

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09141

研究課題名(和文) オステオカルシン低値は2型糖尿病とメタボリック症候群の発症リスクを高めるか

研究課題名(英文) Are lower levels of osteocalcin associated with increased risk of incident type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome?

研究代表者

由良 晶子 (YURA, Akiko)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：80142595

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：FORMENコホートの10年次追跡調査と縦断解析を実施し、ベースライン時のオステオカルシン(OC)と低カルボキシル化OC(ucOC)の低値とベースライン時の糖尿病とメタボリック症候群の有病オッズ比の高値との有意な関連は見られたが、追跡期間中の新規発症オッズ比との有意な関連は見られなかった。これより、OC、ucOCの低値が糖尿病やメタボリック症候群を惹起するのではなく、インスリン抵抗性の亢進によって生じた高血糖が骨芽細胞の機能不全を引き起こし、OC、ucOCの産生が低下し、これらの低値を来したと考えられた。OC、ucOC低値は糖尿病とメタボリック症候群の原因ではなく、結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、低ucOCがインスリンを介して血糖値を上げ、アディポネクチンを介してインスリン抵抗性を増強し、もって糖尿病とメタボリック症候群のリスクを上げるという仮説を立てたが、それは検証されなかった。これが証明できれば、骨代謝マーカーと考えられてきたOC、ucOCの本来の役割を明らかにし、大きな社会的負担となっている糖尿病とメタボリック症候群の発症前診断と対策に道を開く研究となるはずであった。

研究成果の概要(英文)：We have conducted a 10-year follow-up survey of the FORMEN cohort study and analyzed the data longitudinally. We have found that low serum levels of osteocalcin (OC) and under-carboxylated OC (ucOC) at baseline were significantly associated with higher odds ratio (OR) of prevalent diabetes mellitus and metabolic syndrome but were not associated with increased OR of incidence of these diseases during the follow-up period. These results do not support that low levels of OC or ucOC induce diabetes mellitus or metabolic syndrome, but suggest that increased insulin tolerance causes hyperglycemia which deteriorates osteoblast function resulting in low production of OC and ucOC. Low levels of OC and ucOC are not a cause of diabetes mellitus or metabolic syndrome but a consequence of them.

研究分野：医学

キーワード：オステオカルシン 低カルボキシル化オステオカルシン 糖尿病 メタボリック症候群 糖代謝 予防医学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

オステオカルシン(osteocalcin, OC)は成熟した骨芽細胞で産生され、骨特異性の高い骨形成マーカーとして繁用されてきた。血中 OC 濃度は、他の骨代謝マーカー同様、骨代謝が高回転となる病態で上昇し、低回転となる病態で低下する。OC には3つのグルタミン酸残基があり、これがカルボキシル化され、 γ -カルボキシル化グルタミン酸残基となってハイドロキシアパタイトとの親和性を獲得し、活性型となって骨基質内に蓄積する。血中にはカルボキシル化 OC とカルボキシル化の程度の低い低カルボキシル化 OC(undercarboxylated OC, ucOC)が存在する。

ところが、OC 遺伝子の KO マウスでも骨は形成されることが報告され、OC は骨形成に必須のタンパクではないことが明らかになった。この発見により OC の生理的役割は不明となり、新たな役割が検索されている。

OC が他の骨代謝マーカーと異なる挙動をとる病態は糖尿病だ。糖尿病患者の血中 OC は一貫して低値が観察され、血糖管理が達成されると、OC 以外の骨代謝マーカーは低下するのに対し、OC は上昇する。この現象は高血糖によって成熟期の骨芽細胞が機能不全に陥り、OC の合成が低下するため、血糖の改善に伴って骨芽細胞機能が回復し、血中 OC 濃度も上昇すると解釈されてきた。しかし、この原因と結果が逆ではないかとする実験結果が報告された。

Lee らは OC 遺伝子を KO した OC 欠乏マウスでは、豚ランゲルハンス島の β 細胞の増殖が低調で、血中インスリン濃度が低く、高血糖を来し、これらの現象が OC の投与で改善することを示し、OC はグルコース代謝を制御するホルモン作用を持つとした。さらに OC はアディポネクチン遺伝子発現を亢進させることによりインスリン抵抗性を抑制する。これにより体脂肪の減少とメタボリック症候群の抑制につながるという。興味深いことに、これらの OC の作用は ucOC で認められ、骨形成ではカルボキシル化 OC が活性型と考えられてきたが、糖代謝では逆という訳である。

では、ヒトではどうか。ヒトでも血中 OC 濃度と空腹時血糖値や HbA1c 値が逆相関することは報告されていたが、逆相関の本体がカルボキシル化 OC か ucOC かは明らかではなかった。報告者らは地域在住高齢男性を対象とする藤原京スタディ男性骨粗鬆症研究のベースライン調査から、ucOC はカルボキシル化 OC と ucOC の両方を含む intact OC を調整しても空腹時血糖値、HbA1c 値、HOMA-IR 値と逆相関するが、intact OC は ucOC を調整すると無相関となること、同様に糖尿病と診断されるオッズ比は ucOC が高いと低くなることを示し、ヒトでも糖代謝と関連するのは ucOC であることを強く示唆した。しかし、報告者らの研究を含め、これまでの研究はすべて断面研究であるために、ucOC が低下したから血糖値が上がったのか、従来の考え通り、血糖値が上がったために ucOC が低下したのか、原因が結果に先んじるいわゆる関連の時間性が証明できない。これを明らかにするには、前向きコホート研究を行う必要があった。

2. 研究の目的

OC、ucOC が低下したために血糖値が上がり、糖尿病を発症するのか、糖尿病で血糖値が上がったために OC、ucOC が低下するのかを、前向きコホート研究により明らかにする。同時に、OC、ucOC の低下がメタボリック症候群の発症リスクを上げるかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 調査対象

藤原京スタディ男性骨粗鬆症(FORMEN)研究のベースライン研究を完遂した男性 2012 人を対象とした。

(2) ベースラインでの糖尿病とメタボリック症候群の診断

対象者には空腹(食後 7 時間以上)での受診を求め、静脈血を採取し、血漿中グルコース濃度とヘモグロビン A1c (HbA1c)の存在割合を測定した。空腹時血糖 126 mg/dl 以上、または、HbA1c6.5% 以上、あるいは病歴の問診と処方箋、お薬手帳にある処方薬で糖尿病の治療歴が確認できた者を糖尿病と診断した。また、同じ採血で得た血清中の中性脂肪と HDL コレステロールを測定した。血圧測定と腹囲計測を行った。血糖、中性脂肪、HDL コレステロール、血圧、腹囲から日本内科学会等 8 学会の診断基準に基づき、メタボリック症候群を診断した。

(3) アウトカムの把握

空腹時血糖、HbA1c 測定による新規糖尿病の把握

ベースラインと同様に、追跡調査時にも空腹時に静脈血を採取し、血漿中グルコース濃度とヘモグロビン A1c (HbA1c)の存在割合を測定した。ベースラインで糖尿病治療の既往がなく、上記検査で正常だった者が、空腹時血糖 126 mg/dl 以上、または、HbA1c6.5% 以上か、糖尿病の治療歴が生じた場合を糖尿病新規発症と定義した。

メタボリック症候群の診断

追跡調査時の空腹時採血で測定した血糖、中性脂肪、HDL コレステロール、並びに血圧、腹囲から日本内科学会等 8 学会の診断基準に基づき、診断した。

(4) 統計解析

ベースラインで糖尿病、あるいはメタボリック症候群と診断された者とされなかった者の基

本的特性の平均値の差は t-test で検定した。ベースラインでの血清 OC、ucOC 値とベースラインでの糖尿病、あるいはメタボリック症候群有病との関連はロジスティック回帰で検討した。また、ベースラインでの血清 OC、ucOC 値と糖尿病、あるいはメタボリック症候群の新規発症との関連もロジスティック回帰で検討した。統計解析には SAS (Release 9.4)を用いた。

4. 研究成果

(1) 研究対象者のベースライン時の基本的特性

ベースライン研究を完遂した 2012 人中、糖尿病と診断された者は 361 人、診断されなかった者は 1643 人であった。糖尿病と診断されなかった者から、5 年次、10 年次のいずれかの追跡調査を受診したものは 1285 人で、この内、113 人が新規発症の糖尿病と診断された。

同様に、2012 人中、メタボリック症候群と診断された者は 518 人、診断されなかった者は 1481 人であった。メタボリック症候群と診断されなかった者から、123 人が新規発症のメタボリック症候群と診断された。

Table 1 にベースライン時の糖尿病の有無別と新規発症の糖尿病の有無別に見たベースラインの特性を示す。ベースライン時の糖尿病の有無別では OC、ucOC を含め、多くの指標に有意な差が見られたが、新規発症の糖尿病の有無別では空腹時血糖と HbA1c 以外に有意差は見られなかった。

Table 1. Baseline characteristics of participants classified by prevalence of T2DM at baseline and incidence of T2DM during the follow-up period

Baseline characteristics	Prevalent T2DM	No T2DM at baseline	p-value	Incident T2DM	No T2DM at follow-up	p-value
N (%)	361 (18.0)	1643 (82.0)	-	113 (8.8)	1172 (91.2)	-
Age	72.9 ± 5.1	73.1 ± 5.2	0.578	72.0 ± 4.9	72.5 ± 4.9	0.341
Height (cm)	162.8 ± 5.9	162.8 ± 5.7	0.938	162.9 ± 5.9	162.9 ± 5.7	0.947
Weight (kg)	62.2 ± 8.9	60.6 ± 8.5	0.001	61.4 ± 8.7	60.8 ± 8.1	0.493
BMI (kg/m ²)	23.4 ± 2.9	22.8 ± 2.7	<0.001	23.1 ± 2.6	22.9 ± 2.6	0.451
Waist circumference (cm)	87.4 ± 8.1	85.1 ± 7.8	<0.001	85.6 ± 7.7	85.1 ± 7.5	0.518
FPG (mg/dl)	144.6 ± 55.5	95.3 ± 9.4	<0.001	100.2 ± 10.8	94.6 ± 8.8	<0.001
HbA1c (%)	7.0 ± 1.0	5.5 ± 0.3	<0.001	5.9 ± 0.3	5.4 ± 0.3	<0.001
OC (mg/ml)	4.3 ± 1.5	5.0 ± 1.5	<0.001	5.1 ± 1.5	5.0 ± 1.5	0.954
ucOC (mg/ml)	2.2 ± 2.0	3.1 ± 1.8	<0.001	2.9 ± 1.7	3.0 ± 1.8	0.610
SBP (mmHg)	147.8 ± 21.4	144.8 ± 19.9	0.011	145.2 ± 18.2	144.9 ± 19.6	0.869
DBP (mmHg)	73.1 ± 11.1	77.7 ± 11.5	<0.001	76.9 ± 11.5	78.3 ± 11.3	0.208
TG (mg/dl)	145.5 ± 83.3	125.5 ± 68.7	<0.001	133.3 ± 65.7	126.6 ± 71.1	0.336
HDL-C (mg/dl)	53.4 ± 14.3	56.1 ± 14.5	0.001	54.8 ± 13.6	56.4 ± 14.5	0.236

T2DM: type 2 diabetes mellitus

ucOC: undercarboxylated OC

N: Number of participants

SBP: systolic blood pressure

BMI: body mass index

DBP: diastolic blood pressure

FPG: fasting plasma glucose

TG: triglyceride

HbA1c: glycated hemoglobin A1c

HDL-C: high density lipoprotein cholesterol

OC: osteocalcin

Table 2. Baseline characteristics of participants classified by prevalence of MS at baseline and incidence of MS during the follow-up period

Baseline characteristics	Prevalent MS	No MS at baseline	p-value	Incident MS	No MS at follow-up	p-value
N (%)	518 (25.9)	1481 (74.1)	-	123 (11.3)	968 (88.7)	-
Age	72.5 ± 5.1	73.2 ± 5.3	0.011	71.9 ± 4.3	72.6 ± 5.0	0.081
Height (cm)	164.0 ± 5.4	162.4 ± 5.7	<0.001	162.9 ± 5.2	162.5 ± 5.9	0.463
Weight (kg)	67.0 ± 6.7	58.8 ± 8.1	<0.001	63.9 ± 7.2	58.5 ± 7.8	<0.001
BMI (kg/m ²)	24.9 ± 2.1	22.3 ± 2.6	<0.001	24.1 ± 2.3	22.1 ± 2.5	<0.001
Waist circumference (cm)	91.7 ± 5.2	83.3 ± 7.5	<0.001	88.7 ± 6.6	82.7 ± 7.2	<0.001
FPG (mg/dl)	118.2 ± 43.1	99.1 ± 23.6	<0.001	100.9 ± 22.2	97.7 ± 19.2	0.133
HbA1c (%)	6.1 ± 1.0	5.6 ± 0.6	<0.001	5.7 ± 0.6	5.6 ± 0.6	0.013
OC (mg/ml)	4.6 ± 1.5	5.0 ± 1.5	<0.001	5.0 ± 1.6	5.0 ± 1.5	0.795
ucOC (mg/ml)	2.7 ± 1.9	3.0 ± 1.9	0.001	2.8 ± 1.9	2.9 ± 1.8	0.447
SBP (mmHg)	150.8 ± 16.7	143.4 ± 21.0	<0.001	143.9 ± 18.2	143.3 ± 20.7	0.759
DBP (mmHg)	77.9 ± 11.5	76.5 ± 11.5	0.017	77.5 ± 11.0	76.8 ± 11.3	0.560
TG (mg/dl)	183.0 ± 82.2	110.3 ± 57.2	<0.001	127.6 ± 75.9	108.3 ± 53.9	0.007
HDL-C (mg/dl)	48.3 ± 12.6	58.2 ± 14.3	<0.001	55.0 ± 13.9	59.1 ± 14.0	0.003

MS: metabolic syndrome

See Table 1 for other abbreviations.

次いで、ベースライン時のメタボリック症候群の有無別では OC、ucOC を含め、やはり多くの指標に有意差が見られたが、新規発症のメタボリック症候群の有無別では肥満に係る要

因に有意差が見られたものの、OC、ucOCを含め、その他の指標に有意差は見られなかった。

(2) ベースライン時の OC、ucOC と糖尿病有病リスクと発症リスクの関連

Table 3 左半分に、ベースライン時の血清 OC、ucOC 濃度と同時点での糖尿病の有病リスクとの関連を、右半分に追跡期間中の糖尿病新規発症リスクとの関連を示した。

糖尿病の有病リスクは OC の 1 SD 低下毎に 41%、有意に上昇し、この傾向は年齢と体重を調整しても変化しなかった。ucOC については同様に 69%、リスクは上昇し、やはり年齢、体重とは独立していた。一方、追跡期間中の糖尿病の新規発症リスクはほぼ 1 で、OC の値と発症リスクとの間に有意な関連は見られなかった。ucOC についてもまったく同様であった。

Table 3. Serum OC and ucOC levels and risk of prevalent T2DM at baseline and incident T2DM during the follow-up

Predictors	Unit for OR	OR of prevalence of T2DM at baseline				OR of incidence of T2DM during the follow-up			
		Unadjusted	(95% CI)	Adjusted ^A	(95% CI)	Unadjusted	(95% CI)	Adjusted ^A	(95% CI)
OC	SD decrease	1.41	(1.25, 1.57)	1.4	(1.25, 1.57)	0.99	(0.82, 1.21)	0.98	(0.81, 1.20)
ucOC	SD decrease	1.69	(1.50, 1.91)	1.69	(1.50, 1.91)	1.05	(0.86, 1.28)	1.04	(0.85, 1.27)

OC: osteocalcin

ucOC: undercarboxylated OC

T2DM: type 2 diabetes mellitus

OR: odds ratio

95% CI: 95% confidence interval

^A: adjusted for age and weight

(3) ベースライン時の OC、ucOC とメタボリック症候群有病リスクと発症リスクの関連

Table 4 左半分に、ベースライン時の血清 OC、ucOC 濃度と同時点でのメタボリック症候群の有病リスクとの関連を、右半分に追跡期間中のメタボリック症候群新規発症リスクとの関連を示した。

メタボリック症候群の有病リスクは OC の 1 SD 低下毎に 21%、有意に上昇し、この傾向は年齢と体重を調整しても変らなかった。ucOC についても同様にリスクは 19% 上昇し、年齢、体重と独立していた。一方、追跡期間中のメタボリック症候群の新規発症リスクはほぼ 1 で、OC の値と発症リスクとの間に有意な関連は見られなかった。ucOC についてもまったく同様であった。

Table 4. Serum OC and ucOC levels and risk of prevalent MS at baseline and incident MS during the follow-up

Predictors	Unit for OR	OR of prevalence of MS at baseline				OR of incidence of MS during the follow-up			
		Unadjusted	(95% CI)	Adjusted ^A	(95% CI)	Unadjusted	(95% CI)	Adjusted ^A	(95% CI)
OC	SD decrease	1.21	(1.09, 1.33)	1.19	(1.06, 1.33)	1.03	(0.85, 1.24)	0.99	(0.81, 1.21)
ucOC	SD decrease	1.19	(1.07, 1.31)	1.15	(1.02, 1.29)	1.08	(0.89, 1.30)	0.99	(0.81, 1.21)

MS: metabolic syndrome

See Table 3 for other abbreviations.

(4) 結果の解釈

これまでの断面研究では、ほぼ一貫して OC、ucOC と血糖値や HbA1c 値の逆相関が観察されてきた。本研究でも Table 3 の左半分に示したように、OC、ucOC の低値が糖尿病の高い有病オッズ比と関連し、これまでの研究と同様の結果を示した。しかし、Table 3 右半分に示したように、追跡期間中の新規糖尿病発症リスクに対しては、有意な影響を示さなかった。これらの結果は、OC、ucOC の低値によって糖尿病が惹起されるのではなく、糖尿病で血糖値が上がったために骨芽細胞が機能不全に陥り、OC、ucOC の産生が低下することを示している。

同様に、メタボリック症候群の基盤にあるインスリン抵抗性についても、OC、ucOC の低下がインスリン抵抗性の亢進を介してメタボリック症候群の発症リスクを上げるのではなく、インスリン抵抗性の亢進によって生じた高血糖が骨芽細胞の機能不全を引き起こし、OC、ucOC の産生が低下したものと考えられる。

(5) 結論

本コホートの縦断解析により、OC、ucOC の低値によって糖尿病が惹起されるのではなく、糖尿病で血糖値が上がったために骨芽細胞が機能不全に陥り、OC、ucOC の産生が低下することが明らかになった。また、メタボリック症候群についても、OC、ucOC の低下がインスリン抵抗性の亢進を介してメタボリック症候群の発症リスクを上げるのではなく、インスリン抵抗性の亢進によって生じた高血糖が骨芽細胞の機能不全を引き起こし、OC、ucOC の産生が低下したと考えられた。OC、ucOC 低値は糖尿病やメタボリック症候群の原因ではなく、結果であった。

< 引用文献 >

Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, Smith E, Bonadio J, Goldstein S, Gundberg C, Bradley A, Karsenty G. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*. 1996 Aug 1;382(6590):448-52.

Okazaki R, Totsuka Y, Hamano K, Ajima M, Miura M, Hirota Y, Hata K, Fukumoto S, Matsumoto T. Metabolic improvement of poorly controlled noninsulin-dependent diabetes mellitus decreases bone

turnover. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2915–2920

Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy P, Karsenty G. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007;130:456–469

Kindblom JM, Ohlsson C, Ljunggren O, Karlsson MK, Tivesten A, Smith U, Mellström D. Plasma osteocalcin is inversely related to fat mass and plasma glucose in elderly Swedish men. *J Bone Miner Res* 2009;24:785–791

Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:827–832

Iki M, Tamaki J, Fujita Y, Kouda K, Yura A, Kadowaki E, Sato Y, Moon JS, Tomioka K, Okamoto N, Kurumatani N. Serum undercarboxylated osteocalcin levels are inversely associated with glycemic status and insulin resistance in an elderly Japanese male population: Fujiwara-kyo Osteoporosis Risk in Men (FORMEN) Study. *Osteoporos Int*. 2012 Feb;23(2):761-70.

メタボリックシンドローム診断基準検討委員会. メタボリックシンドロームの定義と診断基準. *日本内科学会雑誌* 2005;94:188-203.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊木 雅之 (IKI Masayuki) (50184388)	近畿大学・医学部・教授 (34419)	
研究分担者	藤田 裕規 (FUJITA Yuki) (10330797)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	