



Title	膵β細胞機能が2型糖尿病の病態と併存疾患に与える影響
Author(s)	宮, 愛香
Description	配架番号 : 2628
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14506号
Issue Date	2021-03-25
DOI	<a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.k14506">https://doi.org/10.14943/doctoral.k14506</a>
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/84043">https://hdl.handle.net/2115/84043</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Aika_Miya.pdf



# 学 位 論 文

膵β細胞機能が 2 型糖尿病の病態と  
併存疾患に与える影響

(Contribution of pancreatic beta-cell  
function to the pathogenesis of  
type 2 diabetes and its complication)

2021 年 3 月

北 海 道 大 学

宮 愛 香

Miya Aika



# 学 位 論 文

膵β細胞機能が2型糖尿病の病態と  
併存疾患に与える影響

(Contribution of pancreatic beta-cell  
function to the pathogenesis of  
type 2 diabetes and its complication)

2021年3月

北 海 道 大 学

宮 愛 香

Miya Aika

# 目次

発表論文目録および学会発表目録.....	1
1. 要 旨 .....	3
2. 略語表 .....	7
3. 緒 言 .....	8
4. 第 1 章 2 型糖尿病における持続血糖モニターを用いた低血糖・ 血糖変動の抽出と患者背景との関連 .....	10
4.1. 緒言.....	11
4.2. 方法.....	12
4.2.1. 持続血糖モニター (CGM) .....	12
4.2.1.1. CGM の精度と安全性.....	12
4.2.1.2. CGM の解析方法.....	14
4.2.2. 対象 .....	14
4.2.3. 研究プロトコール.....	14
4.2.4. 目標症例数の設定.....	15

4.2.5.	血糖変動係数と血糖管理の評価法.....	15
4.2.6.	血液生化学分析 .....	17
4.2.7.	統計学的解析 .....	17
4.3.	結果.....	20
4.3.1.	患者背景 .....	20
4.3.2.	血糖変動係数の分布 .....	23
4.3.3.	血糖変動の不安定性と低血糖を予測する血糖変動係数のカット オフ値に関する検討 .....	25
4.3.4.	低血糖と関連した血糖変動の不安定性を予測するマーカー .....	27
4.3.5.	血糖変動係数と患者背景因子の相関関係の検討 .....	35
4.3.6.	血糖変動における内因性インスリン分泌指標の層別比較.....	37
4.3.7.	インスリン治療の有無が血糖変動係数と血清 C ペプチドとの 関係性に与える影響 .....	43
4.3.8.	インスリン治療の内容が血糖変動係数と血清 C ペプチドとの 関係性に与える影響 .....	45
4.3.9.	有害事象 .....	48
4.4.	考察.....	49

5.	第2章 2型糖尿病患者の内因性インスリン分泌が SGLT2 阻害薬と DPP-4 阻害薬の投与による血糖変動改善効果に与える影響.....	53
5.1.	緒言.....	54
5.2.	方法.....	55
5.2.1.	対象.....	55
5.2.2.	研究プロトコール.....	55
5.2.3.	目標症例数の設定.....	56
5.2.4.	血液生化学分析.....	56
5.2.5.	統計学的解析.....	57
5.3.	結果.....	58
5.3.1.	患者背景.....	58
5.3.2.	試験結果.....	60
5.3.3.	有害事象.....	66
5.4.	考察.....	67
6.	第3章 地域住民横断調査におけるプロインスリン と肝の脂肪化との関連.....	69

6.1.	緒言.....	70
6.2.	方法.....	71
6.2.1.	対象 .....	71
6.2.2.	血液生化学分析 .....	71
6.2.3.	肝脂肪化の指標 .....	71
6.2.4.	膵β細胞障害の指標.....	72
6.2.5.	その他の評価項目 .....	72
6.2.6.	統計学的解析.....	72
6.3.	結果.....	74
6.3.1.	患者背景 .....	74
6.3.2.	プロインスリンと FATTY LIVER INDEX の関係.....	76
6.3.4.	プロインスリンと FATTY LIVER INDEX の関係における 肥満の有無による層別解析 .....	78
6.3.5.	プロインスリンと FATTY LIVER INDEX の関係における 高インスリン血症の有無による層別解析.....	80
6.3.6.	非糖尿病対象者におけるプロインスリンと FATTY LIVER INDEX の比較検討.....	82

6.3.7. 有害事象 .....	85
6.4. 考察 .....	86
7. 結 論 .....	88
8. 謝 辞 .....	90
9. 利益相反 .....	91
10. 引用文献 .....	92

# 発表論文目録および学会発表目録

本研究は下記の論文として投稿および投稿中である。

1. Miya A, Nakamura A, Miyoshi H, Ukawa S, Nakamura K, Nakagawa T, Terauchi Y, Tamakoshi A, Atsumi T. (2020).  
Correlation between serum proinsulin levels and fatty liver: The Dynamics of Lifestyle and Neighborhood Community on Health Study. *Journal of Diabetes Investigation*, 11:964-970.
2. Miya A, Nakamura A, Handa T, Nomoto H, Kameda H, Cho KY, Nagai S, Miyoshi H, Atsumi T. (2020).  
Impaired insulin secretion predicting unstable glycemic variability and Time-Below-Range in type 2 diabetes regardless of HbA1c or diabetes treatment. *Journal of Diabetes Investigation*, in press.
3. Miya A, Nakamura A, Handa T, Nomoto H, Kameda H, Cho KY, Nagai S, Ito MY, Miyoshi H, Atsumi T. (2020).  
Log-linear relationship between endogenous insulin secretion and glycemic variability in type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, in submitting.
4. Miya A, Nakamura A, Cho KY, Nomoto H, Kawata S, Sugawara H, Takeuchi J, Nagai S, Tsuchida K, Omori K, Yokoyama H, Taneda S, Kurihara Y, Aoki S, Atsumi T, Miyoshi H. (2020).  
Impact of endogenous insulin secretion on the improvement of glucose variability in Japanese patients with type 2 diabetes treated with canagliflozin plus teneligliptin. *Journal of Diabetes Investigation*, in press.

本研究は下記の学会で発表あるいは発表予定である。

1. Miya A, Nakamura A, Miyoshi H, Ukawa S, Nakamura K, Nakagawa T, Terauchi Y, Tamakoshi A, Atsumi T. Correlation between serum

proinsulin levels and fatty liver disease: a population-based study.  
55st European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting.  
Barcelona, Spain, 16-20 September 2019

2. 宮愛香, 中村昭伸, 三好秀明, 鵜川重和, 中村幸志, 中川貴史, 寺内康夫, 玉腰暁子, 渥美達也. 「肝の脂肪化は血清プロインスリン値の増加と関連する」. 第 40 回日本肥満学会, 東京, 2019 年 11 月 2-3 日
3. Miya A, Nakamura A, Handa T, Nomoto H, Kameda H, Cho KY, Nagai S, Miyoshi H, Atsumi T. Impaired insulin secretion as an independent risk factor for unstable glycaemic variability including hypoglycaemia in patients with type 2 diabetes. 56th Annual Meeting of European Association for the Study of Diabetes. Virtual event, 22-25 September 2020
4. 宮愛香, 中村昭伸, 三好秀明, 鵜川重和, 中村幸志, 中川貴史, 寺内康夫, 玉腰暁子, 渥美達也. 「地域住民横断調査におけるプロインスリンと肝の脂肪化との関連 ~DOSANCO Health Study~」. 第 63 回日本糖尿病学会年次学術集会, ウェブ配信, 2020 年 10 月 5-16 日
5. 宮愛香, 中村昭伸, 半田喬久, 野本博司, 亀田啓, 曹圭龍, 永井聡, 三好秀明, 渥美達也. 「内因性インスリン分泌は 2 型糖尿病における血糖変動の不安定性を予測する」. 第 35 回日本糖尿病合併症学会, ウェブ配信, 2020 年 12 月 7-21 日
6. 宮愛香, 中村昭伸, 半田喬久, 野本博司, 亀田啓, 曹圭龍, 永井聡, 伊藤陽一, 三好秀明, 渥美達也. 「持続血糖モニタリングにおける 2 型糖尿病患者の血糖変動と内因性インスリン分泌の関係性」. 第 94 回日本内分泌学会学術総会, 高崎, 2021 年 4 月 22-24 日

# 1. 要 旨

## 【背景と目的】

わが国の 2 型糖尿病患者は増加の一途をたどっており、2 型糖尿病の病態解明および予防法・治療法の確立が求められている。糖尿病治療の目標は、血糖の良好なコントロールを維持し糖尿病の合併症の発症と進展を阻止することである。しかし厳格な血糖コントロールは重症低血糖を招き、逆に合併症の発症・進展につながる可能性がある。したがって、日常の外来診療における低血糖および不安定な血糖変動を検証し、2 型糖尿病の病態・治療との関連について新たなエビデンスを確立することが重要である。

我々は日常の外来診療において、2 型糖尿病の低血糖と血糖変動に関連している患者背景因子について検証した(第 1 章)。続いて、内因性インスリン分泌が糖尿病治療薬の血糖変動改善効果に及ぼす影響について解析した(第 2 章)。さらには地域住民実態調査のデータを用いて、膵β細胞機能と、糖尿病に併存する頻度が多い脂肪肝との関連を検証した(第 3 章)。

## 【方法と結果】

第 1 章では 2 型糖尿病外来患者を対象に多施設横断研究を行い、日常外来診療下で 14 日間の持続血糖モニター(continuous glucose monitoring: CGM)と空腹時採血を実施した。解析対象となった 284 症例の CGM データをもとに血糖変動係数(coefficient of variation: CV)を算出した。はじめに、インスリン注射薬およびインスリン分泌促進薬を使用しておらず血糖変動が小さいと推測される 104 症例を抽出し、CV 上限値 40 を安定した血糖変動のカットオフ値と設定した。次に、国際的コンセンサスで設定されている低血糖の管理指標 percentage of time below target glucose range(TBR) < 4% と CV との関係性を検討するため、284 症例における TBR ≥ 4% を予測する Receiver operating characteristic(ROC)分析を行った。CV カットオフ値 40、曲線下面積 0.85 であった。以上から低血糖と関連した不安定な血糖変動は CV ≥ 40 を用いて検出できると判断した。この結果に基づき、284 症例を CV ≥ 40 群と CV < 40 群に群別し患者背景を検討した。年齢、body mass index(BMI)、糖尿病罹病期間、内因性インスリン分泌指標である C-peptide index(CPI)、推定糸球体濾過率、インスリン治療の有無の項目について 2 群間で有意な差を認めた。これらの項目を独立変数、CV ≥ 40 を従属変数としたロジスティック回帰分析を行った結果、CPI の低下度が大きいことが CV ≥ 40 の独立した規定因子となった。CV ≥ 40 を予測する CPI カットオフ値は 0.81 であった。さらに、C-

peptide(CPR)と CV を対数化し CV に対する CPR の予測式を作成した。インスリン治療の有無がこれらの結果を修飾するか検証するため、すべての対象患者をインスリン治療の有無で 2 群に分けた。また、インスリン治療中の患者を持効型インスリン注射治療群(Basal-only regimen)とインスリン頻回注射治療群(Basal-bolus insulin regimen)の 2 群に分類し、同様の層別解析を行った。対数化した CPR と CV の関係は直線となり CPR は CV と負の相関を示した(予測式:  $\text{Log}_{10} \text{CV} = -0.233 * \text{Log}_{10}(\text{空腹時 CPR} + 1) + 1.551$ )。インスリン治療群、なし群の各群、さらには Basal-only regimen 群と Basal-bolus insulin regimen 群の各群においても同様に対数化した CPR と CV は直線関係となり負の相関を示した。

第 2 章は多施設前向き非盲検並行群間無作為化比較研究である CALMER 試験の二次解析である。中央登録方式で、対象者をジペプチジルペプチダーゼ-4(dipeptidyl peptidase-4: DPP-4)阻害薬であるテネリグリプチン 20mg からナトリウム-グルコース共輸送体-2(sodium-glucose co-transporter-2: SGLT2)阻害薬であるカナグリフロジン 100mg に切り替える群(SWITCH 群)、またはテネリグリプチン 20mg にカナグリフロジン 100mg を追加する群(COMB 群)に無作為に割り付けた。空腹時採血を行なった後に CGM を装着し、割り付け前後で食事負荷試験(テストミール)を行なった。解析対象となった 95 症例のデータを、空腹時 CPR の中央値 1.9ng/mL を用いて低 CPR+SWITCH 群、低 CPR+COMB 群、高 CPR+SWITCH 群、高 CPR+COMB 群の 4 群に分類し検討を行なった。低 CPR+COMB 群、高 CPR+SWITCH 群、高 CPR+COMB 群では、薬剤変更後の食事負荷試験の血糖変動指標 mean amplitude of glycemic excursions(MAGE)が変更前に比べて有意に低下していた。しかし、低 CPR+SWITCH 群では薬剤変更後の食事負荷試験の MAGE に変化はなかった。また、高 CPR+COMB 群の MAGE 変化量は低 CPR+SWITCH 群に比べて有意に改善した。

第 3 章では、北海道寿都町の 35 歳から 79 歳までの住民が参加した地域住民実態調査 DOSANCO Health Study において、対象者 489 名の空腹時採血を解析した。膵β細胞機能障害を示す指標として血清プロインスリン値(proinsulin: PI)を、肝脂肪化の指標として fatty liver index(FLI)を算出した。低 FLI 群 ( $\text{FLI} < 30$ )、中 FLI 群( $30 \leq \text{FLI} < 60$ )、高 FLI 群( $\text{FLI} \geq 60$ )に群別し、対数変換した PI 値  $\ln(\text{PI})$  を比較した。 $\ln(\text{PI})$  は、低 FLI 群に比し中 FLI 群で、中 FLI 群に比し高 FLI 群で有意に高値であった。次に、肥満や高インスリン血症の有無の影響を検討するため、BMI と血清インスリン値それぞれの平均値で層別化して同様の検討を行った。BMI や血清インスリン値の平均値以上・未満の層に関わらず、 $\ln(\text{PI})$  は、低 FLI 群と比し高 FLI 群で有意に高値であった。

さらに、糖尿病の影響を取り除くため、489名のうち血糖値とHbA1cから糖尿病の診断に至る48名を除外した441名で同様の検討を行った。ln (PI)は、低FLI群に比し中FLI群で、中FLI群に比し高FLI群で有意に高値であった。

### 【考察】

日本人2型糖尿病患者の特徴であるインスリン分泌障害は、HbA1cや糖尿病治療の種類を問わず、低血糖と関連した不安定な血糖変動に寄与していた。さらには、内因性インスリン分泌が低下している2型糖尿病症例と保持されている症例において、内因性インスリン分泌の血糖変動に対する寄与度が異なることを初めて示した。内因性インスリン分泌が低下している症例では、低下した血糖に対するカウンターレギュレーションの障害が関係し、血糖変動が不安定になり低血糖リスクが高い可能性があった。内因性インスリン分泌が保持されている症例では、内因性インスリン分泌と血糖変動との関連は弱く、内因性インスリン分泌以外の患者背景因子が血糖変動に影響していると考えられた。空腹時CPRと血糖変動の関係性についてこれまで様々な知見が報告されているが、我々の研究では、高血糖患者だけでなく良好な血糖管理がなされている外来患者も対象とすることで、インスリン治療の有無や注射薬の内容がCPRとCVの関係性に影響を与えないことを示した。CPRを温存させるような治療介入が血糖変動を改善させ、さらには糖尿病合併症の発症・進行を予防する可能性がある。

SGLT2阻害薬はインスリン感受性や膵β細胞機能障害を早期に改善させる。しかし内因性インスリン分泌が低下している症例においては、テネリグリプチンからカナグリフロジンへの切り替えが血糖変動を改善させなかった。その理由として、すでに内因性インスリン分泌が低下している症例ではSGLT2阻害薬は内因性インスリン分泌を回復させない可能性が考えられた。この2剤の併用療法は、カナグリフロジンの活性型グルカゴン様ペプチド-1(active glucagon like peptide-1: GLP-1)分泌促進作用とテネリグリプチンのDPP-4阻害作用の複合作用によって、GLP-1濃度を上昇させる可能性がある。2型糖尿病で内因性インスリン分泌が低下している症例の血糖変動をさらに改善させるためには、DPP-4阻害薬からSGLT2阻害薬への切り替えよりも、DPP-4阻害薬とSGLT2阻害薬の併用療法の方がより良いプロトコールであることが示めされた。

横断的研究の結果をもとに因果関係に関して考察するには限界があるが、我々の知見は、肥満や高インスリン血症の有無に関わらず、肝脂肪化の増悪は膵β細胞機能障害と正の関係がある可能性を示唆していた。非糖尿病の対象者

においても FLI と PI の間に正の相関関係を認めたことから、脂肪肝の改善は膵β細胞機能の回復につながる可能性も示唆された。

#### 【結論】

リアルワールドの 2 型糖尿病外来患者において、内因性インスリン分泌の指標である空腹時 CPR と CPI が無症候性低血糖を含む不安定な血糖変動を予測することを明らかにし、CGM と同様に血糖変動を抽出するマーカーとして有用である可能性が示唆された。さらに、CPR は糖尿病治療薬の選択においても有用であった。地域住民横断調査において、糖尿病発症前の膵β細胞機能が、脂肪肝と関連することを明らかにした。これらの結果は、糖尿病診療における個別化医療の実現に寄与できると考えられ、さらには糖尿病やその合併症の発症と増悪、病態のメカニズムにも関連する可能性があり、臨床医だけでなく幅広く研究の分野に応用されることが期待される。

## 2. 略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

AUC	area under the curve
BMI	body mass index
CGM	continuous glucose monitoring
CI	confidence interval
CPI	C-peptide index
CPR	C-peptide
CV	coefficient of variation
DOSANCO Health Study	the Dynamics of Lifestyle and Neighborhood Community on Health Study
DPP-4	dipeptidyl peptidase-4
eGFR	estimated glomerular filtration rate
FLI	fatty liver index
FPG	fasting plasma glucose
GLP-1	active glucagon like peptide-1
HOMA-IR	homeostasis model assessment of insulin resistance
HOMA- $\beta$	homeostatic model assessment beta cell function
MAGE	mean amplitude of glycemic excursions
MARD	mean absolute relative difference
NAFLD	nonalcoholic fatty liver disease
NASH	nonalcoholic steatohepatitis
OR	odds ratio
PI	proinsulin
ROC	receiver operating characteristic
RSGV	relatively stable glycemic variability
SD	standard deviation
SGLT2	sodium-glucose co-transporter-2
SGV	stable glycemic variability
TAR	time above range
TBR	time below range
TIR	time in range
UGV	unstable glycemic variability
VIF	variance inflation factor
$\gamma$ -GTP	$\gamma$ -glutamyl transpeptidase

### 3. 緒 言

糖尿病は慢性的な高血糖が様々な合併症をひきおこす慢性疾患である。我が国の糖尿病患者の90%以上が相当する2型糖尿病患者は、増加の一途をたどっており、2型糖尿病の病態解明および予防法・治療法の確立が求められている。

糖尿病における慢性的な高血糖状態はインスリン作用の不足によって引き起こされる。このインスリン作用不足の背景には、インスリン分泌不全と、インスリン作用の障害(インスリン抵抗性)の2つの病態がある。膵β細胞から過不足なくインスリンが分泌され作用すると、ブドウ糖は速やかに細胞内に取り込まれるが、膵β細胞からのインスリン分泌量が低下するとブドウ糖は細胞内に取り込まれなくなる(インスリン分泌不全)。一方、インスリンが十分量あっても効きにくいとブドウ糖は細胞内に取り込まれにくくなる(インスリン抵抗性の増大)。インスリン抵抗性は罹病期間を問わず増大したまま経過するが、インスリン分泌不全は、2型糖尿病を発症後、罹病期間とともにさらに増悪していく(Weyer et al., 1999)。さらには、日本人2型糖尿病患者のインスリン分泌は一般的に欧米人患者に比べて低く、インスリン初期分泌が弱いインスリン分泌遅延状態にあることが知られている(Fukushima et al., 2004)。このように、日本人2型糖尿病の病態において、膵β細胞機能は重要な役割を担っているといえる。我々は、膵β細胞機能に着目し、膵β細胞機能が2型糖尿病の病態と併存疾患に与える影響について、日常診療下の日本人2型糖尿病において検証することが必要であると考えた。

糖尿病の合併症の発症と進展を阻止するためには、良好な血糖コントロールを維持することが求められる。糖尿病管理の指標にはHbA1cという、血液ヘモグロビンと血液中の糖が結合したタンパク質を測定した採血項目が用いられている。HbA1cは過去1~2ヶ月間の平均血糖値を反映しており、HbA1cが高いほど全身の血糖値が高い状態であるといえる。HbA1c 6.5%以上は糖尿病の診断基準項目の1つである。HbA1cと糖尿病合併症の発症と進展に関するエビデンスは多数あるため、糖尿病管理指標としてHbA1c 7%未満が推奨されている。しかし、厳格な血糖コントロールを行いHbA1cを低く維持した強化療法群では標準療法群に比し、総死亡が増加したという大規模臨床試験が報告された(Gerstein et al., 2008)。この理由の1つとして、重篤な低血糖に起因する心血管死の増加の可能性が指摘されており(Goto et al., 2016)、いかに低血糖を予防するかに関してはHbA1cによる糖尿病管理は十分ではないことが明らかとなってきた。さらには血糖の変動が合併症の発症・進展と関連しているとい

う報告も散見されるようになった(Hirakawa et al., 2014)。このような背景から、いかに低血糖を減らし血糖変動幅を小さくするかが糖尿病治療の現在の課題になっている。現在では自己血糖測定器や持続血糖モニター(continuous glucose monitoring: CGM)などが普及し、リアルタイムで血糖値を把握することが可能になったが、保険適応のある患者は限られており全ての患者に CGM を行うことは現実的ではない。日々の診療では従来通り HbA1c などの採血項目を目安に診療がなされている。

以上より、低血糖および不安定な血糖変動と 2 型糖尿病の病態・治療との関連を、日常診療下の日本人 2 型糖尿病において検証し、新たな低血糖および血糖変動に関するエビデンスを確立することが重要である。

我々は第 1 章で、日常の外来診療下で 2 型糖尿病患者の低血糖および不安定な血糖変動を抽出し、単回の空腹時採血から 2 型糖尿病の血糖変動を予測する患者背景因子を探索した。その結果、2 型糖尿病の不安定な血糖変動に膵β細胞機能が影響することを明らかにした。この結果をもとに、第 2 章では膵β細胞機能が糖尿病治療薬の血糖変動改善効果に及ぼす影響を検証した。さらに第 3 章では地域住民実態調査のデータを用いて、糖尿病に合併する頻度が多い脂肪肝に対し膵β細胞機能が及ぼす影響を検証した。

－第 1 章－

2 型糖尿病における持続血糖モニター  
を用いた低血糖・血糖変動の抽出と  
患者背景との関連

## 4.1. 緒言

不安定な血糖変動をともなう糖尿病管理は、低血糖および高血糖のリスクが高いだけでなく(Rodbard, 2012)、糖尿病に関連した細小血管合併症と大血管合併症の発症・増悪にもつながる(UKPDS 16, 1995; Bonds et al., 2010)。近年、CGM という医療機器が普及した。従来の糖尿病管理指標である HbA1c 値とは異なり、CGM は1日を通した血糖変動を追跡することができ、血糖変動の大きさとその時間帯を測定できる(Kovatchev, 2017)。2019年に発表された国際的コンセンサスでは、CGM で測定された血糖変動の指標として変動係数 CV を用いるよう推奨され、具体的には  $CV < 36\%$  を安定した血糖変動、 $CV \geq 36\%$  を不安定な血糖変動と定義された(Danne et al., 2017)。しかし、このカットオフ値は欧米の糖尿病患者を対象とした研究に基づいて設定されたものであり、日本の2型糖尿病患者におけるカットオフ値は国際的コンセンサスと異なる可能性がある。また、血糖変動の不安定性と低血糖に関連する患者背景因子についても現在のところ不明な点が多い。

2型糖尿病の発症にはインスリン分泌障害が重要な役割を果たしている(Taylor, 1999)。また、日本人2型糖尿病患者のインスリン分泌は、一般的に欧米人患者に比べて低いことが知られている(Fukushima et al., 2004)。以上の理由から、インスリン分泌障害が血糖管理不良や血糖変動の不安定性と関連している可能性がある。

本研究では、日本人2型糖尿病外来患者における低血糖と血糖変動の不安定性に相応する CV カットオフ値を検討すること、そして低血糖と血糖変動の不安定性を予測する患者背景因子を同定することを目的に、日常外来診療において CGM を実施しデータの検証を行った。この結果をもとに、我々は内因性インスリン分泌が低下した2型糖尿病患者と保持された2型糖尿病患者では、インスリン分泌の血糖変動への寄与度が異なる可能性を考えた。具体的には、内因性インスリン分泌と血糖変動の関係は線形ではなく、曲線関係であるという仮説を立てた。この仮説を検証するため、高度にインスリン分泌が低下した症例を含む2型糖尿病患者の、インスリン分泌と血糖変動の関係を解析した。さらに、糖尿病治療薬がこの結果を修飾するかどうかを検討した。

## 4.2. 方法

### 4.2.1. 持続血糖モニター (CGM)

#### 4.2.1.1. CGM の精度と安全性

CGM システムは皮下脂肪組織に存在する間質液中のグルコース濃度を 15 分毎に自動的に測定し、そのグルコース値を連続的に記録する。CGM システムはセンサー(FreeStyle Libre Pro センサー: Abbott Diabetes Care, Alameda, CA, USA)と読取装置(FreeStyle Libre Pro リーダー: Abbott Diabetes Care, Alameda, CA, USA)で構成される。センサーのサイズは直径 35mm、厚さ 5mm で質量 5g と軽量で小型かつ防水性であり、日常生活に支障なく装着可能である(Figure1A)。センサーに記憶された最大 14 日分のグルコース値は、後日リーダー(Figure1B)がセンサーを読み取ることによりワイヤレスで収集することができる。本品は従来の自己血糖測定器による校正は不要である。CGM の精度指標には平均絶対的相対的差異(mean absolute relative difference: MARD)が使用される。MARD は CGM で測定されたグルコース値と血糖実測値の差分率を 1 日毎に区切り平均化した値である。本研究で使用する CGM は 11.1% の MARD を示し従来の自己血糖測定器とほぼ同等の精度とされている。

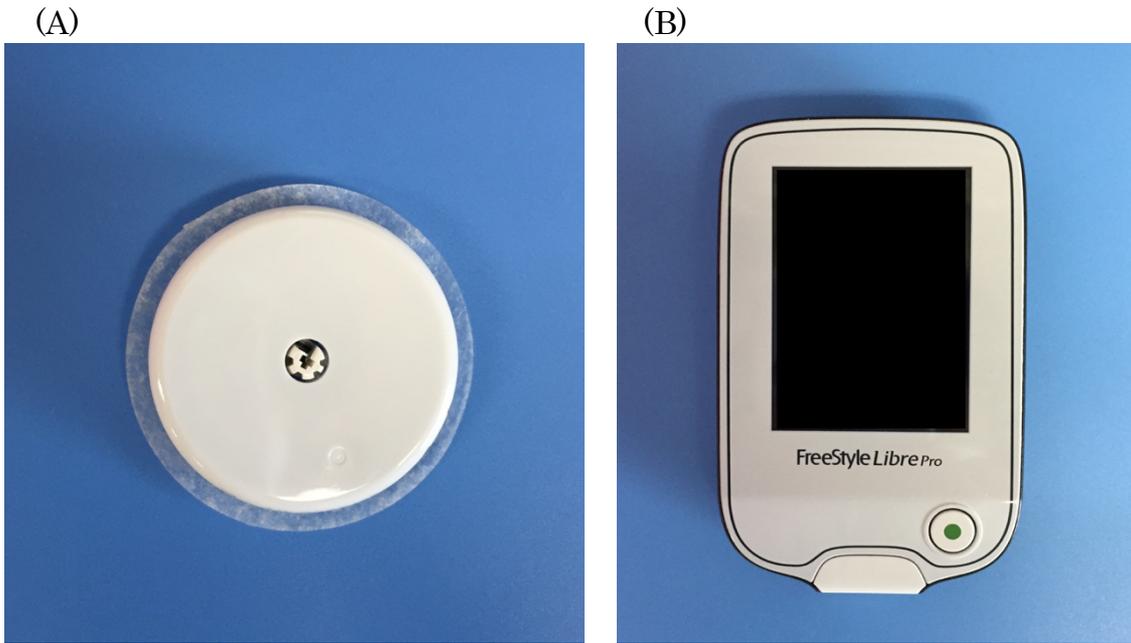


Figure 1.  
本研究でを使用した CGM センサー(A)とリーダー(B)

#### 4.2.1.2. CGM の解析方法

CGM リーダーに収集されたデータは解析ソフト(FreeStyle リブレ Pro ソフトウェア)を用いて出力し、15分毎に測定された時刻とグルコース値を得た。センサー着脱時のCGMシステムの不正確性の報告があり(Bailey et al., 2015)、センサーを装着した最初の日と最後の日のデータを分析から除外した。他の利用可能なすべての期間のCGMデータを分析対象とした。この値をExcelに移し、血糖変動指標解析ソフト GlyCulator2(Pagacz et al., 2018)を用いて血糖変動の指標である24時間平均グルコース値、CV、標準偏差(standard deviation: SD)、血糖変動域の平均振幅(MAGE)(Service et al., 1970)と、CGMを用いた血糖管理の評価方法であるTBR、Time in range(TIR)、Time above range(TAR)を求めた(後述)。

#### 4.2.2. 対象

2018年4月から2019年9月までに4つの医療機関(北海道大学病院、NTT東日本札幌病院、釧路赤十字病院、苫小牧市立病院)の糖尿病外来に通院した2型糖尿病患者を対象とした。本研究では、HbA1c値、性別、糖尿病の罹病期間、糖尿病の合併症の有無にかかわらず、外来でCGMを実施することに同意した20歳以上の2型糖尿病患者を広く対象とした。除外基準として、1)1型糖尿病、2)過去3カ月以内に入院している、3)糖尿病性ケトosis/昏睡状態、4)重篤な感染症、5)手術前後、6)過去6カ月以内に外傷を受けている、7)ステロイド治療を受けている、8)食事摂取が困難である、9)妊娠・授乳中の症例は除外した。研究に同意した症例からCGMデータ、空腹時血液検査、基本情報(年齢、性別、身長、体重、糖尿病の罹病期間、治療法、病歴)を収集した。

#### 4.2.3. 研究プロトコール

本研究は観察研究である。研究同意取得日に外来診察室で基本情報を取得しCGMセンサーを装着した。対象患者は帰宅後日常生活を続け、連続して最大14日間のCGMを実施した。測定終了後は患者自身がCGMセンサーを取り外し、次の外来再診時にセンサーを回収し、空腹時採血を行った。

本試験は、大学病院医療情報ネットワーク(UMIN)センターに登録した(登録番号 UMIN 000029993)。研究計画書は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認を得ている。

#### 4.2.4. 目標症例数の設定

当院糖尿病外来において、レセプト情報から抽出した 2 型糖尿病患者数は年間 2000 症例以上、のべ患者数は年間 18000 症例以上であった。そのうち 2 型糖尿病を主病名とした外来通院患者数が年間 500 症例以上で、本研究の研究期間内では 625 症例が見込まれた。本研究は日常診療下の研究であり、研究期間内での実施可能症例数として目標症例数を 300 症例と設定した。

#### 4.2.5. 血糖変動係数と血糖管理の評価法

血糖変動 の指標として、先述の通り国際的コンセンサスで推奨されている  $CV(100 \times [\text{グルコース値の SD}]/[\text{平均グルコース値}])$  と、SD、グルコース濃度、MAGE、24 時間平均グルコース値を解析した。

さらに Figure 2 に示すように国際的コンセンサスでは CGM を用いた血糖管理の評価方法として 1 日あたり目標グルコース値の範囲内で経過した割合(TIR;70~180mg/dL)、目標グルコース値の範囲未満の割合(TBR;<70mg/dL)、目標グルコース値の範囲を超える割合(TAR;>180mg/dL)を用いるよう推奨されており(Battelino et al., 2019)、これらを算出した。今回、目標グルコース値の範囲を 70~180mg/dL と定めたことから低血糖は 70mg/dL 未満と定義した。

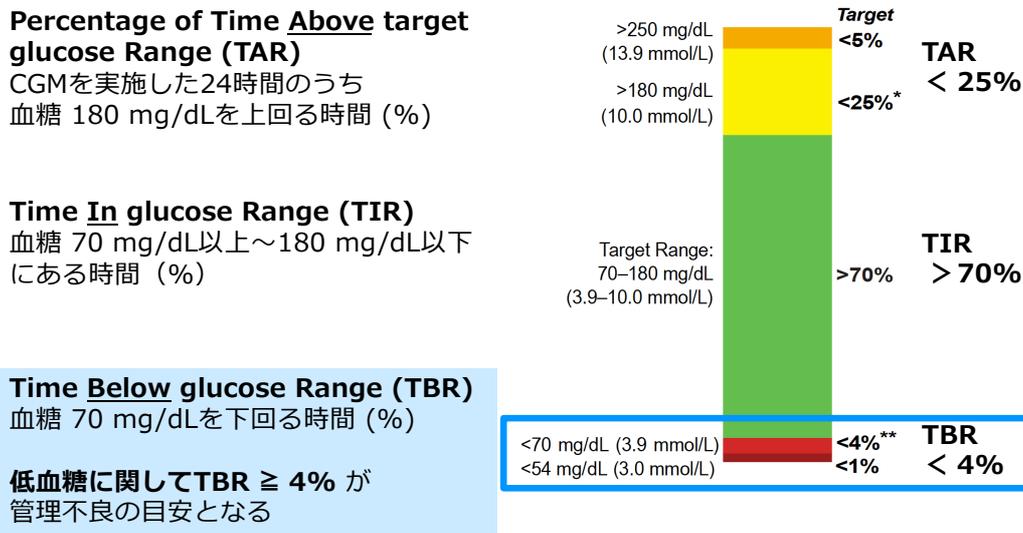


Figure 2.

CGM を用いた血糖コントロール目標 (Battelino et al., 2019 より改訂)

## 4.2.6. 血液生化学分析

この研究では、一晩以上絶食後に血液を採取し、血糖、CPR、HbA1c、および推定糸球体濾過率(estimated glomerular filtration rate: eGFR)を測定した。これらの項目は、標準的な手法を用いて測定した。インスリンは、その前駆体である PI が分解されて、CPR とともに膵β細胞から分泌される。CPR はインスリンと同量産生・分泌され、その一部が代謝されずにそのまま排泄されるためインスリン分泌の測定に用いられる。本章では内因性インスリン分泌の指標として CPI(100×空腹時 CPR /空腹時血糖)を算出した(Funakoshi et al., 2011)。症例の体重および身長は、校正された体重計を用いて測定し BMI は体重(kg)÷身長(m<sup>2</sup>)として計算した。その他、年齢、性別、糖尿病治療薬、病歴などのデータは主治医が質問紙を用いて収集した。

## 4.2.7. 統計学的解析

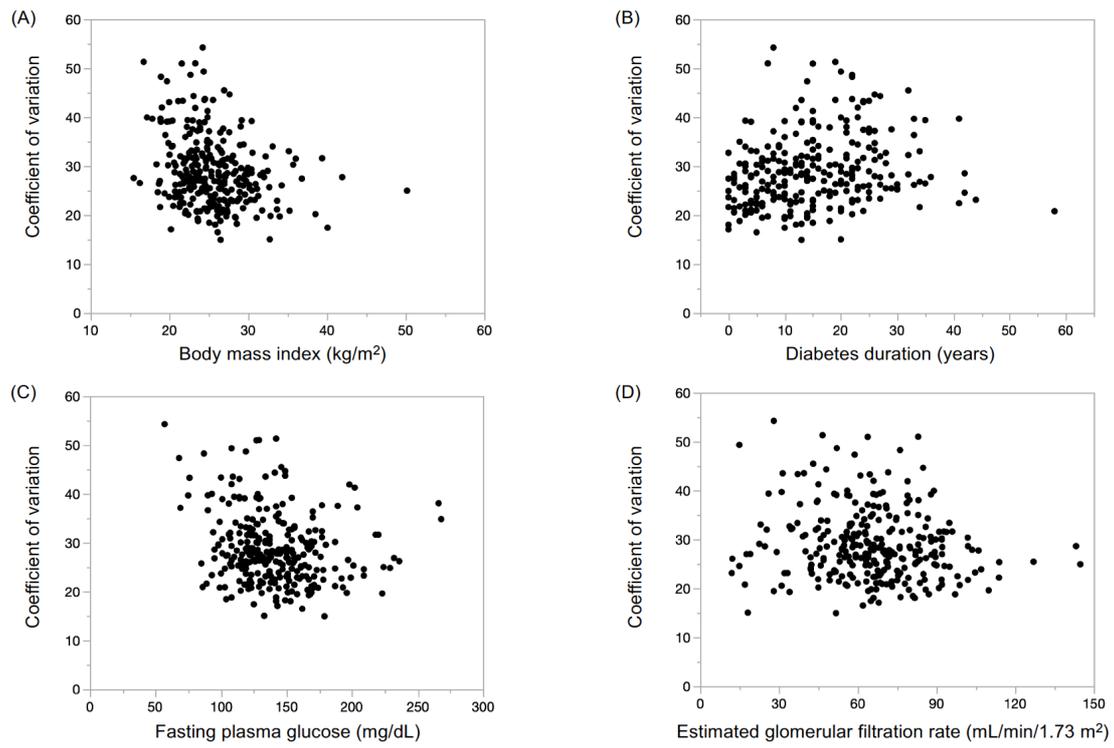
はじめに、安定した血糖変動と不安定な血糖変動を分離するための CV カットオフ値を同定するために、対象患者を 3 群に分けた。1 群目は食事療法および/またはインスリン抵抗性改善薬(すなわちメトホルミンおよび/またはグリタゾン)のみで治療された血糖変動安定群(Stable glycemic variability: SGV 群)である。実際にこのような症例は低血糖エピソードのリスクが非常に低いことが報告されている(UKPDS 34, 1998)。2 群目は、SGV 群の症例も含めたインスリン注射薬および/またはインスリン分泌促進薬(スルホニルウレアまたはグリニド)を使用していない相対的血糖変動安定群(Relatively stable glycemic variability: RSGV 群)である。3 群目はインスリン注射薬および/またはインスリン分泌促進薬を使用中の血糖変動不安定群(Unstable glycemic variability: UGV 群)である。この 3 群において患者背景を 1 元配置分散分析、 $\chi^2$  検定、または必要に応じて Kruskal-Wallis 検定を用いて比較した。SGV 群および RSGV 群は安定した血糖変動を呈することから、両群における CV 分布の上限を、安定した血糖変動と不安定な血糖変動を分離するための CV カットオフ値と同定した。

次に、CGM を用いた低血糖管理の評価方法として TBR<4%が推奨されている国際的コンセンサスを踏まえて、すべての対象患者について、ROC 分析を用いて、低血糖管理指標である TBR $\geq$ 4%に対応する CV の最適なカットオフ値を算出した。

算出された CV カットオフ値をもとにすべての対象患者を 2 群に分け、低血糖と関連した不安定な血糖変動を有する患者背景因子を検討した。連続変数(年齢など)の平均を比較するために Mann-Whitney U 検定を用い、カテゴリー変数(性別など)の割合をグループ間で比較するために Fisher's exact 検定を用いた。単変量解析で有意差を認められた変数を独立変数に、CV カットオフ値を従属変数にして多重ロジスティック回帰分析を行った。低血糖と関連した不安定な血糖変動を示す CV カットオフ値に対応する CPI カットオフ値を定義するために、ROC 分析を行った。

続いて、内因性インスリン分泌と血糖変動の不安定性の関係を検証するために、空腹時 CPR と CV の散布図を作成した。CPR と CV の両方を対数変換した後、CV に対する CPR の予測式を推定した。血糖変動の不安定性に関連する患者背景因子を、CPR を対数変換した後に決定した。年齢などの連続変数間の関係を決定するために Spearman rank-order correlation 検定を用いた。CV と性別などのカテゴリー変数の単変量解析を Mann-Whitney 検定を用いて行った。単変量解析で有意差を認められた変数は CV と直線関係を有することを確認し(Figure 3)、これらの変数を独立変数に CV を従属変数にして重回帰分析を行った。次に、CPR に関連する患者背景因子を評価するため、CPR と CV の予測曲線に基づき、すべての対象患者を低 CPR 群( $CPR < 1 \text{ ng/mL}$ )、中 CPR 群( $1 \text{ ng/mL} \leq CPR < 2 \text{ ng/mL}$ )、高 CPR 群( $CPR \geq 2 \text{ ng/mL}$ )の 3 群に分けた。次に、3 群の患者背景因子を 1 元配置分散分析、 $\chi^2$  検定、または必要に応じて Kruskal-Wallis 検定を用いて比較した。インスリン治療の有無がこれらの結果を修飾するか検証するために、すべての対象患者をインスリン治療の有無で 2 群に分けた。また、インスリン治療中の患者をインスリンレジメンに応じて、持効型インスリン注射治療群(Basal-only regimen)またはインスリン頻回注射治療群(Basal-bolus regimen)の 2 群に分類し、同様の層別分析を行った。

データの結果値は断りがなければ中央値(四分位)で表した。実施した統計検定はすべて両側検定であり、 $P < 0.05$  を統計的に有意とした。統計解析は、JMP Pro 14.0.0(SAS Inc., Cary, NC, USA)を用いて行った。



**Figure 3.**

単変量解析で有意差を認めた変数 (A)BMI、(B)罹病期間、(C)空腹時血糖、(D)eGFR と CV との関係

## 4.3. 結果

### 4.3.1. 患者背景

本研究に参加された 311 症例のうち、15 症例が予期せぬ CGM センサーの脱落により除外された。2 症例は CGM を装着する前に同意を撤回したために除外され、4 症例は CGM データを解析する前に治療が中断されたために除外された。センサー装着部位の接触性皮膚炎が原因で、1 症例が CGM を装着直後に中止した。血液検体が欠落していた 1 症例と、研究と関連のない入院治療開始のため CGM を中止した 1 症例は除外した。CGM データを解析する前に研究と関連のないステロイド治療が開始された 3 症例を除外した。そのほかの 284 症例(そのうち女性 123 名)について解析を行った(Figure 4)。年齢中央値は 68 歳、BMI 中央値は 25.0kg/m<sup>2</sup>、糖尿病期間中央値は 14 年であった。HbA1c は 7.1%、CPR 中央値は 1.7ng/mL、CV 中央値は 27.8 であった(Table 1)。

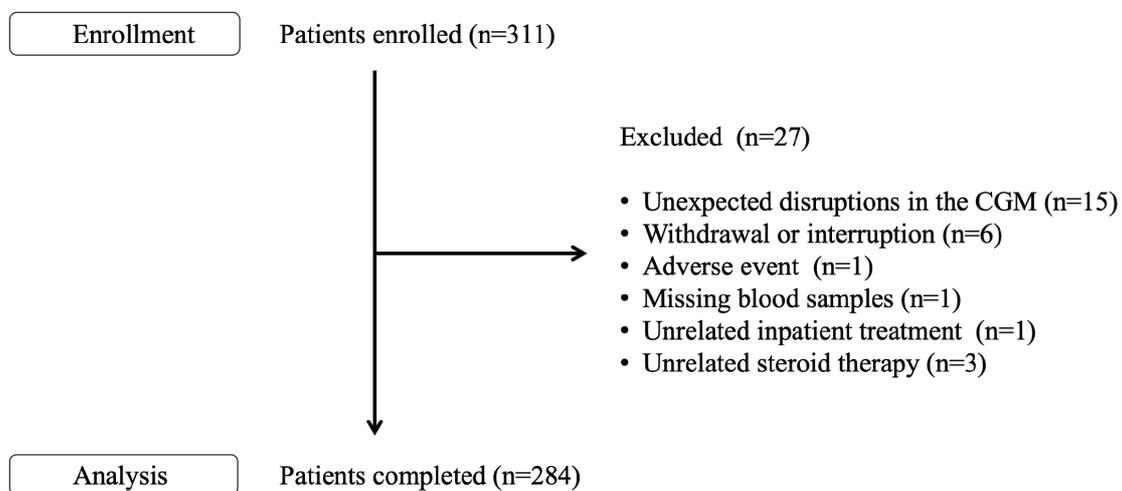


Figure 4.

本研究のフローチャート

Table 1.

## 対象患者と SGV 群、RSGV 群、 UGV 群の患者背景

	Total	SGV群	RSGV群	UGV群	P value
n	284	17	104	180	
Age (years)	68.0 (59.0, 76.0)	61.0 (51.0, 72.5)	67.0 (56.3, 72.8)	69.0 (62.0, 78.0)	< 0.05
Number of female, n (%)	123 (43.3)	11 (64.7)	51 (49.0)	72 (40.0)	0.11
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.0 (22.6, 27.9)	22.8 (20.7, 23.6)	25.8 (22.6, 28.4)	24.7 (22.5, 27.6)	< 0.05
Diabetes duration (years)	14 (8, 22)	4 (1,10)	8 (4, 14)	17 (12, 24)	< 0.05
Diabetes treatment, n (%)					
Any insulin sensitizers	193 (68.0)	11 (64.7)	73 (70.2)	120 (66.7)	0.75
Any insulin secretagogues	180 (63.4)	0 (0)	0 (0)	180 (100.0)	< 0.05
FPG (mg/dL)	137.0 (119.3, 157.5)	151.0 (118.5, 164.0)	142.0 (120.0, 156.0)	134.0 (119.0, 159.5)	0.73
HbA1c (%)	7.1 (6.7, 7.8)	6.8 (6.3, 7.2)	7.1 (6.5, 7.6)	7.2 (6.8, 7.8)	< 0.05
CPR (ng/mL)	1.7 (1.1, 2.5)	1.4 (1.0, 1.8)	2.0 (1.5, 3.0)	1.5 (0.9, 2.1)	< 0.05
CPI (ng/mL per mg/dL)	1.2 (0.9, 1.8)	1.0 (0.7, 1.3)	1.4 (1.0, 2.0)	1.1 (0.7, 1.5)	< 0.05
eGFR	66.0 (53.3, 79.5)	75.0 (65.1, 82.0)	69.3 (59.1, 82.0)	63.3 (47.5, 76.1)	< 0.05
24-h mean Glucose (mg/dL)	146.2 (129.0, 166.3)	139.2 (125.5, 153.0)	142.2 (129.0, 163.5)	147.8 (129.4, 167.5)	0.24
CV	27.8 (23.7, 32.5)	27.1 (21.1, 30.0)	25.2 (21.9, 28.2)	29.6 (25.4, 34.9)	< 0.05
SD (mg/dL)	40.3 (33.2, 51.4)	34.9 (27.6, 47.3)	36.3 (30.4, 43.6)	44.0 (35.4, 54.1)	< 0.05
MAGE	105.4 (87.5, 134.0)	87.7 (71.3, 117.3)	92.9 (76.8, 113.1)	114.1 (93.6, 141.2)	< 0.05
TBR (%)	0.1 (0, 2.1)	0 (0, 1.9)	0 (0, 0.4)	0.6 (0, 3.0)	< 0.05
TBR (minutes)	1.2 (0, 29.8)	0 (0, 27.2)	0 (0, 5.2)	8.1 (0, 43.5)	< 0.05
TBR $\geq$ 4%, n (%)	44 (15.7)	1 (5.9)	7 (8.1)	37 (20.6)	< 0.05
TIR (%)	76.9 (63.7, 87.4)	87.8 (75.8, 92.4)	83.0 (69.3, 90.8)	73.5 (60.0, 85.0)	< 0.05
TAR (%)	20.2 (10.6, 33.8)	12.2 (6.9, 23.0)	16.0 (8.5, 30.6)	23.7 (12.3, 35.0)	< 0.05

データの結果値は中央値(四分位)または数(%)で表した。3群の患者背景因子を1元配置分散分析、 $\chi^2$ 検定、または必要に応じて Kruskal-Wallis 検定を用いて比較した。

### 4.3.2. 血糖変動係数の分布

284 症例を SGV 群(n=17)、RSGV 群(n=104)、UGV 群(n=180)の 3 群に分けた。すべての対象患者と各群の患者背景を Table 1 に示す。年齢、BMI、糖尿病期間、および HbA1c、CPR、CPI、eGFR の値は、3 群間で異なっていた。血糖変動係数と血糖管理指標も 3 群間で異なっていた。Figure 5 は、全体と SGV 群と RSGV 群における CV 分布を示したものである。CV 分布の上限は SGV 群と RSGV 群ともに 40 であり、CV については両群間で統計学的に有意な差は認められなかった( $P=0.81$ )。以上の結果から CV カットオフ値 40 を、安定した血糖変動と不安定な血糖変動を分離するための CV カットオフ値として定義した。

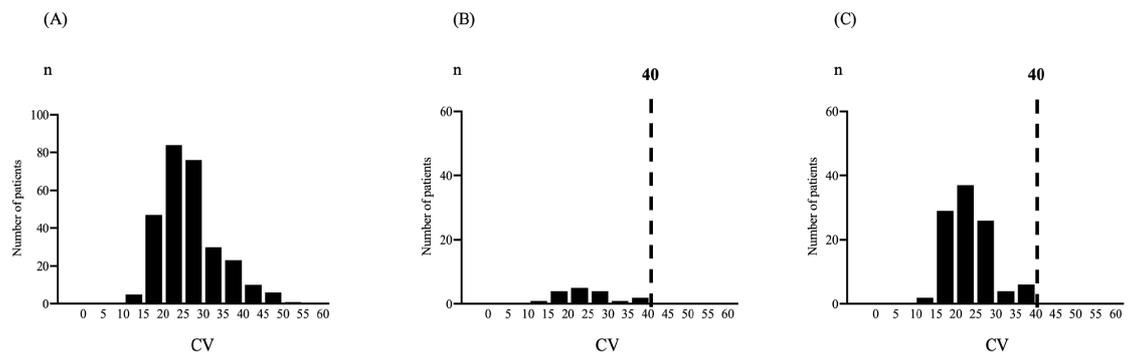


Figure 5.

対象者の CV 分布 (A) total、(B) SGV 群、(C) RSGV 群

### 4.3.3. 血糖変動の不安定性と低血糖を予測する 血糖変動係数のカットオフ値に関する検討

低血糖管理指標である  $TBR \geq 4\%$  に対する血糖変動係数 CV、SD、MAGE、および HbA1c の効果を評価するために、ROC 曲線、ROC 曲線下面積(area under the curve: AUC)および 95%信頼区間(confidence interval: CI)を構築した。全症例を対象とした ROC 曲線では、CV が AUC(0.85; 95%CI: 0.76 to 0.91)で最も優れた性能を示し(Figure 6)、低血糖予測における CV の最適カットオフ値は 40.0(感度 40%, 特異度 99%)であった。最適カットオフ値は、SD 67.5 mg/dL(AUC=0.60, 95%CI: 0.49 to 0.69)、MAGE 169.8(AUC=0.61, 95%CI: 0.50 to 0.70)、HbA1c 6.2%(AUC=0.64, 95%CI: 0.55 to 0.73)であった。以上の結果から、 $TBR \geq 4\%$  に対する最適 CV 範囲を  $CV \geq 40$  と定義した。この値は安定した血糖変動と不安定な血糖変動を分離するための CV カットオフ値と一致した。

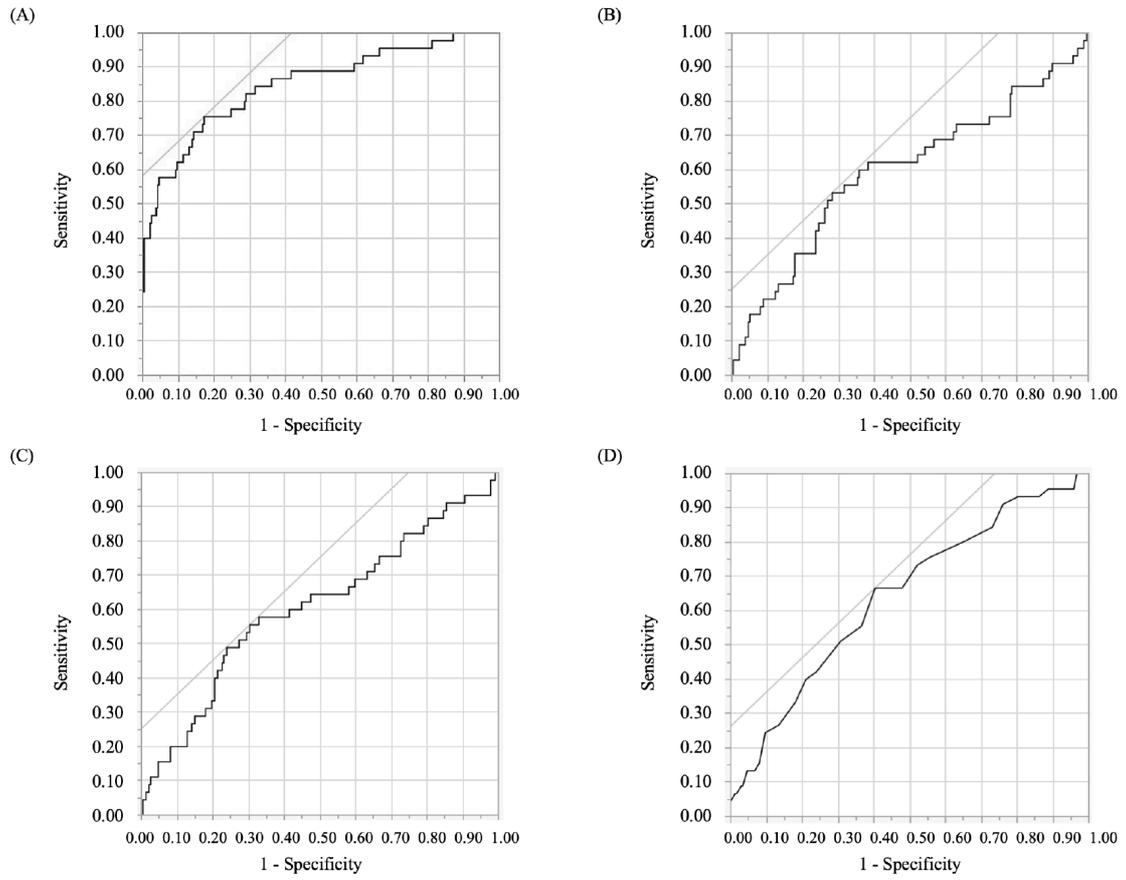


Figure 6.

TBR  $\geq 4\%$ を予測する血糖変動指標における AUC の比較 (A) CV、(B) SD、(C) MAGE、(D) HbA1c

#### 4.3.4. 低血糖と関連した血糖変動の不安定性を 予測するマーカー

すべての症例を CV カットオフ値 40 を用いて 2 群に分け、低血糖と関連した不安定な血糖変動をもつ患者背景について検討した (Table 2)。CV $\geq$ 40 群の TBR、SD および MAGE は、CV $<$ 40 群と比較して有意に高かった。TIR は CV $\geq$ 40 群では CV $<$ 40 群と比較して有意に低かった。ただし、HbA1c (7.2 vs 7.1,  $P=0.63$ )、TAR (25.3 vs 19.8,  $P=0.29$ ) には有意差はなかった。CV $\geq$ 40 群の患者背景では、CV $<$ 40 群に比べて年齢が有意に高く、糖尿病の持続期間が有意に長かった。また、CV $\geq$ 40 群では、CV $<$ 40 群に比べて BMI が有意に低く、インスリン治療率が有意に高かった。空腹時血糖値、CPI、eGFR 値は、CV $\geq$ 40 群では CV $<$ 40 群に比べて有意に低かった。単変量解析で有意差を認めた変数における多重共線性を検討するために、変数間の相関係数を算出したところ、相関係数の絶対値が 0.4 以上と比較的高かった (Table 3)。分散拡大係数 (variance inflation factor: VIF) を算出しすべての変数間において VIF 10 未満であったのを確認したので、これらの変数間には多重共線性は認められないと判断した (Table 4)。

CV と関連があるこれらの変数のうち、多重ロジスティック回帰分析を行い CPI の低下度が大きいことが CV 上昇の独立した予測マーカーであることを明らかにした (オッズ比 [odds ratio: OR] 0.17, 95%CI: 0.04 to 0.50,  $P<0.05$ )。インスリン治療の有無と eGFR も不安定な血糖変動の予測マーカーであった (OR 7.20, 95%CI: 1.44 to 36.11,  $P<0.05$ ; OR 0.96, 95%CI: 0.92 to 0.99, それぞれ  $P<0.05$ , Table 5)。

ROC 曲線から、CV カットオフ値 40 を予測する CPI の最適カットオフ値は 0.81 (AUC=0.80, 感度 65%, 特異度 80%) であった (Figure 7)。

さらに、すべての対象患者全体からインスリン治療中の症例を抽出し、同様の解析を行った (Table 6, Table 7, Figure 8)。これらの結果は、全体の結果と同様であった。このように、CPI の低下度が大きいことは CV 高値の独立した予測マーカーであり、CV40 を予測するための CPI の最適カットオフポイントは 0.81 (AUC=0.77, 感度 72%, 特異度 65%) であった。

Table 2.

CV $\geq$ 40 群と CV<40 群における患者背景の比較

	CV $\geq$ 40群	CV < 40群	<i>P</i> value
n	20	264	
Age (years)	77.5 (69.5, 85.0)	67.0 (59.0, 75.0)	< 0.05
Number of female, n (%)	9 (45.0)	114 (43.2)	1.00
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.2 (20.3, 24.5)	25.2 (22.8, 28.3)	< 0.05
Diabetes duration (years)	21 (14, 24)	14 (7, 21)	< 0.05
Diabetes treatment, n (%)			
Any insulin	18 (90.0)	102 (38.6)	< 0.05
Any sulfonylurea or glinides	7 (35.0)	100 (37.9)	1.00
Any incretin-based drugs	13 (65.0)	221 (83.7)	0.06
Any insulin sensitizers	11 (55.0)	182 (68.9)	0.22
FPG (mg/dL)	123.0 (102.0, 145.0)	137.0 (120.2, 158.8)	< 0.05
HbA1c (%)	7.2 (6.8, 7.9)	7.1 (6.7, 7.7)	0.63
CPI (ng/mL per mg/dL)	0.5 (0.2, 1.0)	1.2 (0.9, 1.8)	< 0.05
eGFR	55.4 (40.4, 70.2)	66.0 (54.9, 79.9)	< 0.05
24-h mean Glucose (mg/dL)	136.9 (119.4, 147.8)	147.0 (129.6, 166.9)	0.07
CV	44.5 (43.3, 49.1)	27.4 (23.3, 31.5)	< 0.05
SD (mg/dL)	65.3 (53.5, 72.2)	39.2 (32.8, 48.9)	< 0.05
MAGE	163.3 (136.8, 186.4)	103.1 (84.8, 129.1)	< 0.05
TBR (%)	14.0 (7.9, 20.5)	0 (0, 1.1)	< 0.05
TIR (%)	61.9 (51.9, 65.6)	78.5 (65.4, 88.0)	< 0.05
TAR (%)	25.3 (15.2, 29.1)	19.8 (9.7, 33.9)	0.29

データの結果値は中央値(四分位)または数(%)で表した。2群の患者背景因子を Mann-Whitney U 検定、または Fisher's exact 検定を用いた。

Table 3.

低血糖を含む不安定な血糖変動と関連する背景因子間の相関係数

	Age	BMI	Diabetes duration	FPG	CPI	eGFR
Age	1.00	-0.30	0.34	-0.11	-0.16	-0.49
BMI		1.00	-0.11	0.22	0.45	0.07
Diabetes duration			1.00	-0.02	-0.21	-0.30
FPG				1.00	-0.04	0.19
CPI					1.00	-0.15
eGFR						1.00

背景因子間の相関関係を検討するために Spearman rank-order correlation 検定を用いた。

Table 4.

低血糖を含む不安定な血糖変動と関連する背景因子の分散拡大係数(VIF)

	VIF
Age (years)	1.63
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	1.39
Diabetes duration (years)	1.25
Insulin treatment	1.17
FPG (mg/dL)	1.12
CPI (ng/mL per mg/dL)	1.44
eGFR	1.61

**Table 5.**

多重ロジスティック回帰分析を用いた低血糖に関連する不安定な血糖変動を予測する因子の検討

	Odds ratio	95% CI	<i>P</i> value
Age (years)	0.99	0.94 to 1.05	0.83
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.88	0.72 to 1.05	0.17
Diabetes duration (years)	1.00	0.93 to 1.06	0.97
Insulin treatment	7.2	1.44 to 36.11	< 0.05
FPG (mg/dL)	0.99	0.97 to 1.01	0.39
CPI (ng/mL per mg/dL)	0.17	0.04 to 0.50	< 0.05
eGFR	0.96	0.92 to 0.99	< 0.05

Table 6.

インスリン治療中の患者における CV $\geq$ 40 群と CV $<$ 40 群での患者背景の比較

	CV $\geq$ 40群	CV $<$ 40群	<i>P</i> value
n	18	102	
Age (years)	77.5 (68.8, 83.0)	67.0 (58.5, 74.3)	$< 0.05$
Number of female, n (%)	9 (50.0)	41 (42.3)	0.61
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.9 (19.9, 24.4)	24.8 (22.6, 28.6)	$< 0.05$
Diabetes duration (years)	22 (15, 24)	18 (13, 24)	$< 0.05$
Diabetes treatment, n (%)			
Any insulin	18 (100.0)	102 (100.0)	1.00
Any sulfonylurea or glinides	5 (27.8)	40 (40.8)	0.43
Any incretin-based drugs	11 (61.1)	81 (82.7)	0.06
Any insulin sensitizers	9 (50.0)	60 (61.2)	0.44
FPG (mg/dL)	123.0 (96.8, 146.8)	131.0 (115.8, 156.0)	0.17
HbA1c (%)	7.2 (6.8, 8.0)	7.3 (6.8, 7.8)	0.89
CPI (ng/mL per mg/dL)	0.4 (0.2, 0.9)	1.0 (0.6, 1.8)	$< 0.05$
eGFR	59.9 (44.5, 72.7)	64.6 (45.7, 80.3)	0.26
24-h mean Glucose (mg/dL)	139.2 (123.6, 150.1)	148.4 (128.6, 168.5)	0.14
CV	45.0 (43.2, 49.7)	29.8 (26.2, 33.9)	$< 0.05$
SD (mg/dL)	67.4 (53.9, 73.6)	43.4 (36.5, 53.0)	$< 0.05$
MAGE	168.2 (139.2, 187.4)	113.5 (95.2, 141.1)	$< 0.05$
TBR (%)	14.3 (8.6, 20.7)	0.6 (0, 2.5)	$< 0.05$
TIR (%)	60.7 (50.7, 64.6)	74.3 (60.7, 85.8)	$< 0.05$
TAR (%)	26.5 (16.5, 30.4)	24.4 (10.7, 36.8)	0.62

データの結果値は中央値(四分位)または数(%)で表した。2群の患者背景因子を Mann-Whitney U 検定、または Fisher's exact 検定を用いた。

Table 7.

インスリン治療中の症例における多重ロジスティック回帰分析を用いた低血糖に関連する不安定な血糖変動を予測する因子の検討

	Odds ratio	95% CI	<i>P</i> value
Age (years)	1.02	0.97 to 1.07	0.45
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.84	0.69 to 1.02	0.07
Diabetes duration (years)	0.99	0.93 to 1.06	0.81
CPI (ng/mL per mg/dL)	0.18	0.05 to 0.65	< 0.05

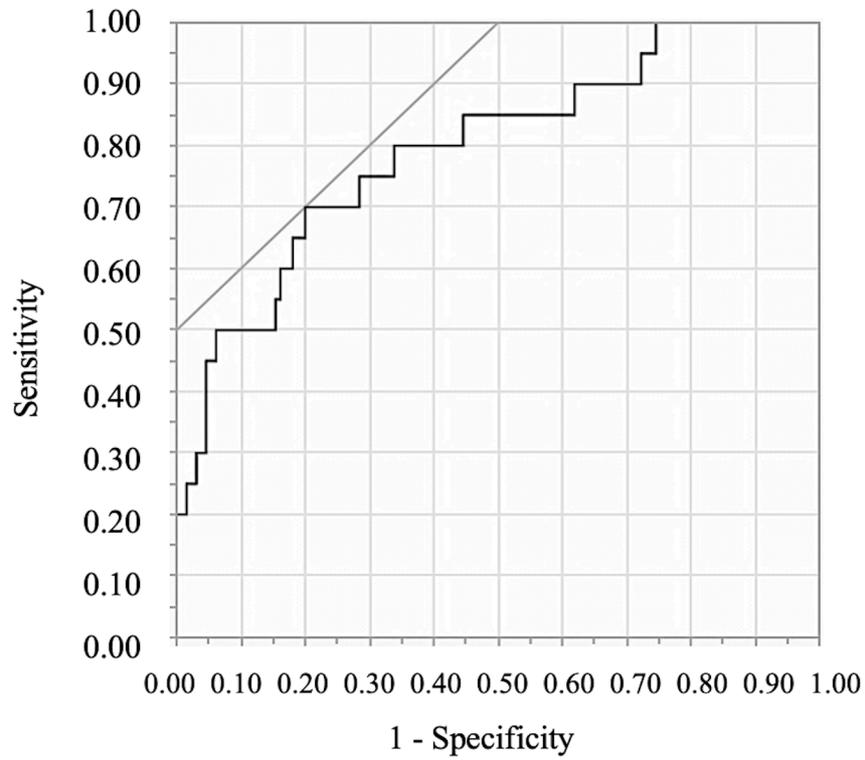


Figure7.

CV $\geq$ 40 を予測する CPI のカットオフ値を検出する ROC 分析

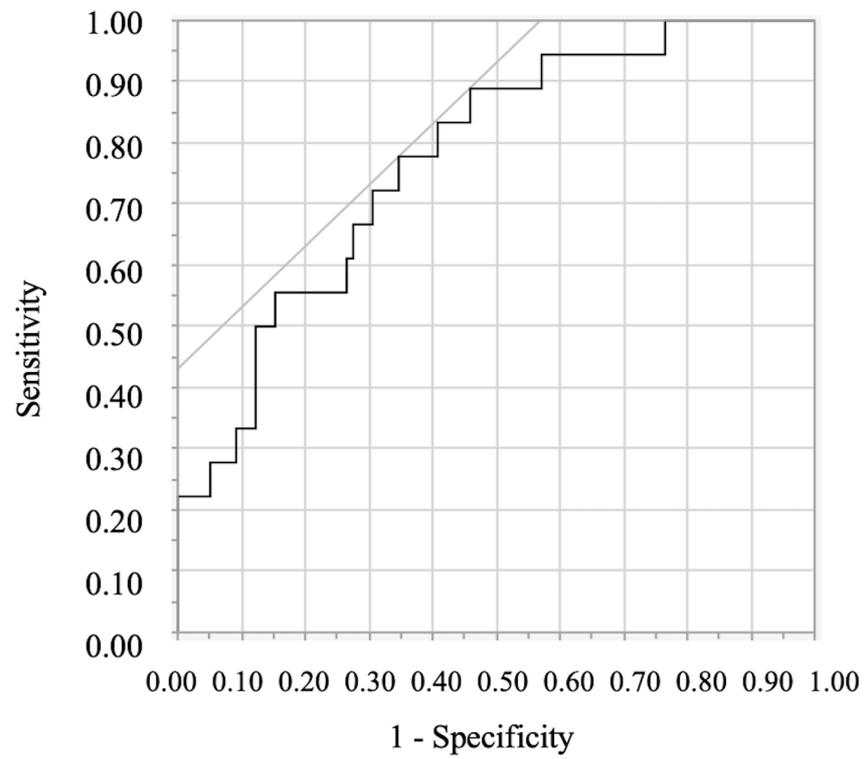


Figure 8.  
 インスリン治療中の症例における  $CV \geq 40$  を予測する CPI のカットオフ値を検出する ROC 分析

### 4.3.5. 血糖変動係数と患者背景因子の相関関係 の検討

CPR と CV の関係を視覚的に確認するために、CPR と CV の散布図を作成した。Figure 9 に示すように、CPR と CV の関係は対数化した CPR と CV の関係は直線となり CPR は CV と負の相関を示した( $\rho=-0.39$ ,  $P<0.05$ )。この散布図を用いて構築された予測曲線は、CPR が低い場合には CV が著しく増加し、CPR が高い場合には CV が低く平坦に推移することを示した。予測式は次のように推定された。

$$\text{Log}_{10} \text{CV} = -0.233 * \text{Log}_{10} (\text{空腹時 CPR} + 1) + 1.551$$

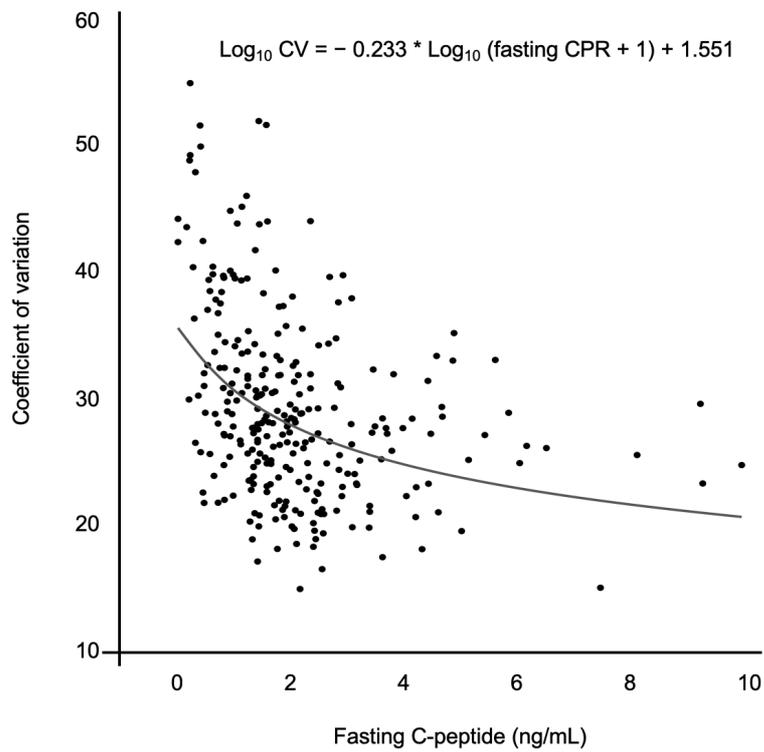


Figure 9.  
CPR と CV の散布図および予測式

### 4.3.6. 血糖変動における内因性インスリン分泌 指標の層別比較

Table 8 に示すように、CV は BMI、空腹時血糖、eGFR とも有意に負の相関を示した。さらに、CV は糖尿病の罹病期間と有意に正の相関を示した。インスリン治療中の症例の CV は、インスリン治療なしの症例に比べ有意に大きかった。CV と HbA1c や年齢などの他の因子との関連は認められなかった。重回帰分析の結果、CPR 低値は CV 高値の独立した予測マーカーであった ( $P < 0.05$ )。インスリン治療の有無と eGFR 低値も CV 高値の予測因子であった (Table 9)。

次に、284 症例を、低 CPR 群 ( $CPR < 1 \text{ ng/mL}$ ,  $n=62$ )、中 CPR 群 ( $1 \text{ ng/mL} \leq CPR < 2 \text{ ng/mL}$ ,  $n=113$ )、高 CPR 群 ( $CPR \geq 2 \text{ ng/mL}$ ,  $n=109$ ) の 3 群に分け、各群の患者背景を Table 10 に示す。年齢、BMI、糖尿病期間、糖尿病治療薬の種類、空腹時血糖は CPR と関連していた。

また血糖変動係数 (CV、SD、MAGE) と血糖管理の評価指標 (TBR、TIR、TAR) も CPR と関連していた。Figure 10 に示された各 CPR 群における平均グルコースプロファイルの通り、低 CPR 群では、中および高 CPR 群よりも血糖変動が不安定であった。Figure 11 に 3 群間の CV 分布を示す。国際的コンセンサスで不安定な血糖変動と定義される  $CV \geq 36\%$  の症例数は、中・高 CPR 群よりも低 CPR 群の方が有意に多かった。

Table 8.  
CV と患者背景の相関関係

	$\rho$	<i>P</i> value
Age	0.08	0.16
Sex (men, women) *	(27.8, 27.8)	0.97
BMI	-0.24	< 0.05
Duration of diabetes	0.24	< 0.05
Insulin use (yes, no) *	(30.6, 26.1)	< 0.05
FPG	-0.21	< 0.05
HbA1c	0.06	0.31
CPR	-0.39	< 0.05
eGFR	-0.14	< 0.05

CPR を対数変換した後、Spearman rank-order correlation 検定を用いた。

\*: Mann-Whitney 検定を用いて単変量解析を行い、各項目における CV 中央値を記した。

Table 9.

対数変換後の CV と患者背景における重回帰分析

	$\beta$	95% CI	<i>P</i> value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0.08	$-4.53 \times 10^{-3}$ to $8.15 \times 10^{-4}$	0.17
Duration of diabetes (years)	0.04	$-7.54 \times 10^{-4}$ to $1.56 \times 10^{-3}$	0.49
Insulin treatment	0.28	0.02 to 0.04	< 0.05
FPG (mg/dL)	-0.04	$-4.89 \times 10^{-4}$ to $2.12 \times 10^{-4}$	0.44
CPR (log ng/mL)	-0.28	-0.24 to -0.09	< 0.05
eGFR	-0.13	$-1.16 \times 10^{-3}$ to $-8.95 \times 10^{-5}$	0.02

Table 10.  
各 CPR 群における患者背景

	CPRの程度			P value
	低CPR群	中CPR群	高CPR群	
n	62	113	109	
Age (years)	72.0 (66.0, 78.0)	68.0 (58.5, 75.0)	66.0 (56.5, 73.5)	< 0.05
Number of women (n, %)	28 (45.2)	50 (44.3)	45 (41.3)	0.86
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.3 (20.3, 24.4)	24.8 (22.4, 26.7)	27.1 (24.7, 30.1)	< 0.05
Duration of diabetes (years)	17 (13, 24)	14 (8, 23)	11 (6, 20)	< 0.05
Diabetes treatment				
Insulin (n, %)	44 (71.0)	45 (39.8)	31 (28.4)	< 0.05
Use of any insulin sensitizer (n, %)	34 (54.8)	82 (72.6)	77 (70.6)	< 0.05
Use of any insulin secretagogue (n, %)	20 (32.3)	47 (41.6)	40 (36.7)	0.41
FPG (mg/dL)	128.0 (106.8, 147.5)	137.0 (118.5, 153.0)	144.0 (125.0, 166.5)	< 0.05
HbA1c (%)	7.2 (6.7, 7.8)	7.1 (6.6, 7.7)	7.1 (6.8, 7.8)	0.41
eGFR	66.0 (52.8, 76.8)	67.0 (55.7, 82.4)	64.0 (44.9, 79.4)	0.25
24-h mean Glucose (mg/dL)	147.1 (134.0, 168.5)	141.9 (127.4, 157.7)	148.6 (126.1, 168.5)	0.29
CV	32.8 (27.7, 39.4)	27.8 (24.5, 32.0)	25.9 (21.9, 29.0)	< 0.05
CV ≥ 36 (n, %)	26 (41.9)	16 (14.2)	5 (4.6)	< 0.05
SD (mg/dL)	50.0 (41.5, 63.7)	39.1 (33.4, 47.4)	38.0 (31.2, 48.8)	< 0.05
MAGE	131.6 (103.8, 156.9)	102.7 (85.0, 130.0)	96.8 (77.6, 127.5)	< 0.05
TBR ≥ 4% (n, %)	17 (27.4)	17 (15.0)	11 (10.1)	< 0.05
TIR ≤ 70% (n, %)	33 (53.2)	33 (29.2)	35 (32.1)	< 0.05
TAR ≥ 25% (n, %)	33 (53.2)	34 (30.1)	48 (44.0)	< 0.05

データの結果値は中央値(四分位)または数(%)で表した。3群の患者背景因子を1元配置分散分析、 $\chi^2$ 検定、または必要に応じてKruskal-Wallis検定を用いて比較した。

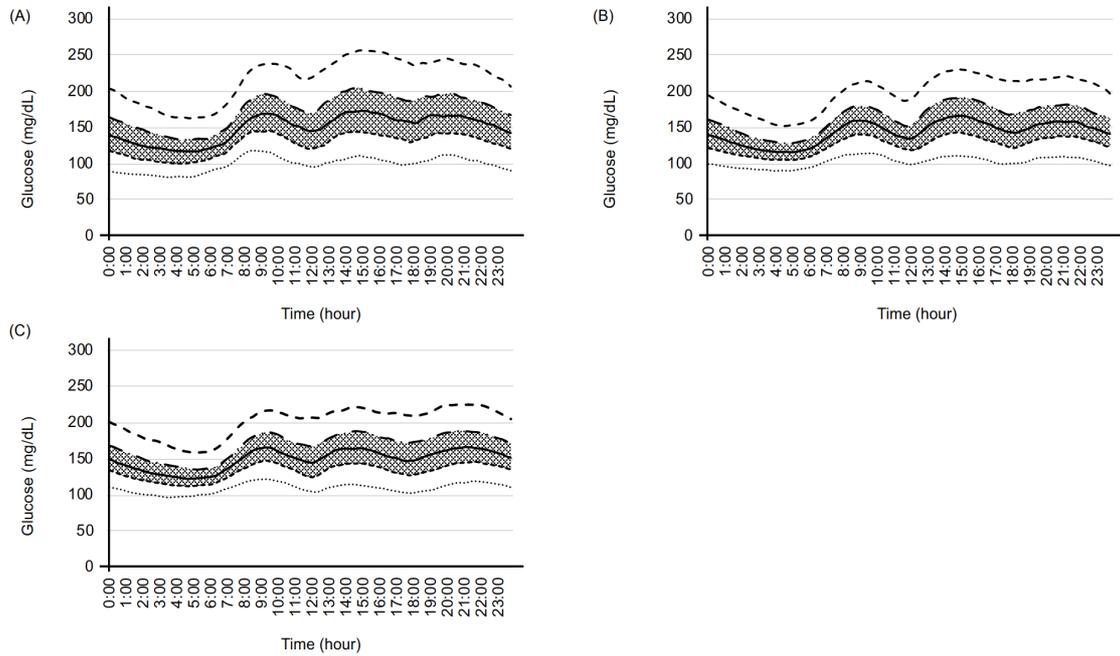


Figure 10.

各 CPR 群における平均グルコースプロファイル (A)低 CPR 群、(B)中 CPR 群、(C)高 CPR 群

曲線はそれぞれ 10%値(細点線)、25%値(点線)、中央値(実線)、75%値(破線)、90%値(太点線)を示す。

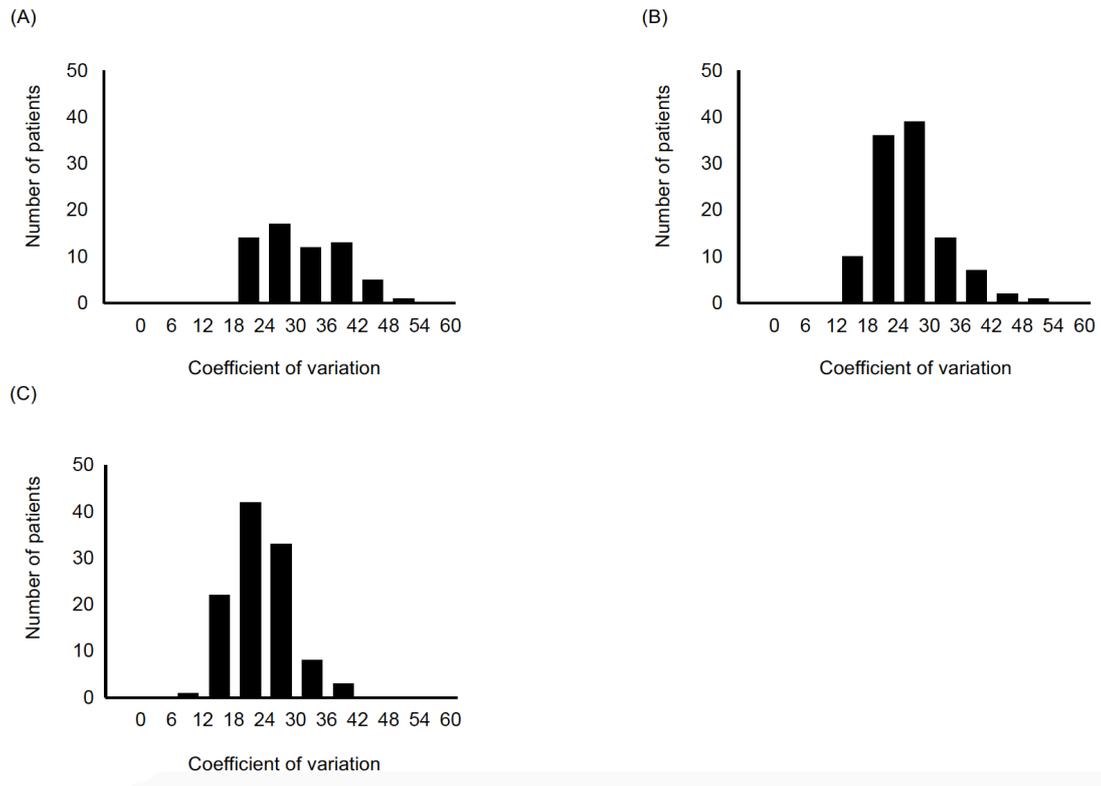


Figure 11.  
 各 CPR 群における CV 分布(A)低 CPR 群、(B)中 CPR 群、(C)高 CPR 群

#### 4.3.7. インスリン治療の有無が血糖変動係数と血清 C ペプチドとの関係性に与える影響

すべての対象患者を、インスリン治療あり群(n=120)、なし群(n=164)に分類した。次に、2群について、CPR 対 CV の散布図と予測曲線を作成した。

Figure 12 に示すように、対数化した CPR と CV の関係はインスリン治療の有無を問わず直線となり CPR は CV と負の相関を示した。予測曲線は CPR が低い場合に CV の著しい増加を示した。CV は CPR と有意に負の相関を示し、相関はインスリン治療あり群でより強くなった(インスリン治療あり群:  $\rho=-0.47$ ,  $P<0.05$ ; なし群:  $\rho=-0.19$ ,  $P<0.05$ , Figure 12)。

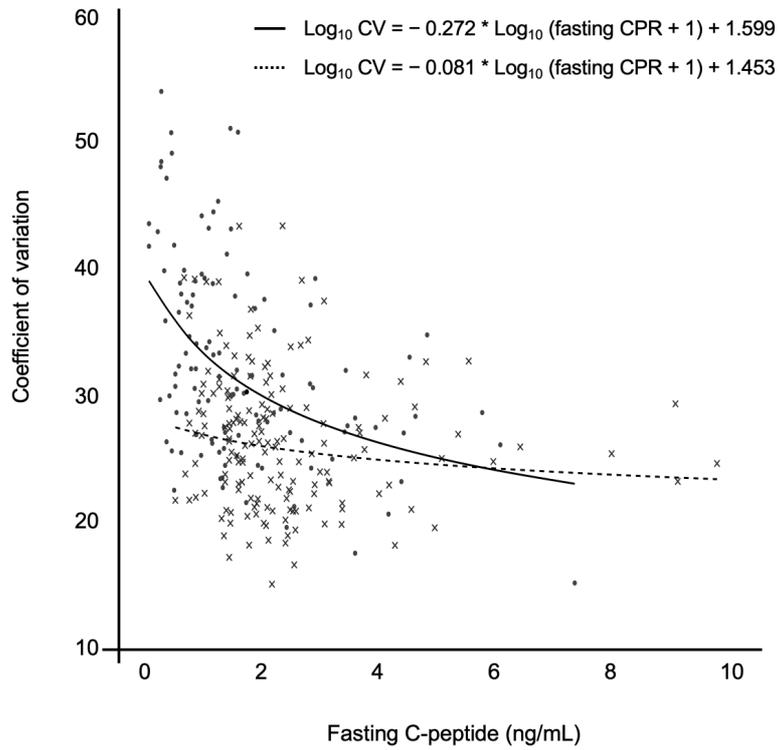


Figure 12.

インスリン治療の有無における CPR と CV の散布図および予測式  
 インスリン治療あり群(120 症例, 散布図:黒丸, 予測式:実線)、なし群(164  
 症例, 散布図:×印, 予測式:破線)

#### 4.3.8. インスリン治療の内容が血糖変動係数と血清 C ペプチドとの関係性に与える影響

インスリン治療中の症例を、Basal-only regimen 群(n=65)と Basal-bolus regimen 群(n=55)に分類したところ、インスリンレジメンにかかわらず、CV は CPR と有意に負の相関を示した(Basal-only regimen 群:  $\rho=-0.42$ ,  $P<0.05$ ; Basal-bolus regimen 群:  $\rho=-0.50$ ,  $P<0.05$ , Figure 13)。CPR とインスリン注射回数または 1 日の総インスリン量との間には関係はなかった(Table 11)。これらの結果から、インスリン治療の有無やその内容が CPR と CV の関連を修飾しないことを示唆された。

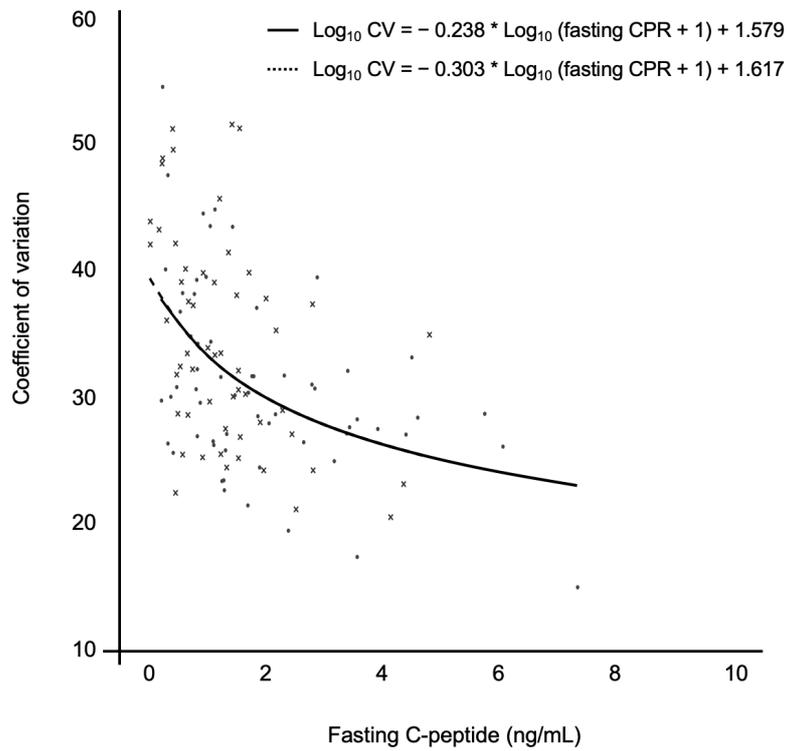


Figure 13.

インスリン治療中の症例における注射レジメン別の CPR と CV の散布図  
および予測式

Basal-only regimen 群(65 症例, 散布図:黒丸, 予測式:実線)、Basal-bolus  
regimen 群(55 症例, 散布図: ×印, 予測式:破線)

Table 11.

各 CPR 群におけるインスリン注射治療の内容の比較

	CPRの程度			P value
	低CPR群	中CPR群	高CPR群	
n	44	45	31	
注射回数	1 (1, 4)	1 (1, 2)	1 (1, 1)	0.14
Basal-only, n (%)	20 (45.5)	24 (52.2)	21 (70.0)	0.08
Basal-bolus, n (%)	24 (54.5)	22 (47.8)	9 (30.0)	0.08
総インスリン単位数/kg/day	0.3 (0.2, 0.5)	0.3 (0.2, 0.4)	0.2 (0.1, 0.4)	0.06

データの結果値は中央値(四分位)または数(%)で表した。3群の患者背景因子を1元配置分散分析、 $\chi^2$ 検定、または必要に応じてKruskal-Wallis検定を用いて比較した。

### 4.3.9. 有害事象

本研究において、CGM センサー装着部位の接触性皮膚炎が原因で、1 症例が CGM を装着直後に CGM を中止した。CGM 装着者の 5.5%に接触性皮膚炎が見られる既報がある(Pyl et al., 2020)。センサー装着部位のイソボルニルアクリレートによるアレルギー性接触皮膚炎が原因と推測されており、発症した場合はセンサーを抜去することが望ましい。本症例の有害事象は中等度でありセンサーを直ちに中止した後に改善を認めており、適切に対応した。

## 4.4. 考察

本研究は、日本人 2 型糖尿病外来患者を対象に CGM を実施した横断研究であり、我々は不安定な血糖変動および  $TBR \geq 4\%$  に対応する CV カットオフ値を検討した。日本人 2 型糖尿病外来患者の安定した血糖変動を示す CV カットオフ値は 40 と定義し、国際的コンセンサスで推奨されている CV カットオフ値 36 よりも高いことを示した。2 型糖尿病における血糖変動の安定性には空腹時内因性インスリン分泌が影響していることを明らかにした。

内因性インスリン分泌と血糖変動との関係を検討したところ、対数化した空腹時 CPR と CV の関係は血糖管理状況や糖尿病治療薬を問わず直線となり、内因性インスリン分泌が低下している症例では CV が高いことを明らかにした。これらの所見は、内因性インスリン分泌の血糖変動に対する寄与度は、内因性インスリン分泌が低下している症例と保持されている症例では異なるという我々の仮説と一致した。したがって、血糖管理状況や糖尿病治療薬を問わず、CPR は血糖変動の予測マーカーとなりうることを証明した。

CGM を用いて、1 型または 2 型糖尿病患者に潜在する低血糖リスクを同定するには、CV が最も優れた血糖変動マーカーであることはすでに報告されている(Danne et al., 2017; Gomez et al., 2019)。SD と MAGE も血糖変動マーカーとして汎用されているが、既報で考察されているようにこれらは血糖値の絶対値で算出されるため高血糖の影響を受けやすい(Kovatchev, 2017; Jin et al., 2014)。本研究においても CV は SD、MAGE、HbA1c と比較して、低血糖と関連した不安定な血糖変動を予測していた。

本研究では、国際的コンセンサス CV36 を定めた既報の患者集団(Monnier et al., 2017)と比較し同程度の HbA1c および平均血糖値を示す症例を対象にしたが、日本人 2 型糖尿病外来患者の安定した血糖変動に対する CV カットオフ値 40 は CV36 よりも高値であった。TBR の増加が CV の増加と関連していることはすでに示されているが(Rodbard, 2020; Torimoto et al., 2018)、 $TBR \geq 4\%$  に相当する CV カットオフ値は現在まで不明であった。本研究では、 $TBR \geq 4\%$  に相当する CV カットオフ値が、安定した血糖変動を呈する集団の CV 分布の上限値と一致していた。この結果から、日本人 2 型糖尿病外来患者の不安定な血糖変動は低血糖と関連していることが示唆された。

我々は、この低血糖と関連した不安定な血糖変動にはインスリン分泌障害が関連しているのではないかと仮説を立てた。この仮説を検討するために、CV40 を基準に全症例を 2 群に層別化したところ、CPI の低下が低血糖と関連した不安定な血糖変動と有意に関連していることが明らかになり、CPI の低下

度が大きいことは多重ロジスティック回帰分析に基づいた不安定な血糖変動に対する独立した予測マーカーであった。

CPIに加えて、インスリン治療と eGFR 低値も不安定な血糖変動を予測するマーカーであった。一般的に、インスリン治療中の症例は薬剤性低血糖症のリスクが高い(Ben-Ami et al., 1999)。そして慢性腎臓病は、薬物代謝の変化、栄養状態の悪化、腎臓での糖新生の低下により、低血糖症のリスクとなる(Alsahli and Gerich, 2014)。

低血糖に関連した不安定な血糖変動を予測する CPI のカットオフ値は 0.81 であった。低血糖状態においては膵β細胞からのインスリン分泌が抑制されα細胞からのグルカゴン分泌が増加するが(カウンターレギュレーション)、糖尿病では低血糖時のインスリン分泌抑制反応が低下しグルカゴン分泌も増加しない。インスリン分泌が高度に低下している症例では、低血糖に対するこのようなカウンターレギュレーションの障害があり、血糖変動は不安定になり低血糖リスクも高いことが知られている(Murao et al., 2016; Lachin et al., 2014; Fukuda et al., 1988)。本研究の結果から、枯渇はしていないが比較的インスリン分泌が低下している症例においても、血糖変動が不安定になり低血糖リスクが高い可能性がある。

CPI は空腹時血液検査で簡単に検査できる指標である。CPI カットオフ値 0.81 は、CGM の代わりに、低血糖症のリスクが高い症例を抽出するのに役立つ可能性がある。日常臨床において医療スタッフがこのカットオフ値を活用し、無自覚性も含む低血糖症が潜在する 2 型糖尿病症例を抽出できると期待する。

次に我々は、空腹時 CPR は血糖変動の不安定性を予測するマーカーであることを重回帰分析を用いて示した。しかし、これまでには相反する知見が報告されている。CGM を実施された 2 型糖尿病患者 53 症例を対象とした後方視的研究では、空腹時 CPR と CV の間に相関は認められなかった(Crăciun, 2018)。また、インスリン治療なしの 59 症例を対象とした横断研究では、空腹時内因性インスリン分泌は MAGE に寄与しないが、グルコース負荷後のインスリン分泌は MAGE に寄与することが示された(Kohnert et al., 2009)。これらの研究では、平均 CPR が 2.7 ng/mL 以上の内因性インスリン分泌が保持された症例が対象になっていた。一方、本研究では、CPR 中央値が 1.7 ng/mL と比較的內因性インスリン分泌が低下した症例を対象に CPR と血糖変動との関係性を評価した。既報と本研究の結果を合わせて考えると、高度に内因性インスリン分泌が低下した症例を含む 2 型糖尿病患者において、内因性インスリン分泌が血糖変動の独立した予測マーカーであることが推測された。過去に、本研究と同様に比較的高度な内因性インスリン分泌障害を有する日本人糖尿病患者

者 208 症例を対象にした横断研究があり (Ohara et al., 2019)、空腹時 CPR と GV との間に相関関係は認められなかった。しかし、この横断研究では入院患者と外来患者の両方が対象となっていたため、血糖変動に対する結果が本研究と異なった可能性がある。高血糖治療のために入院した 2 型糖尿病患者を対象に行われた別の既報では、インスリン治療中の症例では空腹時 CPR と血糖変動が相関していたが、インスリン治療なしの症例では相関は認められなかった (Jin et al., 2014; Christensen et al., 2020)。我々の研究では、高血糖患者だけでなく良好な血糖管理がなされている外来患者も対象としたため、インスリン治療の有無や注射薬の内容が CPR と CV の関係性に影響を与えないことを示すことができた。

本研究ではインスリン治療中の症例の CV は、インスリン治療なしの症例と比較して高値であった。このことから、インスリン治療中の症例で CPR が低い場合は、積極的に CGM を用いて血糖変動の不安定性を検索することを我々は推奨する。

内因性インスリン分泌が保持されている症例では、内因性インスリン分泌と血糖変動との関連は弱く、内因性インスリン分泌以外の患者背景因子が血糖変動に影響している可能性が考えられた。

CPR は空腹時採血で簡単に測定することができ、2 型糖尿病における低血糖と関連する不安定な血糖変動を予測しうる。日常診療において、血糖変動の改善を目指す時は患者の CPR 値を知ることが重要であり、CPR を温存させるような治療介入が血糖変動を改善させ、糖尿病合併症の発症・進行を予防する可能性がある。

この研究にはいくつかの限界がある。第一に、日本の 2 型糖尿病患者のインスリン分泌は欧米の患者に比べて低く (Funakoshi et al., 2011)、本研究に参加した 284 症例は、世界の 2 型糖尿病患者集団を反映していない可能性がある。ただし、研究開始時の年齢と HbA1c の中央値は、日本人の一般的な糖尿病患者背景と近似していた (Japan Diabetes Clinical Data Management Study Group: JDDM <http://jddm.jp/>)。第二に、本研究で得られた知見は、同定されたカットオフ値も含めて、無作為に抽出したサンプルを用いたプロスペクティブな研究で検証する必要がある。未測定因子が結果に影響する可能性についても否定できないため検証にはランダム化試験が必要であり今後の検討課題となる。第三に、CGM 精度、特に低血糖状態における精度の信頼性に関して限界がある可能性がある。しかしセンサーを装着した最初と最後の日のデータを除外することで、これらの不正確さを最小限に抑えることを目指した。第四に、TBR に対する CV の感度は比較的 low、尤度比は 40 であった。CV カットオフ値 40 が高い特異度で低血糖を予測するという我々の知見は、この CV カッ

トオフ値が低血糖リスクの高い症例を確実に識別するのに役立つことを意味する。**TBR** に対する **CV** の感度を高めるには、**CV** を他の患者背景と組み合わせて統計学的検討を行う必要があるため、**TBR** に関連する複数の患者背景を検討することが今後の課題である。

今回の検討により、日本人の 2 型糖尿病外来患者において **CV40** は、安定した血糖変動と、低血糖と関連した不安定な血糖変動を区別するカットオフ値であることを明らかにした。日本人 2 型糖尿病患者の特徴であるインスリン分泌障害は、**HbA1c** や糖尿病治療の種類を問わず、低血糖と関連した不安定な血糖変動に寄与している。対数化した **CPR** と **CV** の関係は直線となり、内因性インスリン分泌は、低血糖と関連した不安定な血糖変動のリスクが高い症例を特定する有用なマーカーとなりうる。

— 第 2 章 —

2 型糖尿病患者の内因性インスリン分泌が  
SGLT2 阻害薬と DPP-4 阻害薬の投与  
による血糖変動改善効果に与える影響

## 5.1. 緒言

近年、血糖変動の増大が、低血糖や合併症の発症・進展と関連するという報告が散見されるようになり、糖尿病の薬物治療においてもいかに血糖変動幅を小さくして良好な血糖コントロールを維持できるかに注目が集まっている。我々は第1章で2型糖尿病の不安定な血糖変動に内因性インスリン分泌障害が影響を及ぼすことを明らかにした。この結果から、糖尿病治療薬における血糖変動改善効果も、内因性インスリン分泌と関連がある可能性が考えられた。この関連を検証するため、本章では当教室の曹らが発表した臨床研究 CALMER 試験(Cho et al., 2020)の二次解析を行った。この試験で対象となった2型糖尿病患者を、内因性インスリン分泌の程度によって層別化し、DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬の併用療法が血糖変動を改善させる効果について、DPP-4 阻害薬から SGLT2 阻害薬に切り替えた場合と比較して検討した。

## 5.2. 方法

### 5.2.1. 対象

対象者は 20～80 歳の日本人 2 型糖尿病患者で、HbA1c 6.5～9.0%、BMI 23 kg/m<sup>2</sup> 以上、eGFR 45 mL/min/1.73m<sup>2</sup> 以上で、テネリグリプチン 20 mg/日を 12 週間以上服用していた症例である。除外基準は、1 型糖尿病患者、過去 6 ヶ月以内に重症ケトosis、糖尿病昏睡または前昏睡のある症例、妊婦または妊娠している可能性のある婦人および授乳中の症例、重篤な肝機能障害や腎機能障害のある症例、カナグリフロジン、テネリグリプチン、カナグリフロジン/テネリグリプチン配合錠の成分に対して過敏症の既往歴がある症例、重症感染症、重篤な外傷がある症例、手術前後の症例、食事療法を明らかに遵守できない症例、その他担当医師が不適切と判断した症例とした。

### 5.2.2. 研究プロトコール

本試験は、CGM と食事負荷試験(テストミール)を用いて多施設(10 施設)の前向き非盲検並行群間無作為化比較研究を行なった CALMER 試験の二次解析である。中央登録方式で、対象者をテネリグリプチン(20mg/日)からカナグリフロジン(100mg/日)に切り替える群(SWITCH 群)、またはテネリグリプチン(20mg/日)にカナグリフロジン(100mg/日)を追加する群(COMB 群)に無作為に割り付けた。割付因子は年齢(中央値 65 歳)、BMI(中央値 25kg/m<sup>2</sup>)、HbA1c(中央値 7.5%)、eGFR(中央値 80 mL/min/1.73m<sup>2</sup>)とした。

同意取得後 1 回目の受診(ベースライン)にて一晩絶食した後に空腹時採血を行い CGM を装着した。対象者は最大 14 日間連続して CGM を実施した。1 回目の食事負荷試験(夕食・翌日朝食・昼食・夕食の計 4 食)は、対象者が CGM 装着後 2 日目から 4 日目にテネリグリプチン(20mg/日)を服用した状況で実施した。その後各群で、テネリグリプチン(20mg/日)の代わりに割り当てられた薬剤(カナグリフロジン(100mg/日)またはカナグリフロジン 100mg/テネリグリプチン 20mg 配合錠)が開始された。CGM 装着後 7 日目に、同一の食事負荷試験(2 回目の食事負荷試験)を実施した。主要評価項目は薬剤変更前(1 回目)および変更後(2 回目)の食事負荷試験における MAGE の変化量である。副次評価項目として、薬剤変更前後の空腹時血糖、BMI、24 時間平均血糖値の変化を比較評価した。

本試験は、大学病院医療情報ネットワーク(UMIN)センターに登録した(登録番号 UMIN000029628)。研究計画書は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認を得ている。

なお、両群ともほかに糖尿病治療薬を使用している場合は、原則として投与量の変更を行わないこととするが、低血糖のリスクが懸念される時には、インスリン注射薬・インスリン分泌促進薬を適宜減量可能とした。

### 5.2.3. 目標症例数の設定

2型糖尿病患者におけるカナグリフロジン/テネリグリプチン配合錠投与による血糖変動への効果をCGMにて検討した詳細な報告は現時点で認められていない。本研究においてカナグリフロジン 100mg 投与とカナグリフロジン 100mg/テネリグリプチン 20mg 配合錠投与によるMAGEの変化量を検討するにあたり、カナグリフロジン 100mg をインスリン治療中の2型糖尿病患者に使用しMAGEを評価した臨床研究を参考とした(Matsumura et al., 2017)。同研究では、インスリン治療中の2型糖尿病患者 15 症例に対しカナグリフロジン 100mg 上乗せ前後でのCGMによるMAGEを評価し各々89.2mg/dL、74.9mg/dLであった。また、当施設においてインスリン治療中の2型糖尿病患者 14 症例に対し使用中のDPP-4阻害薬をカナグリフロジン 100mg の同効薬ダバグリフロジン 5mg に切り替えた研究では(Nomoto et al., 2017)、切替え前後でのCGMによりMAGEは、各々 $86.0 \pm 29.4$ mg/dL、 $91.0 \pm 34.2$ mg/dLであり有意差を認めなかった。これらのことを参考に、本研究においてカナグリフロジン 100mg 単剤とカナグリフロジン 100mg/テネリグリプチン 20mg 配合錠のMAGEの差を19.3mg/dL、平均分散から標準偏差を31.9mg/dLと仮定し、対応のないt検定による群間比較を行った。検出力80%、両側有意水準5%の下では1群44症例が必要であり、脱落例を10%と考慮すると1群49症例、両群合計で98症例を目標症例数とした。

### 5.2.4. 血液生化学分析

一晩以上絶食後に血液を採取し、血糖、CPR、HbA1cを測定した。これらの項目は、標準的な手法を用いて測定した。その他、年齢、性別、糖尿病治療薬、病歴などのデータは主治医が質問紙を用いて収集した。

## 5.2.5. 統計学的解析

すべての対象者は、上述のように SWITCH 群または COMB 群の 2 群に分類され、ベースラインの空腹時 CPR の中央値 1.9ng/mL で層別化された。つまり、低 CPR(<1.9)+SWITCH 群、低 CPR(<1.9)+COMB 群、高 CPR( $\geq$ 1.9)+SWITCH 群、または高 CPR( $\geq$ 1.9)+COMB 群の 4 群に分類した。4 群の患者背景を 1 元配置分散分析、 $\chi^2$  検定、または必要に応じて Kruskal-Wallis 検定を用いて比較した。薬剤変更前(1 回目)および変更後(2 回目)の食事負荷試験における各群の血糖変動指標 MAGE を対応のある t 検定を用いて比較した。その変化量  $\Delta$ MAGE を 4 群間で比較するため共分散分析を用いた後、多重ポストホック比較のために Tukey's honest significant difference 検定を行った。すべての検定は両側検定であり、 $P < 0.05$  を統計的に有意であるとした。統計解析は、JMP Pro 14.0.0 software(SAS Inc., Cary, NC, USA)を用いた。

## 5.3. 結果

### 5.3.1. 患者背景

101名の対象者のうち、2症例が研究開始前に同意を撤回した。4症例はCPRのデータが不足していたために除外され、95症例(女性36名)が試験を終了した。対象者は低CPR+SWITCH群(n=25)、低CPR+COMB群(n=22)、高CPR+SWITCH群(n=22)、高CPR+COMB群(n=26)の4群に分類された。全体および各群の特徴をTable 12に示す。BMI、インスリン分泌促進薬の使用率、および空腹時血糖は、4群間で異なっていた。

Table 12.

## 4 群間の患者背景

	Total	低CPR+SWITCH群	低CPR+COMB群	高CPR+SWITCH群	高CPR+COMB群	<i>P</i> value
n	95	25	22	22	26	
Age (years)	65.0 (56.0, 69.0)	67.0 (59.0, 69.5)	65.0 (54.5, 68.8)	59.0 (53.8, 67.0)	65.5 (56.8, 71.0)	0.26
Number of female. n (%)	36 (37.9)	10 (40.0)	7 (31.8)	10 (45.5)	9 (34.6)	0.79
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.1 (23.3, 28.1)	24.1 (22.7, 26.7)	25.0 (23.0, 26.2)	28.4 (25.8, 31.0)	26.9 (24.8, 29.0)	< 0.05
Diabetes treatment, n (%)						
Biguanide	63 (66.3)	18 (72.0)	15 (68.2)	14 (63.6)	16 (61.5)	0.87
Insulinotropic agent	33 (34.7)	16 (64.0)	7 (31.8)	1 (4.6)	9 (34.6)	< 0.05
Pioglitazone	4 (4.2)	1 (4.0)	1 (4.6)	0 (0)	2 (7.7)	0.62
$\alpha$ -glucosidase inhibitor	5 (5.3)	3 (12.0)	2 (9.1)	0 (0)	0 (0)	0.13
Insulin use	13 (13.7)	4 (16.0)	6 (27.3)	2 (9.1)	1 (3.9)	0.11
FPG (mg/dL)	148.6 $\pm$ 27.7	138.6 $\pm$ 23.7	143.1 $\pm$ 29.0	161.9 $\pm$ 33.1	151.6 $\pm$ 20.9	< 0.05
HbA1c (%)	7.3 $\pm$ 0.5	7.2 $\pm$ 0.4	7.3 $\pm$ 0.5	7.3 $\pm$ 0.5	7.4 $\pm$ 0.7	0.71
CPR (ng/mL)	1.9 (1.3, 2.6)	1.3 (1.1, 1.7)	1.2 (1.0, 1.6)	2.9 (2.2, 3.6)	2.4 (2.2, 2.8)	< 0.05

データの結果値は平均値 $\pm$ SD、中央値(四分位)または数(%)で表した。4群の患者背景因子を1元配置分散分析、 $\chi^2$ 検定、Kruskal-Wallis検定を用いて比較した。

## 5.3.2. 試験結果

薬剤変更前(1回目)と変更後(2回目)の食事負荷試験における MAGE の変化を 4 群間で比較した結果を Figure 14 に示した。低 CPR+COMB 群、高 CPR+SWITCH 群、高 CPR+COMB 群では、2 回目の食事負荷試験の MAGE が 1 回目に比べて有意に低下していた。しかし、低 CPR+SWITCH 群では 2 回目の食事負荷試験の MAGE に変化はなかった(Table 13)。また、高 CPR+COMB 群の  $\Delta$ MAGE は低 CPR+SWITCH 群に比べて有意に大きかった( $-29.2 \pm 28.3$  vs.  $-2.5 \pm 28.8$ ;  $P < 0.05$ )。空腹時血糖と CGM を用いて推定した 24 時間平均血糖値も同様の変化を示した(Table 14、Table 15)。2 回目の食事負荷試験の体重は、各群で 1 回目の食事負荷試験時よりも有意に低かったが、平均体重変化量は、4 群間で差がなかった(Table 16)。

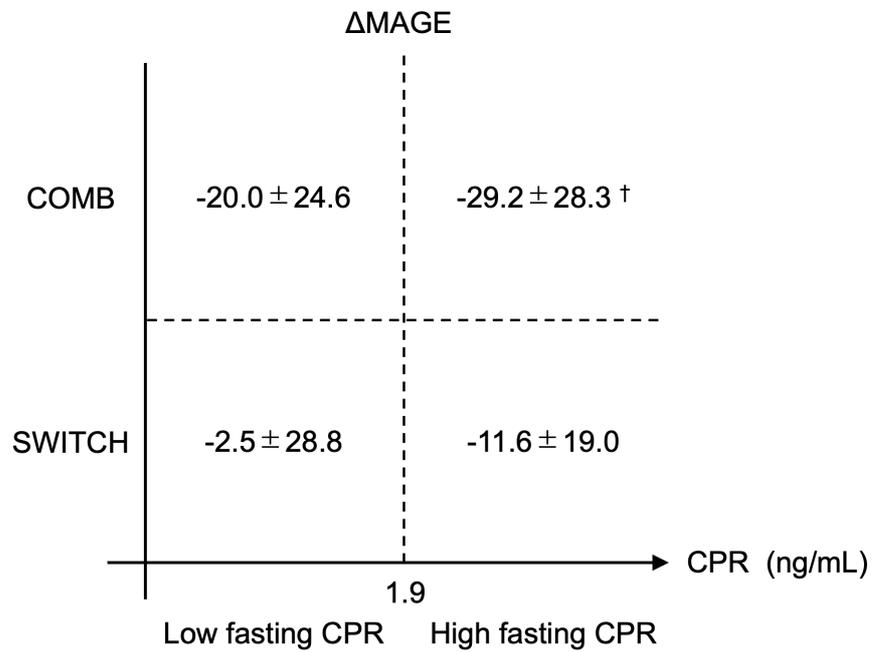


Figure 14.

食事負荷試験における  $\Delta$ MAGE の 4 群比較

データの結果値は平均値  $\pm$  SD で表した。4 群間の  $\Delta$ MAGE に関して共分散分析を用いた後、多重ポストホック比較のために Tukey's honest significant difference 検定を行い比較した。

†:  $P < 0.05$  vs. 低 CPR + SWITCH 群

Table 13.

薬剤変更前後の食事負荷試験における MAGE の変化

	1回目食事負荷試験	2回目食事負荷試験	$\Delta$ MAGE
低CPR+SWITCH群	115.7 $\pm$ 32.7	113.1 $\pm$ 28.9	-2.5 $\pm$ 28.8
低CPR+COMB群	118.2 $\pm$ 35.2	98.2 $\pm$ 30.3 *	-20.0 $\pm$ 24.6
高CPR+SWITCH群	107.9 $\pm$ 27.7	96.3 $\pm$ 24.3 *	-11.6 $\pm$ 19.0
高CPR+COMB群	116.1 $\pm$ 40.7	86.9 $\pm$ 26.3 *	-29.2 $\pm$ 28.3 †

データの結果値は平均値 $\pm$ SD で表した。各群の MAGE を対応のある t 検定を用いて比較した。4 群間の  $\Delta$ MAGE に関して共分散分析を用いた後 Tukey's honest significant difference 検定を行い比較した。

\*:  $P < 0.05$  vs. 薬剤変更前の食事負荷試験

†:  $P < 0.05$  vs. 低 CPR+SWITCH 群の  $\Delta$ MAGE

Table 14.

薬剤変更前後の食事負荷試験における空腹時血糖の変化

	1回目食事負荷試験	2回目食事負荷試験	$\Delta$ 空腹時血糖
低CPR+SWITCH群	138.6 $\pm$ 23.7	131.0 $\pm$ 14.3	-8.0 $\pm$ 20.4
低CPR+COMB群	143.1 $\pm$ 29.0	122.5 $\pm$ 27.4 *	-20.6 $\pm$ 19.9
高CPR+SWITCH群	161.9 $\pm$ 33.1	152.7 $\pm$ 41.4	-9.2 $\pm$ 48.7
高CPR+COMB群	151.6 $\pm$ 20.9	133.9 $\pm$ 20.7 *	-17.7 $\pm$ 20.0

データの結果値は平均値 $\pm$ SD で表した。各群の空腹時血糖を対応のある t 検定を用いて比較した。4 群間の  $\Delta$  空腹時血糖に関して共分散分析を用いた後 Tukey's honest significant difference 検定を行い比較した。

\*:  $P < 0.05$  vs. 薬剤変更前の食事負荷試験

Table 15.

薬剤変更前後の食事負荷試験における 24 時間平均血糖値の変化

	1回目食事負荷試験	2回目食事負荷試験	$\Delta$ 24時間平均血糖
低CPR+SWITCH群	143.8 $\pm$ 26.2	133.2 $\pm$ 19.8 *	-10.5 $\pm$ 16.9
低CPR+COMB群	136.6 $\pm$ 28.3	112.5 $\pm$ 26.0 *	-24.2 $\pm$ 16.1 <sup>†‡</sup>
高CPR+SWITCH群	149.8 $\pm$ 26.2	140.1 $\pm$ 25.4 *	-9.8 $\pm$ 19.2
高CPR+COMB群	148.6 $\pm$ 28.3	125.4 $\pm$ 22.9 *	-23.3 $\pm$ 17.0 <sup>†‡</sup>

データの結果値は平均値 $\pm$ SD で表した。各群の 24 時間平均血糖値を対応のある t 検定を用いて比較した。4 群間の  $\Delta$ 24 時間平均血糖値に関して共分散分析を用いた後 Tukey's honest significant difference 検定を行い比較した。

\*:  $P < 0.05$  vs. 薬剤変更前の食事負荷試験

<sup>†</sup>:  $P < 0.05$  vs. 低 CPR+SWITCH 群の  $\Delta$ 24 時間平均血糖値

<sup>‡</sup>:  $P < 0.05$  vs. 高 CPR+SWITCH 群の  $\Delta$ 24 時間平均血糖値

Table 16.

薬剤変更前後の食事負荷試験における体重の変化

	1回目食事負荷試験	2回目食事負荷試験	$\Delta$ 体重
低CPR+SWITCH群	64.7 (58.0, 70.2)	63.7 (57.4, 69.9) *	-1.5 $\pm$ 1.3
低CPR+COMB群	65.1 (60.9, 72.8)	63.5 (58.8, 71.1) *	-1.7 $\pm$ 1.0
高CPR+SWITCH群	73.6 (64.2, 85.0)	71.1 (61.5, 83.8) *	-1.9 $\pm$ 1.2
高CPR+COMB群	70.3 (61.6, 82.5)	68.7 (59.8, 79.8) *	-1.7 $\pm$ 1.1

データの結果値は平均値 $\pm$ SD で表した。各群の体重を対応のある t 検定を用いて比較した。4 群間の  $\Delta$  体重に関して共分散分析を用いた後 Tukey's honest significant difference 検定を行い比較した。

\*:  $P < 0.05$  vs. 薬剤変更前の食事負荷試験

### 5.3.3. 有害事象

各群において重篤な有害事象は報告されず対象者全員が研究を完遂した。

## 5.4. 考察

本研究ではテネリグリプチンで治療した CPR が低い症例において、カナグリフロジンへの切り替えは MAGE 改善効果が乏しいことを示した。しかしカナグリフロジンとテネリグリプチンの併用療法は、高・低 CPR 症例ともに MAGE を低下させた。これらの結果は、内因性インスリン分泌が低下している場合、糖尿病治療薬による血糖変動改善効果が減弱するという我々の仮説を支持するものであった。また、空腹時 CPR は 2 型糖尿病患者に対する最適な薬剤選択の一助となることが示唆された。

本研究は、カナグリフロジンに切り替えた 2 型糖尿病患者において、内因性インスリン分泌と MAGE の改善の関係を初めて報告したものである。すでに、ルセオグリフロジンを服用している症例を対象としたクロスオーバー試験 (Nishimura et al., 2015) やダパグリフロジンを用いた無作為化試験 (Nomoto et al., 2017) で報告されているように、SGLT2 阻害薬は尿中グルコース排泄量に基づいて血糖変動を下方にシフトさせたが、SGLT2 阻害薬単独療法、または SGLT2 阻害薬とインスリン注射薬の併用療法では、MAGE 改善効果は低かった。今回の研究では、テネリグリプチンからカナグリフロジンへの切り替え療法は 24 時間平均血糖値を低下させたが、既報と同様に CPR が低い症例においては MAGE の改善は認められなかった。トホグリフロジンを投与された症例を対象とした無作為化比較試験 (Tobe et al., 2018) では、空腹時血清インスリン値が高い症例において有意に食後血糖値が低下し食後のインスリン分泌が増加した。その機序として、SGLT2 阻害薬はインスリン感受性や膵β細胞機能障害を早期に改善させるが、すでに内因性インスリン分泌が低下している症例では内因性インスリン分泌を回復させないことが関連していると考えられた (Takahara et al., 2015)。これらの結果は、内因性インスリン分泌が低下した症例において、SGLT2 阻害薬による血糖変動改善効果が減弱したという我々の結果を支持するものである。

次に、DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬の併用療法に関して考察する。カナグリフロジンとテネリグリプチンの 2 剤を併用することで空腹時および食後血糖値の低下がより顕著になり (Kadowaki et al., 2017)、血糖変動が改善する効果が報告されている。この 2 剤の併用療法は、カナグリフロジンの活性型 GLP-1 分泌促進作用とテネリグリプチンの DPP-4 阻害作用の複合作用によって、GLP-1 濃度を上昇させる可能性があることが示唆する。テネリグリプチンはグルカゴン分泌を抑制するが、さらにカナグリフロジンを併用してもグルカゴン分泌は増加しなかった (Noda et al., 2019)。以上の結果から、2 型糖尿病で内

因性インスリン分泌が低下している症例の血糖変動をさらに改善するためには、DPP-4 阻害薬から SGLT2 阻害薬への切り替えよりも、DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬の併用療法の方がより良いプロトコールであることが示唆された。

2 型糖尿病患者に SGLT2 阻害薬を投与した後、摂取カロリーが増加する傾向にあることが報告されている(Matsuba et al., 2020)が、本研究では夕食、朝食、昼食、夕食の 4 回の食事負荷試験を連続して行ったことが強みである。食事負荷試験のカロリーは各参加者の理想体重に基づいており、食事負荷試験中は水を除く他の食物、アルコール、飲料は認めなかった。限界点としては、この研究のベースライン時の症例の特徴が各群間で異なるため、結果に影響した可能性がある。そしてこの研究は BMI 23kg/m<sup>2</sup> 未満の患者を除外して解析しており、非肥満患者では同様の結果とはならない可能性がある。これを検証するためには、内因性インスリン分泌以外のベースラインを一致させた症例を対象に前向き研究を行う必要がある。さらに、カナグリフロジンとテネリグリプチンの併用による活性型 GLP-1 作用およびグルカゴン分泌への影響について考察したが、これらの具体的な値は測定されていない。

内因性インスリン分泌が低下した症例の血糖変動を改善するためには、カナグリフロジンとテネリグリプチンの併用療法は、テネリグリプチンからカナグリフロジンへの切り替え療法よりも優れた選択であった。空腹時 CPR は、糖尿病患者に対する最適な薬剤選択を特定するのに役立つ可能性がある。

－第 3 章－

地域住民横断調査におけるプロインスリンと  
肝の脂肪化との関連

## 6.1. 緒言

2型糖尿病の病態は、膵β細胞からのインスリン分泌障害とインスリン抵抗性の増大という2つの特徴を持ち、これらの特徴は糖尿病発症前から出現している(Kendall et al., 2009)。2型糖尿病発症後、膵β細胞からのインスリン分泌はすでに低下し罹病期間とともにさらに低下するが、インスリン抵抗性は罹病期間を問わず増強したまま経過する(Weyer et al., 1999)。したがって、2型糖尿病の発症と増悪において、膵β細胞機能の低下が重要な役割を担っているといえる。

2型糖尿病患者の45%に、非アルコール性脂肪性肝疾患(nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD)が併存する(Ballestri et al., 2016)。NAFLDでは肝臓の脂肪化が発症・増悪するために、NAFLDが非アルコール性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis: NASH)に進行し、やがて肝硬変や肝細胞癌に陥る(Mori et al., 2004)。NAFLDの発症・増悪機序にはインスリン抵抗性が関与するという報告はあるが(Haas et al., 2016)、肝脂肪化が膵β細胞機能障害と関連しているかどうかについては明らかではない。

インスリンは、膵β細胞内で合成されたインスリンの前駆体であるPIが分解されて、CPRとともに膵β細胞から分泌される。高血糖下で持続的なインスリン分泌刺激が続く状態ではPIの合成が促進され、未熟なPIが増えると考えられている。インスリンに対するPIの比率は、2型糖尿病や発症後間もない1型糖尿病で上昇し、糖尿病発症を予見することが報告されている(Sims et al., 2019)。以上よりPIは膵β細胞の障害の程度を反映する指標としてしばしば用いられる。そこで、脂肪肝指数(FLI)と空腹時PIを用いて、日本人一般集団における脂肪肝の進行と膵β細胞機能障害との関連を検討した。

## 6.2. 方法

### 6.2.1. 対象

本研究は、DOSANCO Health Study(the Dynamics of Lifestyle and Neighborhood Community on Health Study)(Nakamura et al., 2018; Nakamura et al., 2020)という地域住民実態調査の一環として2015年に行われた研究データの一部を用いて横断的な検討を行った。本研究は北海道寿都町の35歳から79歳までの住民が参加した。空腹時採血が実施された登録住民数は女性300名を含む合計545名で、住民の基本情報(年齢、性別、体格測定、病歴、空腹時採血)が収集された。本研究は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認を得た。545名の対象者のうち、3症例は血清インスリン値のデータが不足していたために除外され、53症例はすでに糖尿病と診断され薬物治療を受けていたために除外された。残りの489症例の対象者(女性263名)について解析した。

### 6.2.2. 血液生化学分析

この研究では、空腹時血糖、血清インスリン、CPR、HbA1c、血清 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase( $\gamma$ -GTP)、中性脂肪およびPIの値を測定するために、一晩絶食後の朝安静時に座位静脈穿刺により血液サンプルを採取した。これらの採血項目は、標準的な技術を用いて測定した。血清サンプルは、PIの測定のために $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。PI濃度(pmol/L)は、ラジオイムノアッセイ(Millipore Corporation Inc., Burlington, MA, USA)を用いて測定した。

### 6.2.3. 肝脂肪化の指標

脂肪肝の程度は、BMI、腹囲、 $\gamma$ -GTP、および中性脂肪の値を用いた以下の公式を計算し推定した(Bedogni et al., 2006)。

$$\text{FLI} = ((\exp(0.953 * \log(\text{中性脂肪}) + 0.139 * \text{BMI} + 0.718 * \log(\gamma\text{-GTP}) + 0.053 * \text{腹囲} - 15.745) / 1 + \exp(0.953 * \log(\text{中性脂肪}) + 0.139 * \text{BMI} + 0.718 * \log(\gamma\text{-GTP}) + 0.053 * \text{腹囲} - 15.745)) * 100.$$

FLI $\leq$ 30は肝脂肪化なし、FLI $\geq$ 60は肝脂肪化ありと推定される。

## 6.2.4. 膵β細胞障害の指標

この DOSANCO Health Study の住民データを用いた既報で述べられている通り、当教室の中村らは耐糖能の悪化に伴い、PI 値が有意に増加することを明らかにした(Nakamura et al., 2020)。すなわち PI 値と、他に膵β細胞機能を示す指標である homeostatic model assessment beta cell function(HOMA-β)、CPI のうち、PI 値が耐糖能の悪化を最も反映することがわかった。したがって、本検討で我々は膵β細胞機能障害の指標として PI を用いた。

## 6.2.5. その他の評価項目

インスリン感受性は、homeostasis model assessment of insulin resistance(HOMA-IR) により推定した(Matthews et al., 1985)。自己記入式質問票を用いて年齢、性別、糖尿病の投薬歴を収集した。

## 6.2.6. 統計学的解析

すべての対象者は、肝脂肪化の程度に基づき、低 FLI 群( $FLI < 30$ )、中 FLI 群( $30 \leq FLI < 60$ )、高 FLI 群( $FLI \geq 60$ )の 3 群のいずれかに分類された。3 群間における生化学的および患者背景因子は適宜、1 元配置分散分析、 $\chi^2$  検定、または Kruskal-Wallis 検定を使用して比較した。PI 値は正規分布を示していなかったため PI 値を自然対数(ln)に変換し、最小二乗平均(95%CI)として表した。3 群間における PI を比較するため共分散分析を用いた後、多重ポストホック比較のために性別と年齢を共変量とした Tukey's honest significant difference 検定を行った。肥満の有無が PI 値に影響を及ぼすかを判断するために、研究集団を BMI 平均値で層別化し同様の分析を行った。さらに、高インスリン血症が結果を修飾するかどうかを判断するために、研究集団を空腹時血清インスリンの平均値で層別化して同様の分析を行った。さらに、糖尿病の影響を取り除くため、糖尿病の既往歴がある、または空腹時血糖  $\geq 126\text{mg/dL}$  あるいは  $HbA1c \geq 6.5\%$  から糖尿病の診断に至る 48 症例を除外した後 441 症例について同様の解析を行った。

すべての検定は両側検定であり、 $P < 0.05$  を統計的に有意であるとした。統計解析は、JMP Pro 14.0.0 software(SAS Inc., Cary, NC, USA)を用いた。

## 6.3. 結果

### 6.3.1. 患者背景

全対象者 489 名において平均年齢  $58.0 \pm 12.5$  歳、女性 53.8%、BMI  $23.7 \pm 3.6 \text{ kg/m}^2$  であった。全対象者を、低 FLI 群(n=303)、中 FLI 群(n=106)、高 FLI 群(n=80)の 3 群に分類した。参加者全員と各群における生化学的背景を Table 17 に示す。男性の割合、BMI、腹囲、および空腹時血糖、HbA1c、PI、血清インスリン、CPR、および HOMA-IR の値は、肝脂肪化の程度と関連があった。

Table 17.

## 参加者全員と各群における生化学的背景の比較

	Total	低FLI群	中FLI群	高FLI群	<i>P</i> value
n	489	303	106	80	
Age (years)	58.0 ± 12.5	57.6 ± 12.8	58.5 ± 12.3	58.4 ± 11.5	0.77
Number of female (%)	263 (53.8)	204 (67.3)	43 (40.6)	16 (20.0)	< 0.05
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.7 ± 3.6	22.0 ± 2.5	25.1 ± 2.8	28.3 ± 3.4	< 0.05
Waist circumference (cm)	81.6 ± 10.4	76.0 ± 7.4	86.8 ± 6.1	95.9 ± 7.1	< 0.05
FPG (mmol/L)	5.2 (4.8, 5.6)	5.0 (4.7, 5.4)	5.3 (5.0, 5.7)	5.5 (5.1, 6.2)	< 0.05
HbA1c (%)	5.4 (5.2, 5.7)	5.4 (5.1, 5.6)	5.6 (5.3, 5.9)	5.6 (5.3, 6.0)	< 0.05
Proinsulin (pmol/L)	8.9 (6.7, 14.2)	7.8 (5.8, 10.4)	11.4 (7.6, 16.6)	17.7 (13.1, 29.5)	< 0.05
Insulin (pmol/L)	30.9 (20.1, 46.6)	25.8 (17.9, 33.0)	42.3 (29.2, 58.8)	59.2 (42.3, 86.1)	< 0.05
C-peptide (ng/mL)	1.2 (0.9, 1.7)	1.0 (0.8, 1.3)	1.5 (1.2, 1.9)	2.1 (1.5, 2.6)	< 0.05
HOMA-IR	1.0 (0.6, 1.6)	0.8 (0.5, 1.1)	1.4 (0.9, 2.0)	2.1 (1.5, 3.2)	< 0.05

データの結果値は平均値±SD、中央値(四分位)または数(%)で表した。  
 3群の患者背景因子を1元配置分散分析、 $\chi^2$ 検定、Kruskal-Wallis検定を用いて比較した。

## 6.3.2. プロインスリンと Fatty liver index の関係

PI で評価した膵β細胞機能障害を各群で比較した結果を Table 18 に示した。粗分析(crude analysis: Model 1)において、3 群間で対数変換した PI 値  $\ln(\text{PI})$  は肝脂肪化の程度と関連があった。 $\ln(\text{PI})$  は低 FLI 群に比し中 FLI 群で、中 FLI 群に比し高 FLI 群で有意に高値であった。年齢と性別を調整後においても同様の結果が確認された(Model 2)。

Table 18.

## 肝脂肪化の程度と膵β細胞機能障害の比較

	肝脂肪化の程度			P value		
	低FLI群	中FLI群	高FLI群	低 vs. 中	低 vs. 高	中 vs. 高
n	303	106	80			
Model 1						
ln (PI) †	2.05 (2.00, 2.11)	2.46 (2.36, 2.56)	2.94 (2.83, 3.06)	*	*	*
Model 2						
ln (PI) †	2.07 (2.01, 2.13)	2.45 (2.35, 2.55)	2.91 (2.79, 3.03)	*	*	*

†: 自然対数(ln)に変換し、最小二乗平均(95%CI)として表した。3群間の比較には、共分散分析を行った後、Tukey's honest significant difference 検定を行った。

Model 1: 粗分析 Model 2: 年齢と性別を調整後

\*:  $P < 0.05$

#### 6.3.4. プロインスリンと Fatty liver index の 関係における肥満の有無による層別解析

全対象者 489 名を BMI の平均値  $23.7\text{kg/m}^2$  以上・未満に層別し、膵 $\beta$ 細胞機能障害を各群で比較した結果を Table 19 に示した。高 BMI 群において、3 群間で  $\ln(\text{PI})$  は肝脂肪化の程度と関連があった。 $\ln(\text{PI})$  は、低 FLI 群と比し高 FLI 群で有意に高値であった。低 BMI 群においても、3 群間で  $\ln(\text{PI})$  は肝脂肪化の程度と関連があり、 $\ln(\text{PI})$  は低 FLI 群と比し高 FLI 群で有意に高値であった。

Table 19.

## BMIによる層別化後の肝脂肪化の程度と膵β細胞機能障害の比較

	肝脂肪化の程度			P value		
	低FLI群	中FLI群	高FLI群	低 vs. 中	低 vs. 高	中 vs. 高
高BMI群						
n	91	80	74			
ln (PI) <sup>†</sup>	2.27 (2.15, 2.38)	2.52 (2.41, 2.64)	2.92 (2.79, 3.04)	*	*	*
低BMI群						
n	212	26	6			
ln (PI) <sup>†</sup>	1.98 (1.91, 2.05)	2.26 (2.06, 2.46)	2.61 (2.20, 3.02)	*	*	

†: 自然対数(ln)に変換し、最小二乗平均(95%CI)として表した。3群間の比較には、共分散分析を行った後、Tukey's honest significant difference 検定を行った。

\*:  $P < 0.05$

### 6.3.5. プロインスリンと Fatty liver index の 関係における高インスリン血症の有無による 層別解析

全対象者 489 名を空腹時血清インスリンの平均値 30.9 pmol/L 以上・未満に層別し、膵β細胞機能障害を各群で比較した結果を Table 20 に示した。高インスリン群において 3 群間で  $\ln(\text{PI})$  は肝脂肪化の程度と関連を認めた。 $\ln(\text{PI})$  は、低 FLI 群と比し高 FLI 群で有意に高値であった。低インスリン群においても、3 群間で  $\ln(\text{PI})$  は肝脂肪化の程度と関連があり、 $\ln(\text{PI})$  は低 FLI 群と比し高 FLI 群で有意に高値であった。

Table 20.

空腹時血清インスリン値による層別化後の肝脂肪化の程度と膵β細胞機能障害の比較

	肝脂肪化の程度			P value		
	低FLI群	中FLI群	高FLI群	低 vs. 中	低 vs. 高	中 vs. 高
高インスリン群						
n	100	77	69			
ln (PI) †	2.34 (2.24, 2.45)	2.63 (2.51, 2.74)	2.98 (2.86, 3.11)	*	*	*
低インスリン群						
n	203	29	11			
ln (PI) †	1.93 (1.87, 1.99)	1.98 (1.82, 2.14)	2.40 (2.13, 2.66)		*	*

†: 自然対数(ln)に変換し、最小二乗平均(95%CI)として表した。3群間の比較には、共分散分析を行った後、Tukey's honest significant difference 検定を行った。

\*:  $P < 0.05$

### 6.3.6. 非糖尿病対象者におけるプロインスリン と Fatty liver index の比較検討

全対象者 489 名のうち非糖尿病患者 441 症例(女性 248 名)を、低 FLI 群 (n=286)、中 FLI 群(n=90)、高 FLI 群(n=65)の 3 群に分類した。非糖尿病対象者全員と各群における生化学的背景を Table 21 に示した。3 群において、男性の割合、BMI、腹囲、および 空腹時血糖値、HbA1c、PI、血清インスリン、CPR、および HOMA-IR の値は、肝脂肪化の程度と関連があった。全対象者 489 名の生化学的背景(Table 18)と同様の結果であった。

非糖尿病対象者において、PI で評価した膵β細胞機能障害を各群で比較した結果を Table 22 に示した。粗分析(Model 1)では、3 群間で ln (PI)は肝脂肪化の程度と関連があり、ln (PI)が低 FLI 群に比し中 FLI 群で、中 FLI 群に比し高 FLI 群で有意に高値であった。年齢と性別を調整後においても同様の結果が確認された(Model 2)。

Table 21.

## 非糖尿病対象者と各群における生化学的背景の比較

	Total	低FLI群	中FLI群	高FLI群	<i>P</i> value
n	441	286	90	65	
Age (years)	57.4 ± 12.6	57.2 ± 12.9	57.5 ± 12.5	57.7 ± 11.6	0.95
Number of female (%)	248 (56.2)	197 (68.9)	37 (41.1)	14 (21.5)	< 0.05
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.6 ± 3.6	22.0 ± 2.5	25.2 ± 2.8	28.4 ± 3.4	< 0.05
Waist circumference (cm)	81.6 ± 10.2	75.9 ± 7.2	86.9 ± 6.0	95.7 ± 7.0	< 0.05
FPG (mmol/L)	5.1 (4.7, 5.4)	4.9 (4.7, 5.3)	5.3 (5.0, 5.6)	5.4 (5.0, 5.9)	< 0.05
HbA1c (%)	5.4 (5.2, 5.6)	5.4 (5.1, 5.6)	5.4 (5.2, 5.7)	5.5 (5.3, 5.9)	< 0.05
Proinsulin (pmol/L)	8.5 (6.4, 13.2)	7.7 (5.6, 10.1)	11.1 (7.3, 15.5)	16.3 (11.2, 23.5)	< 0.05
Insulin (pmol/L)	29.4 (20.1, 44.1)	25.1 (17.2, 33.0)	41.6 (26.9, 56.7)	58.1 (40.9, 85.7)	< 0.05
C-peptide (ng/mL)	1.1 (0.9, 1.6)	1.0 (0.8, 1.3)	1.4 (1.1, 1.9)	2.0 (1.5, 2.5)	< 0.05
HOMA-IR	0.9 (0.6, 1.5)	0.8 (0.5, 1.1)	1.4 (0.9, 1.8)	2.0 (1.4, 3.0)	< 0.05

データの結果値は平均値±SD、中央値(四分位)または数(%)で表した。3群の患者背景因子を1元配置分散分析、 $\chi^2$ 検定、Kruskal-Wallis検定を用いて比較した。

Table 22.

非糖尿病対象者における肝脂肪化の程度と膵β細胞機能障害の比較

	肝脂肪化の程度			P value		
	低FLI群	中FLI群	高FLI群	低 vs. 中	低 vs. 高	中 vs. 高
n	286	90	65			
Model 1						
ln (PI) †	2.03 (1.97, 2.08)	2.36 (2.26, 2.46)	2.78 (2.67, 2.90)	*	*	*
Model 2						
ln (PI) †	2.04 (1.98, 2.10)	2.35 (2.26, 2.36)	2.76 (2.65, 2.88)	*	*	*

†: 自然対数(ln)に変換し、最小二乗平均(95%CI)として表した。3群間の比較には、共分散分析を行った後、Tukey's honest significant difference 検定を行った。

Model 1: 粗分析 Model 2: 年齢と性別を調整後

\*:  $P < 0.05$

### 6.3.7. 有害事象

本検討は横断研究であり、対象者の基本情報を収集するにあたり有害事象は認めなかった。

## 6.4. 考察

本研究では、膵β細胞機能障害の指標である PI を用いて、肝脂肪化の程度と PI の間に正の相関があることを示した。対象者を BMI と血清インスリン値で層別化し解析したところ、肝脂肪化の程度と PI の間の正の相関関係は有意であった。

本研究は横断的研究であり因果関係に関する考察には限界があるが、我々の知見は、脂肪肝が膵β細胞機能障害に影響を与える可能性を示唆している。以前から膵臓と脂肪肝の間には相互間のクロストークが存在することが知られている。脂肪肝において肝臓で産生される糖蛋白質 Fetuin-A が、膵臓の脂肪細胞や膵島のマクロファージを活性化させると、グルコース応答性インスリン分泌の障害と膵島のアポトーシスが進む(Gerst et al., 2017)。この報告は、肝脂肪化の増悪は膵β細胞機能障害と正の関係があることと合致する。

肥満と高インスリン血症は、インスリン抵抗性の重要な危険因子であり、脂肪肝も多く合併する(Abenavoli et al., 2016)。しかし、非肥満 NAFLD 患者も、肥満 NAFLD 患者と同様に重度な NAFLD の組織学的特徴を有することが報告された(Eguchi et al., 2012)。つまり NAFLD は、肥満や高インスリン血症の存在を問わず発症・進行することが示唆される。Feldman らは、非肥満 NAFLD 患者と非肥満健常人を比較し、両者の空腹時血清インスリン値に差はなかったが、非肥満 NAFLD 患者の耐糖能は著しく低下していたことを報告した(Feldman et al., 2017)。さらに、日本人を対象とした後方視的コホート研究において、肥満健常人よりも非肥満 NAFLD 患者の方が 2 型糖尿病の発症リスクが高いことが示された(Fukuda et al., 2016)。この報告は、肥満や高インスリン血症の有無に関わらず、肝脂肪化の程度が膵β細胞機能障害と関連していることを示し、我々の結果を支持している。非糖尿病対象者においても FLI と PI の間に正の相関関係を認めたことから、脂肪肝の改善は膵β細胞機能の回復につながる可能性も示唆された。

本研究の最大の強みは、外来通院患者や入院患者ではなく、地域住民から構成された一般的な集団において、脂肪肝の増悪と膵β細胞機能障害との関係を示したことである。

本研究の限界点としては、第一に、肝脂肪化の程度を、間接的な指標である FLI を用いて推定したことである。超音波検査、磁気共鳴分光法、コンピュータ断層撮影、肝生検などの精密検査で直接肝脂肪化を評価してはいない。ただし、FLI はこれらの精密検査と比較して単純かつ安価な方法であり、地域住民実態調査には適した指標である。FLI と肝細胞における脂質含有量の間には強

い相関関係が報告されている(Kahl et al., 2014)。第二に、PI の他にも、PI/インスリン比など膵β細胞機能障害のバイオマーカーがあり、その適切な使用に関して十分な議論がなされていないことである。PI/インスリン比に関しては、空腹時血清インスリン値がインスリンの肝クリアランスの影響を受けるため(Vauhkonen et al., 2000)、PI/インスリン比は正確な尺度ではない可能性があり本研究では採用しなかった。第三に、この研究は横断研究であり、因果関係の証明や、脂肪肝の悪化と膵β細胞機能障害との関係に関する継時的な経過について検討することはできなかった。

この地域住民横断調査では、肥満や高インスリン血症の有無にかかわらず、肝脂肪化の程度と膵β細胞機能障害との間に正の相関があることが示された。我々の知見は、脂肪肝が膵β細胞機能障害を反映していることを示唆している。

## 7. 結 論

第 1 章で、日常外来診療下で 2 型糖尿病患者に実施した CGM データを用いて、低血糖・血糖変動の抽出を行い患者背景との関連を検討した。本研究で明らかになった知見は以下の通りである。

1. 血糖変動指標  $CV \geq 40$  は血糖変動不安定かつ低血糖を検出する目安となった。
2. 低血糖に関連した不安定な血糖変動を規定する患者背景因子は内因性インスリン分泌の低下であった。
3.  $CV \geq 40$  に対する CPI カットオフ値は 0.8 であった。
4. インスリン治療の有無にかかわらず、内因性インスリン分泌と血糖変動は負の相関を示した。
5. CPR、CPI は空腹時採血で算出できる指標であり無症候性低血糖を含む不安定な血糖変動を予測するマーカーである。

第 2 章では、2 型糖尿病患者の内因性インスリン分泌が、DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬による血糖変動改善効果に与える影響を検討した。本研究で明らかになった知見は以下の通りである。

1. CPR が低い症例に対して、DPP-4 阻害薬から SGLT2 阻害薬への切り替えは血糖変動を改善させなかった。
2. CPR に関わらず DPP-4 阻害薬から、DPP-4 阻害薬と SGLT2 阻害薬の併用療法への切り替えは血糖変動改善効果をもたらす。

第 3 章で、地域住民横断調査のデータを用いて、プロインスリンと肝の脂肪化との関連を検討した。本研究で明らかになった知見は以下の通りである。

1. 肥満、高インスリン血症、糖尿病の有無に関わらず肝脂肪化が進行している症例を認めた。
2. 肝脂肪化の程度と膵 $\beta$ 細胞障害に関連を認めた。

CGM は血糖変動を抽出できる有用な医療機器であるにも関わらず、保険診療で CGM を行うための施設基準がある。現在のところ、5 年以上の臨床経験がある常勤の糖尿病専門医 1 名以上配置され、持続皮下インスリン注入療法を

行っている保険医療機関でなければ保険適応がない(保医発 0305 第1号)。したがって、日々の診療では従来通り HbA1c などの採血項目を目安に診療を行う施設が多数存在する。本研究はリアルワールドにおける外来患者を対象とし、空腹時 CPR と CPI が血糖変動の不安定性を予測することを明らかにした。さらに、CPR は患者ごとの最適な糖尿病治療薬の選択においても有用であることが示された。CGM の代用となりうるこれらの血糖変動予測マーカーが、広く医師とその患者に役立てられ、本研究が糖尿病診療における個別化医療の実現に寄与することを我々は望んでいる。膵β細胞機能が2型糖尿病の病態と併存疾患に与える影響について示した我々の結果は、糖尿病やその合併症の発症と増悪、病態のメカニズムにも関連する可能性があり、臨床医だけでなく今後幅広く研究の分野に応用されることを期待する。

## 8. 謝 辞

稿を終えるにあたり本研究の機会を与えて頂いた、北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室 渥美達也教授に謝意を表します。併せて、本研究全般にわたり直接のご指導ご鞭撻を賜りました免疫・代謝内科学教室 中村昭伸講師、糖尿病・肥満病態治療分野 三好秀明特任教授に深く感謝いたします。

また、同院 社会医学分野公衆衛生学教室 玉腰暁子教授、北海道大学病院臨床研究開発センター生物統計部門 伊藤陽一教授に、終始適切なお指導、ご助言を賜りました。ここに深く感謝の意を表します。

この他にも、この論文作成にあたり、多くの諸先輩方よりご協力、ご助言、ご支援をいただきましたことに、心より御礼を申し上げます。

最後に、臨床研究にご参加いただきました患者の皆様と、参加施設の医療スタッフの皆様、本研究を陰になり支えていただきました、免疫・代謝内科学教室の全ての皆様と、いつも優しく見守ってくれた家族に心より感謝します。

## 9. 利益相反

第1章、第3章において、開示すべき利益相反状態はない。

第2章で開示すべき利益相反状態は以下の通りである。

中村昭伸講師は田辺三菱製薬、第一三共、ノボノルディスクファーマ、ノバルティスファーマ、アストラゼネカ、日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社、LifeScan Japan 株式会社、大正製薬株式会社から研究支援金を受け取った。種田紳二先生は武田薬品工業、ノボノルディスクファーマ、小野薬品工業株式会社から講演料を受け取った。栗原義夫先生はアストラゼネカ、田辺三菱製薬、MSD 株式会社、小野薬品工業株式会社、サノフィ、大正製薬株式会社、興和創薬株式会社、日本イーライリリー株式会社、大日本住友製薬株式会社、武田薬品工業から講演料を受け取った。渥美達也教授はグラクソ・スミスクライン株式会社、ギリアド・サイエンシズ社、田辺三菱製薬、中外製薬株式会社、アステラス製薬、武田薬品工業、ファイザー株式会社、アッヴィ合同会社、エーザイ株式会社、第一三共、ブリストルマイヤーズスクイブ、ユーシービージャパン、日本イーライリリー株式会社、大塚製薬株式会社、アレクシオンファーマ合同会社から研究助成金と講演料を受け取った。三好秀明教授はアステラス製薬、大日本住友製薬株式会社、日本イーライリリー株式会社、田辺三菱製薬、MSD 株式会社、ノボノルディスクファーマ、興和創薬株式会社、日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社、小野薬品工業株式会社、サノフィから講演料を受け取り、アステラス製薬、第一三共、大日本住友製薬株式会社、日本イーライリリー株式会社、田辺三菱製薬、ノボノルディスクファーマ、興和創薬株式会社、アボットジャパン合同会社、日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社、小野薬品工業株式会社、大正製薬株式会社から研究助成金を受け取った。その他の著者に開示すべき利益相反状態はない。

本研究の一部は JSPS 科研費 JP26670322、Integration Research for Agriculture and Interdisciplinary Fields (No. 14538261)、田辺三菱ファーマ株式会社の助成を受けたものである。

## 10. 引用文献

Abenavoli, L., Milic, N., Di Renzo, L., Preveden, T., Medic-Stojanoska, M. & De Lorenzo, A. (2016). Metabolic aspects of adult patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, *22*, 7006-7016.

Alsahli, M. & Gerich, J. E. (2014). Hypoglycemia, chronic kidney disease, and diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc*, *89*, 1564-71.

Bailey, T., Bode, B. W., Christiansen, M. P., Klaff, L. J. & Alva, S. (2015). The Performance and Usability of a Factory-Calibrated Flash Glucose Monitoring System. *Diabetes Technol Ther*, *17*, 787-94.

Ballestri, S., Zona, S., Targher, G., Romagnoli, D., Baldelli, E., Nascimbeni, F., Roverato, A., Guaraldi, G. & Lonardo, A. (2016). Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *31*, 936-944.

Battelino, T., Danne, T., Bergenstal, R. M., Amiel, S. A., Beck, R., Biester, T., Bosi, E., Buckingham, B. A., Cefalu, W. T., Close, K. L., et al. (2019). Clinical Targets for Continuous Glucose Monitoring Data Interpretation: Recommendations From the International Consensus on Time in Range. *Diabetes Care*, *42*, 1593-1603.

Bedogni, G., Bellentani, S., Miglioli, L., Masutti, F., Passalacqua, M., Castiglione, A. & Tiribelli, C. (2006). The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *Bmc Gastroenterology*, *6*, 33.

Ben-Ami, H., Nagachandran, P., Mendelson, A. & Edoute, Y. (1999). Drug-induced hypoglycemic coma in 102 diabetic patients. *Arch Intern Med*, *159*, 281-4.

Bonds, D. E., Miller, M. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Byington, R. P., Cutler, J. A., Dudl, R. J., Ismail-Beigi, F., Kimel, A. R., Hoogwerf, B., et al. (2010). The association between symptomatic, severe hypoglycaemia and mortality in type 2 diabetes: retrospective epidemiological analysis of the ACCORD study. *Bmj*, *340*, b4909.

Cho, K. Y., Nomoto, H., Nakamura, A., Kawata, S., Sugawara, H., Takeuchi, J., Nagai, S., Tsuchida, K., Omori, K., Yokoyama, H., et al. (2020). Favourable effect of the sodium-

glucose co-transporter-2 inhibitor canagliflozin plus the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor teneligliptin in combination on glycaemic fluctuation: An open-label, prospective, randomized, parallel-group comparison trial (the CALMER study). *Diabetes Obes Metab*, *22*, 458-462.

Christensen, M. B., Gæde, P., Hommel, E., Gotfredsen, A. & Nørgaard, K. (2020). Glycaemic variability and hypoglycaemia are associated with C-peptide levels in insulin-treated type 2 diabetes. *Diabetes Metab*, *46*, 61-65.

Crăciun, C. I. a. C., Anca-Elena and Bocsan, Ioana Corina and Rusu, Adriana and Bala, Cornelia and Coadă, C.A. And Roman, Gabriela and Buzoianu, Anca (2018). The C-peptide correlations and effect on the glycemic variability parameters in patients with type 2 diabetes. *Human and Veterinary Medicine*, *10*, 111-116.

Danne, T., Nimri, R., Battelino, T., Bergenstal, R. M., Close, K. L., Devries, J. H., Garg, S., Heinemann, L., Hirsch, I., Amiel, S. A., et al. (2017). International Consensus on Use of Continuous Glucose Monitoring. *Diabetes Care*, *40*, 1631-1640.

Eguchi, Y., Hyogo, H., Ono, M., Mizuta, T., Ono, N., Fujimoto, K., Chayama, K., Saibara, T. & Jsg, N. (2012). Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *Journal of Gastroenterology*, *47*, 586-595.

Feldman, A., Eder, S. K., Felder, T. K., Kedenko, L., Paulweber, B., Stadlmayr, A., Huber-Schoenauer, U., Niederseer, D., Stickel, F., Auer, S., et al. (2017). Clinical and Metabolic Characterization of Lean Caucasian Subjects With Non-alcoholic Fatty Liver. *American Journal of Gastroenterology*, *112*, 102-110.

Fukuda, M., Tanaka, A., Tahara, Y., Ikegami, H., Yamamoto, Y., Kumahara, Y. & Shima, K. (1988). Correlation between minimal secretory capacity of pancreatic beta-cells and stability of diabetic control. *Diabetes*, *37*, 81-8.

Fukuda, T., Hamaguchi, M., Kojima, T., Hashimoto, Y., Ohbora, A., Kato, T., Nakamura, N. & Fukui, M. (2016). The impact of non-alcoholic fatty liver disease on incident type 2 diabetes mellitus in non-overweight individuals. *Liver International*, *36*, 275-283.

Fukushima, M., Suzuki, H. & Seino, Y. (2004). Insulin secretion capacity in the development from normal glucose tolerance to type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, *66 Suppl 1*, S37-43.

Funakoshi, S., Fujimoto, S., Hamasaki, A., Fujiwara, H., Fujita, Y., Ikeda, K., Takahara, S., Nagashima, K., Hosokawa, M., Seino, Y., et al. (2011). Utility of indices using C-peptide levels for indication of insulin therapy to achieve good glycemic control in Japanese patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Investig*, *2*, 297-303.

Gerst, F., Wagner, R., Kaiser, G., Panse, M., Heni, M., Machann, J., Bongers, M. N., Sartorius, T., Sipos, B., Fend, F., et al. (2017). Metabolic crosstalk between fatty pancreas and fatty liver: effects on local inflammation and insulin secretion. *Diabetologia*, *60*, 2240-2251.

Gerstein, H. C., Miller, M. E., Byington, R. P., Goff, D. C., Jr., Bigger, J. T., Buse, J. B., Cushman, W. C., Genuth, S., Ismail-Beigi, F., Grimm, R. H., Jr., et al. (2008). Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, *358*, 2545-59.

Gomez, A. M., Henao, D. C., Imitola Madero, A., Taboada, L. B., Cruz, V., Robledo Gomez, M. A., Rondon, M., Munoz-Velandia, O., Garcia-Jaramillo, M. & Leon Vargas, F. M. (2019). Defining High Glycemic Variability in Type 1 Diabetes: Comparison of Multiple Indexes to Identify Patients at Risk of Hypoglycemia. *Diabetes Technol Ther*, *21*, 430-439.

Goto, A., Goto, M., Terauchi, Y., Yamaguchi, N. & Noda, M. (2016). Association Between Severe Hypoglycemia and Cardiovascular Disease Risk in Japanese Patients With Type 2 Diabetes. *J Am Heart Assoc*, *5*, e002875.

Haas, J. T., Francque, S. & Staels, B. 2016. Pathophysiology and Mechanisms of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *In: JULIUS, D. (ed.) Annual Review of Physiology, Vol 78*.

Hirakawa, Y., Arima, H., Zoungas, S., Ninomiya, T., Cooper, M., Hamet, P., Mancia, G., Poulter, N., Harrap, S., Woodward, M., et al. (2014). Impact of visit-to-visit glycemic variability on the risks of macrovascular and microvascular events and all-cause mortality in type 2 diabetes: the ADVANCE trial. *Diabetes Care*, *37*, 2359-65.

Jin, S. M., Kim, T. H., Bae, J. C., Hur, K. Y., Lee, M. S., Lee, M. K. & Kim, J. H. (2014). Clinical factors associated with absolute and relative measures of glycemic variability determined by continuous glucose monitoring: an analysis of 480 subjects. *Diabetes Res Clin Pract*, *104*, 266-72.

Kadowaki, T., Inagaki, N., Kondo, K., Nishimura, K., Kaneko, G., Maruyama, N., Nakanishi, N., Iijima, H., Watanabe, Y. & Gouda, M. (2017). Efficacy and safety of

canagliflozin as add-on therapy to teneligliptin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: Results of a 24-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Obes Metab*, *19*, 874-882.

Kahl, S., Strassburger, K., Nowotny, B., Livingstone, R., Klueppelholz, B., Kessel, K., Hwang, J.-H., Giani, G., Hoffmann, B., Pacini, G., et al. (2014). Comparison of Liver Fat Indices for the Diagnosis of Hepatic Steatosis and Insulin Resistance. *Plos One*, *9*, e94059.

Kendall, D. M., Cuddihy, R. M. & Bergenstal, R. M. (2009). Clinical Application of Incretin-Based Therapy: Therapeutic Potential, Patient Selection and Clinical Use. *American Journal of Medicine*, *122*, 37-50.

Kohnert, K. D., Augstein, P., Zander, E., Heinke, P., Peterson, K., Freyse, E. J., Hovorka, R. & Salzsieder, E. (2009). Glycemic variability correlates strongly with postprandial beta-cell dysfunction in a segment of type 2 diabetic patients using oral hypoglycemic agents. *Diabetes Care*, *32*, 1058-62.

Kovatchev, B. P. (2017). Metrics for glycaemic control - from HbA1c to continuous glucose monitoring. *Nat Rev Endocrinol*, *13*, 425-436.

Lachin, J. M., Mcgee, P. & Palmer, J. P. (2014). Impact of C-peptide preservation on metabolic and clinical outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes*, *63*, 739-48.

Matsuba, I., Kanamori, A., Takihata, M., Takai, M., Maeda, H., Kubota, A., Iemitsu, K., Umezawa, S., Obana, M., Kaneshiro, M., et al. (2020). Canagliflozin Increases Calorie Intake in Type 2 Diabetes Without Changing the Energy Ratio of the Three Macronutrients: CANA-K Study. *Diabetes Technol Ther*, *22*, 228-234.

Matsumura, M., Nakatani, Y., Tanka, S., Aoki, C., Sagara, M., Yanagi, K., Suzuki, K. & Aso, Y. (2017). Efficacy of Additional Canagliflozin Administration to Type 2 Diabetes Patients Receiving Insulin Therapy: Examination of Diurnal Glycemic Patterns Using Continuous Glucose Monitoring (CGM). *Diabetes Ther*, *8*, 821-827.

Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F. & Turner, R. C. (1985). HOMEOSTASIS MODEL ASSESSMENT - INSULIN RESISTANCE AND BETA-CELL FUNCTION FROM FASTING PLASMA-GLUCOSE AND INSULIN CONCENTRATIONS IN MAN. *Diabetologia*, *28*, 412-419.

Monnier, L., Colette, C., Wojtusciszyn, A., Dejager, S., Renard, E., Molinari, N. & Owens, D. R. (2017). Toward Defining the Threshold Between Low and High Glucose Variability in Diabetes. *Diabetes Care*, *40*, 832-838.

Mori, S., Yamasaki, T., Sakaida, I., Takami, T., Sakaguchi, E., Kimura, T., Kurokawa, F., Maeyama, S. & Okita, K. (2004). Hepatocellular carcinoma with nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of Gastroenterology*, *39*, 391-396.

Murao, K., Imachi, H., Yoshimoto, T., Kikuchi, F. & Fukunaga, K. (2016). [Current status and issues of clinical-pass in diabetes]. *Nihon Rinsho*, *74 Suppl 2*, 673-7.

Nakamura, A., Miyoshi, H., Ukawa, S., Nakamura, K., Nakagawa, T., Terauchi, Y., Tamakoshi, A. & Atsumi, T. (2018). Serum adiponectin and insulin secretion: A direct or inverse association? *Journal of Diabetes Investigation*, *9*, 1106-1109.

Nakamura, A., Miyoshi, H., Ukawa, S., Nakamura, K., Nakagawa, T., Terauchi, Y., Tamakoshi, A. & Atsumi, T. (2020). Proinsulin is sensitive to reflect glucose intolerance. *Journal of Diabetes Investigation*, *11*, 75-79.

Nishimura, R., Osonoi, T., Kanada, S., Jinnouchi, H., Sugio, K., Omiya, H., Ubukata, M., Sakai, S. & Samukawa, Y. (2015). Effects of luseogliflozin, a sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor, on 24-h glucose variability assessed by continuous glucose monitoring in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Diabetes Obes Metab*, *17*, 800-4.

Noda, T., Ebihara, E., Ueno, H., Sadohara, K., Tanaka, Y., Nagatomo, Y., Murakami, Y., Yonamine, S., Tsuchimochi, W., Sakoda, H., et al. (2019). Concurrent Use of Teneeligliptin and Canagliflozin Improves Glycemic Control with Beneficial Effects on Plasma Glucagon and Glucagon-Like Peptide-1: A Single-Arm Study. *Diabetes Ther*, *10*, 1835-1846.

Nomoto, H., Miyoshi, H., Sugawara, H., Ono, K., Yanagiya, S., Oita, M., Nakamura, A. & Atsumi, T. (2017). A randomized controlled trial comparing the effects of dapagliflozin and DPP-4 inhibitors on glucose variability and metabolic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus on insulin. *Diabetol Metab Syndr*, *9*, 54.

Ohara, M., Hiromura, M., Nagaike, H., Kohata, Y., Fujikawa, T., Goto, S., Sato, N., Kushima, H., Terasaki, M., Yamamoto, T., et al. (2019). Relationship between glucose variability evaluated by continuous glucose monitoring and clinical factors, including

glucagon-stimulated insulin secretion in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, *158*, 107904.

Pagacz, K., Stawiski, K., Szadkowska, A., Mlynarski, W. & Fendler, W. (2018). GlyCulator2: an update on a web application for calculation of glycemic variability indices. *Acta Diabetol*, *55*, 877-880.

Pyl, J., Dendooven, E., Van Eekelen, I., Den Brinker, M., Dotremont, H., France, A., Foubert, K., Pieters, L., Lambert, J., De Block, C., et al. (2020). Prevalence and Prevention of Contact Dermatitis Caused by FreeStyle Libre: A Monocentric Experience. *Diabetes Care*, *43*, 918-920.

Rodbard, D. (2012). Hypo- and hyperglycemia in relation to the mean, standard deviation, coefficient of variation, and nature of the glucose distribution. *Diabetes Technol Ther*, *14*, 868-76.

Rodbard, D. (2020). Glucose Time In Range, Time Above Range, and Time Below Range Depend on Mean or Median Glucose or HbA1c, Glucose Coefficient of Variation, and Shape of the Glucose Distribution. *Diabetes Technol Ther*.

Service, F. J., Molnar, G. D., Rosevear, J. W., Ackerman, E., Gatewood, L. C. & Taylor, W. F. (1970). Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes*, *19*, 644-55.

Sims, E. K., Bahnson, H. T., Nyalwidhe, J., Haataja, L., Davis, A. K., Speake, C., Dimeglio, L. A., Blum, J., Morris, M. A., Mirmira, R. G., et al. (2019). Proinsulin Secretion Is a Persistent Feature of Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, *42*, 258-264.

Takahara, M., Shiraiwa, T., Matsuoka, T. A., Katakami, N. & Shimomura, I. (2015). Ameliorated pancreatic  $\beta$  cell dysfunction in type 2 diabetic patients treated with a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor ipragliflozin. *Endocr J*, *62*, 77-86.

Taylor, S. I. (1999). Deconstructing type 2 diabetes. *Cell*, *97*, 9-12.

Tobe, K., Suganami, H. & Kaku, K. (2018). Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, tofogliflozin, shows better improvements of blood glucose and insulin secretion in patients with high insulin levels at baseline. *J Diabetes Investig*, *9*, 862-869.

Torimoto, K., Okada, Y., Hajime, M., Tanaka, K. & Tanaka, Y. (2018). Risk Factors of Hypoglycemia in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Study Based on Continuous Glucose Monitoring. *Diabetes Technol Ther*, *20*, 603-612.

U.K. prospective diabetes study 16. (1995). Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. U.K. Prospective Diabetes Study Group. *Diabetes*, *44*, 1249-58.

UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1998). Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet*, *352*, 854-65.

Vauhkonen, I. K. J., Niskanen, L. K., Mykkanen, L., Haffner, S. M., Uusitupa, M. I. J. & Laakso, M. (2000). Hyperproinsulinemia is not a characteristic feature in the offspring of patients with different phenotypes of type II diabetes. *European Journal of Endocrinology*, *143*, 251-260.

Weyer, C., Bogardus, C., Mott, D. M. & Pratley, R. E. (1999). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*, *104*, 787-94.