

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：30121

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16399

研究課題名(和文) 肥満とリンパ浮腫のメカニズムを解明し、生活支援に結びつける

研究課題名(英文) Investigate the mechanism of obesity and lymphedema to support the patient's life

研究代表者

佐藤 明紀 (SATO, AKINORI)

北海道文教大学・人間科学部・講師

研究者番号：40585585

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)： 脂肪細胞から放出されるレプチンの作用により、リンパ管内皮細胞の形態異常を引き起こす可能性があることを、2016年6月に医学雑誌PLOS ONEで報告いたしました。これにより、従来より肥満(または肥満傾向)の方はリンパ浮腫を発症しやすいというメカニズムを裏付ける原因の一つであることがわかりました。

研究成果をベースに、適切な運動療法による体重減少の方法や、リンパ浮腫患者さんに対して浮腫に対する生活指導に結びつけるための普及活動、セラピスト育成の活動が実施できます。

研究成果の概要(英文)： It was published in a Journal of PLOS ONE in June 2016 that novel mechanisms of compromised lymphatic endothelial cell homeostasis in obesity. This resulted in obesity supporting the mechanisms responsible for the onset of lymphoedema. From the research results, I was able to teach proper exercise methods and daily life guidance for the patients and therapist.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：リンパ浮腫 肥満 運動 患者支援

1. 研究開始当初の背景

本邦におけるリンパ浮腫の罹患者数は10-20万人以上とも言われている。リンパ浮腫発生率は乳がん手術後で10-15%、子宮がん手術後で15-25%程度と報告されているが、その発症メカニズムは不明な点が多い。さらに発症期間に関しても不明な点が多い。リンパ浮腫は発症すると完治は困難とされ、患者は生涯を通して時間的制約や経済的負担の増加することとなり、心理・精神的負担も増大することが多いと言われている。このようななか、従来より肥満 (BMIが高い) とリンパ浮腫の発症しやすくなるという関連報告は多く、脂肪細胞がリンパ管を圧迫しリンパの流れが制限されることなどが従来より報告されてきたが、我々はリンパ管を圧迫する以外に、脂肪細胞から分泌される様々な因子の影響により、リンパ管の組織や細胞に異常が起こるのではないかと検討した。

その中で、脂肪細胞から分泌されるレプチンに着目した。レプチンは従来より摂食やエネルギー代謝の調整の役割を担っていると報告されてきたが、近年では免疫や炎症などにも関与することがわかってきた。脂肪細胞の増加により分泌が促進されることにより、炎症性サイトカインの発現が増加することでリンパ管の組織や細胞に影響を受けるのではないかと検討した。

2. 研究の目的

本研究は、脂肪細胞から分泌されるレプチンと、リンパ浮腫発生メカニズムの関連を明確にし、リンパ浮腫に対する運動療法や生活支援による肥満改善が、リンパ浮腫発症や増悪予防に重要な因子となるエビデンス構築に結びつけることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)平成27年度は、ヒトリンパ管組織の形態異常に対するレプチンの役割を研究するため、乳癌手術検体のリンパ管組織を用いて、レプチンを投与した状態で、リンパ管内腔に与える形態異常を確認した。レプチン添加と無添加で一定期間細胞培養した結果、レプチン投与によりリンパ管内腔が脆弱化することを Scanning electron microscopy と transmission electron microscopy を用いて確認をすることで、レプチン高濃度刺激に伴う、リンパ管の形態異常を検討した。

(2)我々は既にヒトリンパ管組織から、レプチン刺激によるリンパ管内腔の形態異常を確認しに対するメカニズムを解明すべく、リンパ管内皮細胞を用いて、レプチン濃度依存的にリンパ管内皮細胞が受ける影響を確認すした。ヒトリンパ管内皮細胞を用いてレプチン濃度依存的に、管腔形成能が低下する一方で、レプチン濃度依存的に増殖能や遊走能

は亢進するという結果に対して、レプチン濃度依存的にリンパ管内皮細胞に与える分子メカニズムの解明を図る。リンパ管新生や増殖能に関連する形態は Proliferation assay を用いる。リンパ管内皮細胞の管腔形成能の評価には Tube formation assay を用いて改正する。タンパクや遺伝子の定量解析には Western blot や定量 PCR 等で検討し、レプチン濃度とリンパ管内皮細胞の形態ならびに分子メカニズムを解明し、機能的意義を見出す。また、レプチン刺激により血管内皮細胞の機能異常(炎症性 サイトカインの誘導)が報告されている。そこで、我々はレプチン刺激による IL-1 β , IL-6, IL-6R, TNF- α といったサイトカインとそのレセプターの発現変化を定量 PCR や Western Blot, ELISA 法にて検討を行う。リンパ管内皮細胞の管腔形成能低下の機能的変化と分子メカニズムの解析も合わせて行った。

(3)得られた結果を元に、乳がん患者に対し、術前後での関節可動域 (運動範囲)、肥満 (BMI) とリンパ浮腫の関連を調査し、どのような乳がん患者にリンパ浮腫を発症しやすいかを検討した。

(4)最後に、実際にリンパ浮腫を発症している (もしくはリンパ浮腫発症に不安を抱えている) 方に対し、患者会などを通して、日常生活指導や運動指導をする計画を検討した。

一方で、リンパ浮腫を治療するセラピストならびにリンパ浮腫治療の若手育成のために、研修会の開催や学校教育での充実を検討した。

4. 研究成果

まずはじめに、乳腺リンパ管組織およびリンパ管内皮細胞を用いた研究成果を報告する。

(1)Scanning electron microscopy と transmission electron microscopy を用いて、レプチン高濃度刺激により、乳腺リンパ管管腔の脆弱性を確認することができた (図1)。

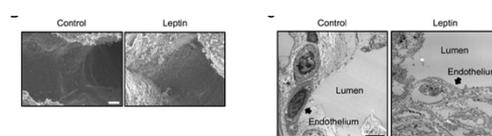


図1 レプチン刺激による乳腺リンパ管組織の変化

(2)ヒトリンパ管内皮細胞に対し、レプチンによる刺激を加えると、リンパ管の管腔形成能の低下 (図2-A, B) と、増殖能の低下 (図2-C) を認めた。

一方、細胞同士の結びつきに関連する因子を調べたところ、発現遺伝子に変化は認めなかった (図 2-D)。

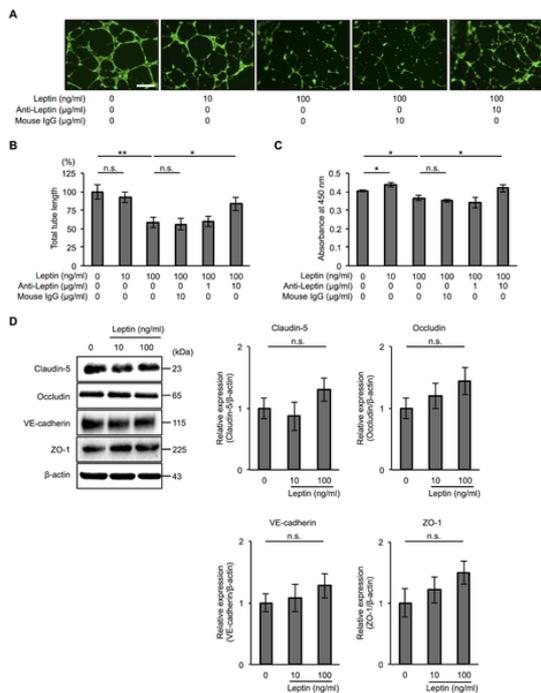


図 2 レプチン刺激による管形成能と増殖能の変化

(3) ヒトリンパ管内皮細胞に対し、レプチン刺激が炎症関連因子に作用するか遺伝子発現を検討したところ、レプチン濃度に比例し、IL-6 の遺伝子発現の更新が確認できた (図 3-A, B)。

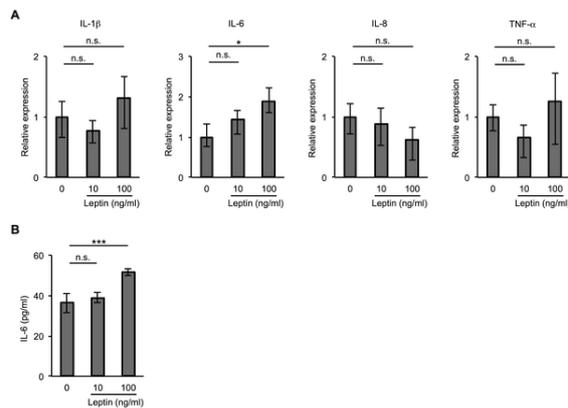


図 3 レプチン刺激に伴う炎症関連因子の遺伝子発現の変化

(4) ヒトリンパ管内皮細胞にレプチンを刺激することでリンパ管の管腔形成能と増殖能の低下を認めたが、IL-6 により管腔形成能の低い抑制作用を確認することができた (図 4)。

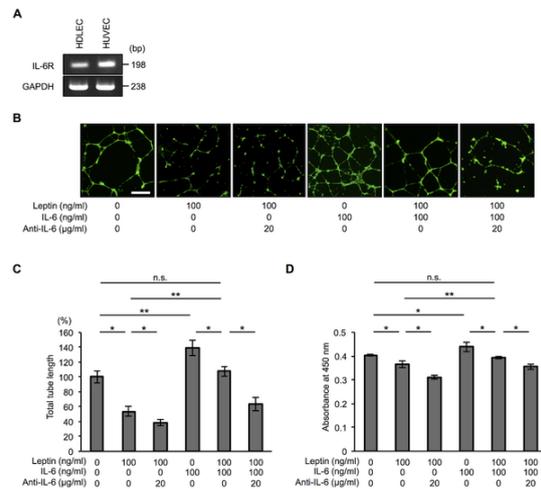


図 4 IL-6 による管腔形成能と増殖の変化

(5) レプチン刺激によるリン酸化 STAT3 と SOCS3 のタンパク発現を確認したところ、15 分後ではリン酸化 STAT3 のタンパク発現 (図 5-A) が亢進し、24 時間後では、SOCS3 のタンパク発現の亢進を確認することができた (図 5-B)。

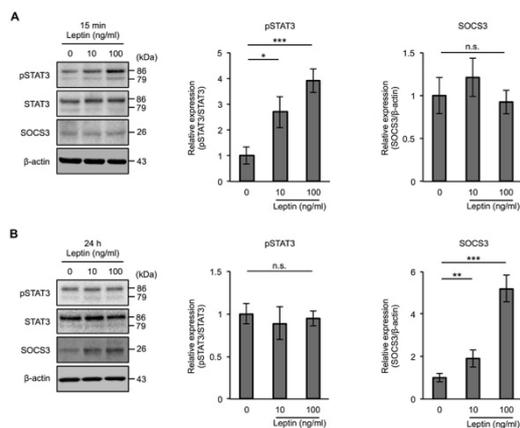


図 5 レプチン刺激に伴う pSTAT3 と SOCS3 のタンパク発現の変化

以上の研究結果により、肥満者に多く蓄積されると脂肪細胞から分泌されるレプチンの刺激により、リンパ管の管腔形成能および増殖能が低下することがわかった。一方で、これまでは炎症性サイトカインとして報告されてきた IL-6 に関しては、今回は恒常性を保つために細胞の管腔形成や増殖に働くことも興味深い結果となった (図 6)。

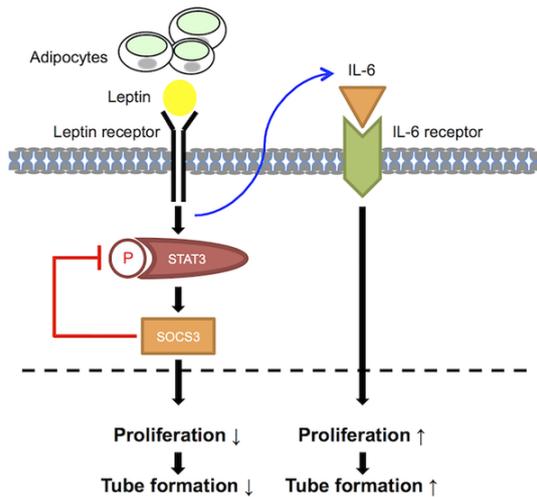


図6 レプチン刺激に伴う、リンパ管内皮細胞の管腔形成能と増殖能に関与するメカニズム

次に、乳がん術後患者、リンパ浮腫発症に不安を抱えている患者についての研究成果について報告する。

乳がん患者に対し、術前後での関節可動域（運動範囲）、肥満（BMI）とリンパ浮腫の関連を調査したところ、肥満（BMIが高い）状態ではなくても、リンパ浮腫を発症する患者がることから、今後は患者の特徴をさらに検討してリンパ浮腫の発症に関連する因子を検討していく必要がある。

実際にリンパ浮腫を発症している（もしくはリンパ浮腫発症に不安を抱えている）方に対する、日常生活指導や運動指導をする啓蒙活動は積極的に患者会などに参加することとし、実際の基礎研究のデータを示し、参加者に対し日常生活指導、運動指導を示し実技の実施も継続ができています。現在までで参加者からはリンパ浮腫の著明な増悪や、リンパ浮腫の発症に関する報告は受けていない。

リンパ浮腫を治療するセラピストならびにリンパ浮腫治療の若手育成のために、北海道理学療法士協会や理学療法士の養成校でリンパ浮腫のメカニズムの説明、リンパ浮腫の治療や日常生活指導などについて説明する機会を得ており、本邦においてリンパ浮腫治療や予防に貢献できる理学療法士が増えることを期待したい。

2018年2月より、日本理学療法士学会のがん理学療法部門の部員に推薦され、リンパ浮腫に関わるエビデンス構築のための基礎研究で貢献できると考えている。

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1件）

①Sato A, Kamekura R, Kawata K, Kawada M, Jit ukawa S, Yamashita K, Sato N, Himi T, Ichimiya S, Novel Mechanisms of Compromised Lymphatic Endothelial Cell Homeostasis in Obesity: The Role of Leptin in Lymphatic Endothelial Cell Tube Formation and Proliferation, PLOS ONE, 査読有, 2016, 11(7):e0158408.

doi:10.1371/journal.pone.0158408

〔学会発表〕（計2件）

①佐藤明紀、他、明日から（きっと）実践したくなる、がんのリハビリテーション、北海道理学療法士協会道東支部 第2回研修会、2017年2月

②佐藤明紀、他、リンパ浮腫の運動療法～肥満と運動の関係を細胞レベルから考えてみよう～、第4回東北大学病院医療者向けリンパ浮腫研究会、2016年1月

〔図書〕（計1件）

①佐藤明紀、他、文光堂、図解運動療法ガイド「36 浮腫」、2017、P362-377

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

佐藤明紀 (SATO AKINORI)

北海道文教大学・人間科学部理学療法学
科・講師

研究者番号：40585585

*若手研究(B)での申請のため、研究分担者、
連携研究者、研究協力者の組織はありません。

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()