

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19695

研究課題名(和文) 早産低出生体重児における脂肪細胞の数と大きさの変化が将来の疾病リスクに与える影響

研究課題名(英文) Effects of adipocyte number and size on future risk of adult-onset disease in preterm low birth weight infants

研究代表者

中野 有也 (Nakano, Yuya)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：40465224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,700,000円

研究成果の概要(和文)：低出生体重児は将来の生活習慣病発症リスクが高いことが知られている。本研究では、乳幼児から脂肪組織を採取し、出生体重や評価時の体格が脂肪細胞の大きさにどのような影響を与えているのかを検討した。97名の乳幼児を評価したところ、脂肪細胞の平均直径は、BMIや皮脂厚と有意な正の相関を、出生体重および評価時の身長SDスコアと有意な負の相関を示した。また、低出生体重児では正期産AGA児と比較して脂肪細胞の平均直径が有意に小さく、その差は年齢やBMI、性別など調整するとより顕著となった。本研究を通して、低出生体重児では乳児期からその体格に比較して脂肪細胞が大きい傾向があることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低出生体重児は将来の生活習慣病発症リスクが高いことが知られている。脂肪細胞の大きさはインスリン抵抗性ならびに生活習慣病リスクと密接にかかわることが知られているが、低出生体重児の脂肪細胞の大きさを乳幼児期に調査した報告はこれまでなかった。本研究から、低出生体重児では乳児期からその体格に比較して脂肪細胞が大きい傾向があることが示された。このことは、低出生体重児の生活習慣病リスクを考えるうえで学術的に非常に重要な知見である。今後、低出生体重児において、乳幼児期の脂肪細胞の大きさを変化させるメカニズムを解明し、生活習慣病リスクを軽減する施策を講じることができればその社会的意義は非常に大きい。

研究成果の概要(英文)：Low-birth-weight (LBW) infants have a high risk of life style related disease later in life. We hypothesized that LBW infants might have adipose tissue maldevelopment in terms of size or number of adipocytes at an early stage of life. Study population consists of 97 infants. Adipose tissue samples were obtained from the patients intraoperatively during infantile period to evaluate effects of perinatal factors such as birth weight and anthropometric measurements on adipocyte size.

In a simple regression analysis, the mean adipocyte diameters were positively associated with BMI and skinfold thickness, but negatively associated with birth weight and length SD score. LBW infants have significantly larger adipocyte size, compared to term AGA infants. Significant differences were strengthened after adjusting for variables such as sex, age, and BMI.

The present study showed that the adipocyte size of LBW infants during the infantile period is larger than that of term AGA infants.

研究分野：小児科

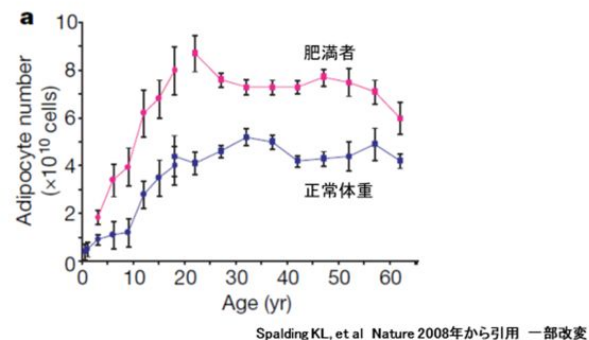
キーワード：脂肪細胞 低出生体重児 生活習慣病 乳幼児 DOHaD

## 1. 研究開始当初の背景

低出生体重児の増加は今や世界的な問題である。これまでの報告から、低出生体重児の小児や成人は、lean body mass が少なく体脂肪率が高い傾向があることが報告されている。また、インスリン抵抗性を獲得しやすく、脂質異常をきたすリスクも高いことが指摘されている。近年、受け入れられつつある Developmental Origins of Health and Disease の概念から、こういった疾病リスクは子宮内や生後早期にはすでに形成され始めていると考えられているため、それらのリスクを生後早期から評価し、食育や生活習慣の改善を通して早い段階からこれに介入していくことは、将来の疾病予防の観点から非常に重要であると考えられる。

脂肪細胞の量は脂肪組織の数と大きさにより規定される。成人の肥満者では正常体重者と比較して、小児期にはすでに脂肪細胞の数が増加しており、いったん増加した脂肪細胞数は減量によっては減少することはないという (Spalding KL, et al. Nature 2008; 453: 783)。このことは、小児期(乳幼児期)までに決定される脂肪細胞数の増加が将来の肥満リスクを決定するうえで重要な因子であることを示している。

脂肪細胞の数と大きさがどのようにコントロールされているのか、その詳細な機序は未だ不明である。通常、ヒトでは妊娠第3期の胎児発育に伴い小型の脂肪細胞の数が増加するため、出生時の新生児脂肪組織は主に小型の脂肪細胞から成っている。一方、出生後、乳児期に認められる Body Mass Index の急進的な増加は主に脂肪細胞の肥大に伴って生じるとされる。早産・低出生体重児は、このような脂肪組織の発達にとって重要な時期に早産で出生し、多くの児はその後の乳幼児期に急進的な成長を遂げる。早産・低出生体重児におけるこのような成長パターンの正常産・正常体重児との違いは、この時期に生じる脂肪組織の発達に多大な影響を与えている可能性があるが、その詳細は不明である。これまでの報告では、早産・低出生体重児における将来の代謝合併症リスクは生後の catch-up growth が急進な場合に増強することがわかっている。一方で早産・低出生体重児では将来相対的には重度の肥満にはならないにもかかわらず代謝合併症を生じやすいことが指摘されており、代謝合併症のリスク増加が肥満とは独立して生じている可能性も考えられている。



この時期に生じる脂肪組織の発達に多大な影響を与えている可能性があるが、その詳細は不明である。これまでの報告では、早産・低出生体重児における将来の代謝合併症リスクは生後の catch-up growth が急進な場合に増強することがわかっている。一方で早産・低出生体重児では将来相対的には重度の肥満にはならないにもかかわらず代謝合併症を生じやすいことが指摘されており、代謝合併症のリスク増加が肥満とは独立して生じている可能性も考えられている。

我々はこれまで、早産・低出生体重児における子宮内および生後早期の成長や体組成の変化がこの時期のアディポネクチンの分泌能に与える影響について検討してきた。その結果、在胎期間が未熟な児ほど皮下脂肪量が増加しているにもかかわらずアディポネクチン分泌能は相対的には低いことを明らかにした (Nakano Y, et al. Early Hum Dev 2014; 90: 213)。アディポネクチンは脂肪細胞由来のホルモンで、インスリン感受性を改善させる作用を有しているが、小型脂肪細胞数の増加に伴いその分泌量は増加し、脂肪細胞の肥大に伴いその発現が低下することが示されている。この結果は早産・低出生体重児における脂肪組織の発達は正常産児とは異なっており、早産・低出生体重児では何らかの理由で脂肪細胞が乳児期早期から肥大している可能性を示すものである。そこで我々は、「低出生体重児における乳幼児期までの脂肪組織の発達は、正常産・正常体重児のものとは異なっており、それがこの時期のインスリン感受性や将来の疾病リスクに關与している」という仮説をもつにいたった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は「低出生体重児における乳幼児期までの脂肪組織の発達は、正常産・正常体重児のものとは異なっており、それがこの時期のインスリン感受性や将来の疾病リスクに關与している」という仮説を検証することである。具体的には、低出生体重児の乳幼児期における脂肪細胞の数および大きさ、体組成(筋肉量および体脂肪量)、アディポネクチン、レプチン、インスリン感受性および血清脂質を評価し、それを正常産・正常体重児と比較することで、低出生体重児における脂肪組織の発達の特徴、それがインスリン感受性に与える影響、脂肪組織の発達の質に影響を与える因子、を明らかにすることを目的に立案した。

## 3. 研究の方法

2016年～2019年に当院にて乳幼児期(0～6歳)に外鼠径ヘルニア、臍ヘルニアおよび停留精巣の根治術を施行予定の低出生体重児および正常産・正常体重児を対象にリクルートした。手術時に脂肪組織(0.1g)を採取し脂肪細胞の平均直径を計測するとともに、手術直前の点滴路確保時に静脈血を採取し、血清アディポネクチンおよびレプチン、インスリン、血糖、血清脂質(総

コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪)を測定した。また、body mass index (BMI)および BMI SD スコア、腹囲、上腕周囲長、肩甲下皮脂肪厚、上腕三頭筋下皮脂肪厚を測定することで体脂肪量を評価し、脂肪細胞の平均直径と合わせて総合的に脂肪細胞数を推測した。さらに、問診や母子手帳から子宮内や生後の成長パターン、乳幼児期の栄養法に関する情報も取得した。脂肪細胞の平均直径の算出は 2%四酸化オスミウム-0.05M コリジン緩衝液を固定液として用いた。まずは、採取した脂肪組織 0.1g を 4~5 編に細断したあとに、固定液 5ml を分注したねじ蓋付き試験間に入れ、室温で数か月静置、大メッシュ (250  $\mu\text{m}$ ) に固定して単離した脂肪細胞を固定液ごと流し込み蒸留水でよく洗浄、大メッシュを通過した脂肪細胞を小メッシュ (25  $\mu\text{m}$ ) で回収し蒸留水で洗浄し小片を除去、0.01%TritonX-生食溶液で洗浄後に細胞を回収、脂肪細胞の平均直径を算出、の手順で行った。脂肪細胞の平均直径は、光学顕微鏡を用いて無作為に 100 個の脂肪細胞を選定し実際に直径を計測して平均値を計算した。なお、検査間誤差を評価するため同様の操作を 3 回行った。

統計学的解析としては、まずは単回帰分析を用いて脂肪細胞の平均直径と関係する項目を評価した。また、低出生体重児 (出生体重 < 2500g) と正常産正常体重児 (37-41 週出生の AGA 児) における体格や脂肪細胞の平均直径の比較には Mann-Whitney 検定を用いた。さらに交絡因子を除外して評価するため、性別、年齢、BMI および乳児期の栄養法 (母乳栄養 > 6 か月) を調整した重回帰分析をおこなった。解析は SPSS を用いて行い、 $p < 0.05$  を有意とした。

#### 4. 研究成果

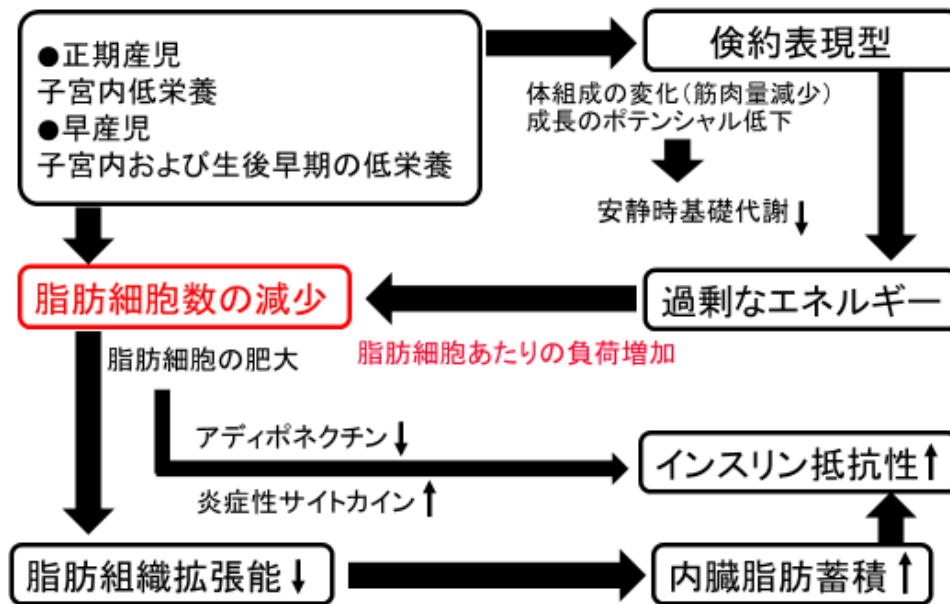
対象として 97 名の乳幼児 (6 か月 ~ 5 歳) をリクルートした。うち、早産児でかつ低出生体重児ではない 2 名と正常産 LGA 児 (出生体重 SD スコア > 2.0) の 2 名を除き、93 名 (低出生体重児 15 名、正常産正常体重児 78 名) で検討を行った (男児 76 名、女児 17 名)。低出生体重児群は正常産正常体重児と比較して、評価時の体重 SD スコア ( $p < 0.01$ ) および身長 SD スコア ( $p < 0.05$ ) が有意に小さかった。一方で、腹囲、上腕周囲長、上腕三頭筋皮脂肪厚、肩甲骨下皮脂肪厚、BMI および BMI SD スコアには 2 群間で有意差はなかった。単回帰分析において、脂肪細胞の平均直径は評価時の BMI ( $p < 0.001$ )、BMI SD スコア ( $p < 0.01$ )、上腕三頭筋下皮脂肪厚および肩甲骨下皮脂肪厚 (それぞれ  $p < 0.05$ ) と有意な正の相関を示し、出生体重および評価時の身長 SD スコアと有意な負の相関を示した (それぞれ  $p < 0.01$ )。低出生体重児群と正常産正常体重児群の比較では、脂肪細胞の平均直径は低出生体重児群で有意に小さく ( $p < 0.01$ ,  $86.7 \pm 14.1 \mu\text{m}$  vs  $74.4 \pm 11.0 \mu\text{m}$ )。この差は評価時の年齢や BMI、性別および乳児期の栄養 (母乳栄養 > 6 か月以上) を調整するとより顕著となった ( $p < 0.001$ )。一方、脂肪細胞の平均直径は、血糖、インスリン、HOMA-1R、血清脂質 (総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪)、総アディポネクチンおよびレプチンと有意な相関を示さなかった。

本研究の結果から、低出生体重児では乳幼児期からその体格に比して脂肪細胞のサイズが大きい傾向があることが示された。脂肪細胞の肥大はインスリン抵抗性獲得や生活習慣病リスクを考えるうえで重要な変化であり、低出生体重児において乳幼児期というかなり早い段階からこれが認められたことは非常に重要な知見である。この時点において、脂肪細胞の大きさの変化がインスリン感受性指標やアディポサイトカイン分泌能に影響を与えているという証拠は得られなかったが、脂肪細胞の肥大がさらにすすんだ場合に生活習慣病リスクにつながっていくかについては今後検証が必要である。

低出生体重児において、脂肪細胞の肥大が早期に生じるメカニズムは不明である。脂肪組織は体内にある余剰なエネルギーを脂肪細胞内に貯蔵するエネルギー貯蔵庫としての役割を担っており、脂肪組織はその拡張能が限界に達すると内臓脂肪蓄積やインスリン抵抗性が急速に生じると考えられている。肥満は脂肪組織の蓄積によって生じるが、これは脂肪細胞数の増加および個々の脂肪細胞の肥大に起因している。これらを考慮すれば、低出生体重児では脂肪細胞数が少なく脂肪組織全体としての拡張能が小さい傾向があり、一つひとつの脂肪細胞に過剰な負担がかかることで、脂肪細胞の肥大が早期に生じやすいと解釈することができる。臨床の場においては、低出生体重児では将来相対的には重度の肥満にはならないにもかかわらず代謝合併症を生じやすいこととも矛盾しない。脂肪細胞の数が少なければ、自ずとその脂肪蓄積能に限界が生じるので、相対的に太りにくいからである (その極端な例が脂肪萎縮糖尿病である)。

低出生体重児となる主な原因には胎児発育不全と早産がある。胎児発育不全は子宮内での発育が制限された状態であるが、早産児においても生後早期 (予定日まで) に低栄養環境に暴露され、少なくとも一時的には発育不全となることが一般的である。前述のように、脂肪細胞の数は妊娠第 3 期に急激に増加するが、正常産児に生じる乳児期の急激な脂肪組織の増加は脂肪細胞数の増加ではなく、主に脂肪細胞の肥大によって生じることがわかっている。すなわち、胎児期後半の予定日までの期間は生涯の脂肪細胞数を決定するうえで重要な window period である可能性があり、この時期に低栄養環境に暴露された低出生体重児において脂肪細胞数が減少するという考えは有力な仮説であるものと思われる。低出生体重児は、体組成の変化 (筋肉量の減少) や成長のポテンシャル低下等を介して安静時基礎代謝が減少する傾向がある (儉約表現型)。出

生後、栄養環境の改善に伴って生じた余剰エネルギーは脂肪組織に貯蔵されるようになるが、脂肪細胞数が少ないことでひとつの脂肪細胞あたりの負荷が増加し、脂肪細胞の肥大が早期に生じ始め、そのことが最終的にインスリン抵抗性につながっていく可能性が考えられる(Nakano Y, J Atheroscler Thromb 2019 online ahead of print)



## Overloaded adipocyte hypothesis

しかしながら今回の研究から得られた結果をもとに提唱された新たな仮説 (overloaded adipocyte hypothesis) を検証するためには、今後さらなる研究が必要であり、これらを明らかにすることは今後の大きな課題である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 中野有也	4. 巻 48
2. 論文標題 評価と対応 極低出生体重児のフォローアップ 思春期・成人での問題の評価と対応方法について教えてください	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 周産期医学	6. 最初と最後の頁 1229-1231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 2019003483	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 中野有也	4. 巻 30
2. 論文標題 早産低出生体重児の体組成からみた生活習慣病リスク	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neonatal Care	6. 最初と最後の頁 761
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 中野有也、板橋家頭夫	4. 巻 43
2. 論文標題 新生児医療とDOHaD学説	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 616-619
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 中野有也	4. 巻 35
2. 論文標題 DOHaD研究の展望と課題	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 3265-3269
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 豊田純也、中野有也	4. 巻 50
2. 論文標題 肥満と授乳・離乳	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 小児内科	6. 最初と最後の頁 135-139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano Y	4. 巻 27
2. 論文標題 Adult-onset diseases in low birth weight infants: association with adipose tissue maldevelopment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Atheroscler Thromb	6. 最初と最後の頁 397-405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中野有也、清水武、永原敬子、鈴木学、櫻井基一郎、藤井隆成、土橋一重、板橋家頭夫
2. 発表標題 就学前の低出生体重児におけるインスリン抵抗性に与える因子
3. 学会等名 第120回日本小児科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 内分泌に携わる医師が知っておきたいID0HaDの最新知識
3. 学会等名 第10回ホルモン研究会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 EUGR回避は学童期以降の生活習慣病リスクを軽減するのか？
3. 学会等名 第17回新生児栄養フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 基調講演 児の長期予後に影響を与えるNICUでの環境
3. 学会等名 第53回日本周産期新生児医学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 早産FGRの娩出時期と長期予後
3. 学会等名 第53回日本周産期新生児医学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也、板橋家頭夫、九島令子、吉田丈俊
2. 発表標題 極低出生体重児の超長期予後 フォローアップ施設を中心とした後ろ向き研究
3. 学会等名 第62回新生児成育学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也、江畑晶夫、長谷部義幸、豊田純也、鈴木学、永原敬子、土橋一重、板橋家頭夫
2. 発表標題 血清Myokine濃度は低出生体重児の体組成変化と関連しているか？
3. 学会等名 第39回小児成長研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 話題提供 最近のDOHaD研究
3. 学会等名 第2回臨床DOHaDセミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 DOHaDからみた小児内分泌疾患
3. 学会等名 グロウジェクト学術記念講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 低出生体重児の栄養とDOHaD
3. 学会等名 第30回日本小児脂質研究会（招待講演）
4. 発表年 2016年



1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 DOHaDを臨床に生かすための課題
3. 学会等名 第一回臨床DOHaDセミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也
2. 発表標題 fat tissue development and insulin resistance in preterm low birth weight infant
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野有也、清水武、永原敬子、鈴木学、櫻井基一郎、藤井隆成、土橋一重、板橋家頭夫
2. 発表標題 就学前の低出生体重児におけるインスリン抵抗性に影響を与える因子
3. 学会等名 第120回日本小児科学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----