

冠動脈疾患患者におけるレプチン およびインスリン抵抗性の役割： グルコースクランプ法を用いた検討

Potential Role of Leptin and Insulin Resistance Assessed by the Glucose Clamp Technique in Coronary Artery Disease

磯田 麻理
木内 要^{*1}
子島 潤^{*2}
高野 照夫

Mari ISODA, MD
Kaname KIUCHI, MD^{*1}
Jun NEJIMA, MD^{*2}
Teruo TAKANO, MD,

Abstract

Objectives. Leptin may correlate with insulin resistance and be an important factor in patients with coronary artery disease. Therefore, we examined whether plasma leptin levels and insulin resistance are linked with coronary artery disease.

Methods. Plasma leptin levels and insulin resistance, assessed by the hyperinsulinemic euglycemic clamp technique, were measured in control subjects ($n = 12$, mean age 62 ± 10 years), and in patients with obstructive coronary artery disease ($n = 15$, mean age 64 ± 8 years) or vasospastic angina ($n = 12$, mean age 62 ± 12 years).

Results. Plasma leptin levels were significantly higher ($p < 0.017$) in patients with obstructive coronary artery disease (8.4 ± 2.7 ng/ml) and vasospastic angina (7.9 ± 2.1 ng/ml) than in patients without obstructive coronary artery disease (4.7 ± 1.4 ng/ml). Mean glucose infusion rate was significantly ($p < 0.017$) lower in patients with obstructive coronary artery disease (4.39 ± 1.78 mg/kg/min) and vasospastic angina (3.57 ± 1.72 mg/kg/min) than in patients without obstructive coronary artery disease (8.74 ± 1.05 mg/kg/min). The plasma levels of leptin were negatively correlated with mean glucose infusion rate ($r = -0.67$, $p < 0.01$). The other coronary risk factors were similar in these three groups.

Conclusions. Plasma leptin levels are correlated with insulin resistance and may be associated with coronary artery disease.

J Cardiol 2002 Aug; 40(2): 51-57

Key Words

■Atherosclerosis ■Insulin (resistance) ■Coronary artery disease
■Obesity (leptin) ■Glucose (clamp technique)

はじめに

虚血性心疾患は我が国でも有病率が増加しており、その予防に対する関心が高まっている。既知の冠危険因子である高脂血症、高血圧、喫煙、肥満、糖尿病、男性であること、高尿酸血症などは高頻度に合併し、相乗的に冠動脈疾患の発症、重症度に関与すると報告されている¹⁾。近年、代謝性症候群²⁾、死の四重奏³⁾、

インスリン抵抗性症候群⁴⁾、内臓脂肪症候群⁵⁾などの冠危険因子の集積に対して多くの新しい概念が提唱されるに至った。とくにインスリン抵抗性は糖尿病の有無にかかわらず、インスリン感受性の低下、すなわち一定のインスリン負荷に対する組織ブドウ糖摂取量の低下と定義され、高血圧、遊離脂肪酸、中性脂肪、高比重リポ蛋白 (high-density lipoprotein: HDL) コレステロールなどの脂質代謝異常に関与し、冠動脈硬化性疾

日本医科大学 第一内科, ^{*1}集中治療室: 〒113-8603 東京都文京区千駄木1-1-5; ^{*2}鶴見大学歯学部 内科, 神奈川
The First Department of Internal Medicine and ^{*1}Intensive and Coronary Care Unit, Nippon Medical School, Tokyo; ^{*2}Department of
Internal Medicine, Tsurumi University School of Dental Science, Kanagawa

Address for correspondence: KIUCHI K, MD, Intensive and Coronary Care Unit, Nippon Medical School, Sendagi 1-1-5, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603

Manuscript received May 10, 2002; revised June 18, 2002; accepted June 19, 2002

患の発症を促進する可能性が示唆されている^{6,14)}。すなわち、糖尿病のない患者においてもインスリン抵抗性は、冠動脈病変の有無および進展を反映する新しい冠危険因子であると考えられている。

インスリン抵抗性の評価法として経口糖負荷試験¹⁵⁾やsteady state plasma glucose法¹⁶⁾などがあるが、グルコースクランプ法¹⁷⁾はインスリン抵抗性のより定量的な評価が可能で最も信頼性が高いとされる。一方、肥満遺伝子産物であるレプチンは肥満、高インスリン血症と深く関わり、冠動脈硬化の発症、進展に関与する可能性が示唆されている^{18,21)}。しかし、現在のところ一定の見解は得られていない^{22,24)}。そこで我々は、肥満遺伝子産物であるレプチンとインスリン抵抗性が冠動脈疾患に関与しているか否か、さらに両者の関係につきグルコースクランプ法を用いて検討した。

対象と方法

1. 対象

対象は胸痛を主訴に当院の集中治療室に入院し、冠動脈造影により有意狭窄を認めた狭心症患者連続15例(狭心症群: 男性11例, 女性4例, 平均年齢 64 ± 8 歳)と、有意狭窄がなくアセチルコリンにより冠動脈の攣縮が証明された異型狭心症患者連続12例(異型狭心症群: 男性8例, 女性4例, 平均年齢 62 ± 12 歳)である。冠動脈造影により有意狭窄およびアセチルコリンにより冠動脈の攣縮が証明されなかった12例を対照群(男性9例, 女性3例, 平均年齢 62 ± 10 歳)とした。75g経口糖負荷試験で耐糖能が正常な患者を今回の対象とした。

2. 方法

1) インスリン抵抗性の測定

インスリン抵抗性は入院8±3日目に評価した。インスリン抵抗性は、グルコースクランプ法を用いDeFronzoら¹⁷⁾の方法に準じ測定した。すなわち、前日の夕食後から絶食して検査当日の午前中に人工膵臓(STG-22, 日機装製)を装着した。速効性インスリン(ヒューマリンR, 塩野義製薬製)を右肘静脈内に持続注入し、対側の肘静脈から10%グルコースを持続注入した。初期量3.56mU/kg/minのインスリンを開始し、以後15分間ごとに漸減し、注入開始後15-120分は、1.12mU/kg/minの維持量で注入した。インスリン抵抗

性の指標としては、1.12mU/kg/minの維持量でインスリンを注入している間の血糖値を90mg/dlに維持するために必要な体重当たりのグルコース注入量(mg/kg/min)について、注入開始後90-120分での平均値を用いた。39例の対象者全員から心臓カテーテル検査およびグルコースクランプ法によるインスリン抵抗性の検査に関する文書同意を得た。

2) 他の冠危険因子の評価

高血圧の判定は、複数回測定の随時血圧が140/90mmHg以上とした。高尿酸血症は、薬物治療中もしくは尿酸値が8.0mg/dl以上の症例とした。喫煙は、平均喫煙量20本/日、1年以上の喫煙歴のある症例とした。また、血清脂質は、総コレステロール、中性脂肪、HDLコレステロールを測定し、低比重リポ蛋白(low-density lipoprotein: LDL)コレステロールはFriedewald²⁵⁾の式により求めた。薬物治療を受けている症例は除外した。血漿レプチンはMaら²⁶⁾の放射性免疫測定法を用いて測定した。採血は12時間以上の絶食、絶飲後の早朝空腹時とした。肥満度はbody mass index(BMI)により評価した。

3) 冠動脈造影

左右冠動脈をいずれも2方向以上より観察し、75%以上の狭窄を有意狭窄病変とした。また、冠動脈に有意狭窄が認められなかった症例に対しては、冠動脈内にアセチルコリンを投与し攣縮が誘発された症例を陽性とした。

4) 統計

年齢、BMI、総コレステロール、HDLコレステロール、LDLコレステロール、中性脂肪、尿酸、空腹時血糖、レプチン、平均グルコース注入量、インスリン、ヘモグロビンA_{1c}などの各測定値は平均±標準偏差で示した。3群間の有意差検定はBonferroniのt検定を用いて行い、また変動値間の関連は直線回帰分析により検討した。いずれも $p < 0.05$ を有意差の判定とした。

結 果

1. 他の冠危険因子(Table 1)

狭心症群、異型狭心症群、対照群における高血圧罹患率(67%, 58%, 50%), 喫煙率(53%, 42%, 42%), 男性の割合(73%, 67%, 75%), 総コレステロール(206 ± 42 , 194 ± 32 , 193 ± 21 mg/dl), HDLコレステ

Table 1 Baseline characteristics in the three groups

Characteristics	Control (n = 12)	OCAD (n = 15)	Vasospastic angina (n = 12)
Age(yr)	62 ± 10	64 ± 8	62 ± 12
Sex(male/female)	9/3	11/4	8/4
Body mass index(kg/m ²)	23.1 ± 1.3	24.0 ± 2.0	23.8 ± 2.7
Hypertension(%)	50	67	58
Smokers(%)	42	53	42
Fasting blood sugar(mg/dl)	95 ± 7	96 ± 9	95 ± 7
Hemoglobin A _{1c} (%)	5.0 ± 0.3	5.1 ± 0.4	5.0 ± 0.4
Insulin(IU/ml)	6.6 ± 1.4	6.6 ± 2.1	6.9 ± 2.5
Total cholesterol(mg/dl)	193 ± 21	206 ± 42	194 ± 32
LDL cholesterol(mg/dl)	121 ± 17	131 ± 33	123 ± 31
HDL cholesterol(mg/dl)	50 ± 8	51 ± 11	47 ± 12
Triglycerides(mg/dl)	112 ± 42	124 ± 59	117 ± 49
Uric acid(mg/dl)	5.6 ± 1.3	5.3 ± 1.4	5.5 ± 1.4
Medications(%)			
ACE inhibitors	25	33	25
Angiotensin receptor blockers	13	27	25
Calcium channel blockers	50	67	75

Continuous values are mean ± SD.

OCAD = obstructive coronary artery disease; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; ACE = angiotensin-converting enzyme.

ロール(51 ± 11, 47 ± 12, 50 ± 8 mg/dl), LDL コレステロール(131 ± 33, 123 ± 31, 121 ± 17 mg/dl), 中性脂肪(124 ± 59, 117 ± 49, 112 ± 42 mg/dl), 尿酸(5.3 ± 1.4, 5.5 ± 1.4, 5.6 ± 1.3 mg/dl), 空腹時血糖(96 ± 9, 95 ± 7, 95 ± 7 mg/dl), インスリン(6.6 ± 2.1, 6.9 ± 2.5, 6.6 ± 1.4 IU/ml), ヘモグロビン A_{1c}(5.1 ± 0.4%, 5.0 ± 0.4%, 5.0 ± 0.3%)に差は認められなかった。狭心症群および異型狭心症群におけるBMIはそれぞれ 24.0 ± 2.0, 23.8 ± 2.7 kg/m² と、対照群の 23.1 ± 1.3 kg/m² に比較して差は認められなかった。3群におけるアンジオテンシン受容体拮抗薬, アンジオテンシン変換酵素阻害薬, Ca拮抗薬の使用頻度に差は認められなかった。対照群の半数は高血圧を有していたが, 残りの半数は基礎疾患を有していなかった。

2. 各疾患群におけるインスリン抵抗性および血漿レプチン値

狭心症および異型狭心症群の平均グルコース注入量はそれぞれ 4.39 ± 1.78, 3.57 ± 1.72 と、対照群の 8.74 ± 1.05 mg/kg/min と比較して有意($p < 0.017$)に低

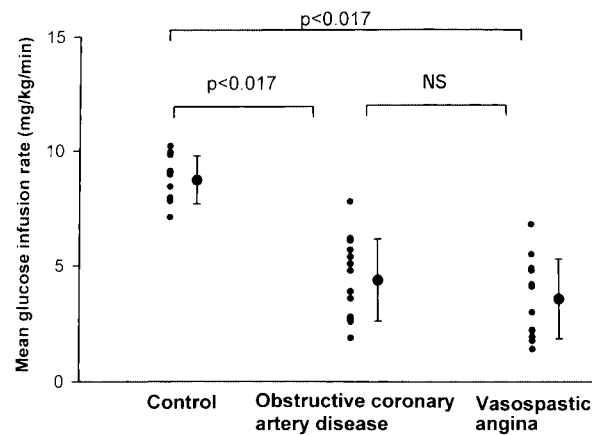


Fig. 1 Mean glucose infusion rate in control subjects, patients with obstructive coronary artery disease, and patients with vasospastic angina

Mean glucose infusion rate was significantly lower in patients with obstructive coronary artery disease and vasospastic angina than in the control group.

値であった(Fig. 1). すなわち, 狭心症および異型狭心症群は対照群と比較してインスリン抵抗性を示していた。一方, 血漿レプチン値は 8.4 ± 2.7, 7.9 ± 2.1 ng/ml と対照群の 4.7 ± 1.4 ng/ml と比較して有意

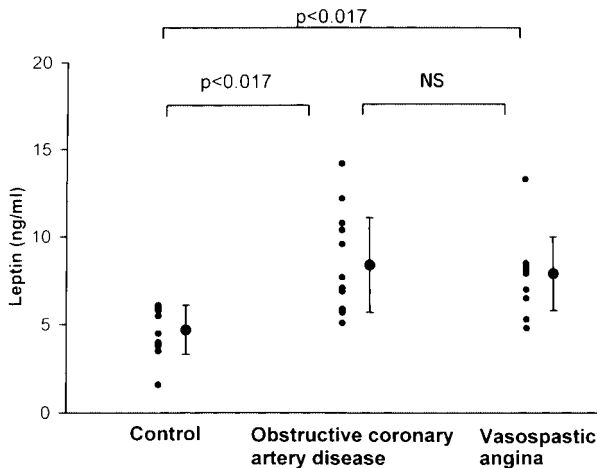


Fig. 2 Plasma leptin levels in control subjects, patients with obstructive coronary artery disease, and patients with vasospastic angina
 Plasma leptin levels were significantly higher in patients with obstructive coronary artery disease and vasospastic angina than in the control group.

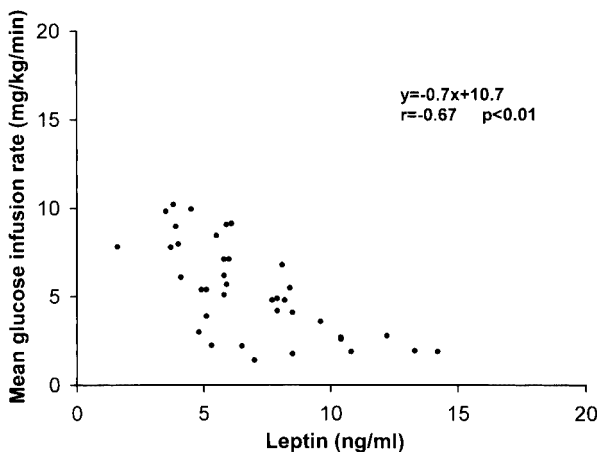


Fig. 3 Scatterplots showing the relationship between mean glucose infusion rate and plasma leptin level
 The plasma levels of leptin were negatively correlated with mean glucose infusion rate.

($p < 0.017$)に高値であった(Fig. 2)。狭心症群と異型狭心症群の平均グルコース注入量および血漿レプチン値には差が認められなかった。

3. インスリン抵抗性と血漿レプチン値

血漿レプチン値と平均グルコース注入量には負の相関($r = -0.67, p < 0.01$)が認められた(Fig. 3)。すなわち、レプチン値とインスリン抵抗性との間には正の

相関を認めた。

考 案

今回我々の研究において、耐糖能が正常な狭心症患者においてもインスリン抵抗性の増大が認められた。インスリン抵抗性は一定のインスリン負荷に対する組織ブドウ糖摂取量の低下と定義され、耐糖能異常に加え、高血圧や脂質代謝異常に関わることによって冠動脈疾患の発症に関与すると考えられている。また、インスリン抵抗性は冠動脈疾患患者では、正常耐糖能を示す患者においても高率に存在しており、耐糖能異常とは別にインスリン抵抗性自体が冠動脈硬化を促進すると考えられている。Shinozakiら¹²⁾は、正常耐糖能者の冠動脈硬化指数と steady state plasma glucose 法により求めたインスリン抵抗性との関係について検討し、正の相関を示したと報告している。また、Bresslerら¹¹⁾と辻本ら²⁷⁾も正常耐糖能者の冠動脈疾患患者においてグルコースクランプ法で求めたインスリン抵抗性が、冠動脈疾患の発症および進展に関係していると報告している。

インスリン抵抗性の増大による冠動脈疾患発症の機序として、インスリン抵抗性を代償するための高インスリン血症による血管平滑筋増殖作用、脂質代謝異常などを介する冠動脈硬化などが考えられている。インスリン抵抗性の増大はインスリン受容体やインスリン様成長促進因子1受容体を介して血管平滑筋の増殖を刺激する。またNa-H交換ポンプを刺激することによって細胞内のアルカリ化を介して増殖を刺激する。このようにインスリン抵抗性の増大は血管平滑筋細胞の増生と中膜肥厚を引き起こすことによって虚血性心疾患の発症に深く関与している可能性がある。

しかしながら、今回の研究ではインスリン抵抗性の増大は明らかな高インスリン血症、あるいは総コレステロール、HDLコレステロール、LDLコレステロール、中性脂肪といった脂質異常を伴わなかったことより、インスリン抵抗性と冠動脈疾患の関連は単に高インスリン血症によるインスリンの直接的作用、あるいは脂質代謝異常だけではないと考えられる。近年、インスリン抵抗性の増大は、プラスミノゲン活性化因子インヒビター1(plasminogen activator inhibitor-1: PAI-1)、第1因子、フィブリノーゲン、組織プラスミノゲン活性化因子(tissue plasminogen activator: t-PA)

といった凝固線溶系に影響を及ぼすと報告されている²⁸⁾。すなわち、インスリン抵抗性の増大は、線溶系のアクチベーターであるt-PA活性を低下させ、インヒビターであるPAI-1活性を増加させる。また、凝固系活性化の指標である第Ⅲ因子、フィブリノーゲン値を上昇させ血栓傾向を促進することによって動脈硬化の進展に大きく関わると考えられている。このようにインスリン抵抗性の増大は動脈硬化促進作用に加え、t-PA活性低下、あるいはPAI-1活性上昇といった凝固線溶系を介して、さらに交感神経活動の亢進などを介して冠動脈疾患の発症に関与すると思われる。

インスリン抵抗性の増大が閉塞性冠動脈疾患の発症ばかりでなく、冠攣縮性狭心症にも関与していたことは興味深い。Shinozakiら⁸⁾も非肥満、非糖尿病、非高血圧の冠攣縮性狭心症患者は対照例に比べてインスリン抵抗性が高いと報告している。インスリン抵抗性増大による冠攣縮発症の機序としては、インスリン抵抗性の状態では、インスリンによる血管拡張作用が低下していると報告されている²⁹⁾。この機序として血管内皮機能の障害による一酸化窒素の低下が考えられている³⁰⁾。この血管内皮機能障害による一酸化窒素の低下が冠攣縮と関係しているのかもしれない。

近年、脂肪組織から遊離されるレプチンは、脂質代謝の調節に働き、心血管疾患の発症および進展に関与する可能性が注目されている。Wallaceら²³⁾はWest of Scotland Coronary Prevention Studyにおいて冠動脈疾患の独立した予測因子として血漿レプチン値が重要であると報告している。本研究においても狭心症および異型狭心症群の血漿レプチン値は対照群と比較して有意に高値であった。レプチンによる心血管疾患の発症機序として、近年、脂質代謝異常ばかりでなく凝固系の異常が注目されている。Nakataら³¹⁾はヒトの血小板には機能的レプチン受容体が発現しており、レプチンによる前処置後アデノシン二リン酸の添加により血小板の凝集が誘導されたと報告している。このことから、レプチンは血小板に存在する機能的レプチン受容体を介して血小板凝集作用を有することで心血管疾患の発症および進展に関与していると推察される。また、レプチンは線溶系の阻害作用を有するPAI-1の産生を促進すると報告されている³²⁾。さらにレプチンは交感神経活動を亢進させることが示されている。

このようにレプチンは脂質代謝異常、血小板凝集作

用、PAI-1産生の促進、交感神経活動の亢進などを介して虚血性心疾患の発症に深く関与しているのかもしれない。レプチンと冠攣縮との関係についての詳細な報告は認められない。近年、レプチンがヒトの内皮細胞において酸化ストレスを惹起し、内皮機能障害に促進的に作用する可能性が報告された³³⁾。この血管内皮機能障害による一酸化窒素の低下が冠攣縮と関係しているのかもしれない。さらに、血漿レプチン値がインスリン抵抗性と正の相関を認めたことも興味深い。Kennedyら¹⁹⁾、Leyvaら³⁴⁾、Zimmetら³⁵⁾、さらにAgataら³⁶⁾も高レプチン血症とインスリン抵抗性の間には正の相関があったと報告している。しかし、インスリン抵抗性が高レプチン血症の結果によるものか否かは不明である。近年、レプチンがインスリン抵抗性を改善すると報告³⁷⁾されていることを勘案すると、血漿レプチン値は、インスリン抵抗性を反映し、狭心症の危険因子の指標となりうる可能性を示唆しているのかもしれない。

本研究の限界

今回の研究では既知の危険因子に差異が認められなかった。血清脂質に差が認められなかった理由の一つとして、高脂血症治療薬の使用患者は対象から除外したが、入院前に生活様式の改善などの非薬物治療が施行されていた可能性があることが挙げられる。また、本研究ではインスリン抵抗性を定量的な評価が可能で最も信頼性が高いとされるグルコースクランプ法で施行したため、39例と少数例の検討であることも既知の危険因子に差異を認めなかった理由かもしれない。また本研究では空腹時高インスリン血症を伴わないインスリン抵抗性が冠動脈硬化や冠攣縮に関与したと考えられたが、その機序について詳細は不明である。さらに本研究では肥満を伴わない冠動脈硬化や冠攣縮患者の血漿レプチン値が上昇していたが、その詳細な機序についても不明である。これらが今後の検討課題と考えられた。

結 語

狭心症および異型狭心症群は対照群と比較してインスリン抵抗性を示し、血漿レプチン値は高値を呈していた。また、血漿レプチン値がインスリン抵抗性と正の相関が認められたことより、血漿レプチン値は、イ

ンスリン抵抗性を反映し，狭心症の危険因子の指標である可能性が示唆された。

謝 辞

グルコースクランプ法の指導をいただいた本院医療技術員，吉田 晃氏，ならびに本論文に対し貴重な助言をいただいた故大竹 稔先生に感謝いたします。

要 約

目 的：肥満遺伝子産物であるレプチンとインスリン抵抗性が冠動脈疾患に関与しているか否か，さらに両者の関係について検討した。

方 法：対象は冠動脈造影により有意狭窄を認めた狭心症群 15 例(平均年齢 64 ± 8 歳)，有意狭窄がなくアセチルコリンにより冠動脈の攣縮が証明された異型狭心症群 12 例(平均年齢 62 ± 12 歳)，および対照群 12 例(平均年齢 62 ± 10 歳)で，血漿レプチン値，インスリン抵抗性，およびその他の冠危険因子を比較検討した。インスリン抵抗性は人工臓臓を用いての正常グルコースクランプ法により求めた。

結 果：3 群間の年齢，性，body mass index，喫煙率，高血圧罹患率，総コレステロール，中性脂肪，および尿酸には差が認められなかった。狭心症および異型狭心症群における平均グルコース注入量は 4.39 ± 1.78 ， 3.57 ± 1.72 mg/kg/min と対照群の 8.74 ± 1.05 mg/kg/min と比較して有意 ($p < 0.017$) に低値であった。一方，血漿レプチン値は 8.4 ± 2.7 ， 7.9 ± 2.1 ng/ml と対照群の 4.7 ± 1.4 ng/ml と比較して有意 ($p < 0.017$) に高値であった。血漿レプチン値と平均グルコース注入量には負の相関 ($r = -0.67$ ， $p < 0.01$) があった。

結 語：血漿レプチン高値およびインスリン抵抗性はともに冠動脈疾患に関与している可能性が示唆された。

J Cardiol 2002 Aug; 40(2): 51-57

文 献

- 1) Castelli WP: Epidemiology of coronary heart disease: The Framingham Study. *Am J Med* 1984; **76**: 4-12
- 2) Reaven GM: Banting lecture: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; **37**: 1595-1607
- 3) Kaplan NM: The deadly quartet: Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; **149**: 1514-1520
- 4) DeFronzo RA, Ferrannini E: Insulin resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; **14**: 173-194
- 5) Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, Tarui S: Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism* 1987; **36**: 54-59
- 6) Fontbonne A, Charles MA, Thibault N, Richard JL, Claude JR, Warnet JM, Rosselin GE, Eschwège E: Hyperinsulinaemia as a predictor of coronary heart disease mortality in a healthy population: The Paris Prospective Study, 15-year follow-up. *Diabetologia* 1991; **34**: 356-361
- 7) Ley CJ, Swan J, Godsland IF, Walton C, Crook D, Stevenson JC: Insulin resistance, lipoproteins, body fat and hemostasis in nonobese men with angina and a normal or abnormal coronary angiogram. *J Am Coll Cardiol* 1994; **23**: 377-383
- 8) Shinozaki K, Suzuki M, Ikebuchi M, Takaki H, Hara Y, Tsushima M, Harano Y: Insulin resistance associated with compensatory hyperinsulinemia as an independent risk factor for vasospastic angina. *Circulation* 1995; **92**: 1749-1757
- 9) Després J-P, Lamarche B, Mauriège P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, Lupien P-J: Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996; **334**: 952-957
- 10) Howard G, O Leary DH, Zaccaro D, Haffner S, Rewers M, Hamman R, Selby JV, Saad MF, Savage P, Bergman R, for the Insulin Resistance and Atherosclerosis Study (IRAS) Investigators: Insulin sensitivity and atherosclerosis. *Circulation* 1996; **93**: 1809-1817
- 11) Bressler P, Bailey SR, Matsuda M, DeFronzo RA: Insulin resistance and coronary artery disease. *Diabetologia* 1996; **39**: 1345-1350
- 12) Shinozaki K, Hara Y, Suzuki M, Harano Y, Ikebuchi M: Demonstration of insulin resistance in coronary artery disease documented with angiography. *Diabetes Care* 1996; **19**: 1-7
- 13) Ginsberg HN: Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000; **106**: 453-458
- 14) Egan BM, Greene EL, Goodfriend TL: Insulin resistance and cardiovascular disease. *Am J Hypertens* 2001; **14**: 116S-125S
- 15) Bergman RN, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C: Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am J Physiol* 1979; **236**: E667-E677

J Cardiol 2002 Aug; 40(2): 51-57

- 16) Shen S-W, Reaven GM, Farquhar JW: Comparison of impedance to insulin-mediated glucose uptake in normal subjects and in subjects with latent diabetes. *J Clin Invest* 1970; **49**: 2151 - 2160
- 17) DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R: Glucose clamp technique: A method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979; **237**: E214 - E223
- 18) Segal KR, Landt M, Klein S: Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* 1996; **45**: 988 - 991
- 19) Kennedy A, Gettys TW, Watson P, Wallace P, Ganaway E, Pan Q, Garvey T: The metabolic significance of leptin in humans: Gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; **82**: 1293 - 1300
- 20) Hattori A, Uemura K, Miura H, Ueda M, Tamaya N, Iwata F, Muraguchi M, Ohmoto Y, Iguchi A: Gender-related difference in relationship between insulin resistance and serum leptin level in Japanese type 2 diabetic and non-diabetic subjects. *Endocr J* 2000; **47**: 615 - 621
- 21) Chu N-F, Spiegelman D, Hotamisligil GS, Rifai N, Stampfer M, Rimm EB: Plasma insulin, leptin, and soluble TNF receptors levels in relation to obesity-related atherogenic and thrombotic cardiovascular disease risk factors among men. *Atherosclerosis* 2001; **157**: 495 - 503
- 22) Soderberg S, Ahren B, Jansson JH, Hallmans G, Asplund K, Olsson T: Leptin is associated increased risk of myocardial infarction. *J Intern Med* 1999; **246**: 409 - 418
- 23) Wallace AM, McMahan AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, Sattar N: Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study(WOSCOPS). *Circulation* 2001; **104**: 3052 - 3056
- 24) Couillard C, Dagenais GR, Lamarche B, Moorjani S, Mauriège P, Lupien P-J, Cantin B, Després J-P: Leptinemia is not a risk factor for ischemic heart disease in men. *Diabetes Care* 1998; **21**: 782 - 786
- 25) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; **18**: 499 - 502
- 26) Ma Z, Gingerich RL, Santiago JV, Klein S, Smith CH, Landt M: Radioimmunoassay of leptin in human plasma. *Clin Chem* 1996; **42**: 942 - 946
- 27) 辻本伸宏, 金内雅夫, 中嶋民夫, 尾崎博基, 藤田泰三, 橋本俊雄, 土肥和紘: 虚血性心疾患患者での冠動脈病変重症度とグルコースクランプ法で判定したインスリン抵抗性との関係. *糖尿病* 1998; **41**: 663 - 668
- 28) Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P: Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels: A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia* 1991; **34**: 457 - 462
- 29) Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osuga J, Shionoiri F, Yahagi N, Kadowaki T, Tamemoto H, Ishibashi S, Yazaki Y, Makuuchi M: Hypertension, hypertriglyceridemia, and impaired endothelium-dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest* 1998; **101**: 1784 - 1788
- 30) Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD: Decreased effect of insulin to stimulate skeletal muscle blood flow in obese man: A novel mechanism for insulin resistance. *J Clin Invest* 1990; **85**: 1844 - 1852
- 31) Nakata M, Yada T, Soejima N, Maruyama I: Leptin promotes aggregation of human platelets via the long form of its receptor. *Diabetes* 1999; **48**: 426 - 429
- 32) Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, Yamashita S, Miura M, Fukuda Y, Takemura K, Tokunaga T, Matsuzawa Y: Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: Possible contributor to vascular disease in obesity. *Nature Med* 1996; **2**: 800 - 803
- 33) Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R: Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999; **13**: 1231 - 1238
- 34) Leyva F, Godsland IF, Ghatei M, Proudler AJ, Aldis S, Walton C, Bloom S, Stevenson JC: Hyperleptinemia as a component of a metabolic syndrome of cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; **18**: 928 - 933
- 35) Zimmet P, Boyko EJ, Collier GR, de Courten M: Etiology of the metabolic syndrome: Potential role of insulin resistance, leptin resistance, and other players. *Ann N Y Acad Sci* 1999; **892**: 25 - 44
- 36) Agata J, Masuda A, Takada M, Higashiura K, Murakami H, Miyazaki Y, Shimamoto K: High plasma immunoreactive leptin level in essential hypertension. *Am J Hypertens* 1997; **10**: 1171 - 1174
- 37) Ebihara K, Ogawa Y, Masuzaki H, Shintani M, Miyanaga F, Aizawa-Abe M, Hayashi T, Hosoda K, Inoue G, Yoshimasa Y, Gavrilova O, Reitman ML, Nakao K: Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipotrophic diabetes. *Diabetes* 2001; **50**: 1440 - 1448