

平成30年6月25日現在

機関番号：82404

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03048

研究課題名(和文) 肢体不自由者に生じる内臓脂肪型肥満のメカニズムとその対策に関する研究

研究課題名(英文) Development of the strategy to control obesity among people with physical disabilities.

研究代表者

赤居 正美 (Akai, Masami)

国立障害者リハビリテーションセンター(研究所)・研究所・研究所顧問

研究者番号：80143452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：運動機能に制限を持つ障害者にとって活動量を維持して肥満を予防することは容易でない。本研究ではこうした四肢の活動性低下と全身の代謝障害との関連を炎症反応に着目して解析を行った。マウスを用いた検討では脊髄損傷によって糖代謝異常が生じることが示されるとともに、不動化された下肢筋肉内ではマクロファージによる炎症反応が生じることが明らかとなった。臨床例においても麻痺筋を動かす工夫をして体調管理を実施することが実用的である。

研究成果の概要(英文)：For the people with physical disabilities, the maintenance of body weight by physical exercise is difficult. In the current study we aimed to reveal the relation between immobilized limb and systemic metabolism. The mouse model of spinal cord injury showed deterioration in glucose tolerance. In addition, we found that the inflammatory reaction occurs within the immobilized muscles though the activation of macrophages. Our results suggest that the mobilization of disabled muscle, even by passively, may provide benefit for physical fitness control for those patients.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：慢性炎症 二次障害

1. 研究開始当初の背景

障害者に見る2次的障害の発生

障害のない一般健常者においても、健康増進を図る上で、生活習慣病すなわちメタボリックシンドロームや運動器障害であるロコモティブシンドロームの予防が重要である。国立障害者リハビリテーションセンターに開設している障害者を対象とした人間ドックでの結果を調べると、受診時での異常発見率は約90%で、そのうち、70%は、脂肪肝、高脂血症、肥満などの生活習慣病が占めており、障害者に生活習慣病合併が多い実態が確認できた。

健康増進のための運動習慣導入

2011年世界保健機関(WHO)は、「がん・糖尿病・心血管疾患など、感染症を除いた慢性疾患(non-communicable diseases: NCD)を予防するために必要な運動量や強度、頻度、期間、種類などに関する具体的な推奨」を発表して、各年齢層毎に健康に必要な身体活動に関する勧告を行った。我が国においても、健康づくりや生活習慣病予防を推進していくため「健康づくりのための身体活動基準2013」を策定している。身体活動の増加でリスクを低減できるものとして、メタボリックシンドロームに加え、がんやロコモティブシンドローム・認知症が含まれることも明らかになってきた。しかし先行する障害をもつ人々に対して運動介入がそのまま効果を上げるかには検証の余地が残されている。

トップアスリートでの訓練効果の限界

パラリンピックに参加する脊髄損傷者のトップアスリートを調べた調査からは、十分なトレーニングを積んでいるにもかかわらず、脂質代謝異常をはじめとする検査上の異常が見つかる。障害特性を反映した特有の変化に加え、さらに何年ものフォローアップからの知見では、トレーニング効果が障害によって一定の範囲で頭打ちにならざるを得ない。活動量の点で日本のトップレベルにある彼らにおいてもなお、内臓脂肪肥満の頻度が高いことを考えると、脊髄損傷者の肥満の背景には麻痺による活動量低下のみでは説明できない余地があることを示唆している。

脂肪組織と筋組織の相互作用からみた脊髄損傷者の内臓脂肪肥満

近年、内臓脂肪肥満の病態は脂肪組織における慢性炎症を中心に解析が進み、脂肪組織からの生理活性物質が筋肉を含めた全身の代謝を悪化させることが分かっている。一方、筋肉も生理活性物質を産生放出する内分泌臓器としての機能を有することが明らかとなっており、廃用等の病態では筋肉内に生じる炎症反応とともに内分泌機能も変化すると考えられている。脊髄損傷者では広範囲の麻痺筋を存在するために、筋組織と脂肪組織の両者での炎症病態が相互作用することに

よって、肥満の状態をもたらしている可能性が考えられる。脊髄損傷者における代謝異常に対しては受動式歩行訓練や機能的電気刺激による下肢の運動が提唱されており、筋における糖代謝能の改善効果が報告されているが、内臓脂肪の炎症反応との関連について解析した報告は少ない。その背景には、適切な動物モデルを用いた実験が確立していないことも一因となっている。

そこで本研究では、脊髄損傷者の内臓脂肪肥満のメカニズムを麻痺筋のバイオロジーと脂肪組織の慢性炎症の両方の視点からアプローチすることを試みた。

2. 研究の目的

本研究の目的は脊髄損傷による下肢麻痺が全身的な脂質代謝系に与える影響を新たな視点から捉え、それを基に下肢筋への介入によって内臓脂肪を改善させる治療法の基盤を構築することである。

開始当初の達成目標

- [1] 脊髄損傷後肥満マウスにおける内臓脂肪組織と筋組織での組織変化と慢性炎症の解析
- [2] 炎症反応への介入による脊髄マウス肥満病態の影響と改善効果の検証
- [3] モデルマウスにおける下肢筋への介入による脂質代謝変化の解析
- [4] 麻痺筋からの全身性メディエーターの同定とヒト症例での検証

3. 研究の方法

本研究ではマウスモデルとして以下のモデルを作成した。

1) 脊髄圧座損傷モデル

専用の機器(IHインパクト)にて第10レベルの胸髄に対して、中等度の圧座損傷を加えた。損傷後マウスは不全麻痺を呈し、一定の歩行が可能になるまで回復する。

2) 後肢末梢神経切断モデル

後肢の筋群を支配する大腿神経および坐骨神経を両側で切断する。これによって下肢の動きはほぼ完全に消失することとなる。

3) 後肢不動化モデル

大腿以下の両側後肢をらせんワイヤーにて保持し、随意的な運動を抑制するモデル。麻痺は呈さないが動きを伴う関節運動は消失する。

解析方法

1) 組織学的解析

神経組織のほか、脂肪組織、筋組織を凍結切片として標本とし、目的に応じて免疫組織学的染色を行った。

2) 耐糖能検査

マウスの耐糖能評価として、グルコース負荷のちに120分後まで血中グルコース濃度を計測した。

ヒトを対象とした研究

本研究では脊髄損傷者を中心とする慢性期の運動機能障害を有する症例に対して、横断的評価とともに3か月の運動プログラムを実践することで、体重の変化と脂質糖代謝の変化を評価した。

4. 研究成果

マウス脊髄損傷モデルでの肥満誘導

マウスの脊髄損傷肥満モデルを作成するために、脊髄圧挫損傷モデルを作成し12週後までの観察を行った。損傷は第10胸髄レベルに作成し、後肢の不全麻痺を示すモデルが作成できた。

しかしこの実験系では十分な肥満が得られず、条件検討が必要となった。そこで一般的にマウス肥満モデルを作成する際に用いる高脂肪食の負荷を試み、脊髄損傷を作成した後に高脂肪食を負荷した。

図1は高脂肪食負荷と通常食による脊髄損傷後の体重変化を示す。グラフに示される通り、高脂肪食の負荷を行っても十分な肥満は得られなかった。

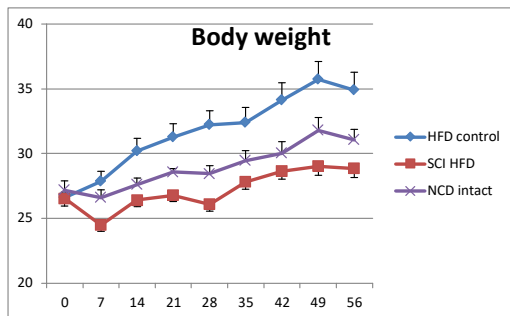


図1：脂肪食負荷後の体重変化

HFD:脂肪食、SCI:脊髄損傷、NCD intact 通常食コントロール

一方、同じマウスにおいて耐糖能を評価するためにグルコース負荷テストを行い、血糖値変化を観察した。

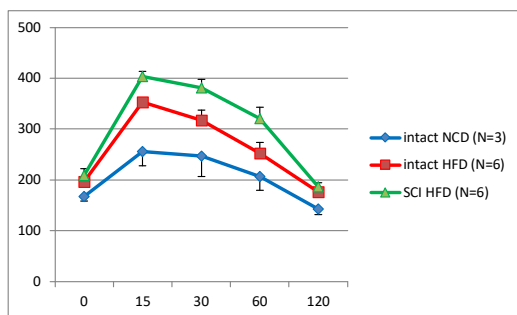


図2：脂肪食負荷後グルコース負荷試験での血糖値変化

図2に示すように耐糖能テストにおいては高脂肪食負荷マウスにおいてグルコース負荷後の高血糖が生じていることが明らかとなった。このように、脊髄損傷マウスの高脂肪食負荷モデルでは耐糖能異常が生じる一方で、体重増加は見られなかった。このことは脊髄損傷による後肢麻痺がエネルギー代謝以外にも影響し、全体の体重に対して抑制的に働くことを示唆している。

マウスにおける脊髄損傷モデルは不全麻痺に相当し、後肢に一定の動きが残るため、これを完全に焼失させた場合の変化について末梢神経損傷モデルにて検討した。図3は大腿神経と坐骨神経を両側で切断し、後肢の動きが完全に失われた状態を作成した。この条件で再度、体重変化と耐糖能の変化を確認した。

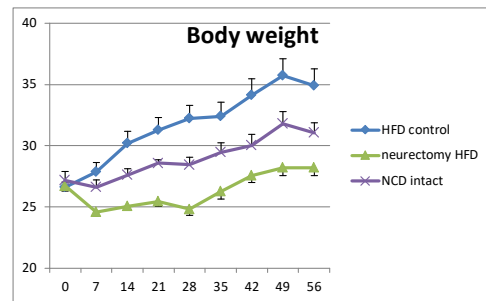


図3：神経切断(neurectomy)後の体重変化

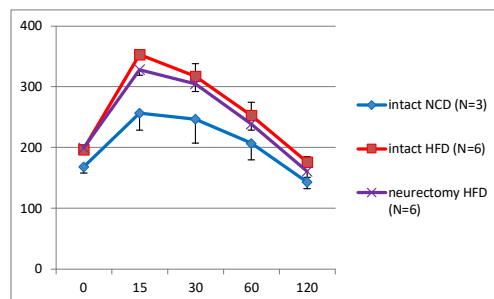


図4：神経切断後のグルコース負荷試験

図3、4に示すように末梢神経神経損傷(Neurectomy)モデルでは肥満も耐糖能異常も見られないという結果であった。

以上の結果から脊髄損傷者に生じる肥満と耐糖能異常をそのままマウスモデルで再現することは困難と考えた。しかし、脊髄損傷モデルでは耐糖能の異常が顕著にみられたことから後肢の不動化・活動減少にとともなう変化が耐糖能異常に寄与していることが予想された。

近年、組織に生じる慢性炎症は様々な臓器で報告されており、今回観察された不動化の後肢が全身の耐糖能にもたらす影響にも慢性炎症が関与している可能性が考えられた。

こうした不働化筋肉での炎症性変化の有無を確認するため、以下、マウスの後肢不働化モデルを作成し、下腿三頭筋の組織学的解析を行った。

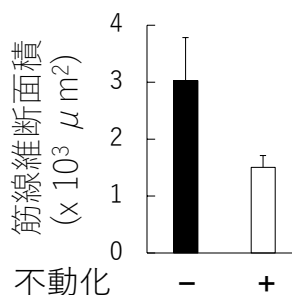


図5：不働化の有無による筋線維断面面積の変化

図5に示すように不働化によって筋断面面積は減少すること傾向を示した。続いて、筋肉内の炎症反応を評価するために炎症反応を誘導するケモカインである MCP-1 の免疫染色を行った。図6では不働化された筋組織中の MCP-1 陽性細胞の数が増加している所見がみられる。次いで、実際に炎症反応が生じているかを評価するために代表的な炎症性サイトカインである TNF α の発現を定量評価したところ不働化筋肉内では TNF α 陽性細胞が増加していた (図7)。

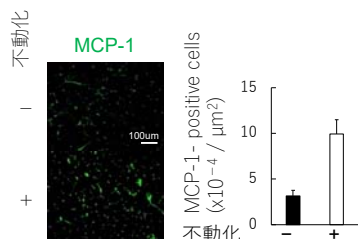


図6：不働化による MCP-1 陽性細胞数の変化

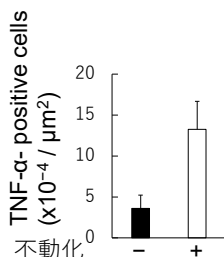


図7：不働化に伴う TNF α 陽性細胞数の変化

また、一連の反応を担っている細胞を同定するために組織中のマクロファージの指標である F4/80 に対する抗体で共染色を行ったと

ころ、不働化された筋組織内では TNF α と共染色されるマクロファージが多数観察された。

以上の結果から不働化に伴い筋組織中ではマクロファージが活性化し、TNF α を中心とする炎症性サイトカインを産生していることが明らかとなった。

ヒトを対象とした研究

慢性期の脊髄損傷者を含む身体障害者対象として、基本的な体組成データと脂質、糖代謝の評価を行った。症例の中には糖代謝異常を示す症例も多く、全体に肥満傾向がみられた。

こうした対象者を中心に3か月の運動プログラムを実施し、その中には麻痺領域を他動的にペダリング機器で動かす動作も取り入れることとした。

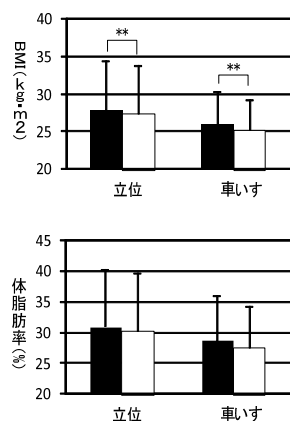


図8：身体障害者に対する3か月の運動介入前後の

BMI, 体脂肪率変化

■実施前、□実施後

図8に示すように、脊髄損傷者の中で立位可能なものと車いす利用のものそれぞれにおいて運動介入をすることによって優位な体重減少が観察された。しかし、脂質・糖代謝の変化についてはわずかで有意差はなかった。

考察

今回、当初の計画とは異なり脊髄損傷モデルのマウスでは十分な肥満傾向が得られなかった。このことは麻痺がもたらす様々な要因によって体重変化が影響を受けたためと考えられる。ただしその一方で、糖代謝異常は明確に観察されており、神経麻痺そのものまたは、間接的な作用によってインスリン感受性に変化が生じていることが示唆された。

こうしたインスリン感受性の変化をもたらす要因として、研究後半では筋肉における変化を解析の対象とした。四肢の不働化は筋萎縮だけでなく全身の代謝にも影響を及ぼ

すことを示唆する報告は複数みられるが、不同化自体が筋肉にどのような変化をもたらすかについては一定の見解は得られていなかった。

本研究では再現性を高めるため、ワイヤー固定による後肢不動化モデルを選択した。その結果、筋線維面積の減少が観察されるとともに、TNF α 陽性細胞の増加、そしてそれがマクロファージによるものであることが示された。

マクロファージは近年、様々な臓器において慢性炎症の原因として働き、生活習慣病の病態に関与することが分かってきている。今回の結果は不動化された筋においてもマクロファージによる慢性炎症が生じている可能性を示唆するものであり、麻痺筋への対処方法を考えるうえでも示唆に富む知見が得られている。

最後に、ヒトを対象とした介入研究を実施した。脊髄損傷者の中で肥満や糖代謝異常を呈するケースは少なくないが、そうした症例に対しても麻痺筋の他動的運動を含む運動介入によって体重コントロールが得られることが示唆された。今後、どの程度の活動量を付加することで効果が得られるのかを検証する必要がある。また糖代謝自体への効果は優位に得られなかったが、これは今回参加した症例の中で糖代謝異常の程度が比較的軽度の症例が多かったため、効果が観察しにくかったことも要因として考えられる。今後、対象症例の背景因子を絞り込んだ検討が必要である。

結語

脊髄損傷を中心とした下肢の活動性低下は筋肉内においてマクロファージを介した炎症反応を誘発する。こうした筋肉内の慢性炎症は個体レベルの糖代謝異常や肥満に対して介入を考える際に、治療ターゲットとなる可能性を持つことが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Iwaya T, Doi T, Seichi A, Hoshino Y, Ogata T, Akai M. Characteristics of disability in activity of daily living in elderly people associated with locomotive disorders. BMC Geriatr. 2017 Jul 26;17(1):165 (査読あり)
2. Ryu Y, Ogata T, Nagao M, Kitamura T, Morioka K, Ichihara Y, Doi T, Sawada Y, Akai M, Nishimura R, Fujita N. The swimming test is effective for evaluating spasticity after contusive spinal cord injury. PLoS One. 2017 Feb 9;12(2):e0171937. doi:10.1371/journal.pone.0171937. eCollection 2017. (査読あり)

3. Iwaya T, Doi T, Seichi A, Hoshino Y, Ogata T, Akai M. Relationship between physician-judged functioning level and self-reported disabilities in elderly people with locomotive disorders. Qual Life Res. 2017 Jan;26(1):35-43 (査読あり)
4. Akai M, Doi T, Seichi A, Okuma Y, Ogata T, Iwaya T. Locomotive Syndrome: Operational Definition Based on a Questionnaire, and Exercise Interventions on Mobility Dysfunction in Elderly People. Clin Rev Bone Miner Metab. 2016;14:119-130 (査読あり)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤居 正美 (Akai Masami)

国立障害者リハビリテーションセンター
研究所 研究所顧問

研究者番号： 80143452

(2) 研究分担者

緒方 徹 (OGATA Toru)

国立障害者リハビリテーションセンター
病院 (併任研究所) 障害者健康増進・運動医学支援センター長

研究者番号： 00392192