

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591440

研究課題名（和文） 重症肥満症に対する低侵襲外科治療効果と脂肪細胞由来ホルモン動態の解析

研究課題名（英文） Analysis of the low invasive surgical treatment effect and dynamic state of adipose cell origin hormone of morbid obesity patients

研究代表者

佐々木 章 (SASAKI AKIRA)

岩手医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40275540

研究成果の概要（和文）：

研究では、腹腔鏡下スリーブ状切除術(LSG)を施行した高度肥満症 (BMI \geq 35 kg/m²+肥満随伴疾患)を対象に、メタボリックシンドロームの発症において重要な役割を果たすアディポサイトカインおよび摂食行動の制御にかかわるグレリン、レプチンの動態を解析する(primary point)。さらに基礎医学分野として、肥満症患者の病態形成にかかわる分子機構を解析する目的で、インスリン抵抗性関連遺伝子の遺伝子多型、分離培養した内臓脂肪初代培養細胞におけるアディポサイトカイン分泌能を検討し、さらに肥満関連遺伝子のmethylation解析とmRNAを用いたマイクロアレイ解析を行う(secondary point)。

LSG群では、高レプチン、低アディポネクチンの血中動態が明らかで、対照群と比較しても有意な変化であった。レプチンとアディポネクチンの動態はin vivoとin vitroで同様の動態を示しており、これらは内臓脂肪細胞依存性に産生されている可能性が示唆された。肥満関連遺伝子多型は、LSG症例でUCP1のAG、GG型を多く認めた。UCP1の多型は、術前BMIが高い傾向が見られたが術後減量効果に差を認めなかった。レプチンとアディポネクチンの動態はin vivoとin vitroで同様の動態を示し、これらは内臓脂肪細胞依存性に産生されていた。従って、もともとアディポサイトカイン産生プロファイルが高く設定された病的肥満症では、減量手術によって遺伝子多型にかかわらずアディポサイトカイン産生プロファイルが低下し、もともとの個体に遺伝子多型にかかわらず効果が期待できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

In this research, for morbid obesity patients (BMI \geq 35 kg/m² with comorbidities) underwent laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG), the dynamic state of adipocytokines such as ghrelin and leptin which play an important role in development of symptoms of metabolic syndrome is analyzed (primary point). Furthermore, the purpose of analyzing the molecular mechanism in connection with an obesity patient's morbidity formation, the adipocytokine secretion ability in the gene polymorphism of an insulin resistance related gene and the visceral fat primary culture cell which carried out separation cultivation is examined. And methylation analysis of an overweight related gene and microarray analysis using mRNA are also conducted (secondary point).

By the LSG group, even if high leptin and adiponectin the blood kinetics of low

adiponectin were clear and compared with the control group, it was a significant change. The dynamic state of leptin and adiponectin showed the same dynamic state by in vivo and in vitro, and a possibility that these were produced by visceral fat cell dependence was suggested. Overweight related gene polymorphism accepted some AG of UCPI, and GG types with the LSG case. Although the tendency for BMI to be high was seen in the patients with AG of UCPI, a difference was not observed in the postoperative weight loss effect. The dynamic state of leptin and adiponectin showed the same dynamic state by in vivo and in vitro, and these were produced by visceral fat cell dependence. Therefore, in the morbid obesity to which the adipocytokines production profile was set highly from the first, irrespective of gene polymorphism, an adipocytokines production profile may fall and an effect may be able to expect an individual from the first irrespective of gene polymorphism by LSG.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2011年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 2012年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 総計 | 2,100,000 | 630,000 | 2,730,000 |

研究分野：自然科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：肥満症、糖尿病、アディポサイトカイン、レプチン、アディポネクチン、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

WHOは2006年に世界で約3億に近い成人が過度の肥満になっていると報告した。欧米では成人人口の約1/3が肥満の状態であり、BMI40kg/m²以上の重症肥満は1,000万人と言われ、1991年にNIHが重症肥満症に対して外科治療法を推奨する声明を発表した後、肥満外科手術は欧米を中心として広く実施されるようになった。集計では、2008年には肥満手術は344,221例に実施されている。わが国では20万人以上の病的肥満患者が存在するにもかかわらず、外科治療はすでに20年以

上の歴史を有するものの、減量手術を実施している施設は当院を含めて数施設と極めて少ないのが現状である。しかし、生活様式や食生活の変化に伴い、手術適応となる重症肥満症患者も増加し、2008年1月から2009年8月までに全国で91例の肥満手術が実施されている。教室でも、本研究開始時点で6例の腹腔鏡下袖状胃切除術を施行しており短期成績をみると患者背景(中央値)は、年齢35(26-42)歳、男性4名、女性2名、術前体重136(99-180)kg、BMI45(41-56)kg/m²、健康障害数5(4-7)であった。超過体重減少率

(減少体重)は、術後 1 か月 19%(11kg)、3 か月 45%(27kg)、6 か月 56%(41kg)、1 年 68%(55kg)と著明な減量が得られ、健康障害は全例で改善した。教室の病的肥満患者に対する外科治療については、肥満手術の安全性と妥当性は確立されていると考える。

本研究では、病的肥満患者の摂食ホルモンの動態を術前、術後で把握し臨床経過の推移と比較するとともに、基礎研究として病的肥満患者の血液や切除した胃壁、脂肪細胞から遺伝子を抽出してインスリン抵抗性関連遺伝子多型やアディポサイトカイン分泌能、肥満関連遺伝子の methylation 解析や mRNA のマイクロアレイ解析等を行うため、遺伝子の取り扱いに関する倫理的配慮が必要である。

2. 研究の目的

対象病的肥満患者は、日本肥満学会、日本内視鏡外科学会、日本消化器内視鏡学会の 3 学会合同委員会合意事項に従い、(1)重症肥満症患者 (BMI \geq 35kg/m²) + 肥満に起因する健康障害 (糖尿病、高血圧、心疾患、脂質代謝異常、睡眠時無呼吸症候群、胃食道逆流症、関節炎、胆石症、肺塞栓、うつ病、非アルコール性脂肪肝、月経異常、尿失禁など)、(2)6 か月以上の内科的治療に無効(BMIにして2、体重にして5kgあるいは現体重の5%を減らすことができない場合)、(3)手術を十分に理解でき、術後長期の外來通院に応じることができる、(4)手術に耐えうるリスク状態である、(5)20 歳以上 60 歳未満を対象とする、(6)精神疾患がない、(7)美容目的ではない、(8)アルコール依存症ではない、(9)薬物依存症ではない患者とする。

健常人ボランティアは、上記に記載した肥満関連健康障害や悪性疾患を持たない症例に対して十分な説明の上で遺伝子検査を含む検体提供に同意された方をお願いする。

3. 研究の方法

(1). 肥満手術の実施と解析の追加

主に重症肥満症患者 (BMI \geq 35kg/m²) に対する外科的治療 (腹腔鏡下胃バンディング術または腹腔鏡下袖状胃切除術) について症例を集積し、検討を行う。

- ① 対照としてメタボリックシンドロームの診断基準に当てはまらない消化器手術患者：10例
- ② 重症肥満症患者 (BMI \geq 35kg/m²) で内視鏡的・外科的治療例：20例

【検討項目】

(1) 内臓脂肪量の評価

CTによる内臓・皮下脂肪面積の測定、頻回測定が可能な Dual impedance 法による内臓脂肪面積値の測定を行い、両法の相関を検討する。

(2) 脂肪細胞由来ホルモンの測定

- ① ビーズアレイシステムを使用してアディポサイトカインを定量する (術前、術後)。
- ② グレリンの定量では、採血後に速やかに 1N 塩酸添加処理を加え、グレリン消失を予防する。グレリンの作用や生体内動態、病態との関連を調べるために active ghrelin と総分泌能や代謝状況を反映する desacyl-ghrelin とを測定する (術前、術後)。
- ③ レプチンを定量する (術前、術後)。
- ④ TaqMan MGB probe 法を使用して遺伝子多型解析を行う。
- ⑤ セルガレージ社製の初代培養キットを用いて患者の内臓脂肪細胞を初代培養し、培養上清でのアディポサイトカインを定量する。

【肥満関連遺伝子プロモーター領域の methylation 解析】

脂肪細胞からのDNAの抽出は、通常よりも不純物質が明らかに多く、熟練した技術を要する。われわれは、QIAGEN社製のDNeasy Tissue Kitを用いてDNA抽出を行い、代表的な肥満関連遺伝子のmethylationをMethylation-spec

ific PCR (MSP) 法により解析する。

【抽出したmRNAのマイクロアレイ解析】

mRNAによるマイクロアレイ解析では、脂肪細胞から抽出したmRNAを網羅的に検索して脂肪細胞に特異的に発現している、もしくは減少している遺伝子群を同定する。

4. 研究成果

外科的手術の減量効果と肥満関連疾患の改善効果を以下に提示する

LSG群では、高レプチン、低アディポネクチンの血中動態が明らかで、対照群と比較しても有意な変化であった。レプチンとアディポネクチンの動態はin vivoとin vitroで同様の動態を示しており、これらは内臓脂肪細胞依存性に産生されている可能性が示唆された。糖尿病を合併した症例では、特にPAI-1が有意に高値であった。

| LSG群 | 血中濃度 | 上清中濃度 |
|---------------|---------------|------------------|
| Lep (ng/ml) | 30 (12-81) | 4.4 (1.1-12.2) |
| Ad (μg/ml) | 1.9 (0.5-5.0) | 0.889 (0.5-3700) |
| PAI-1 (ng/ml) | 50 (11-88) | 51 (0-370) |
| TNF-α (pg/ml) | 1.9 (0.5-5.0) | 2.2 (0-5.5) |

Lep: レプチン
Ad: アディポネクチン
Mean (Range)

表1 LSG群のアディポサイトカイン濃度

| | LSG群 (n=17) | 対照群 (n=11) | P値 |
|-------|------------------|------------------|--------|
| 血中濃度 | | | |
| Lep | 24.5 (12.0-52.1) | 5.8 (1.7-15.3) | <0.01 |
| Ad | 1.9 (0.5-5.0) | 5.8 (0.8-8.4) | <0.01 |
| PAI-1 | 50 (11-88) | 21 (10-36) | <0.01 |
| TNF-α | 1.8 (1.2-4.6) | 1.2 (0.7-2.5) | 0.47 |
| 上清中濃度 | | | |
| Lep | 2.1 (1.1-3.3) | 0.6 (0.2-1.1) | <0.001 |
| Ad | 0.23 (0.05-0.54) | 0.75 (0.55-0.90) | <0.001 |
| PAI-1 | 51 (0-200) | 31 (0-96) | 0.68 |
| TNF-α | 1.7 (0-4.8) | 0.8 (0-1.5) | 0.38 |

Mean (Range)

表2 LSG群と対照群の濃度比較

肥満関連遺伝子多型は、LSG症例でUCP1のAG、

GG型を多く認めた。UCP1の多型は、術前BMIが高い傾向が見られたが術後減量効果に差を認めなかった。従って、もともとアディポサイトカイン産生プロファイルが高く設定された病的肥満症では、減量手術によって遺伝子多型にかかわらずアディポサイトカイン産生プロファイルが低下し、もともとの個体に遺伝子多型にかかわらず効果が期待できる可能性がある。多くの肥満関連遺伝子多型の解析は、今後次世代シーケンスを用いて網羅的に行う予定である。

| | LSG群 (n=0) | 対照群 (n=10) | P値 |
|----------------|------------|------------|----|
| β2AR: Arg16Gly | | | |
| AA (0.24) 正常 | 2 | 3 | |
| AG (0.50) 中間 | 7 | 5 | |
| GG (0.26) 非肥満 | 0 | 2 | |
| β3AR: Trp64Arg | | | |
| TT (0.68) 標準 | 3 | 7 | |
| TC (0.28) やや肥満 | 6 | 3 | |
| CC (0.04) 肥満 | 0 | 0 | |
| UCP1: A-3826G | | | |
| AA (0.26) 標準 | 2 | 3 | |
| AG (0.51) やや肥満 | 4 | 4 | |
| GG (0.23) 肥満 | 3 | 2 | |

表3 肥満関連遺伝子多型解析の結果

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 佐々木章、大淵徹、梅邑晃、馬場誠朗、中嶋潤、若林剛: 肥満症に対する腹腔鏡下スリーブ状胃切除術. 手術 65, 337-340, 2011 (査読有)
- ② 佐々木章、若林剛: 特集「肥満と外科治療」7. 腹腔鏡下調節性胃バンディング術. 月間糖尿病 3, 61-65, 2011 (査読有)
- ③ 佐々木章、中嶋潤、大淵徹、馬場誠朗、梅邑晃、若林剛: 特集 肥満治療 新しい治療 腹腔鏡下スリーブ状胃切除術.

治療学 44, 479-480, 2010 (査読有)

- ④ Sasaki A, Wakabayashi G, Yonei Y: Current status of bariatric surgery in Japan and effectiveness in obesity and diabetes. J Gastroenterol DOI10.1007/s00535-013-0802-5 (査読有)

[学会発表] (計9件)

- ① 梅邑晃、佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: わが国の減量手術の現況と問題点, 第25回 日本内視鏡外科学会, 2012年12月06日~2012年12月08日, 横浜
- ② 梅邑晃、佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 高度肥満症患者の内臓脂肪細胞培養とアディポサイトカインの動態, 第33回 日本肥満学会, 2012年10月11日~2012年10月12日, 京都
- ③ 佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 腹腔鏡下スリーブ状胃切除後における2型糖尿病の改善効果, 第67回 日本消化器外科学会, 2012年07月18日~2012年07月20日, 富山
- ④ 馬場誠朗、佐々木章、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 腹腔鏡下スリーブ状胃切除術後の非アルコール性肝疾患改善の定量的評価, 第67回 日本消化器外科学会, 2012年07月18日~2012年07月20日, 富山

- ⑤ 佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 腹腔鏡下スリーブ状胃切除術の合併症とその対策, 第30回日本肥満症治療学会学術集会, 2012年06月29日~2012年06月30日, 東京
- ⑥ 佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: Metabolic Surgeryの現況と課題: 認定制度準備委員会からの現状, 第30回日本肥満症治療学会学術集会, 2012年06月29日~2012年06月30日, 東京
- ⑦ 佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 高度肥満症患者に対する腹腔鏡下スリーブ状胃切除術の費用対効果と問題点, 第30回日本肥満症治療学会学術集会, 2012年06月29日~2012年06月30日, 東京
- ⑧ 佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 腹腔鏡下スリーブ状胃切除術の糖代謝改善効果, 第30回日本肥満症治療学会学術集会, 2012年06月29日~2012年06月30日, 東京
- ⑨ 梅邑晃、佐々木章、馬場誠朗、大淵徹、長谷川康、高原武志、西塚哲、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、水野大、若林剛: 高度肥満症患者の内臓脂肪細胞培養とアディポサイトカインの動態, 第30回日本肥満症治療学会学術集会, 2012

年06月29日～2012年06月30日，東京

〔図書〕（計2件）

- ① 若林 剛、佐々木章：医学書院，ステップ
アップ内視鏡外科手術．共に監修，東京，
2012、1-248

- ② 佐々木章、若林剛：医学書院，新しい肥満
症治療の進め方 5. 術後管理の仕方
新しい肥満症治療の進め方（日本肥満症
治療学会編ガイドライン）．東京，In
press

〔その他〕

ホームページ等

<http://surgery-iwate-med.jp/advanced/amedicine1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 章 (SASAKI AKIRA)
岩手医科大学・外科・准教授
研究者番号：40275540

(2) 研究分担者

若林 剛 (WAKABAYASHI GOU)
岩手医科大学・外科・教授
研究者番号：50175064

西塚 哲 (NISHIDUKA SATOSHI)
岩手医科大学・外科・講師
研究者番号：50453311