

原 著

妊娠中の血漿デスアシルグレリン濃度とインスリン抵抗性に関する検討

(平成26年2月6日受付)

(平成26年8月14日受理)

独立行政法人国立病院機構佐賀病院総合周産期母子医療センター

徳田 諭道

Key words

Desacyl ghrelin

Insulin resistance

Abnormal glucose tolerance in pregnancy

概要 【目的】妊娠中の糖代謝、特にインスリン抵抗性に注目し、グレリンが妊娠中の糖代謝に及ぼす影響を検討した。【方法】正常耐糖能 (NGT) 妊婦群 (n=15)、耐糖能異常 (AGT) 妊婦群 (n=11) に対し、早朝空腹時の血漿デスアシルグレリン濃度、血中インスリン濃度、血中グルコース濃度を測定、インスリン抵抗性 (HOMA-R) を算出して検討を行った。【結果】デスアシルグレリン濃度は、NGT 妊婦群と AGT 妊婦群の間に有意差を認めなかった。デスアシルグレリンとインスリン、インスリン抵抗性は、NGT 妊婦群では弱い正の相関を認めたが、AGT 妊婦群では強い負の相関を認めた。【結論】耐糖能異常妊婦では非妊婦同様にデスアシルグレリン濃度とインスリン抵抗性に負の相関が認められたが、正常耐糖能妊婦ではデスアシルグレリンと濃度インスリン抵抗性に同様の相関は認められず、妊娠時の耐糖能の変化が関与していると考えられた。

緒言

グレリン (Ghrelin) は、Kojima ら¹⁾により胃より抽出・発見されたペプチドホルモンで、28残基のアミノ酸から構成され、成長ホルモンの分泌促進作用を有する。胃以外にも、腸管、視床下部、下垂体、膵臓、胎盤などで少量の産生が認められ^{2) 3)}、視床下部のグレリン受容体を介した食欲刺激作用や、血管に存在するグレリン受容体を介した血管拡張作用による心拍出量の増加など、多彩な作用を持つことが報告されている^{3)~5)}。

グレリンは糖尿病との関連も報告され、Dezaki ら⁶⁾は、ラットにおける研究にてグレリンが膵β細胞内でのグルコース応答性インスリン分泌を抑制することを発見した。ヒトにおいても同様の作用を有するか否かということについては、意見が分かっていたが^{7) 8)}、Tong ら⁹⁾は臨床試験により、ヒトにおいてもグレリンがインスリン分泌抑制作用を有するという結論を得ている¹⁰⁾。

2型糖尿病成人では、正常成人と比較して血中グレリン濃度が低値であり^{11) 12)}、インスリン抵抗性の増加に伴うインスリン分泌増加に対応するものであると考えられる。これを裏付けるように、南條ら¹³⁾は、一般

住民健診による疫学調査において、グレリンとインスリン抵抗性に強い負の相関を認めることを報告している。

一方、妊婦の血中グレリン濃度は妊娠第3三半期にかけて減少して分娩後は速やかに増加する¹⁴⁾。このため、妊娠に伴うグレリンの低下も妊娠性のインスリン抵抗性増加に伴うと推測された。しかし Riedl ら¹⁵⁾は、インスリン抵抗性が妊娠に伴うグレリンの低下には影響しないこと、すなわち妊婦ではグレリンとインスリン抵抗性には関連がないことを報告した。

このことから、妊娠中の血漿中グレリン濃度とインスリン抵抗性との関係は、非妊娠時と異なると予想され、それには妊娠時の耐糖能の変化が関与していることが疑われる。このため、妊婦を正常耐糖能妊婦と耐糖能異常妊婦に分けて、耐糖能に関わるインスリン、グルコース、インスリン抵抗性とグレリンを検討することで、妊娠中の血漿中グレリン濃度とインスリン抵抗性との関係を明らかにすることを、本研究の目的とした。

グレリンは、活性型グレリン (アシルグレリン: Acyl ghrelin) と不活性型グレリン (デスアシルグレリン

ン:Desacyl ghrelin)の2つの主要な分子形態を有する¹⁾。ヒトの血漿中では、アシルグレリンが総グレリン(アシルグレリンとデスアシルグレリンの和:Total ghrelin)の10~20%であり¹⁶⁾、妊娠中はアシルグレリンの比率がさらに低下するという報告¹⁷⁾もあることから、妊婦において循環血漿中グレリンの大部分はデスアシルグレリンである。このことから、妊婦対象の研究においては、血漿デスアシルグレリン濃度が血漿中総グレリンと同じ意味合いを持つと考えられる。これに加えて、アシルグレリンと総グレリン測定には、グレリン脱アシル化活性阻害剤(アプロチニン)入りの採血管で検体採取後すみやかに緩衝液[1N塩酸]を混入して血漿凍結保存する必要があるため、検体の扱いが比較的容易な血漿デスアシルグレリン濃度を用いて検討を行った。

対象と方法

研究開始および検体収集開始に当たり、国立病院機構佐賀病院内倫理委員会の認可[認可番号:19-2]を受けた。対象は2007年4月~2008年7月に国立病院機構佐賀病院で分娩となった妊婦のうち、本研究に対するインフォームドコンセントを得られた26例である。

耐糖能異常以外に合併症のみられない妊娠糖尿病、2型糖尿病合併妊婦11例を耐糖能異常(Abnormal glucose tolerance)妊婦群(以下AGT妊婦群と略す)、耐糖能異常を含め合併症を認めない妊婦15例を正常耐糖能(Normal glucose tolerance)妊婦群(以下NGT妊婦群と略す)とした。なお、妊娠糖尿病の診断基準は検体収集当時の診断基準を用いているが、今回のAGT妊婦群とNGT妊婦群は、2010年改訂された現在の診断基準に照らしても、AGT妊婦群とNGT妊婦群に分類される。また、AGT妊婦群においては、インスリン治療投与に伴う影響を排除するために、インスリン導入前の患者を対象とした。

NGT妊婦群、AGT妊婦群に対し、早朝空腹時の採血検体を用いて、血漿デスアシルグレリン濃度、血中インスリン濃度、血中グルコース濃度を測定した。血漿デスアシルグレリン濃度測定は、EDTA-2Na入り採血管にて採血を行い、血漿分離した後で-40℃以下で検体保存し、後日SRL社に依頼してELISA法で測定が行われた。また、早朝空腹時血中インスリン濃度、早朝空腹時血中グルコース濃度を用いてHOMA-R [= (早朝空腹時血中インスリン濃度(μ IU/ml) \times 早朝空腹時血糖値(mg/dl) \div 405)]を算出し、インスリン抵抗性の指標に用いた。

データの解析として、まず、NGT妊婦群とAGT妊婦群との対象2群間の背景因子に関して比較検討を行った。用いたパラメータは、年齢(歳)・非妊娠時BMI(kg/m^2)・体重(kg)・妊娠週数(週)・分娩週数(週)・出生児体重(g)・出生児発育(SD)である。出生児発育

で使用するSD値は、「在胎期間別出生児体格基準値(厚生労働科学研究班作成)」¹⁸⁾より算出されるSDスコアである。次に、測定項目である血漿デスアシルグレリン濃度(fmol/ml)、早朝空腹時血中インスリン濃度(μ IU/ml)、早朝空腹時血中グルコース濃度(mg/dl)、インスリン抵抗性(HOMA-R)を、NGT妊婦群とAGT妊婦群で比較した。さらに、NGT妊婦群、AGT妊婦群それぞれにおいて、血漿デスアシルグレリン濃度に対する、早朝空腹時血中インスリン濃度、早朝空腹時血中グルコース濃度、インスリン抵抗性(HOMA-R)の関連(相関)を検討した。なお、各パラメータは正規性の判断を行い、正規性あり:パラメトリック、正規性なし:ノンパラメトリックに分類して、統計解析を行った。各測定項目に関しては、一般的に正規性ありとして扱うことが多いため、パラメトリックとして扱った。

統計学的解析には統計解析ソフトSPSS (SPSS statistics Ver.21)を用いた。

結果

1. 対象2群間の背景比較

背景因子として比較した、年齢・非妊娠時BMI・体重・妊娠週数・分娩週数ではNGT妊婦群およびAGT妊婦群の間に有意差を認めなかったが、出生児体重(g)・出生児発育(SD)では有意差($p < 0.01$)を認めた(表1)。しかし、胎児発育を詳細に検討すると、AGT妊婦群の1例が在胎期間別出生体重基準値の90パーセントイル(+1.28SD)を超えるHeavy for date (HFD)児(具体的には+1.54SD)であった以外は、いずれも在胎期間別出生児体格基準値の10~90パーセントイル(-1.28SD~+1.28SD)であるAppropriate for date (AFD)児であった。

2. 各測定項目に関する検討

血漿デスアシルグレリン濃度は、NGT妊婦群とAGT妊婦群の両群間に有意差を認めなかった。早朝空腹時血中インスリン濃度は、AGT妊婦群が若干高値ではあるが、両群間に有意差は認めなかった。早朝空腹時血中グルコース濃度は、NGT妊婦群に比べてAGT妊婦群が有意に高値であった($p < 0.01$)。インスリン抵抗性(HOMA-R)は、NGT妊婦群に比べてAGT妊婦群が有意に高かった($p < 0.05$) (表2)。

3. グレリンと各測定項目との関係に関する検討

NGT妊婦群では、血漿デスアシルグレリン濃度と早朝空腹時血中インスリン濃度に弱い正の相関を認め、血漿デスアシルグレリン濃度と早朝空腹時血中グルコース濃度にも弱い正の相関を認め、さらに血漿デスアシルグレリン濃度とインスリン抵抗性(HOMA-R)にも弱い正の相関を認めた(表3, 図1)。

一方、AGT妊婦群では、血漿デスアシルグレリン濃度と早朝空腹時血中インスリン濃度に強い負の相関を

表1 患者背景因子の統計値および群間比較

	NGT 妊婦群 (n = 15)		AGT 妊婦群 (n = 11)		P-value
	data	range	data	range	
年齢 (歳)	28.5 ± 5.3	(21.0 – 39.0)	29.5 ± 4.6	(22.0 – 36.0)	0.618 a
非妊娠時BMI (kg/m ²)	24.1 ± 3.3	(18.4 – 29.3)	25.2 ± 2.6	(20.6 – 28.9)	0.373 a
体重 (kg)	58.8 ± 10.3	(42.8 – 79.3)	63.2 ± 9.6	(48.4 – 77.6)	0.283 a
妊娠週数 (週)	31.7 [26.0 – 35.0]	(25.0 – 35.0)	29.0 [26.5 – 33.5]	(24.0 – 36.0)	0.773 b
分娩週数 (週)	37.7 [36.0 – 39.0]	(34.0 – 40.0)	38.0 [38.0 – 39.0]	(36.0 – 39.0)	0.439 b
出生児体重 (g)	2,689 ± 362	(2,140 – 3,356)	3,148 ± 311	(2,731 – 3,769)	0.002 (*) a
出生児発育 (SD※)	0.01 ± 0.49	(-1.05 – +0.88)	0.67 ± 0.61	(-0.44 – +1.54)	0.006 (*) a

data : mean ± SD or median [interquartile range (25% – 75%)]
range : minimum – maximum
P-value : a ; t-test, b ; Mann-Whitney U test, (*) ; P < 0.05
※ : 「在胎期間別出生児体格基準値 (厚生労働科学研究班作成)」¹⁸⁾ より算出されるSDスコア

表2 各測定項目の統計値および群間比較

	NGT 妊婦群 (n = 15)		AGT 妊婦群 (n = 11)		P-value
	data	range	data	range	
Desacyl ghrelin (fmol/ml)	143.3 ± 35.7	(78.0 – 191.1)	137.4 ± 88.2	(43.0 – 299.3)	0.838 b
Insulin (μU/ml)	7.2 ± 4.1	(2.1 – 14.0)	9.4 ± 3.3	(4.8 – 14.0)	0.152 a
Glucose (mg/dl)	72.9 ± 5.9	(62.0 – 85.0)	90.6 ± 22.0	(70.0 – 138.0)	0.001 (*) b
HOMA-R	1.3 ± 0.8	(0.4 – 2.7)	2.1 ± 0.8	(1.0 – 3.2)	0.033 (*) a

data : mean ± SD
range : minimum – maximum
P-value : a ; t-test, b ; Welch' s-test, (*) ; P < 0.05

表3 デスアシルグレリンと各測定項目との相関関係

	Desacyl ghrelin		
	Pearson の相関係数	P-value	相関性 (注)
NGT 妊婦群			
Insulin	0.538	0.038 (*)	弱い正の相関
Glucose	0.578	0.024 (*)	弱い正の相関
HOMA-R	0.528	0.043 (*)	弱い正の相関
AGT 妊婦群			
Insulin	-0.799	0.003 (*)	強い負の相関
Glucose	-0.157	0.645	相関性なし
HOMA-R	-0.767	0.006 (*)	強い負の相関

(*) : P < 0.05

(注) 無相関の対する検定を行い、次のように評価基準を定めた。
| 相関係数 | < 0.5 : 相関なし
0.5 ≤ | 相関係数 | < 0.7 : 弱い相関を認める
0.7 ≤ | 相関係数 | : 強い相関を認める

認め、血漿デスアシルグレリン濃度と早朝空腹時血中グルコース濃度には有意な相関は認めず、血漿デスアシルグレリン濃度とインスリン抵抗性 (HOMA-R) には強い負の相関を認めた (表3, 図2)。

考察

グレリンの変動因子を可能な限り減らし、検討対象群間の偏りを抑えた結果、本研究は小規模の検討となったが、注目すべき結果を得た。それは、正常耐糖能妊婦群 (NGT 妊婦群) では血漿デスアシルグレリン濃

図1 NGT 妊婦群におけるデスアシルグレリンと各測定項目との関係

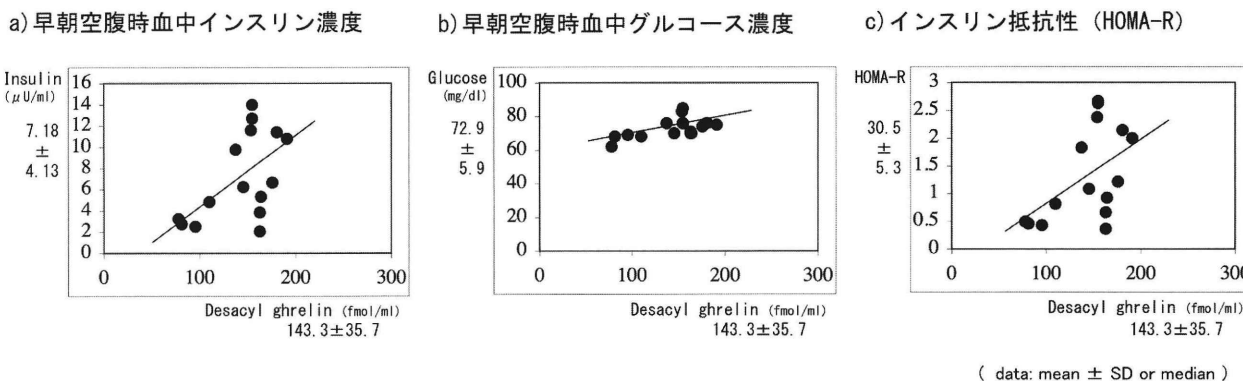
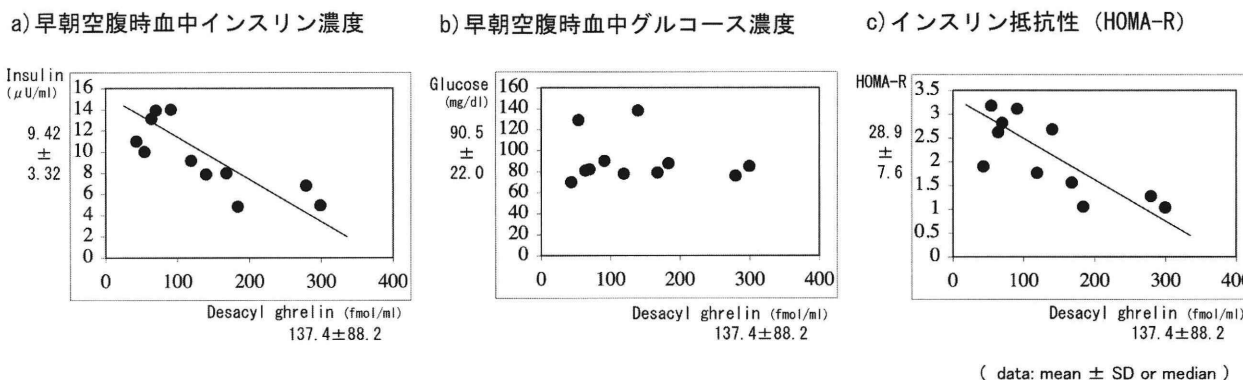


図2 AGT 妊婦群におけるデスアシルグレリンと各測定項目との関係



度と早朝空腹時血中インスリン濃度、血漿デスアシルグレリン濃度とインスリン抵抗性 (HOMA-R) に非妊娠時とは異なる弱い正の相関を認めたが、耐糖能異常妊婦群 (AGT 妊婦群) では血漿デスアシルグレリン濃度と早朝空腹時血中インスリン濃度、血漿デスアシルグレリン濃度とインスリン抵抗性 (HOMA-R) との間に非妊娠時と同様の強い負の相関を認めたことである。

Telejko ら¹⁹⁾ は、血漿総グレリン濃度と様々なパラメータとの関連を、耐糖能異常妊婦と正常耐糖能妊婦において調べており、耐糖能異常妊婦では血漿総グレリン濃度と空腹時血中インスリン濃度、血漿総グレリン濃度とインスリン抵抗性に負の相関を認めるが、正常耐糖能妊婦では相関を認めないという、血漿デスアシルグレリンを用いて行った本研究と同様の結果を得ている。

先に述べているように、グレリンはインスリン分泌抑制作用を有すると認識されている¹⁰⁾ が、その後 (2011 年)、糖代謝に関してアシルグレリンとデスアシルグレリンが相反する作用をすることが報告され²⁰⁾、膵臓でのグルコース刺激に伴うインスリン分泌に対して、アシルグレリンは抑制する作用があるが、デスアシルグレリンは促進する作用があると考えられている。実

際の臨床研究では、南條ら¹³⁾ が正常成人の血漿総グレリン濃度による検討において、血漿総グレリン濃度とインスリン抵抗性に強い負の相関を認めること報告しており、存在比率の低いアシルグレリンの生理活性が勝っているため、グレリン (総グレリン) としてインスリン分泌抑制作用を有していると考えられる。

妊婦では妊娠性のインスリン抵抗性増加を認めるため、食後 (グルコース負荷後) に速やかなインスリン分泌増加を行わなければならない。我孫子²¹⁾ は、糖負荷試験 [50gGTT] において、正常耐糖能妊婦ではインスリン分泌のピークが糖負荷後 30 分と非妊娠時と変わらないが、ピーク時の血中インスリン値は妊娠進行とともに増加して 29 週以降の妊娠後期には非妊娠時の 2 倍近くとなり、血糖値上昇に対してより速やかにインスリン値が上昇することを報告した。一方、耐糖能異常妊婦では糖負荷試験 [50gGTT] におけるインスリン分泌のピークが非妊娠時と比べて遅く、ピーク時の血中インスリン値は正常耐糖能妊婦と比べ低値で、その後の減少も緩やかである (反応遅延と遷延が起こる) ことも報告している。

これらのことから、妊婦における食後の急峻なインスリン分泌増加を可能とするため、正常耐糖能妊婦 (NGT 妊婦) では、アシルグレリンによるインスリン

分泌抑制系が機能しなくなるのではないかと予測される。具体的には、非妊娠時よりアシルグレリンの比率が低下している¹⁷⁾のために、「アシルグレリンによるインスリン分泌の抑制作用」が減弱し、デスアシルグレリンの影響が強くなると推測される。

一方、妊娠性のインスリン抵抗性に加えて、さらに耐糖能が障害された耐糖能異常妊婦 (AGT 妊婦) では、「インスリン分泌が限界量に達した β 細胞を保護する」ために、デスアシルグレリンの活性が低下して、「アシルグレリンによるインスリン分泌の抑制作用」が優勢となると推測される。「アシルグレリンによるインスリン分泌の抑制作用」が優勢となる可能性として、耐糖能異常妊婦 (AGT 妊婦) でアシルグレリンの比率が正常妊婦 (NGT 妊婦) より高くなる可能性も否定できないが、耐糖能異常妊婦 (AGT 妊婦) でインスリン分泌の遅延と遷延が起こることに合致しない。

今後、本研究で得られた仮説の信頼性を高めるために、単にデータ数を増やすだけでなく、アシルグレリン (または総グレリン) とデスアシルグレリンをそれぞれ分けて測定し、再度検討する必要がある。また、本研究では耐糖能異常妊婦群が妊娠糖尿病の旧基準に該当する症例となったが、適応拡大された新基準 (2010 年) でも検討してみる必要がある。

結語

グレリンは発見されて15年ほど経過したが、次々と新たな知見が報告されている。今回の研究もデータ収集後に、「糖代謝に関して、アシルグレリンとデスアシルグレリンが相反する作用をする」という重大な報告がなされ、考察の変更を余儀なくされた。グレリンは様々な生理作用を有するホルモンであり、その濃度を増減することによって生体反応に対して有益に作用するという観点から、グレリンの動態も合目的に分泌されているものと考えられている。妊娠中のグレリンの動態やその作用は未解明な点が多く、胎児・胎盤系を含めた詳細な検討が待たれる。そうすることにより、妊娠中のグレリン測定の臨床的意義が明らかになると考えられる。

利益相反について

今回の論文に関連して、開示すべき利益相反状態はありません。

文 献

- Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. : Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1997 ; 402 : 656-660
- van der Lely AJ, Tschöp M, Helman ML, et al. : Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004 ; 25 : 426-457
- Fuglsang J : Ghrelin in pregnancy and lactation. *Vitam Horm* 2007 ; 77 : 259-284
- Nakazato M, Murakami N, Date Y, et al. : A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001 ; 409 : 194-198
- Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, et al. : Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ; 86 : 4753-4758
- Dezaki K, Hosoda H, Kakei M, et al. : Endogenous ghrelin in pancreatic islets restricts insulin release by attenuating Ca^{2+} signaling in β -cells : implication in the glycemic control in rodents. *Diabetes* 2004 ; 53 : 3142-3151
- Broglia F, Arvat E, Benso A, et al. : Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ; 86 : 5083-5086
- Akamizu T, Takaya K, Irako T, et al. : Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Eur J Endocrinol* 2004 ; 150 : 447-455
- Tong J, Prigeon RL, Davis HW, et al. : Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. *Diabetes* 2010 ; 59 : 2145-2151
- Meyer C : Ghrelin Can Suppress Insulin Secretion in Humans, but Is It Clinically Relevant? *Diabetes* 2010 ; 59 : 2726-2728
- Pulkkinen L, Ukkola O, Kolehmainen M, Uusitupa M : Ghrelin in Diabetes and Metabolic Syndrome. *Int J Pept* 2010 ; Article ID 248948 : 11 pages
- Ukkola O : Ghrelin in Type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2011 ; 340 : 26-28
- 南條泰輝, 足達寿, 平井祐治ほか : Ghrelin (グレリン) とインスリン抵抗性との関連について、一大規模な一般住民検診による疫学的検討。健管理事業団研助成論集 2011 ; 26 : 3-11
- Fuglsang J, Skjaerbaek C, Espelund U, et al. : Ghrelin and its relationship to growth hormones during normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005 ; 62 : 554-9
- Riedl M, Maier C, Handisurya A, et al. : Insulin resistance has no impact on ghrelin suppression in pregnancy. *J Intern Med* 2007 ; 262 : 458-465
- Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL, et al. : Postprandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001 ; 24 : RC19-21
- Tham E, Liu J, Innis S, Thompson D, et al. : Acylated ghrelin concentrations are markedly decreased during pregnancy in mothers with and without gestational diabetes : relationship with cholinesterase. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009 ; 296 : E1093-E1100
- 板橋家頭央, 藤村正哲, 楠田聡ほか : 新しい在胎期間別出生児体格標準値の導入について。日本小児科学会雑誌 2010 ; 114 : 1271-1293
- Telejko B, Zonenberg A, Kuzmicki M, et al. : The assessment of plasma ghrelin levels in women with gestational diabetes. *Diabetologia Doswiadczalna i Kliniczna* 2007 ; 6 : 287-290

20) Delhanty PJD, Van del Lely AJ : Ghrelin and glucose homeostasis. *Peptides* 2011 ; 32 : 2309-2318

21) 我孫子征 : 妊娠時の血清インスリン動態に関する研究. *日本産科婦人科学会雑誌* 1978 ; 30 : 365-372

A relationship between plasma concentrations of Desacyl-ghrelin and HOMA index of insulin resistance in pregnant women : A possible difference between NGT- and AGT- in pregnancy

Tsugumichi Tokuda

Maternal and Perinatal Care Center, National Hospital Organization Saga Hospital

Background

Ghrelin is a peptide hormone produced in the stomach. It promotes secretion of growth hormone, and also has many other functions. Ghrelin has two molecular forms, acyl-ghrelin and desacyl-ghrelin, each of which has different physiological effects. In particular they have opposite effects on glucose metabolism. Among general adults there is a strong negative correlation between plasma ghrelin level and insulin resistance. In pregnant women, however, insulin resistance is not affected by plasma ghrelin. Therefore, it is expected that the relation between plasma ghrelin level and insulin resistance in pregnancy must differ from that during non-pregnancy, and it is suspected that this may be due to a change in glucose tolerance during pregnancy. We evaluated the relationship between plasma ghrelin level and insulin resistance during pregnancy, paying careful attention to changes in glucose tolerance during gestation.

Method

Early morning fasting levels of plasma desacyl-ghrelin, blood glucose and insulin were evaluated in normal glucose tolerance (NGT) pregnant women (n=15), and abnormal glucose tolerance (AGT) pregnant women (n=11). Insulin resistance (HOMA-R) was calculated from blood glucose and serum insulin.

Results

There was no significant difference in fasting levels of plasma desacyl-ghrelin between the NGT and AGT groups. There was a weak positive correlation between plasma desacyl-ghrelin level and insulin, and plasma desacyl-ghrelin level and insulin resistance, in the NGT pregnant women, but a strong negative correlation in the AGT pregnant women.

Conclusions

It was confirmed that the correlation between plasma desacyl-ghrelin level and insulin, and between plasma desacyl-ghrelin level and insulin resistance differed between the NGT pregnant group and the AGT pregnant group. This finding suggests that the regulation of and interaction between insulin resistance and desacyl-ghrelin secretion in impaired glucose tolerance pregnancy differs from that in normal pregnancy.