

〈原著〉

# 1日ドック健診者における酸化ストレスマーカーとしてのバイオピリンの動態—メタボリック症候群層別化項目を中心とした解析—

森田 嘉一<sup>1)</sup>、渭原 博<sup>1)</sup>、橋詰 直孝<sup>2)</sup>、高宮 清之<sup>1)</sup>、鈴木 真事<sup>1)</sup>

## Urinary biopyrrin excretions as a marker of oxidative stress in one-day general checkup: Check-up item analysis for metabolic syndrome stratification

Yoshikazu Morita<sup>1)</sup>, Hiroshi Ihara<sup>1)</sup>, Naotaka Hashizume<sup>2)</sup>, Kiyoshi Takamiya<sup>1)</sup> and Makoto Suzuki<sup>1)</sup>

**Summary** Biopyrrin is a metabolite of bilirubin-oxidized by active oxygen, and its amount excreted in urine is thought to reflect the level of oxidative stress. In 2008, the Japanese government devised a particular health check-up system, of the check-stratification based on abdominal circumference, body mass index (BMI), blood glucose, HbA1c, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, AST, ALT,  $\gamma$ -GTP, systolic and diastolic blood pressure and smoking habits. In this study, we examined the relationship between urinary biopyrrin excretion and the risk levels of those check-up items. Subjects with increased levels of abdominal circumference, BMI, or triglyceride showed increased excretions of biopyrrin in urine ( $p < 0.05$ ) compared to subjects with normal levels of those check-up items. Subjects with abnormal results in other items showed no increase in biopyrrin excretion, whereas an increase was observed ( $p < 0.05$ ) in subjects having more than two abnormal check-up items compared with biopyrrin excretion in subjects with no increased risk. From these observations, we conclude that a relation exists between oxidative stress and fat metabolism.

**Key words:** Bilirubin, Biopyrrin, Oxidative stress, Specific health checkup, Metabolic syndrome

<sup>1)</sup>東邦大学医療センター大橋病院臨床検査部  
〒153-8515 東京都目黒区大橋2-17-6

<sup>2)</sup>和洋女子大学家政学群健康栄養学類  
〒272-8533 千葉県市川市国府台2-3-1

<sup>1)</sup>Department of Laboratory Medicine, Toho University  
Ohashi Medical Center,  
2-17-6 Ohashi, Meguro, Tokyo 153-8515, Japan

<sup>2)</sup>Department of Health and Nutrition, Wayo Women's  
University,  
2-3-1 Konodai, Ichikawa, Chiba 272-8533, Japan

受領日 平成21年7月30日

受理日 平成21年8月4日

I. 緒言

ビリルビンは生体内において、ヘモグロビン代謝産物であるビリベルジンがビリベルジン還元酵素により代謝され生成する。哺乳類においてのみビリベルジンを神経毒性の強いビリルビンに合成するか明確な説明がなされていなかった。近年、ビリルビンが抗酸化作用を有することが報告<sup>2)</sup>されてから、ビリルビンが活性酸素を消去する生体防御物質である可能性が示唆され、ビリルビンが酸化ストレスのマーカーとして有用であることが分かってきた。活性酸素により酸化されたビリルビンの代謝産物を測定することができれば酸化ストレスの程度を定量することが可能であると考えられた。ビリルビンに対するモノクローナル抗体が作成<sup>3)</sup>された。その交差反応の検討から尿中にビリルビン自体ではない未知の物質が見出され、詳細な検討からビリルビンの酸化代謝産物であることが分かり、バイオピリン (biopyrin) と命名された<sup>3)</sup>。バイオピリンは活性酸素により酸化されたビリルビンの代謝物であり、その尿中排泄量は酸化ストレス量を反映するものと考えられている。我々は2008年度より始まった特定健診・特定保健指導(メタボ健診)の層別化のステップ1(腹囲とBMI)とステップ2(血糖、HbA1c、中性脂肪、HDLコレステロール、LDLコレステロール、AST、ALT、 $\gamma$ -GTP、収縮期血圧、拡張期血圧、喫煙の有無)の各項目とバイオピリンの動

態を調べることで健診項目と酸化ストレスとの関連を検討したので報告する。

II. 方法と材料

対象は本院の1日ドック健診者79名(男性47名、女性32名)で平均年齢54.2歳(男性54.6歳、女性53.1歳)である。各項目の測定は腹囲、BMI、収縮期血圧および拡張期血圧は受診時の測定による。喫煙の有無は受診時の問診による。血糖は酵素電極法でHbA1cはHPLC法でアークレイ社のアダムシステム(GA-1160、HA-8160)を用いて測定した。中性脂肪(以下TG)、HDLコレステロール(以下HDL-C)、LDLコレステロール(以下LDL-C)、AST、ALT、 $\gamma$ -GTPは酵素法で日立7600を用いて測定した。バイオピリンはビリルビン特異モノクローナル抗体(24G7)を用いたELISA法<sup>2)</sup>で測定した。尿中バイオピリン値はクレアチニン補正(測定法は酵素法)を行い、(U/g・Cr)として表した(基準値:0.5-3.1 U/g・Cr)<sup>4)</sup>。各項目の判定値は特定健診の判定値を用いた(表1)。採血は空腹時(午前9時頃)に、採尿は早朝尿を採取した。本研究は日本臨床検査医学会の倫理指針<sup>5)</sup>に従って、検査が終了した残存試料を用い、また連結不可能匿名化して実施した。統計的解析はWelchの*t*検定で行い、 $p=0.05$ 以上を有意の差と評価した。

Table 1 Check-up item analysis for metabolic syndrome stratification and criteria for determining

層別化項目	検査法	判定値
腹囲	受診時の測定	男性: $\geq$ cm, 女性: $\geq$ 90 cm
BMI	受診時の測定	$\geq$ 25
血糖	酵素電極法	$\geq$ 100 mg/dl
HbA1c	HPLC法	$\geq$ 5.2%
中性脂肪	酵素法	$\geq$ 150 mg/dl
HDL-C	酵素法	$\leq$ 40 mg/dl
LDL-C	酵素法	$\geq$ 120 mg/dl
ALT	酵素法	$\geq$ 31U/L
AST	酵素法	$\geq$ 31U/L
$\gamma$ -GTP	酵素法	$\geq$ 51U/L
収縮期血圧	受診時の測定	$\geq$ 130 mmHg
拡張期血圧	受診時の測定	$\geq$ 85 mmHg
喫煙の有無	受診時の問診	喫煙歴なし

Table 2 Check-up item analysis and urinary biopyrrin excretion

層別化項目	尿中バイオピリン (U/g Cr)		p=
	リスクなし	リスクあり	
腹囲	1.16±0.61 (66)	1.66±0.68 (24)	0.0008*
BMI	1.24±0.61 (66)	1.68±0.68 (13)	0.044*
血糖	1.38±0.68 (54)	1.17±0.51 (25)	0.131
HbA1c	1.33±0.69 (43)	1.29±0.57 (36)	0.746
中性脂肪	1.24±0.66 (63)	1.58±0.54 (16)	0.031*
HDL-C	1.29±0.62 (76)	1.97±0.67 ( 3)	0.225
LDL-C	1.34±0.71 (52)	1.25±0.47 (27)	0.483
AST	1.29±0.63 (73)	1.60±0.70 ( 6)	0.329
ALT	1.28±0.63 (69)	1.55±0.66 (10)	0.247
γ-GTP	1.29±0.64 (72)	1.57±0.56 ( 7)	0.236
収縮期血圧	1.27±0.63 (64)	1.48±0.52 (15)	0.211
拡張期血圧	1.27±0.64 (67)	1.56±0.56 (12)	0.114
喫煙の有無	1.28±0.57 (61)	1.43±0.83 (18)	0.464

数値は平均値±SD (N)、\*有意差あり

### Ⅲ. 結果

ステップ1の層別化項目である腹囲は、検診者全員(79名)の平均値は81.9±9.2 cm(範囲:64.5-113.0 cm)にあった。判定値以上(男性≥85 cm、女性≥90 cm)の健診者は24名(30.4%)である。全検診者のBMIの平均値は22.2±3.2(範囲:15.9-34.2)で、判定値以上(≥25)の肥満にある健診者は13名(16.5%)であった。ステップ1の腹囲の層別化において腹囲が判定値以下(男性<85 cm、<女性90 cm)にありながら、BMIが25以上の健診者は認められなかった。

ステップ2の層別化項目である血糖値は、全健診者の平均値は99.9±26.3 mg/dl(範囲:80-297 mg/dl)であった。判定値以上(≥100 mg/dl)の健診者は25名(31.7%)にあった。HbA1cの平均値は5.3±0.66%(範囲:4.6-9.1%)で、判定値以上(≥5.2%)の健診者は36名(45.6%)と高血糖状態にある者が多く認められた。

TGの平均値は112.4±99.1 mg/dl(範囲:28-521 mg/dl)で判定値以上(≥150 mg/dl)の健診者は16名(20.3%)と高脂(TG)血症にあった。HDL-Cの平均値は67.2±16.9 mg/dl(範囲:36-111 mg/dl)で判定値以下(≤40 mg/dl)の健診者は3名(3.8%)と少ない結果を得た。LDL-Cの平均値は113.9±31.0 mg/dl(範囲:54-229

mg/dl)で判定値以上(≥120 mg/dl)の健診者は27名(34.2%)と高LDL血症にあった。

ASTの平均値は22.2±11.9 U/L(範囲:9-95 U/L)で判定値以上(≥31 U/L)の健診者は6名(7.6%)、ALTの平均値は22.0±15.8 U/L(範囲:4-101 U/L)で判定値以上(≥31 U/L)の健診者は10名(12.7%)、γ-GTPの平均値は24.5±37.6 U/L(範囲:4-218 U/L)で判定値以上(≥51 U/L)の健診者は7名(8.9%)と軽度の肝機能障害が考えられた。

検診者全員の収縮期血圧は116.1±15.8 mmHg(範囲:91-157 mmHg)で判定値以上(≥130 mmHg)の健診者は15名(19.0%)、拡張期血圧は72.1±11.9 mmHg(範囲:49-108 mmHg)で判定値以上(≥85 mmHg)の健診者は12名(15.2%)にあった。喫煙者は18名(22.8%)であった。

検診者全員の尿中バイオピリンの平均値は1.31±0.64 U/g・Cr(範囲:0.19-3.98 U/g・Cr)であった。基準値を超えた者は1名であった。各項目の判定値でリスクありと評価された健診者と、リスクなしと評価された健診者におけるバイオピリンの動態はステップ1の層別化項目の腹囲とBMIで有意差(p<0.05)を認めた(表2:図1)。

ステップ2の層別化項目ではTGで有意差(p<0.05)を認めたが、他の項目では有意差が

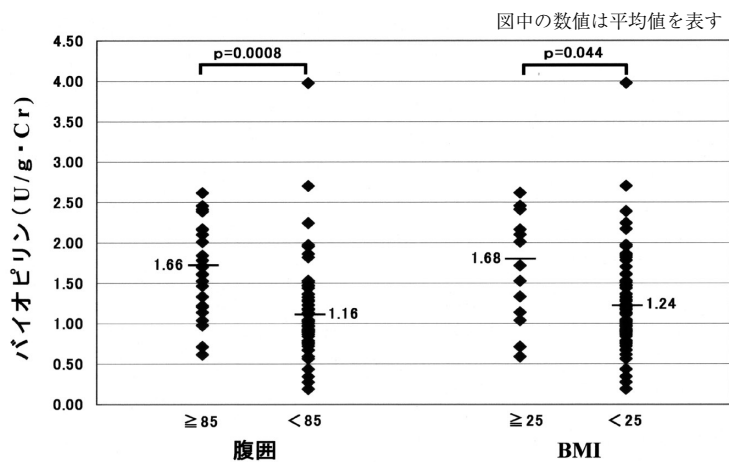


Fig. 1 Relation between urinary biopyrrin and abdominal circumference and BMI

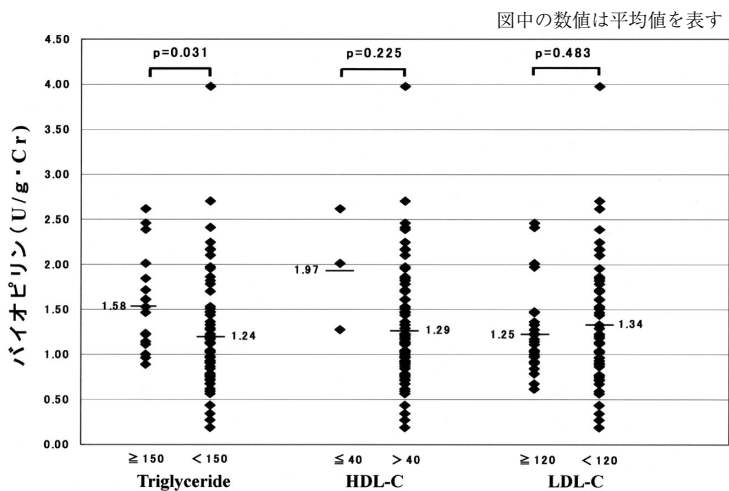


Fig. 2 Relation between urinary biopyrrin and lipid-related items

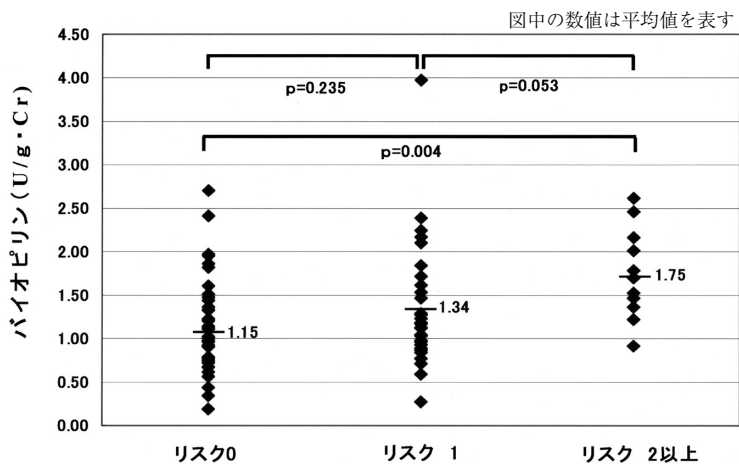


Fig. 3 Urinary biopyrrin excretion and the risk in duplication

認められなかった ( $p > 0.05$ : 表 2、図 2)。次に、ステップ 2 の層別化項目においてリスク項目が全く無い健診者、リスク項目が 1 つの健診者、リスク項目が 2 つ以上の健診者間でのバイオピリンの動態について調べた。リスク項目が全く無い健診者とリスク項目が 1 つの健診者間では有意差は認められないが、リスク項目が全く無い健診者とリスク項目が 2 つ以上の健診者間では有意差が認められた。リスク項目が 1 つとリスク項目が 2 つ以上では  $p = 0.053$  にあった (図 3)。

#### IV. 考察

特定健診の階層化ステップ 1 の層別化項目では、腹囲と BMI において尿バイオピリン排泄量に有意差が認められた。特定健診の階層化ステップ 2 の層別化項目では、TG において尿バイオピリン排泄量に有意差を認めた。他の脂肪関連項目 (HDL-C と LDL-C) では有意差は認められなかった。階層化ステップ 2 における他の項目 (AST、ALT、 $\gamma$ -GTP、収縮期血圧、拡張期血圧、喫煙の有無) でも有意差は認められなかった。

酸化ストレスと脂肪の関係については Framingham study において BMI が全身の酸化ストレスと関連することが明らかにされており<sup>6)</sup>、内臓脂肪蓄積が全身の酸化ストレスの独立した危険因子であるとの報告もなされている<sup>7)</sup>。メタボリックシンドロームにおける酸化ストレスの増加は肥満に伴う脂肪細胞の肥大とマクロファージの集積が病態の原因と考えられており<sup>8)</sup>、酸化ストレス増加に関する脂肪細胞や脂質代謝とバイオピリン関係についてのより詳細な解析が必要とされる。

ステップ 2 のリスクの重複では、単独リスクより重複リスクでバイオピリンに有意差を認め、リスクが多くなることで酸化ストレス増えることが示唆された。このことから肥満に別の因子が加わることでより多くの酸化ストレスが生じる可能性が考えられる。脂肪組織における酸化ストレスを抑制する可能性を示唆する治療薬の大規模臨床スタディの報告もあり<sup>9-11)</sup>、その詳細な解析にもバイオピリンが有用なマーカーとなるものと思われる。

#### V. 結語

メタボリックシンドロームにおける層別化項目のうち、バイオピリンに有意差を認めたのは腹囲、BMI、TG の肥満関連項目であった。酸化ストレスと脂肪との間に関連があることが示唆された。また層別化項目のリスクの重複によりバイオピリンの排泄量が増加した。

#### 謝辞

1 日ドック健診者のデータ収集に協力していただいた総合健康相談センターの太田房枝師長とバイオピリンの測定に協力していただきました株式会社シノテスト研究開発部の塩地出氏に感謝いたします。

#### 文献

- 1) Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Giazer AN and Ameer BN: Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235:1043-1046, 1987
- 2) Shimizu S, Izumi Y, Yamazaki M, Shimizu K, Yamaguchi T and Nakajima H: Anti-bilirubin monoclonal antibody. I. Preparation and properties of monoclonal antibodies to covalently coupled bilirubin-albumin. *Biochim. Biophys. Acta*, 967:255-260, 1988
- 3) Yamaguchi T, Shioji I, Sugimoto A, Komoda Y and Nakajima H: Chemical structure of a new family of bile pigments from human urine. *J. Biochem.*, 116: 298-303, 1994
- 4) Ihara H, Matsumoto T, Morita Y, Hirano A, Okada M, Hashizume N, Shioji I and Yoshimura H: Diurnal variation of biopyrrin excretion in random urine specimens is not corrected by creatinine. *J. Clin. Lab. Anal.*, 21:1-6, 2007
- 5) 日本臨床検査医学会の倫理指針「臨床検査を終了した検体の業務、教育、研究のための使用について—日本臨床検査医学会の見解—」。臨床病理, 50:438-439, 2002
- 6) Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA and Benjamin EJ: Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23:434-439, 2003
- 7) Fujita K, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I and Shimabukuro M: Systemic oxidative stress is associated with visceral fat accumulation and the metabolic

- syndrome. *Circ. J.*, 70:143-144,2006
- 8) 福原淳範、下村伊一郎：メタボリックシンドロームの病態とFat ROS. *医学のあゆみ*, 229：519－522, 2009
- 9) Kurata A, Nishizawa H, Kihara S, Maeda N, Sonoda M, Okada T, Ohashi K, Hibuse T, Fujita K, Yasui A, Hiuge A, Kumada M, Kuriyama H, Shimomura I and Funahashi T: Blockade of Angiotensin II type-I receptor reduces oxidative stress in adipose tissue and ameliorates adipocytokine dysregulation. *Kidney Int.*, 70:1717-1724,2006
- 10) Furuhashi M, Ura N, Higashiura K, Murakami H, Tanaka M, Moniwa N, Yoshida D and Shimamoto K: Blockade of the renin-angiotensin system increases adiponectin concentrations in patients with essential hypertension. *Hypertension*, 42:76-81,2003
- 11) Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, Brunner HR, Ekman S, Hansson L, Hua T, Laragh J, McInnes GT, Mitchell L, Plat F, Schork A, Smith B and Zanchetti A. VALUE trial group: Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomized trial. *Lancet*,363:2022-2031,2004