

令和元年6月23日現在

機関番号：32610

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15680

研究課題名(和文) 微小循環生理学による肥満パラドックスの病態解明への挑戦

研究課題名(英文) Challenge to clarify the physiological basis of obesity paradox using intravital microscopy

研究代表者

満田 真吾 (Mitsuda, Shingo)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：80636431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：肥満は生活習慣病等、多くの疾患の原因となり、肥満そのものが疾患の危険因子である。一方で肥満患者は重症病態での生存率が高いという肥満パラドックスが存在する。そこで、生体顕微鏡による *in vivo* イメージング技術を用いて肥満マウスとコントロールマウスの微小環境の循環動態、血管内皮細胞上のグリコカリックス(GCX)の構造的相異を明らかにすることを目的とした。中脂肪食群、高脂肪食群は低脂肪食群と比較し有意にGCXが厚かった。低脂肪食群と高脂肪食群では血管径とGCXの厚みに相関はなく、中脂肪食群では血管径とGCXIに相関が認められた。中脂肪食群、高脂肪食群は低脂肪食群と比較しGCXが有意に厚い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実験ではグリコカリックスの厚みに着目し、高脂肪食群、中脂肪食群、低脂肪食群の3群を作成し、脳軟膜上の微小血管のグリコカリックスの観察を行い、中脂肪食群及び高脂肪食群は低脂肪食群と比較しグリコカリックスが有意に厚い結果が得られた。このようなグリコカリックスの厚みの差異が重症病態において有利に働くことは容易に想像ができ、さらなる今後の研究が期待される。これまで肥満パラドックスに関する報告は疫学的なものがほとんどであり、本研究のようにその病態生理を解明しようとし、基礎実験、特に血管内皮細胞上のグリコカリックスに着目したものは世界初の報告であると考えられ、学術的、社会的意義は大きかったと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The “obesity paradox” is a medical hypothesis which holds that obese people may be protective and associated with higher survival than lean people. However, little is known about physiological basis that support the mechanism of obesity paradox. Therefore, we aim to elucidate the differences in vascular endothelial glycocalyx (GCX) with intravital microscopy among three groups of mice, that fed different fat content diet. The GCXIs of the high fat(H) group and medium fat (M) group were significantly higher than that of the L group ($p < 0.05$). There was a positive correlation between vessel diameter and GCXI in the H and M group, but not in the L group. In the H and M group, the GCX layer thickened with an increase in the diameter of the vessels. However, the thickness of GCX remained unchanged in the L groups under similar conditions. Thus, GCX thickness may play a key role in beneficial impact on pathological changes in obesity paradox.

研究分野：麻酔科学

キーワード：肥満パラドックス 敗血症 グリコカリックス 微小循環 重症病態

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景 肥満は糖尿病や脂質代謝異常症・高血圧・心筋疾患などの生活習慣病等、多くの疾患の原因となり、肥満そのものが病気の危険因子と認識されている。一方で肥満患者は重症病態での生存率が高いという肥満パラドックスが存在する。肥満パラドックスを初めて話題にしたのは1999年の透析患者の生存率に関してであった(Kidney Int 1999; 55(4): 1560-1567)。また、心不全、糖尿病、重症患者死亡率や好中球機能不全など、様々な臨床データが報告されているが、その病態生理学的機序は不明である。さらに血管内皮細胞上のグリコカリックス(GCX)が血管透過性のコントロールに重要な役割を持ち、重症病態下で脱落が起こるという報告が近年増加している。

2. 研究の目的 本研究は、肥満マウスとコントロールマウスにおいて微小循環環境、とくにグリコカリックスの厚み、性質の差が存在するという仮説に基づき、生体顕微鏡による in vivo イメージング技術を用いて肥満マウスとコントロールマウスの微小環境における循環動態、血管内皮細胞上のグリコカリックス(GCX)の構造的相異を明らかにすることを目的とした

3. 研究の方法 肥満パラドックス(obesity paradox)を実験的に証明するために、微小環境における生体反応を生体顕微鏡イメージングにより解析した。具体的には肥満度が異なる各群における微小循環レベルで計測可能な諸指標(血管径・血流速度・血管透過性・グリコカリックス層の厚み等)の変化の有無を生体顕微鏡イメージング手法により評価した。

評価モデルとしては当初は背側皮膚透過窓を予定していたが、増大した脂肪細胞により血管内皮細胞上の観察が困難であった。そこで脂肪細胞の影響を受けづらい脳、肺を観察対象として候補に挙げたが、技術的により簡便な脳の観察を観察モデルとした。市販の高脂肪食を C57BL/6 に投与し、3種類のマウス群(高脂肪食群(L)、中脂肪食群(M)、高脂肪食群(H))を作成した。生後12週前後の各群のマウスで頭蓋内血管の観察が可能である cranial window (図) を装着した後に、FITC-DEX75 kD 及び TMR を投与し生体蛍光顕微鏡で観察した。解析は直径20~50 μ m程度の血管(細動脈)を対象に GCXの厚みの指標(GCXI)を3回算出し、その平均をその血管のGCXIとした。また、3群に対し血中アディポネクチンなどの生化学検査を行った。



(図) 背側皮膚透過窓(左)及び cranial

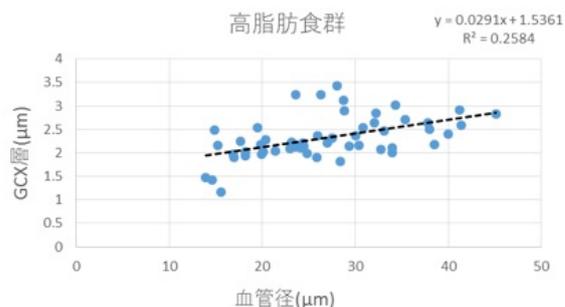
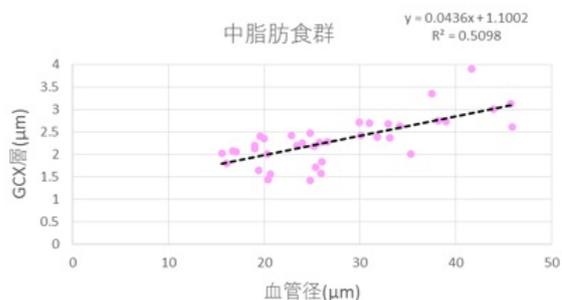
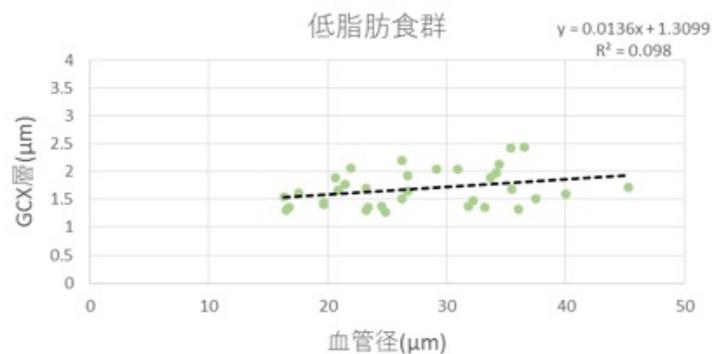
window(右)

4. 研究成果 【結果】市販の高脂肪食を C57BL/6 に生後3週から12週まで投与した結果、3群各群の体重及びCTにより算出した体脂肪率に有意に差が認められ、適切な肥満モデルが確立できたと考えられた。また血中コレステロール値に関しても H,M 群は L 群と比較し有意に高値であった。作成した cranial window によって脳表面の軟膜上の微小血管の観察が可能であった。GCXの厚みに関しては、H,M 群は L 群と比較し有意に GCXI が大きかった。(p<0.05)L 群と H 群では血管径と GCXI に相関

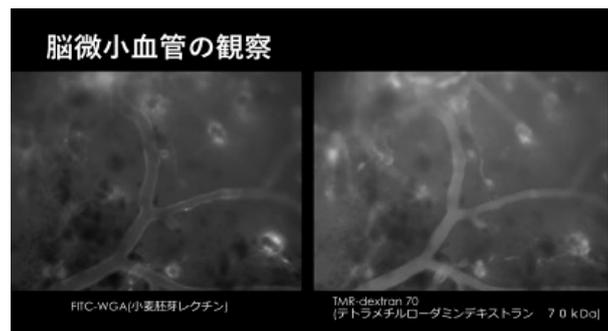
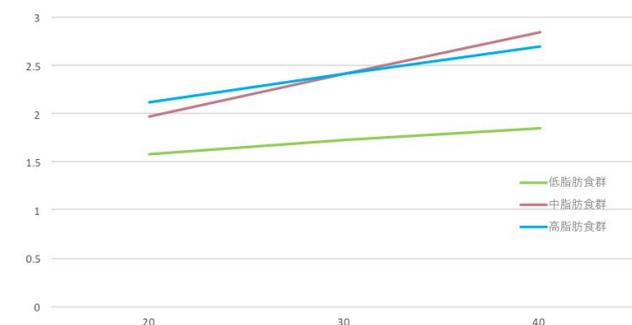
はなく、M 群では血管径と GCXI に相関が認められた。

CT画像解析から算出された体脂肪率

	平均体重 (g)	体脂肪率 (%)	CT画像
低脂肪食群	25.7 (n=27)	13.3 (n=3)	
中等度 脂肪食群	31.5 (n=31)	19.5 (n=3)	
高 脂肪食群	33.7 (n=30)	41.5 (n=3)	



血管径に対するGCXIの比較



【考察】GCX が血管透過性のコントロールに重要な役割を持ち、重症病態下で脱落が起こる事実を考慮すると、肥満パラドックスの病態の一部が、GCX の厚みの違いにある可能性がある。M 群においてのみ血管径と GCXI に相関があったことは、他の多くの肥満パラドックスに関する研究で中等度肥満患者の予後が最も良好となっている事実と関係があるのかもしれない

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 1 件)

第 44 回日本微小循環学会総会 満田真吾、鶴澤康二、萬知子、牛山明
 Challenge to clarify the physiological basis of obesity paradox using intravital microscopy 2019

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：鶴澤 康二

ローマ字氏名：UZAWA KOHJI

所属研究機関名：杏林大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8 桁）：30530703

研究分担者氏名：牛山 明

ローマ字氏名：USHIYAMA AKIRA

所属研究機関名：国立保健医療科学院

部局名：生活環境部

職名：上席主任研究官

研究者番号（8 桁）：60291118

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。