

1021 マリンオリゴペプチドの血糖値低下作用に関する臨床研究

彭宏斌 北京大学医学部修士号卒業発表論文

劉克洋訳: 大阪大学医学部博士課程

はじめに 本研究は、1997 年米国糖尿病協会 (ADA) により発表された糖尿病診断基準、ならびに、本実験計画実施に際し検討を行った適格および除外基準に基づき協力者を募った。研究に参加した被験者は、入院期間により無作為に介入対象群 (A) と陰性対照群 (B) に分けた。A 群の被験者は、入院第一日から退院まで、毎日、朝食前と就寝前にマリンオリゴペプチド栄養顆粒 6.5g × bid をお湯に溶かして服用した。本実験研究は、自発的な参加を原則に、北京大学深圳病院の倫理委員会により承認され、協力者全員には本研究の内容について十分に把握したうえ、本研究に同意する署名を頂いた。

研究対象と研究方法

1. 研究拠点の決定

研究目的より、本研究の拠点として、中国広東省深圳市を選んだ。北京大学深圳病院には高い研究能力を持つ優秀なスタッフが在籍し、以前にも、本研究室と共同研究を行った経験を持つ。深圳市は発展途上の中型都市で、中でも北京大学深圳病院は地域の中核となる病院である。慢性代謝性疾患に罹患者も多く、独自の研究室やポストドクターの育成機関を有し、今回の研究においても重要な役割を果たす土壌を確立している。本研究に関して、検査科と核医学研究科には標本採取に際し、専門的な支援を得、また、内分泌科にも多大な協力を頂いた。

2. 被験者の選択

2 型糖尿病患者の選択は、2006 年 10 月～2008 年 2 月までに北京大学深圳病院の内分泌科で受診した、或いは、本研究に了承、希望した糖尿病患者、合わせて 260 名で、すべての被験者は 1997 年の米国糖尿病協会 (ADA) の診断基準に該当している。その内、20 名は入院期間が 7 日未満のため、途中で退院となってしまった。総ての臨床試験を終え、再検査を受けた被験者数は 240 名であった。合併症別には、糖尿病性網膜症 112 例、末梢神経障害 148 例、冠状動脈性心疾患 37 例、高血圧 130 例、高脂血症 208 例であった。被験者全員に重篤な心臓、肺、肝臓、腎臓の機能障害は認められなかった。薬物および食物へのアレルギー障害もなかった。また、4 週間以内に他の臨床試験に参加していない。被験者は入院期間に基づき、介入対象群 (A 群) と陰性対照群 (B 群) に群分けを行った。A 群には通常の治療と並行してマリンオリゴペプチドの投与を行った。B 群の被験者には通常治療のみを行った。介入はすべて入院期間内に行った。A 群と B 群、双方 120 名ずつで、A 群の平均年齢は 54.1 ± 13.3 歳、B 群の平均年齢は 52.6 ± 13.8 歳である。両対象群の年齢、性別、臨床診断、病気の経過、糖尿病合併症などの指標条件をできるだけ調整して揃えた。

3. 研究計画ならびに実施者と評価者

本研究は、李勇教授、張ファン主任医師、鵬黎明教授と朱 Cuifeng 博士の提案、指導に基づき実施した。本実験の主要実施者は鵬鴻賓教で、朱 Cuifeng、李 guan 志、呉 Peixian 等で、評価は張ファン主任医師、朱 Cuifeng 博士等が主に行った。

4. 介入実験における倫理問題:

研究開始に際し、北京大学深圳病院の倫理委員会が本研究を検討し、承認に及んだ。介入実験に際し、各被験者には自己志願を原則とし、研究内容をよく説明し、署名にて同意の確認を行った。

5. 研究に関与する規格と定義:

1997 年に発表された米国糖尿病協会(ADA)による診断基準に基づき、2型糖尿病と診断された通院、および入院患者；(糖尿病の診断基準により、以下のいずれかある場合に糖尿病と診断している：①臨床症状+ランダム血糖値 211.1mmol/L ②空腹時血糖値 27.0mmol/L ③OGTT 試験、食後 2 時間後の血糖値 211.1mmol/L 。)低血糖の定義：検出された血糖値 2.8mmol/L より低い場合に低血糖と定義される⁽³⁷⁻³⁹⁾。

本研究の適格基準：

- 1) OGTT 試験では、食事の際にパン、または 75g の砂糖水を摂取し、適格する症例。
- 2) 年齢は 18 歳～80 歳までで、診断基準に適合する症例。
- 3) 介入実験前に、感染や外傷による影響が認められない症例。
- 4) 心筋梗塞または脳卒中の既往症が認められない症例。
- 5) 重篤な心臓、肝臓、脳、腎不全が認められない症例。
- 6) 毎日の喫煙量が 10 本以内、または喫煙しない症例。
- 7) アルコール依存症のない症例(日 50mL 未満)。
- 8) 1ヶ月以内に他の臨床試験に参加していない症例。

本研究での除外の基準：

- 1) 感染症、および外傷による影響が認められた症例。
- 2) 1ヶ月以内に心筋梗塞や脳卒中を患った症例。
- 3) 薬物誘発性の肝機能、或いは腎機能に損傷が認められる症例。
- 4) 薬剤または食物アレルギーを保持する症例。
- 5) 妊娠中の症例。

6. 実験方法(カロリー計算および投与方法)

対象となる糖尿病被験者は、インスリンや薬物療法に基づき、一般的な糖尿病用糖質制限食を食した。標準摂取カロリーは理想体重[身長(cm)－105]X 適正必要熱量(kcal/kg)により計算し、年齢、体重、体力により選択した。1 日三度の食事にそれぞれ 1/3 当量となるよう必要熱量を割り当て、三大栄養素の摂取エネルギーの比率は炭水化物 60%、脂肪 25%、蛋白質 15%であった。マリンオリゴペプチド介入群の糖尿病被験者に、上記方法に従い、一日に必要な標準熱量を計算し、マリンオリゴペプチド栄養顆粒 6.5g*Bid(約 50 キロカロリー)を毎日、朝食前と就寝前に(AM8:30～PM9:00)各一回ずつ補充し、摂取させた。残りの必要熱量については、1/3 ずつの均等摂取に基づき、糖尿病用糖質制限食を用意した。三大栄養素に関するエネルギー比率は陰性対照群と同じだった。マリンオリゴペプチドの投与期間は入院の翌日から OGTT テストならびにルーチン検査が終了して退院する迄とした。

7. 標本試料の採集方法

ブドウ糖負荷試験：すべての被験者が入院第 1 日目と第 7 日目にブドウ糖負荷試験を以下の方法で行った(OGTT)：テストの 3 日前、毎日 150g 以上の炭水化物を摂取させ、テスト開始前 10～16 時間以内に絶食を行い、飲水のみを可能にした。テストは朝 6:00～8:00 の間で行い、空腹時の血液サンプルを採取して、空腹時血糖値を測定した。その後、75g のブドウ糖を 250～300ml の水に溶かし、5 分以内に飲用させた。糖尿病患者には、 β 細胞の強い刺激を避けるために、ブドウ糖の代わりに 2 時間前に約 100 グラムのパンを食べさせた。ブドウ糖摂取後の 60 分、120 分、180 分にそれぞれ血液サンプルを採り、血糖値を測定した^[41]。空腹時血糖値テスト：すべての被験者は入院以来、毎朝 7 時の空腹時に、静脈から血液サンプルを採集し、空腹

時血糖値を測定した。通常の血糖値測定および夜間低血糖の観察：入院から退院まで、すべての被験者は日に三度の食前と食事の2時間後、ならびに就寝前の血糖値を測定した。低血糖が認められた場合、午前 0:00 と1:00、午前 2:00 と 3:00 にそれぞれ測定を追加した。この血糖モニタリングは指先血液を採り携帯用血中グルコースモニタリング装置を用いて測定した^[42]。インスリン分泌および感度の検出：すべての被験者が入院第1日目と第7日目に空腹時静脈血サンプルを採取し、空腹時血糖値と空腹時血漿インスリンレベルを検出した。

8. 臨床データの収集

一般資料：糖尿病患者の性別、年齢、身長、体重、肥満指数(BMI)、腹囲、ヒップ周囲径、ウエスト・ヒップ比、インスリン投与量、糖尿病罹病期間等の情報、および大血管合併症、微小血管合併症、ならびに末梢神経障害の有無のデータを収集記録した。具体的な方法は以下の通りである。

1) 身長：身長計を用い、センチメートル単位で、早朝時に測定した。計測時には靴、帽子は脱ぎ、直立姿勢で立ち、視線はまっすぐに前を見る。胸をはり、腹部を引き締め、両腕は自然に垂らす。手指は体側に沿わせてまっすぐに伸ばし、踵を付け、つま先は約60度の角度に開く。踵、尻、肩の位置が身長計につくよう頭を直立に保たせた。測量結果は小数第一位まで記録した。

2) 体重：定期的に校正された度量衡認定済みの体重計を用いて、キログラム単位で早朝に測定した。測定前にリセットし、靴、帽子、上着を脱いだ状態で測量し、小数第一位まで記録した。

3) 肥満指数(body mass index, BMI)=体重(kg)/身長²(m²)。

4) 腰周り：巻尺を使用し、手を胸の前で合わせ、肩をリラックスさせ、自然に立った状態で、直面させ計測した。へその上部 0.5~1cm の位置で(肥満している場合は、腰で最も太い部位を選択し、)計測した。巻尺は、皮膚に明らかな窪みが出ないように、且つ、腰周りに適度の圧迫感を持たせて、“0”点で交差する値を測定値とした。センチメートル単位で、小数第一位まで記録した。

5) 尻周囲：巻尺を使用し、手を胸の前で合わせて、肩をリラックスさせ自然に立った状態で直面させ、大臀筋の周囲を計測した。巻尺は腰周りに適度の圧迫感を持たせつつ、皮膚には明らかなくぼみがでないように、“0”点が交差する値を測定値とした。センチメートル単位で、小数第一位まで記録した。

6) ウエスト・ヒップ比(waist-hip ratio)：ウエスト・ヒップ比＝腰周囲／尻周囲。

ブドウ糖耐量曲線下面積の推定：糖尿病患者のOGTTテスト各時点での血糖値を収集記録した。次の算式により介入群と対照群のグルコース耐量曲線下面積を別々に推定した：曲線下面積＝0.5*空腹時血糖値+1h 血糖値+2h 血糖値+0.5*3h 血糖値^[43]。

空腹時血糖値のモニタリングデータ：各糖尿病被験者の入院第1日目から第7日目までの空腹時血糖値を観察し、詳細に記録した。

インスリンの分泌機能と感度試験データ：各糖尿病被験者の入院第1日目から第7日目までの空腹時における血糖値と血中インスリン値を測定し、詳細に記録した。

血糖調整期データ：糖尿病予防ガイドラインに従い、糖尿病被験者の入院後の血糖値を調節してから比較的安定になるまでの必要時間(調整期)を詳細に分析し、また、両群の調整期にかかる平均日数を計算した。

日常血糖のモニタリング：指先採血を行い、携帯用血糖測定器を用いて測定を行った。夜間低血糖のモニタリング資料では介入対象群と陰性対照群の双方の被験者の低血糖発生状況を記録し、また、両群における低血糖の発生頻度を計算した。

9. 実験室設備と方法

- 1) 使用機材: 低温遠心機、F7-2003/50 免疫カウンター、
オリンパスの AU-2700 自動血液生化学分析装置。
- 2) 使用試薬: インスリンラジオイムノアッセイキット、血糖検査キット(酸化酵素法)。
- 3) インスリン測定: ラジオイムノアッセイ(Radioimmunoassay: 略称 RIA) 法
操作方法や手順キットの説明書に基づき、北京大学深病院核医学科、RIA 研究所により具体的な操作を行った。
- 4) 血糖測定: グルコース酸化酵素法^[45]。操作方法や手順は説明書を参照し、北京大学深圳病院、生化学検査室にて具体的な検査を行った。

10. 実験の工程コントロール

- 1) 院内の主任以上の役職を持つ医療技術者により、実際の検査記録に基づいて、病気の診断を行った。
- 2) 標本が汚染されることのないよう、標本収集に参加した技術者は厳格な無菌訓練を受け実行した。
- 3) 実験過程では、操作手順を厳格に遵守した。
- 4) 同じ指標には同一の検出方法を用い、同メーカー、同ロット番号の試薬を使用して、実験条件を厳格に遵守した。
- 5) 標本にたいして 5% の割合でランダム抜き取り重複検出を受け、実験数値の信頼性を確認した。
- 6) データ入力の正確性と信頼性を確保するため、入力 は双方向並列処理法を用いた。

11. 統計方法 測定データは $\bar{x} \pm s$ として示した。両群の被験者の年齢、BMI、ウエスト・ヒップ比、一日あたりのインスリン用量の比較を二つの独立な標本を元に t 検定で行った。両群間の罹病期間のデータが正規分布に従わないので、A、B 両群の独立な標本を順位和検定により比較した。2 群間のカウントデータを 2 つのレートまたは 2 つの構成比のカイ二乗検定を用いて比較した。繰り返し、空腹時血糖値の反復測定データを分散分析で分析した^[46,47]。すべてのデータを SPSS 10.0 統計ソフトで解析した。

研究結果

1. 一般臨床資料の分析と比較

血糖値に影響を与える可能性として、性別、年齢、体格指数(BMI)、ウエスト・ヒップ比、インスリン投与量、糖尿病罹病期間、合併症の種類等、様々な要因が挙げられる。両群の性別構成比からの比較は、分類資料に基づき、ピアソンのカイ二乗検定を用いた。テスト結果 $\chi^2 = 0.630$, $p = 0.428 > 0.05$ より、両群間の男女比に有意差はなかった。両群間の平均年齢は 2 つの独立したサンプル平均値の t 検定を用いて比較し、テスト結果は $t = -0.861$, $p = 0.390 > 0.05$ で、両群間の年齢にも統計学的有意差はなかった。両群間の平均年齢は 2 つの独立したサンプル平均値の t 検定を用いて比較し、テスト結果は $t = -0.242$, $p = 0.809 > 0.05$ で、両群間の BMI に有意差はなかった。両群間のウエスト・ヒップ比値は 2 つの独立したサンプル平均値の t 検定を用いて比較し、テスト結果から $t = 0.406$, $p = 0.685 > 0.05$ で、両群間のウエスト・ヒップ比値にも統計学的有意差はなかった。臨床血糖降下剤の投与量別比較は、血糖値への影響を制御するため、介入前に両群被験者の毎日のインスリン投与量を比較した。二つの独立サン

ルの 2t の検定を用いて比較したテスト結果は、 $t = -0.811$ 、 $p = 0.418 > 0.05$ で、従って、両群間の毎日インスリン投与量には統計学的有意差はなかった。うち、両群ともに、被験者の疾患経過は正規分布には従わなかったため、マン・ホイットニーの U 検定で分析した。両間の大血管合併症、細小血管合併症、末梢神経障害の合併比率の比較はピアソンのカイニ乗検定によって分析した。上記の通り、両対象群間に、血糖値に影響を与える可能性がある各要因について、統計学的有意差は認められなかった($p > 0.05$) (表 3)。

2. グルコース負荷試験(OGTT) 曲線下面積の比較結果

被験者尊重を原則にコストの無駄を省いて、本研究では、両群に対し、各 48 症例ずつの OGTT を行った。介入前後の両対象群の曲線下面積は、同一対象群のペア資料をもとに t 検定により分析を行った。A 群では介入した第 7 日目の OGTT グルコース曲線下面積は入院後一日目より低く、有意差が認められた($t = -20.517$ 、 $p < 0.001$)。B 群の同比較では、OGTT グルコース曲線下面積の差に有意性は認められなかった($t = -1.309$ 、 $p = 0.197 > 0.05$)。各群介入前後の OGTT 曲線下面積の差をとり、t 検定で比較した場合、A 群は B 群より高く、その差に有意性が認められた($t = -7.161$ 、 $p < 0.001$) (表 4)。言い換えれば、マリンオリゴペプチド介入群の血糖曲線下面積の下降幅は陰性対照群より大きく、マリンオリゴペプチドの糖負荷量増加に対する効果が認められた。

3. 空腹時血糖値試験の結果

被験者の入院から退院まで、毎日の食前と食後 2 時間の血糖値、ならびに就寝前の血糖値を測定した。特に、被験者全員の早朝空腹時の血糖値の変化状況を重点的に調査した。

1) ベースラインデータの分析: 両群の入院期間中の空腹時血糖値の比較は表 5 のとおりであった。両群間被験者の介入前(入院第一日)空腹時血糖値の差に有意差はなかった($p = 0.197 > 0.05$)。実際に、入院第 1 日目から 4 日目まで、両群の被験者の空腹時血糖値レベルに有意差は見られなかった($p > 0.05$)。その後、被験者の血糖値が変動し、入院 5 日後、投与対象群の空腹時血糖値レベルが陰性対照群より僅かに上昇した。が、6 日目に、両群の空腹時血糖値レベルに有意差はなかった。7 日目には、投与対象群の空腹時血糖値レベルは陰性対照群より有意に低下した。

2). 入院 7 日目における空腹時血糖値の動向は、図 1 のとおりである。投与対象群と陰性対照群の被験者の空腹時血糖値は低下する傾向があったが、陰性対照群の空腹時血糖値は低下過程で一時的に不安定になったことが観察された。陰性対照群での 7 日目の血糖値は 6 日目より僅かに上昇した。

3). 図 2 は入院後 30 日間の空腹時血糖値の動向を表したものである。入院後 7 日目から、陰性対照群の空腹時血糖レベルの平均値は投与対象群より有意に高かった。入院後 7 日目から 30 日目まで、投与対象群の血糖値の変化は比較的、安定したが、陰性対照群では上下変動が確認された。従って、マリンオリゴペプチドには血糖値を安定させ、短期的な介入により糖尿病患者の空腹時血糖値を低下させる効果が示唆された。以上からは、マリンオリゴペプチドが空腹時血糖値に及ぼした効果が確認された。

4). 時間と処理要素の効果分析: 上記の空腹時血糖値の傾向分析では、直接的な結果であり、本結果のみでは時間因子および処理要因と空腹時血糖値の変化との相関関係の有無を明らかにすることはできない。時間要因と治療因子および空腹時血糖値の推移変化を分析するために、本研究では反復測定分散分析法を用いた。結果は下記のとおりであった:

球面性検定の結果に基づき、反復測定分散分析の結果に相関関係があるか否かを判断した。球面性検定の結果から、統計量 $mauchly's W = 0.545$ 、 $p < 0.001$ 、つまり入院中に毎日繰り返

し測定した空腹時血糖値に高い相関性がみられた。資料は共分散行列の球状性と一致ではないことを示し、修正が必要である。表6のとおり、Greenhouse-Geisser のイプシロン Epsilon=0.822 を用いて修正を行った。

時間要因と群別要因からの影響、ならびに時間と群別との相互作用を分析してみた。個体内変動部分の計算結果より、時間要因(day)には有意差が認められた($F=45.748, P<0.001$)。このことから、測定指標(空腹時血糖値)は時間に伴い変化する傾向が認められた。時間と群別との交互作用(day*group)には有意差は見られず($F=0.650, P=0.660>0.05$)、時間要因は群別要因に影響しないことが示唆された(表7)。

個体間変動部分の計算結果より、群別要因(group)、即ち処理要因には表8のとおり、統計学的有意差が見られた($F=4.824, P=0.029<0.05$)。よって、群別要因が肯定され、つまり両群間の空腹時血糖値に総体的な違いがあった。両対象群間では空腹時血糖値は総体的に同等ではなかったことを示した。

表3 一般臨床検査資料の分析と比較

表3 两组患者一般臨床資料分析比較											
例数	性別		年齢(岁)	BMI	腰臀比	胰岛素用量	病程(月) #	大血管并发症*	微血管并发症*	周围神经病变*	
	男	女									
A 组	120	70	50	54.1±13.3	24.4±3.1	0.87±0.24	43.9±9.2	122.34	13%	61%	76%
B 组	120	76	44	52.5±13.8	24.5±3.2	0.88±0.25	44.9±9.1	118.66	18%	54%	66%
检验值	$\chi^2=0.630$		$t=0.861$	$t=-0.242$	$t=0.406$	$t=-0.811$	$t=-0.412$	$\chi^2=1.566$	$\chi^2=1.091$	$\chi^2=2.904$	
P 值	0.428		0.390	0.809	0.685	0.418	0.680	0.211	0.296	0.088	

: mann-whitney によってテスト、* : person カイニ乗検定によってテスト

表4 両対照群の OGTT 曲線下面積の変化幅に基づく比較

分组	例数	S1	S7	Δ
实验组	48	41.65±10.98	31.58±6.25	10.06±7.27
对照组	48	40.37±11.70	39.45±10.70	0.92±2.17
t 统计量		0.552	-4.398	8.344
P 值		0.582	<0.001	<0.001

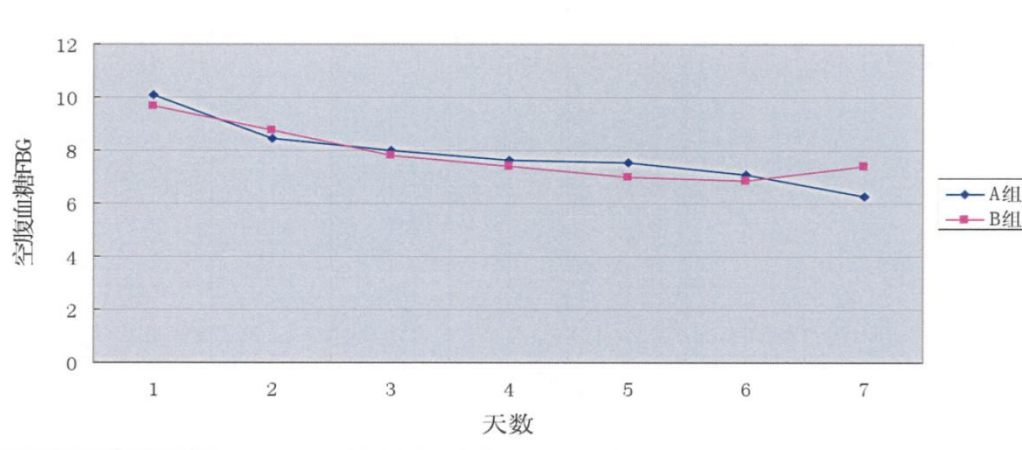
注:S1 は入院後 1 日目の糖負荷量曲線下面積、S7 は 7 日目の糖負荷量曲線下面積、Δは S1-S7 の差である。

表5 入院中における空腹時血糖値の比較

分组	空腹血糖						
	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
A 组	10.09±2.86	8.47±2.74	7.99±2.33	7.63±2.18	7.54±2.01	7.10±1.87	6.29±1.39
B 组	9.67±1.99	8.79±3.01	7.84±2.82	7.43±2.36	6.98±2.28	6.87±1.93	7.21±2.18
检验统计量 t	1.295	-0.864	0.444	-0.703	1.998	0.944	-3.868
P 值	0.197	0.388	0.657	0.483	0.047	0.346	<0.001

注:A、B両対象群間のデータ比較には、二つの独立サンプルの平均値比較による T 検定を用い、両対象群被験者の空腹時血糖値の変化と推移傾向について反復測定資料に基づき直接的な理解を得られるようにした。時間および処理要因の空腹時血糖値に対する影響について、より深く分析する場合は、反復測定資料の分散分析を用いて分析すべきである。

図 1 被験者の入院中における空腹時血糖値の推移



A 群が投与対象群、B 群が陰性対照群である。入院後 1 日目から 4 日目まで、両群の被験者の空腹時血糖レベルの平均値に有意差は認められなかった($p > 0.05$) ; 5 日目の血糖値に軽微な波動があり、投与対象群の空腹時血糖値は陰性対照群に比べ、僅かに上昇した($p < 0.05$)。6 日目に両対象群の空腹時血糖値に有意差は認められなかった($p > 0.05$)が、第 6 日目から第 7 日目、陰性対照群の空腹時血糖値がやや上昇し、7 日目に陰性対照群の空腹時血糖値は投与対象群より有意に高かった($p < 0.05$)。

図 2 入院 30 日後における空腹時血糖値の推移

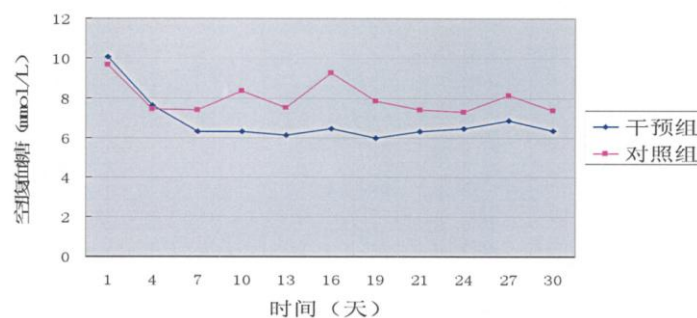


図 2 第 4 日目から、陰性対照群の空腹時血糖レベルの平均値が投与対象群の平均値を越え始め、有意な上昇がみられた($p < 0.05$)。投与対象群の血糖値の推移は比較的安定で、一方、陰性対照群の血糖値は上下変動が見られた。最低血糖値は 7.0mmol/L 以上であった。

表 6 球面性検定の結果

Table 3 Mauchly's Test of Sphericity(b)

Measure: g							
Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon(a)		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
day	.545	143.076	20	.000	.822	.845	.167

Measure: g

4. 両群間インスリン感受性と分泌機能指標変化の比較

両対象群のインスリン感受性と分泌機能指標の変化を比較した。データが正規分布に適合しない為、ペアデータをもって標準化を行った。標準化後、二つの独立サンプルの平均数を t 検定により比較し、その結果を解析した。A 群 7 日目のインスリン感受性指数 (ISI) およびインスリン分泌機能指数 (IS) を介入前のデータと比較すると有意差が認められた ($P < 0.05$)。B 群の異なる時期のインスリン感受性 ISI と分泌機能指標 IS の比較では、有意差はなかった。が、介入後 7 日目に A 群と B 群のインスリン感受性 ISI と分泌機能指標 IS の差に有意差が確認された (表 9)。

5. 両群間における血糖調整期の長さや夜間低血糖発生率の比較

A 群被験者の血糖調整期の平均値は 13.5 ± 2.88 日、B 群は 19.5 ± 2.89 日であった。両群間の比較テストより不均一分散が見られ ($F < 0.001$, $p = 1.0$)、調整後に両群間血糖調整値の差は有意だと確認された ($t = -16.113$, $p < 0.001$)。以上より、陰性対照群での血糖調整期は投与対象群より長かったことが確認された。(表 10)。

A 群被験者の入院中の低血糖反応の症例は 28 例、B 群では 42 例であった。両群を比較すると、 $\chi^2 = 3.953$, $p = 0.047 < 0.05$ 、よって、両群間の夜間低血糖の発生率に有意差があり、陰性対照群の夜間低血糖の発生率はマリンオリゴペプチド投与対象群より高かったことが確認された (表 10)。

表 7 個体内変異部分の計算結果

		Type III				
Source		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
day	Sphericity Assumed	693.087	6	115.515	45.748	.000
	Greenhouse-Geisser	693.087	4.932	140.521	45.748	.000
	Huynh-Feldt	693.087	5.070	136.693	45.748	.000
	Lower-bound	693.087	1.000	693.087	45.748	.000
day * group	Sphericity Assumed	9.842	6	1.640	.650	.690
	Greenhouse-Geisser	9.842	4.932	1.995	.650	.660
	Huynh-Feldt	9.842	5.070	1.941	.650	.664
	Lower-bound	9.842	1.000	9.842	.650	.664

	Lower-bound	9.842	1.000	9.842	.650	.421
Error(day)	Sphericity Assumed	3605.707	1428	2.525		
	Greenhouse- Geiss	3605.707	1173.879	3.072		
	er					
	Huynh-Feldt	3605.707	1206.752	2.988		
	Lower-bound	3605.707	238.000	15.150		

表 8 個体間の変異部分の計算結果
Measure: g Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	97181.558	1	97181.558	4040.093	.000
group	116.046	1	116.046	4.824	.029
Error	5724.921	238	24.054		

表 9 インスリン感受性とインスリン分泌機能の変化

分類群	例数	時間	空腹時血糖値 (mmol/L)	空腹時インスリ ン値(mU/L)	インスリン抵抗性指 数(A)	インスリン分泌能 (A)
A 対象群	120	入院第 1 天	10.09±2.86	23.3 ± 7.7	-2.37±0.08	0.36±0.18
		介入後第 7 天	6.29±1.39	16.6 ± 6.4	-2.01±0.06**	0.42±0.09*
B 対照群	120	入院第 1 天	9.44±1.94	22.8±5.9	-2.23±0.19	0.48±0.21
		介入後第 7 天	7.21±2.19	21.3 ± 7.1	-2.18 ± 0.07	0.47±0.12

入院第一日目と比較して、*は $p<0.05$ 、**は $p<0.01$ 。

A の指標の数値は対数の形式で示した。

表 10 血糖調整期と夜間低血糖の発生率の比較

	血糖調整期	夜間低血糖の発生率
投与対象群	13.5 ± 2.88	0.23
陰性対照群	19.5 ± 2.89	0.35
統計量	t = -16.113	$\chi^2 = 3.953$
P 値	<0.001	0.047

考察

海洋は地球上で最も資源が豊かな領域だと知られ、近年ではバイオテクノロジーにより生産されたマリン生理活性ペプチドが新しい研究対象として注目を集めている。自然界の海洋生物中に存在する生理活性ペプチド、或いはマリンタンパク質を加水分解して得られた生理活性ペプチドは、特殊な生理活性を有し、たとえば消化吸収のしやすさ(アミノ酸以上の吸収力)、胃粘膜の保護作用、抗潰瘍作用、抗酸化作用、抗アレルギー作用、降圧効果、コレステロール代謝改善作用、抗老化作用、腫瘍細胞の増殖抑制効果、ならびに創傷治癒促進効果、骨密度の強化作用、骨粗しょう症の予防作用、関節炎の予防作用、角膜上皮層の修復促進作用、および角膜上皮細胞の増殖促進作用など多彩な生理活性を保持している。近年、植物性インスリンとも呼ばれる生理活性ペプチドは、糖尿病や他の慢性疾患の予防に従事する研究者の関心を集めた。in vitro あるいは in vivo 試験で、海洋生物の生理活性ペプチドは非常に活発な抗酸化作用と免疫増強効果を示す。また、糖代謝異常をある程度改善することができ、フリーラジカルによる細胞損傷を抑え、インスリン抵抗性を改善して、血糖値を下げる補助効果を果たす。また、抗酸化作用と免疫機能増強効果に関する研究は、海洋生物の生理活性ペプチドの抗腫瘍効果、抗老化能、糖尿病ならびに心血管疾患などの予防あるいは改善への応用に科学的根拠を提供することができる。

本研究で使用したマリンオリゴペプチドは中国食品発酵工業研究院寄贈のものである。マリンオリゴペプチドは天然魚の皮と少量の魚肉を原料とし、酵素分解法により抽出された多彩な生理活性効果を持つオリゴペプチドの混合物である。相対分子量は 2000 未満で、アミノ酸の電気泳動結果では、主成分はグルタミン(37%)とカルノシン(39%)などを含む低分子のオリゴペプチドであり、優れた親水性や抗酸化作用、免疫機能向上効果を保持する。

本介入研究では、糖尿病入院患者に従来の治療薬と食事療法を並行して行い、毎日の朝食前と就寝前に 6.5g のマリンオリゴペプチドを摂取させた。摂取前後の血糖代謝とインスリン分泌能、抵抗性などの項目について検討した。本研究により、海洋の新食品素材であるマリンオリゴペプチドは糖尿病およびその合併症の予防と治療における臨床応用に科学的な根拠を示した。

本研究の結果:

ブドウ糖負荷試験(OGTT)曲線下面積の比較

A 対象群の介入実施後 7 日目の OGTT 血糖曲線下面積は、入院 1 日目より優位に低下した。同時に、マリンオリゴペプチド投与対象群により血糖代謝がある程度改善された。B 群では介入実験後の 1 日目と 7 日目の OGTT 血糖曲線下面積の間に有意差はなかった。以上のことから、従来の血糖コントロールの方法では、より短期に被験者の糖代謝を明確に改善させることができないことが指摘された。両対象群間において、介入前後の OGTT 血糖値曲線下面積の差を比較すると、A 群では B 群より優位に高く、マリンオリゴペプチドは糖尿病被験者の血糖代謝を改善している効果が認められた。

入院中の毎日の空腹時血糖値の結果の比較

球面性検定の結果より、両対象群において反復測定した早朝空腹時血糖値に関連性が

あるか否かを判断した上、両群の個体内変異部分を計算し、その結果は次のとおりである。時間要因(day)では有意差があった。測定指標(即ち空腹時血糖)は時間経過に伴い変化する傾向があると示唆された;時間と対象群分類の相互作用(day X group)では有意差はなく、時間要因は群間に影響しなかった。しかしながら、対象群分類要因(group)では有意差が見られ、群間要因により、両対象群間の空腹時血糖値は総体的に同等ではなかった。以上の結果から、入院中に朝晩マリンオリゴペプチドを摂取することにより、糖尿病被験者の空腹時の血糖値レベルを低下することが示された。北京大学公衆衛生学院、栄養と食品衛生学科の朱文麗教授らは、マリンオリゴペプチドを投与したラットに血糖降下作用について評価実験を行い、その際に高血糖値ラットをモデルとして、マリンオリゴペプチドのサンプルの8週間連続投与を行った。マリンオリゴペプチドの高、中、低投与量群の各ラットの空腹時血糖値は陰性対照群の高血糖モデルラットの空腹時血糖値と比較した場合に、有意な低下が確認された。本結果は研究中に発見したマリンオリゴペプチドの人体内での空腹時血糖値の降下試験の陽性結果と一致している。

両対象群のインスリン抵抗性と分泌能の指標の推移と比較

A 対象群の被験者の7日目のインスリン抵抗性指数(ISI)とインスリン分泌能指数(IS)は介入前後に比較して有意差が認められた。同時期の B 対象群の ISI と IS との比較には有意差は認められなかった。が、介入7日目、両群間で、ISIとISを比較すると有意差が確認された。入院中のマリンオリゴペプチドの介入投与は糖尿病被験者のインスリン抵抗性(ISI)とインスリン分泌能(IS)を改善する効果を持っていた。

両群血糖調整期の長さや夜間における低血糖発生率の比較

A 群での入院中の血糖調整期は、B 群より有意に低下し、陰性対照群の血糖調整期は投与対象群より長かった。A 対象群での入院中における低血糖反応の発生率は B 陰性対照群より低く、両群間の夜間低血糖発生率には有意差が認められた。陰性対照群の夜間の低血糖発生率は、A 群の投与対象群より高かった。

まとめると、マリンオリゴペプチドは糖尿病被験者の糖負荷試験の血糖値レベルを改善した。血糖調節期間を短縮し、夜間における低血糖の発生率も減少することができた。また、インスリン分泌能とインスリン抵抗性も改善させた。今後、マリンオリゴペプチドのこれらの作用機序について更なる研究を行い、糖尿病およびその合併症の臨床試験において、マリンオリゴペプチドの応用に新しい科学的根拠を提供することが期待される。

まとめ

本研究は糖尿病被験者を対象として、マリンオリゴペプチドの血糖値低下への補助効果について臨床実験を実施した。マリンオリゴペプチドの糖尿病被験者の空腹時血糖値、糖負荷量、およびインスリン分泌能および抵抗性、入院中の血糖調整期間の長さならびに夜間低血糖の発生率など、各指標に対する影響について検討した。試験結果は下記のとおりである。

- 1、マリンオリゴペプチドは、糖尿病被験者の空腹時血糖値レベルを効果的に低下させる補助効果を持ち、短期介入においても糖尿病被験者の糖調整機能を改善させ、血糖値を安定させ、かつ低下させる補助効果が確認された。
- 2、マリンオリゴペプチドは糖尿病被験者のインスリン分泌能、ならびに被験者のインスリン抵抗性を効果的に改善した。これはマリンオリゴペプチドの血糖値低下補助効果に基づく作用機序だと考察される。
- 3、マリンオリゴペプチドは糖尿病被験者の血糖調整期を効果的に短縮し、被験者の入院期

間を短くすることができた。

- 4、マリンオリゴペプチドは糖尿病被験者の夜間低血糖発生率を効果的に下降させた。糖尿病患者の低血糖予防と治療の新しい薬素材として期待される。