28 : 412—419, 1985.
 - 14) Editorials : Atherosclerosis goes to the wall, Lancet 339 : 647—648, 1992.
 - 15) Francis GS : TNF- α and heart failure. The difference between proof of principle and hypothesis testing, Circulation 99 : 3213—3214, 1999.
 - 16) Elkind MS, Cheng J, Boden-Albala B, et al : Tumor necrosis factor receptor levels are associated with carotid atherosclerosis, Stroke 33 : 31—38, 2002.
 - 17) Bertin E, Nguyen P, Guenounou M, et al : Plasma levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) are essentially dependent on visceral fat amount in type 2 diabetic patients, Diabetes & Metabolism 26 : 178—182, 2000.
 - 18) Katsuki A, Sumida Y, Murashima S, et al : Serum levels of tumor necrosis factor- α are increased in obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus, J Clin Endocrinol Metab 83 : 859—862, 1998.
 - 19) Blann AD, McCollum CN : Increased levels of soluble tumor necrosis factor receptors in atherosclerosis : No clear relationship with levels of tumor necrosis factor, Inflammation 22 : 483—491, 1998.
 - 20) Fukuzawa M, Satoh J, Sagara M, et al : Angiotensin converting enzyme inhibitors suppress production of tumor necrosis factor- α in vitro and in vivo, Immunopharmacology 36 : 49—55, 1997.
 - 21) Fernandez-Real J-M, Broch M, Ricart W, et al : Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptor 2 and insulin resistance, Diabetes 47 : 1757—1762, 1998.

(原稿受付 平成 15. 00. 00)

別刷請求先 〒455-8530 名古屋市港区港明1-10-6
中部労災病院勤労者予防医療センター
河村 孝彦

Reprint request:

Takahiko Kawamura¹⁾²⁾³⁾
Labour Prevention Medical Center¹⁾, Department of Healthcheck²⁾, Department of Metabolism and Endocrine Medicine³⁾

THE DEADLY QUARTET AND SOLUBLE LEVELS OF TNF- α

Takahiko KAWAMURA¹⁾²⁾³⁾, Junko MOGI¹⁾²⁾, Kiyonori NAKAMURA²⁾,
Noritaka NAKAI²⁾, Akio KANAI³⁾ and Takahisa SANO³⁾
Labour Prevention Medical Center¹⁾, Department of Healthcheck²⁾,
Department of Metabolism and Endocrine Medicine³⁾, Chubu Rosai Hospital, Nagoya, Japan

The present study was conducted to investigate the association between the deadly quartet consisted of obesity, diabetes mellitus, hypertension and dyslipidemia, and soluble levels of TNF- α and its receptors, since TNF- α is released from adipocyte and monocyte and plays an important role in insulin resistance. Soluble levels of TNF- α and its receptors-TNF- α R1 and TNF- α R2 were measured in 138 subjects over 45 years of age and without history of cerebrovascular and cardiovascular disease. Intima media thickness (IMT) of the common carotid artery was measured with an ultrasound system as an index of subclinical atherosclerosis, and visceral fat was also measured with CT scan. Levels of TNF- α were significantly correlated with sex, waist, fasting blood glucose, insulin levels, HOMA-R, HDL-cholesterol, and tryglycerides. Those relationships were similarly found in its receptor levels, especially TNF- α R2. In addition, levels of TNF- α and its receptors significantly correlated with IMT and plaque scores, and the strongest relationship was found in TNF- α R2 levels. Levels of TNF- α and its receptors also correlated with visceral fat, but not subcutaneous fat. Metabolic factors such as BMI, fasting blood glucose, blood pressure, HOMA-R, and levels of TNF- α and its receptors increased with accumulations of four disease recognized as the deadly quartet. Thus, our study showed that the deadly quartet expressed TNF- α and its receptors, resulting in the progression of subclinical atherosclerosis through metabolic derangement such as insulin resistance. In addition, the accumulations of these diseases worsened pathophysiological condition. Therefore, the measurement of TNF- α and its receptors have the potential to allow stratification of patients for intervention to prevent outcome events.