

令和元年6月22日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09556

研究課題名(和文)皮下脂肪を介したCOPD併存症の新規治療の開発

研究課題名(英文)New approach for for wasting SAT with COPD to overcome cachexia and comorbidities

研究代表者

辻 隆夫 (TSUJI, TAKAO)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：30459664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：COPD症例の皮下脂肪組織において、皮下脂肪数の減少が生じ皮下脂肪量の減少が生じる事を同定した。皮下脂肪数の減少の機序として血管新生低下が示唆されるが血管新生刺激薬を使用する事は発癌性のリスクがある。このため、血管新生以外の皮下脂肪改善の因子を探索しEP3発現の変化に着目した。マウス皮下脂肪増加時はEP3 receptor mRNA発現が減少し、COPD症例で非COPD症例に比べ皮下脂肪組織のEP3発現は亢進した。よって、EP3発現を低下させる治療介入が皮下脂肪改善を介した新たなやせや全身併存症の治療法として期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、COPD患者の予後規定因子である体重減少とCOPD併存症に対する新しい治療法の開発を、皮下脂肪の役割に着眼し行った。COPD特に気腫型COPDではエネルギー貯蔵の場としての皮下脂肪の減少が著明であるが、皮下脂肪量の改善はエネルギー貯蔵機能改善から併存症改善につながりうる。マウスモデルの検討で、減少する皮下脂肪ではEP3発現が亢進し、COPD症例の皮下脂肪でEP3発現が増加していた。よって、皮下脂肪組織内のEP3発現に介入しうる創薬は、COPD皮下脂肪の改善から併存症の創薬につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is often associated with cachexia including wasting subcutaneous adipose tissue (SAT) and comorbidities that have a significant impact on its prognosis. Since SAT plays an important role in energy homeostasis, the lower capacity for storage of surplus energy in wasting SAT with COPD may cause ectopic fat accumulation in the visceral adipose tissue, which could then lead to metabolic syndrome. We explored the new approach for wasting SAT with COPD to overcome cachexia and comorbidities. We identified increased EP3 expression in wasting SAT in a mouse model of pulmonary emphysema and patients with COPD. Targeting the EP3 expression in wasting SAT with COPD may be developed as a useful therapeutic intervention in cachexic emphysema patients.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：COPD 肺気腫 やせ 皮下脂肪 EP3

1. 研究開始当初の背景

(1) 慢性閉塞性肺疾患(Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD)における併存症は早期から合併する重要な予後規定因子である。COPDは全身性の慢性炎症性疾患とされるが、実際には全身性炎症の存在はCOPDの20%程度であり、30%は全身性炎症が存在しない。よって、COPDにおける糖代謝異常症や内臓脂肪蓄積などの全身併存症の理由として、全身性慢性炎症以外の機序も示唆される。

(2) 肺気腫の成因論の一つであるEndothelial Chronic Destructive Pulmonary Disease (E-COPD)仮説に着目し、COPD併存症に全身性の血管新生低下が関わる仮説を考え、やせや皮下脂肪量の減少に皮下脂肪の血管新生低下が関わる仮説を提唱した(図1)。この仮説から、皮下脂肪量が減少する肺気腫モデルマウスにおいて皮下脂肪の血管新生が低下していること、また血管刺激物質の全身投与により血管新生の改善から皮下脂肪量を改善することを見いだした。

(3) 皮下脂肪はそのエネルギー貯蔵能力により他臓器への異所性脂肪沈着を予防し、皮下脂肪に十分な貯蔵能力がなければ余剰エネルギーは内臓脂肪など他臓器に沈着する。COPDでは皮下脂肪量の減少によるエネルギー貯蔵能力の低下から異所性脂肪が蓄積しエネルギー代謝は非効率となり、やせにもかかわらず内臓脂肪蓄積や糖代謝異常を合併する仮説を提唱した(図1)。この仮説から、高脂肪食投与下の肺気腫モデルマウスにおいて、内臓脂肪蓄積や糖代謝異常を認めること、血管刺激物質の全身投与による皮下脂肪量の改善(皮下脂肪のエネルギー貯蔵能力の改善)に伴い内臓脂肪蓄積や糖代謝異常が改善することを見いだした。

(4) 以上より、血管新生低下による脂肪新生の減少が内臓脂肪蓄積や糖脂質代謝異常などのCOPDの全身併存症の原因になること、血管新生改善に伴う皮下脂肪量の改善はCOPD合併症の改善に結びつくことを、臨床応用を目指しヒト組織における傍証を目的とした(目的1)。また、血管新生をtargetにした創薬の臨床応用には常に発癌リスクが壁となり、血管新生以外の皮下脂肪改善の因子の探索を行った(目的2)。

2. 研究の目的

(1) COPDにおいて、皮下脂肪の血管新生低下による皮下脂肪量の減少が内臓脂肪蓄積などの全身併存症に關与することをヒト組織において証明する。

(2) 血管新生以外の皮下脂肪改善の因子の探索を施行し、新たなやせや全身併存症の治療法の開発へ結びつける。

3. 研究の方法

(1) COPD症例及び非COPD症例の皮下、内臓脂肪組織及び血液検体を用いて、皮下脂肪の血管新生低下による皮下脂肪量の減少が内臓脂肪蓄積などの全身併存症に關与することを免疫組織学的手法を用いて検討する。パラフィン包埋した皮下及び内臓脂肪組織から薄切切片を作成し免

疫組織染色を行う。CD31 (脂肪組織内血管床の同定) を一次抗体として使用する。CD31により同定した脂肪組織内の血管床を定量的に解析し血管密度を求め血管新生の指標とする。また内臓脂肪組織のH-E染色を行い光学顕微鏡下に個々の内臓脂肪細胞面積を計測する (内臓脂肪細胞肥大の同定)。

(2) 豚腓エラストーゼを経気道的に注入された C57BL/6J マウスの体重は、エラストーゼ投与 1 週後に有意差をもって減少し、1 週後から 2 週後にかけて回復する。このため、エラストーゼ投与 1 週後のマウスの皮下脂肪 (減少時の皮下脂肪) とエラストーゼ投与 2 週後のマウスの皮下脂肪 (増加時の皮下脂肪) を各々対照群 (生理食塩水の気道内投与 1、2 週後のマウス) の皮下脂肪と比較し遺伝子解析を行い、皮下脂肪の増減に関わる因子を同定する。すなわち各マウスの皮下脂肪組織より DNA を抽出し、microarray にて網羅的に遺伝子発現を解析する。

4. 研究成果

(1) COPD 症例と非 COPD 症例の皮下脂肪組織の脂肪細胞面積は同様であった (COPD: $5953 \pm 698 \mu\text{m}^2$ vs 非 COPD: $5968 \pm 606 \mu\text{m}^2$)。一方、胸郭レベルの CT 画像から算出した皮下脂肪量は COPD 症例は非 COPD 症例と比べ減少した (COPD: $87.9 \pm 12 \text{ cm}^2$ vs 非 COPD: $51.4 \pm 8.7 \text{ cm}^2$)。以上より COPD では皮下脂肪の脂肪細胞数の減少によるエネルギー貯蔵能力の低下が推察された。胸郭レベルの CT 画像から算出した内臓脂肪量は COPD 症例は非 COPD 症例と比べ変わらないものの (COPD: $110 \pm 30 \text{ cm}^2$ vs 非 COPD: $111 \pm 29 \text{ cm}^2$)、内臓脂肪組織の脂肪細胞面積は COPD で増大する傾向であった (COPD: $5508 \pm 350 \mu\text{m}^2$ vs 非 COPD: $5188 \pm 6012 \mu\text{m}^2$)。これらにより、1: COPD 症例では皮下脂肪と同様に内臓脂肪の脂肪細胞数の減少が起こる、2: 皮下脂肪の脂肪細胞数の減少によるエネルギー貯蔵能力の低下に伴い異所性エネルギーは内臓脂肪に蓄積されるが、内臓脂肪の脂肪細胞数の減少のため hypertrophy 亢進 (面積の増大) により異所性エネルギーに対処することが推察された。COPD 症例で脂肪細胞数の減少が起る機序に関して、CD31 染色により同定した血管密度は COPD 症例で低下しており、血管新生の低下から脂肪新生の低下につながり脂肪細胞数の減少すると推察された。

(2) エラストーゼ投与 1 週後のマウスの皮下脂肪 (減少時の皮下脂肪) では EP3 receptor mRNA 発現は増加した。一方、エラストーゼ投与 2 週後のマウスの皮下脂肪 (増加時の皮下脂肪) では EP3 receptor mRNA 発現は減少した。ヒト組織における実証として、EP3 抗体を用いた免疫染色により COPD 症例 10 例と非 COPD 症例 10 例の皮下脂肪組織内の EP3 発現を検討し、COPD 症例では非 COPD 症例に比べ皮下脂肪組織の EP3 発現は亢進していた。(COPD: $28.8 \pm 5.8\%$ vs 非 COPD: $10.4 \pm 3.1\%$)。以上より、皮下脂肪改善を目的とした EP3 発現を低下させる治療介入が期待される。

< 引用文献 >

- Chandra D, et al. Am J Respir Crit Care Med 184巻、2011、153-155
- Nishimura S, et al. Diabetes 56巻、2007、1517-1526
- Wang, et al. PNAS 308巻、2012、1150-1159

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Tsuji T, Yamaguchi K, Kikuchi R, Nakamura H, Misaka R, Nagai A, Aoshiba K. (6 名中 1 番目), et al. Improvement of metabolic disorders by an EP(2) receptor agonist via restoration of the subcutaneous adipose tissue in pulmonary emphysema.、査読有、130 巻、2017、16-22. DOI:10.1016/j.prostaglandins.2017.03.001

Kikuchi R, Tsuji T, Nakamura H, Yamaguchi K, Watanabe O, Yamaguchi K, Furukawa K, Nakamura H, Aoshiba K. (8 名中 2 番目), et al. Hypercapnia Accelerates Adipogenesis: A Novel Role of High CO(2) in Exacerbating Obesity.、査読有、57 巻、2017、570-580. DOI: 10.1165/rcmb.2016-02780C

〔学会発表〕(計 1 件)

辻 隆夫. COPD と脂肪～肺気腫と皮下脂肪～。Scientific Exchange Meeting in Tokyo 東京、新宿区 2019.5.8

〔図書〕(計 1 件)

Tsuji T. Springer、Nutritional Therapy for COPD: What Is the Present State of Nutritional Therapy and Is There a Possibility of Developing New Drugs? Chronic Obstructive Pulmonary Disease、2017、179-194.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：青柴 和徹

ローマ字氏名：AOSHIBA Kazutetsu

所属研究機関名：東京医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 60231776