

インスリン抵抗性と生体内酸化ストレスの関連

Relationship Between Insulin Resistance and Oxidative Stress *In Vivo*

檀本 孝志
飯塚 卓夫
高橋 真生
吉永 国土
松本 淳
清水 一寛
賀来美千久
杉山 祐公
桜井 岳史
青柳 兼之
金井 正仁
野池 博文
大澤 秀文
渡邊 仁*
白井 厚治*

Takashi HITSUMOTO, MD
Takuo IIZUKA, MD
Mao TAKAHASHI, MD
Kunio YOSHINAGA, MD
Jun MATSUMOTO, MD
Kazuhiro SHIMIZU, MD
Michihisa KAKU, MD
Yuko SUGIYAMA, MD
Takeshi SAKURAI, MD
Kaneyuki AOYAGI, MD
Masahito KANAI, MD
Hirofumi NOIKE, MD
Hidefumi OHSAWA, MD, FJCC
Hitoshi WATANABE, MD*
Kohji SHIRAI, MD*

Abstract

Objectives. The relationship between oxidative stress *in vivo* and insulin resistance was examined.

Methods. This study included 87 patients, 46 males and 41 females (mean age 63 ± 10 years), without coronary artery disease. The homeostasis assessment insulin resistance (HOMA-IR) (fasting blood sugar \times fasting immunoreactive insulin/405), a marker for insulin resistance, was measured. The patients were divided into three groups: the noninsulin resistance group (N-IR group) without diabetes mellitus (DM) and with fasting blood glucose level of 126 mg/dl and HOMA-IR ≤ 1.73 ($n = 44$), the insulin resistance group (IR group) without diabetes mellitus and with fasting blood glucose level of 126 mg/dl and HOMA-IR > 1.73 ($n = 29$), and the DM group (type 2 diabetes mellitus) ($n = 14$). Urinary 8-iso-prostaglandin F_2 (U-8-iso-PGF₂) excretion was measured as a marker of *in vivo* oxidative stress.

Results. There were significantly more obese patients in the IR group than in the N-IR group (62% vs 25%, $p = 0.001$), and the remnant-like particle cholesterol level was significantly higher in the IR group than in the N-IR group (7.6 ± 5.2 vs 4.6 ± 1.5 mg/dl, $p < 0.01$). Patients in the IR group had a significantly larger number of coronary risk factors. U-8-iso-PGF₂ excretion was significantly higher in the IR group and DM groups (201 ± 86 , 191 ± 136 vs 129 ± 50 pg/mg.Cr, $p < 0.0001$, $p = 0.01$), and there was a significantly positive correlation between the number of coronary risk factors, fasting blood sugar and U-8-iso-PGF₂ concentration (correlation coefficient = 0.32, 0.37, $p = 0.002$, $p = 0.0003$). Multiple regression analysis showed that remnant-like particle cholesterol, fasting blood sugar and insulin resistance were independent factors for U-8-iso-PGF₂ concentration ($p < 0.0001$, $p = 0.0007$, $p = 0.02$).

Conclusions. Insulin resistance, remnant lipoprotein and hyperglyceridemia are deeply involved in oxidative stress *in vivo*.

J Cardiol 2003 Sep; 42(3): 119 - 127

東邦大学医学部附属佐倉病院 循環器センター, *臨床検査医学: 〒285 - 0841 千葉県佐倉市下志津564 - 1

Department of Cardiovascular Center, *Clinical Laboratory Medicine, Sakura Hospital, Toho University School of Medicine, Chiba

Address for correspondence: HITSUMOTO T, MD, Department of Cardiovascular Center, Sakura Hospital, Toho University School of Medicine, Shimoshizu 564 - 1, Sakura, Chiba 285 - 0841

Manuscript received March 11, 2003; revised May 9, 2003; accepted May 12, 2003

Key Words

■Insulin (resistance)

■Free radicals (oxidative stress)

■Lipoprotein (remnant)

■Glucose

■Risk factors

はじめに

酸化ストレスは冠動脈硬化病変の進展のみならず、不安定プラークとの関連も指摘されており、種々の冠危険因子が酸化ストレスに関与していることが知られている。一方、インスリン抵抗性は、近年、新たな冠危険因子として注目されているが、その臨床症状として高脂血症、高血圧、肥満、糖尿病(耐糖能異常)などの冠危険因子の存在やそれらが同一個体に重複する、いわゆる多危険因子重複症候群の存在が指摘されている¹⁻³⁾。このように冠危険因子を複数保有するインスリン抵抗性の病態においては生体の酸化ストレスが亢進した状態にあることが推測されるが、背景にあるインスリン抵抗性自体が生体内酸化ストレスにどの程度関与しているかは明らかでない。そこで今回我々は、安定した酸化ストレスマーカーである尿中8-iso-prostaglandin F₂ (8-iso-PGF₂)を用いて、インスリン抵抗性と生体内酸化ストレスの関連について検討を行ったのでここに報告する。

対象と方法

1. 対象

虚血性心疾患の既往のない当院外来通院中の患者87例(男性46例,女性41例,平均年齢63 ± 10歳)を対象とした。インスリン抵抗性の指標としてhomeostasis assessment insulin resistance (HOMA-IR)値(=空腹時血糖値 × 空腹時インスリン値/405)を求め⁴⁾、Oimatsuら⁵⁾の報告に基づき同値が1.73を超える場合インスリン抵抗性ありと判断し、対象を非インスリン抵抗性群(糖尿病の既往がなく空腹時血糖値126mg/dl未満かつHOMA-IR値 ≤ 1.73, 非抵抗性群: 44例)、インスリン抵抗性群(糖尿病の既往がなく空腹時血糖値126mg/dl未満かつHOMA-IR値 > 1.73, 抵抗性群: 29例)、糖尿病群(2型糖尿病患者, 14例)の3群に分け比較検討した。HOMA-IR値はインスリン抵抗性の指標として数々の臨床研究に用いられているが、インスリン分泌が低下してくる糖尿病発症例においてはその意義を示さなくなることが知られており⁶⁾、このため

本研究におけるHOMA-IR値測定の対象患者は糖尿病の既往がなく、日本糖尿病学会の診断基準に基づき、空腹時血糖値が126mg/dl未満の症例とした。また、抗酸化作用が臨床上明らかに認められる薬剤(ビタミンCおよびE, カルベジロール)と抗高脂血症薬の使用患者は対象から除外した。なお、糖尿病群14例のうち8例は経口血糖降下薬を服用しており、6例は食事療法で治療されていたが、インスリン治療を受けている患者はいなかった。

2. 冠危険因子

血清脂質値として総コレステロール値、中性脂肪値、高比重リポ蛋白コレステロール(high-density lipoprotein cholesterol: HDL-C)値、レムナント様粒子コレステロール(remnant-like particle cholesterol: RLP-C)値を測定し、低比重リポ蛋白コレステロール(low-density lipoprotein cholesterol: LDL-C)値はFriedewaldの式⁷⁾(総コレステロール - HDL-C - 中性脂肪/5)より求めた。高脂血症は、総コレステロール値 ≥ 220mg/dl、中性脂肪値 ≥ 150mg/dl、LDL-C値 ≥ 140mg/dlのうち1項目以上満たす患者とし、喫煙歴は1日10本以上の習慣性喫煙のある患者とし、高血圧は降圧薬内服治療中か、収縮期血圧140mmHg以上または拡張期血圧90mmHg以上、またはその既往を持つ患者とした。肥満は日本肥満学会の判定基準に基づき肥満指数が25以上の患者と定義した^{8,9)}。

3. 酸化ストレスの評価

生体内酸化ストレスの指標として空腹時早朝尿から尿中8-iso-PGF₂値を酵素免疫定量法により測定し、クレアチニン値で補正した値を求めた。8-iso-PGF₂は科学的に安定なプロスタグランジン類で、細胞膜などの脂質二重層のリン脂質またはLDL粒子のリン脂質におけるアラキドン酸の過酸化反応によって生成され、ホスホリパーゼA₂によって水解され、血液中や組織液中に分布して尿中に移行するものと考えられており、安定した生体内酸化ストレスの指標として、その臨床的有用性が認められている¹⁰⁻¹³⁾。

Table 1 Patient characteristics

	N-IR group (n = 44)	IR group (n = 29)	DM group (n = 14)
Age(yr, mean \pm SD)	64 \pm 11	62 \pm 10	62 \pm 10
Sex(male/female)	24/20	12/17	10/4
Coronary risk factors			
Smoking	5(11)	8(28)	8(57)*
Hypertension	27(61)	24(73)	12(86)
Obesity	11(25)	18(62)**	5(36)
Medication			
Calcium-blocker	17(39)	17(59)	7(50)
ACE-inhibitor/angiotensin blocker	7(16)	6(21)	2(14)
Beta-blocker	4(9)	2(7)	2(14)

() %.

* $p = 0.0002$ vs N-IR group, ** $p = 0.001$ vs N-IR group.

N-IR = noninsulin resistance; IR = insulin resistance; DM = diabetes mellitus; ACE = angiotensin converting enzyme.

4. 統計学的検討

データの数値は平均 \pm 標準偏差で表記した。3群間の連続変数の比較は一元配置分散分析法を用い、有意差が認められたとき post-hoc 検定として Fisher の PLSD 検定を行い、比率の比較は Kruskal-Wallis 検定を用い有意差が認められた場合、post-hoc test として Bonferroni の相関を伴う Mann-Whitney の U 検定を行った。また、相関関係の検定には Pearson の相関係数を用い、多変量解析は重回帰分析により行った。なお、 $p < 0.05$ を有意差の判定とした。

結 果

1. 患者背景および血液データ

患者背景を Table 1 に示す。3群間の年齢、性に差はなく、投薬内容にも差を認めなかった。冠危険因子に関しては喫煙患者が非抵抗性群に比べて糖尿病群で (57% vs 11%, $p = 0.0002$)、肥満患者が非抵抗性群に比べて抵抗性群で有意に多くを占めていた (62% vs 25%, $p = 0.001$)。血液データの比較を Table 2 に示す。抵抗性群は非抵抗性群に比べて軽度の血糖値の上昇を認め (105 \pm 10 vs 98 \pm 9 mg/dl, $p < 0.01$)、さらに空腹時インスリン値は有意に高く (12.7 \pm 8.2 vs 4.6 \pm 1.4 mU/l, $p < 0.0001$)、このため HOMA-IR 値は抵抗性群で有意に高値 (3.3 \pm 2.0 vs 1.1 \pm 0.3, $p < 0.0001$) であった。脂質データに関しては抵抗性群は非抵抗性群に比べて総コレステロール値、中性脂肪値、LDL-C

値ともに有意に高く (それぞれ 230 \pm 35, 141 \pm 62, 145 \pm 38 vs 204 \pm 37, 98 \pm 46, 126 \pm 31 mg/dl, $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p = 0.02$)、糖尿病群も非抵抗性群に比べて中性脂肪値は有意に高値を示した (137 \pm 74 vs 98 \pm 46 mg/dl, $p = 0.02$)。また、RLP-C 値は非抵抗性群に比べて抵抗性群で有意に高値 (7.6 \pm 5.2 vs 4.6 \pm 1.5 mg/dl, $p < 0.01$) であった。一方、抵抗性群は非抵抗性群に比べて高脂血症、高血圧、肥満の冠危険因子を同一患者に有意に多く保有していた (2.3 \pm 0.9 vs 1.4 \pm 1.0, $p < 0.0001$; Fig. 1)。

2. 尿中 8-iso-prostaglandin F₂ 値の比較

3群の尿中 8-iso-PGF₂ 値の比較を Fig. 2 に示す。尿中 8-iso-PGF₂ 値は抵抗性群、糖尿病群は非抵抗性群に比べて有意に高値 (201 \pm 86, 191 \pm 136 vs 129 \pm 50 pg/mg.Cr, $p < 0.0001$, $p = 0.01$) であった。一方、冠危険因子数 (同一患者の高脂血症、高血圧、肥満、糖尿病の保有数) と尿中 8-iso-PGF₂ 値の間にも有意な正の相関関係を認めた (相関係数 = 0.32, $p = 0.002$; Fig. 3)。空腹時血糖値と尿中 8-iso-PGF₂ 値の間には有意な正の相関関係 (相関係数 = 0.37, $p = 0.0003$; Fig. 4) を認めた。

3. 重回帰分析

従属変数である尿中 8-iso-PGF₂ 値に対して空腹時血糖値、脂質値、年齢、性差、喫煙歴、高血圧、肥満、

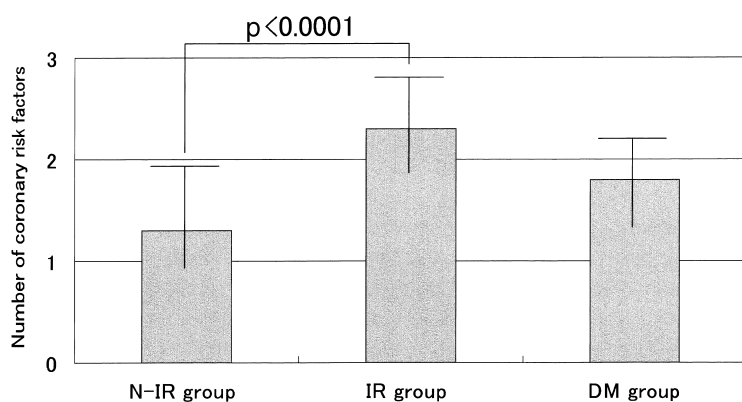
Table 2 Comparisons of serum parameters

	N-IR group (n = 44)	IR group (n = 29)	DM group (n = 14)
FBS(mg/dl)	98 ± 9	105 ± 10*	144 ± 25** [†]
IRI(mU/l)	4.6 ± 1.4	12.7 ± 8.2**	-
HOMA-IR	1.1 ± 0.3	3.3 ± 2.0**	-
Lipid levels		↓	
Total cholesterol(mg/dl)	204 ± 37	230 ± 35*	206 ± 30
Triglyceride(mg/dl)	98 ± 46	141 ± 62*	137 ± 74***
HDL-cholesterol(mg/dl)	58 ± 14	57 ± 10	52 ± 10
LDL-cholesterol(mg/dl)	126 ± 31	145 ± 38***	127 ± 30
RLP-cholesterol(mg/dl)	4.6 ± 1.5	7.6 ± 5.2*	5.6 ± 2.8

Values are mean ± SD.

* $p < 0.01$ vs N-IR group, ** $p < 0.0001$ vs N-IR group, *** $p = 0.02$ vs N-IR group, [†] $p < 0.0001$ vs IR and/or N-IR group.

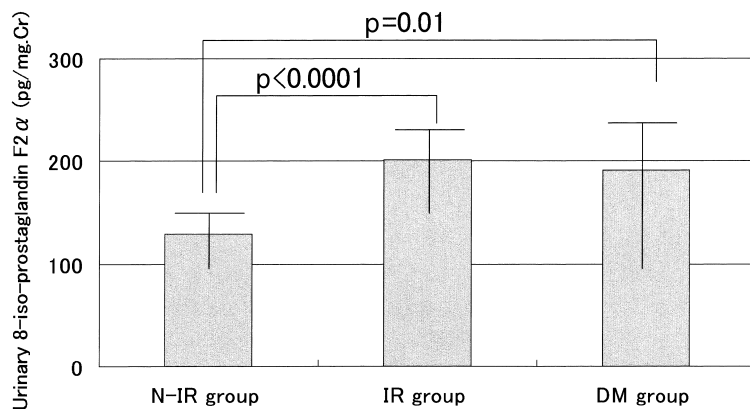
FBS = fasting blood sugar ; IRI = immunoreactive insulin ; HOMA-IR = homeostasis assessment insulin resistance ; HDL = high-density lipoprotein ; LDL = low-density lipoprotein ; RLP = remnant-like particle. Other abbreviations as in Table 1.

**Fig. 1 Comparisons of number of coronary risk factors between the N-IR, IR and DM groups**

Data are mean ± SD.

Coronary risk factors : Hyperlipidemia, hypertension, obesity.

Abbreviations as in Table 1.

**Fig. 2 Comparisons of urinary 8-iso-prostaglandin F₂ levels between the N-IR, IR and DM groups**

Data are mean ± SD.

Abbreviations as in Table 1.

リポ蛋白や高血糖とともに生体内酸化ストレス亢進に深く関与している可能性が示唆された。

1. インスリン抵抗性と酸化ストレス

血管内皮機能障害は粥状動脈硬化発症の主要因であり、インスリン抵抗性状態においては血管内皮機能異常が認められることが報告されている^{14,15)}。Shinozakiら¹⁶⁾やKashiwagiら^{17,18)}はインスリン抵抗性下において血管内皮特異的に一酸化窒素産生障害とNADPHオキシダーゼ活性化による活性酸素の過剰産生を認め、さらにインスリンがNADPHオキシダーゼ活性化を上昇させうることを報告しており、インスリン抵抗性による内因性高インスリン血症が血管内皮における酸化ストレス亢進を介して内皮機能障害に関与する可能性を示している。一方、酸化ストレスも複数の機序を介してインスリン抵抗性を引き起こすことが報告されており¹⁹⁻²¹⁾、このようにインスリン抵抗性と酸化ストレスは相互に影響し合っただけでなく、動脈硬化進展に関与しているものと考えられる。しかしながら、インスリン抵抗性の病態下ではしばしば高脂血症、高血圧、肥満、糖尿病(耐糖能異常)などの冠危険因子を合併し、これらの冠危険因子も酸化ストレスなどを介して動脈硬化進展に関与すること、さらに同一個体に複数保有することから、冠危険因子の存在やその重複が重要なのか、もしくは背景にあるインスリン抵抗性自体が病態の主役なのかが議論になる。

本研究においてもインスリン抵抗性を示す患者は同一患者に冠危険因子を有意に多く保有しており、さらに冠危険因子保有数と尿中8-iso-PGF₂値の間に有意な正相関を認めたことにより、酸化ストレスに対するこれらの冠危険因子の影響は考えられるものの、重回帰分析の結果は、冠危険因子の存在や重複とは別にインスリン抵抗性自体が生体内酸化ストレス亢進に深く関与している可能性を示している。最近報告された尿中8-iso-PGF₂値を酸化ストレスの指標として冠危険因子との関係を検討したコホート研究²²⁾は、酸化ストレスに対してとくに肥満が重要な因子であることを指摘している。肥満とインスリン抵抗性は深い関係を有しており^{23,24)}、本研究においてもインスリン抵抗性を呈する患者は肥満者が多くを占めていたが、重回帰分析においてインスリン抵抗性が肥満以上に尿中8-iso-PGF₂値に対する強い寄与因子として選択されたこと

は、肥満者における酸化ストレスに対してインスリン抵抗性が重要な役割を担っているものと考えられる。

一方、インスリン抵抗性を基盤として発症する2型糖尿病患者においても酸化ストレスが亢進していることが知られており、この機序としてインスリン抵抗性のほか、高血糖に伴う後期糖付加反応生成物の存在²⁵⁾、ポリオール経路の活性化^{26,27)}、ミトコンドリアでの活性酸素産生亢進^{28,29)}、酸化ストレス消去系の異常³⁰⁾などが報告されている。本研究においても空腹時血糖値と尿中8-iso-PGF₂値の間には有意な正の相関関係を認めており、また重回帰分析の結果より、高血糖が生体内酸化ストレス亢進に関与する重要な因子であることを示唆するが、一方、空腹時血糖値のあまり高くないインスリン抵抗性を示す患者が糖尿病患者以上に酸化ストレスが亢進していることは、非糖尿病患者においてもインスリン抵抗性をきたす症例においては酸化ストレスやインスリン抵抗性を介して心血管事故を発症する危険性を示唆し、糖尿病発症前の段階において抗酸化療法やインスリン抵抗性改善薬を含めた治療によりインスリン抵抗性症例に対して積極的に介入していく必要があるものと考えられる。事実、近年の報告から心血管イベントを起こす症例は、必ずしも進行した糖尿病患者から発症するのではなく、軽症糖尿病や、糖尿病発症前の耐糖異常も十分な危険因子であることが指摘されており³¹⁻³³⁾、インスリン抵抗性と耐糖能異常の間には密接な関係があることから^{1,2)}、本研究はそういった臨床背景を支持するものと思われる。

2. 脂質代謝異常と酸化ストレス

インスリン抵抗性下においては高中性脂肪血症とともに動脈硬化惹起性リポ蛋白であるレムナントリポ蛋白や小粒子LDLが出現し、近年これらのリポ蛋白と冠動脈疾患の関連が多数報告されている³⁴⁻³⁹⁾。カイロミクロンや超低比重リポ蛋白などの中性脂肪に富むリポ蛋白の中間代謝産物であるレムナントリポ蛋白は、血管壁に取り込まれやすく、マクロファージを泡沫化する作用がLDL-Cより強いと報告されており⁴⁰⁾、また小粒子LDLは通常のサイズのLDLに比べて容易に酸化LDLとなり、酸化LDLはそれ自身が血管内皮機能障害⁴¹⁾や血栓形成⁴²⁾を引き起こすとともにマクロファージを泡沫化し、レムナントリポ蛋白や酸化LDLを含んだ泡沫化細胞が、種々のサイトカインや

ケモカインを産生し、動脈硬化巣を形成することが知られている。Doiら⁴³⁾は培養内皮細胞を用いた実験において、レムナントリポ蛋白が内皮細胞内の酸化ストレスを増加させることにより、intercellular cell-adhesion molecule 1, vascular cell-adhesion molecule 1, 組織因子などの接着因子の発現を亢進させ、動脈硬化進展に関与している可能性を示唆している。したがって、本研究においてRLP-C値が生体内酸化ストレスに深い関係を示したことは、レムナントリポ蛋白が生体内において泡沫化細胞による経路以外に内皮細胞内の酸化ストレスによって動脈硬化進展に影響を及ぼしているものと解釈できる。また、今回我々はLDL粒子サイズの検討は行っていないが、本研究で示されたインスリン抵抗性と酸化ストレスの密接な関係は、インスリン抵抗性下に出現する易酸化性の小粒子LDLと酸化ストレスが酸化LDLを介して病態をさらに悪化させていく危険性を示唆し、心血管イベント発症予防のためにインスリン抵抗性ととも酸化ストレスやLDL粒子サイズを視野に入れた治療を行っていく必

要があるものと考えられる。

3. 本研究の限界

本研究の対象症例の中には高血圧の既往を有する患者が多くを占め、このため種々の降圧薬がすでに投与されており、これらの薬剤が酸化ストレスやインスリン抵抗性に影響を及ぼしている可能性は否定できない。また、単施設の比較的少数例での検討であり、今後我が国におけるインスリン抵抗性、RLP-C値、血糖値を指標にした酸化ストレスおよび抗酸化療法の有用性に関する大規模な臨床試験の実施が望まれる。

結 論

インスリン抵抗性はレムナントリポ蛋白や高血糖とともに生体内酸化ストレスに深く関与している可能性が示唆され、心血管イベント抑制のため、血糖コントロールの必要性、インスリン抵抗性やレムナントリポ蛋白に対する治療、インスリン抵抗性の病態における抗酸化療法の有用性が考えられた。

要 約

目 的: インスリン抵抗性と生体内酸化ストレスの関連を検討した。

方 法: 虚血性心疾患の既往のない当院外来通院中の患者87例(男性46例,女性41例,平均年齢 63 ± 10 歳)を対象とした。インスリン抵抗性の指標としてhomeostasis assessment insulin resistance (HOMA-IR)値(=空腹時血糖値 \times 空腹時インスリン値/405)を求め、非インスリン抵抗性群(糖尿病の既往がなく空腹時血糖値 126 mg/dl 未満かつHOMA-IR値 ≤ 1.73 ,非抵抗性群:44例),インスリン抵抗性群(糖尿病の既往がなく空腹時血糖値 126 mg/dl 未満かつHOMA-IR値 > 1.73 ,抵抗性群:29例),糖尿病群(2型糖尿病患者,14例)の3群に分け比較検討した。なお、酸化ストレスの指標として尿中8-iso-prostaglandin F_2 (8-iso-PGF $_2$)を用いた。

結 果: 抵抗性群は非抵抗性群に比べて肥満患者が有意に多くを占め(62% vs 25%, $p = 0.001$),レムナント様粒子コレステロールが有意に高値(7.6 ± 5.2 vs $4.6 \pm 1.5 \text{ mg/dl}$, $p < 0.01$)であり,さらに同一患者に冠危険因子を有意に多く保有していた。尿中8-iso-PGF $_2$ 値は非抵抗性群に比べて抵抗性群,糖尿病群で有意に高値(201 ± 86 , 191 ± 136 vs $129 \pm 50 \text{ pg/mg.Cr}$, $p < 0.0001$, $p = 0.01$)であり,同一患者の冠危険因子保有数および空腹時血糖値と尿中8-iso-PGF $_2$ 値の間には有意な正相関を認めた(相関係数 = 0.32, 0.37, $p = 0.002$, $p = 0.0003$)。重回帰分析の結果,尿中8-iso-PGF $_2$ 値に対する独立した寄与を示した因子はレムナント様粒子コレステロール値と空腹時血糖値およびインスリン抵抗性($p < 0.0001$, $p = 0.0007$, $p = 0.02$)であった。

結 論: インスリン抵抗性はレムナントリポ蛋白や高血糖とともに生体内酸化ストレスに深く関与している可能性が示唆された。

J Cardiol 2003 Sep; 42(3): 119 - 127

文 献

- 1) Reaven GM: Banting lecture: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; **37**: 1595 - 1607
- 2) Kaplan NM: The deadly quartet: Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; **149**: 1514 - 1520
- 3) DeFronzo RA, Ferrannini E: Insulin resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; **14**: 173 - 194
- 4) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; **28**: 412 - 419
- 5) Oimatsu H, Saitoh S, Ura N, Shimamoto K: A practical index for evaluation of insulin resistance. *J Japan Diab Soc* 2000; **43**: 205 - 213 (in Jpn with Eng abstr)
- 6) DeFronzo RA: Pathogenesis of type 2 non-insulin dependent diabetes mellitus: A balanced overview. *Diabetologia* 1992; **35**: 389 - 397
- 7) 松澤祐次, 井上修二, 池田義雄, 坂田利家, 齊藤 康, 佐藤祐造, 白井厚治, 大野 誠, 宮崎 滋, 徳永勝人, 深川光司, 山之内国男, 中村 正: 新しい肥満の判定と肥満症の診断基準. *肥満研* 2000; **6**: 18 - 28
- 8) 吉池信男, 西 信雄, 松島松翠, 伊藤千賀子, 池田義雄, 櫻原英俊, 吉永英世, 小倉 浩, 小峰慎吾, 佐藤祐造, 佐藤則之, 佐々木陽, 藤岡滋典, 奥 淳治, 雨宮禎子, 坂田利家, 井上修二: Body Mass Indexに基づく肥満の程度と糖尿病, 高血圧, 高脂血症の危険因子との関連: 多施設共同研究による疫学的検討. *肥満研* 2000; **6**: 4 - 17
- 9) Fridewald WT, Levy RI, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; **18**: 499 - 502
- 10) Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA: Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 1996; **94**: 19 - 25
- 11) Reilly MP, Pratico D, Delanty N, DiMinno G, Tremoli E, Rader D, Kapoor S, Rokach J, Lawson J, FitzGerard GA: Increased formation of distinct F2 isoprostanes in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; **98**: 2822 - 2828
- 12) Pratico D, Iuliano L, Mauriello A, Spagnoli L, Lawson JA, Rokach J, Maclouf J, Violi F, FitzGerald GA: Localization of distinct F2-isoprostanes in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1997; **100**: 2028 - 2034
- 13) Patrono C, FitzGerald GA: Isoprostanes: Potential markers of oxidant stress in atherothrombotic disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; **17**: 2309 - 2315
- 14) Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD: Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction: Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; **97**: 2601 - 2610
- 15) Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osuga J, Shionoiri F, Yahagi N, Kadowaki T, Tamemoto H, Ishibashi S, Yazaki Y, Makuuchi M: Hypertension, hypertriglyceridemia, and impaired endothelium-dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest* 1998; **101**: 1784 - 1788
- 16) Shinozaki K, Kashiwagi A, Nishio Y, Okamura T, Yoshida Y, Masada M, Toda N, Kikkawa R: Abnormal biopterin metabolism is a major cause of impaired endothelium-dependent relaxation through nitric oxide/O₂-imbalance in insulin-resistant rat aorta. *Diabetes* 1999; **48**: 2437 - 2445
- 17) Kashiwagi A, Shinozaki K, Nishio Y, Okamura T, Toda N, Kikkawa R: Free radical production in endothelial cells as a pathogenetic factor for vascular dysfunction in the insulin resistance state. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; **45**: 199 - 203
- 18) Kashiwagi A, Shinozaki K, Nishio Y, Maegawa H, Maeno Y, Kanazawa A, Kojima H, Haneda M, Hidaka H, Yasuda H, Kikkawa R: Endothelium-specific activation of NAD(P)H oxidase in aortas of exogenously hyperinsulinemic rats. *Am J Physiol* 1999; **277**: E976 - E983
- 19) Rudich A, Kozlovsky N, Potashnik R, Bashan N: Oxidant stress reduces insulin responsiveness in 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol* 1997; **272**: E935 - E940
- 20) Rudich A, Tirosh A, Potashnik R, Hemi R, Kanety H, Bashan N: Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT 4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 1998; **47**: 1562 - 1569
- 21) Hansen LL, Ikeda Y, Olsen GS, Busch AK, Mosthaf L: Insulin signaling is inhibited by micromolar concentrations of H₂O₂: Evidence for a role of H₂O₂ in tumor necrosis factor alpha-mediated insulin resistance. *J Biol Chem* 1999; **274**: 25078 - 25084
- 22) Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ, for the Framingham Study: Obesity and systemic oxidative stress: Clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23**: 434 - 439
- 23) Baron AD, Brechtel G: Insulin differentially regulates systemic and skeletal muscle vascular resistance. *Am J Physiol* 1993; **265**: E61 - E67
- 24) Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM: IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996; **271**: 665 - 668
- 25) Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D: Activation of receptor for advanced glycation end products: A mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res* 1999; **84**: 489 - 497
- 26) Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H: High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes* 2000; **49**: 1939 - 1945
- 27) Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, Skatchkov M, Thaiss F, Stahl RA, Warnholtz A, Meinertz T, Griendling K, Harrison DG, Forstermann U, Munzel T: Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res* 2001; **88**: E14 - E22
- 28) Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; **404**: 787 - 790

- 29) Kanazawa A, Nishio Y, Kashiwagi A, Inagaki H, Kikkawa R, Horiike K: Reduced activity of mtTFA decreases the transcription in mitochondria isolated from diabetic rat heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; **282**: E778 - E785
- 30) Ookawara T, Kawamura N, Kitagawa Y, Taniguchi N: Site-specific and random fragmentation of Cu, Zn-superoxide dismutase by glycation reaction: Implication of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 1992; **267**: 18505 - 18510
- 31) Fuller JH, Shipley MJ, Rose G, Jarrett RJ, Keen H: Coronary-heart-disease risk and impaired glucose tolerance: The Whitehall study. *Lancet* 1980; : 1373 - 1376
- 32) The DECODE study group: Glucose tolerance and mortality: Comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Lancet* 1999; **354**: 617 - 621
- 33) Tominaga M, Eguchi H, Manaka H, Igarashi K, Kato T, Sekikawa A: Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose: The Funagata Diabetes Study. *Diabetes Care* 1999; **22**: 920 - 924
- 34) Sakata K, Miho N, Shirotani M, Yoshida H, Takada Y, Takada A: Remnant-like particle cholesterol is a major risk factor for myocardial infarction in vasospastic angina with nearly normal coronary artery. *Atherosclerosis* 1998; **136**: 225 - 231
- 35) Takeichi S, Yukawa N, Nakajima Y, Osawa M, Saito T, Seto Y, Nakano T, Saniabadi AR, Adachi M, Wang T, Nakajima K: Association of plasma triglyceride-rich lipoprotein remnants with coronary atherosclerosis in cases of sudden cardiac death. *Atherosclerosis* 1999; **142**: 309 - 315
- 36) Masuoka H, Kamei S, Wagayama H, Ozaki M, Kawasaki A, Tanaka T, Kitamura M, Katoh S, Shintani U, Misaki M, Sugawa M, Itoh M, Nakano T: Association of remnant-like particle cholesterol with coronary artery disease in patients with normal total cholesterol levels. *Am Heart J* 2000; **139**: 305 - 310
- 37) Austin MA, Krauss RM: Genetic control of low-density lipoprotein subclasses. *Lancet* 1986; : 592 - 595
- 38) Krauss RM: Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. *Curr Opin Lipidol* 1994; **5**: 339 - 349
- 39) Koba S, Hirano T: Small dense low-density lipoprotein in Japanese men with coronary artery disease. *Ann Intern Med* 2000; **132**: 762
- 40) Ishibashi S, Yamada N, Shimano H, Mori N, Mokuno H, Gotohda T, Kawakami M, Murase T, Takaku F: Apolipoprotein E and lipoprotein lipase selected from human monocyte-derived macrophages modulate very low density lipoprotein uptake. *J Biol Chem* 1990; **265**: 3040 - 3047
- 41) Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, Roberts R, Henry PD: Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* 1990; **344**: 160 - 162
- 42) Kugiyama K, Sakamoto T, Misumi I, Sugiyama S, Ohgushi M, Ogawa H, Horiguchi M, Yasue H: Transferable lipids in oxidized low-density lipoprotein stimulate plasminogen activator inhibitor-1 and inhibit tissue-type plasminogen activator release from endothelial cells. *Circ Res* 1993; **73**: 335 - 343
- 43) Doi H, Kugiyama K, Oka H, Sugiyama S, Ogata N, Koide SI, Nakamura SI, Yasue H: Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a rebox-sensitive mechanism. *Circulation* 2000; **102**: 670 - 676