

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07877

研究課題名(和文) 軟骨無形成症の患者集団と疾患特異的iPS細胞による肥満とインスリン抵抗性の検討

研究課題名(英文) Examination of obesity and insulin resistance for patient cohort and disease-specific iPS cells with achondroplasia

研究代表者

北岡 太一 (Kitaoka, Taichi)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20599229

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：軟骨無形成症(ACH)では四肢短縮のため著明な低身長を来すため標準身長体重を用いた肥満度による体格評価では肥満を過大評価してしまう。今回ACH患者32名において体脂肪率を元に肥満群と非肥満群に分けて身体計測パラメータ(体重、臀囲/身長比、腹囲等)および糖脂質代謝関連パラメータ(インスリン、血糖、コレステロール等)を検討したところ、肥満の判定には臀囲/身長比が有効である可能性があり、また健常者と同様にインスリン値は肥満との関連があることが示唆された。一方疾患特異的iPS細胞から分化させた脂肪細胞の検討ではACH特有の肥満関連因子は同定しえなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線維芽細胞増殖因子受容体3型(FGFR3)異常を病因とするACHでは生活上問題となる疾患関連合併症が多く、肥満はその一つであり他の合併症の増悪因子でもある。ACH小児において適正体重の維持は将来のメタボリック症候群のリスクを減らしQOL改善につながると考える。本研究で認めた臀囲/身長比と体脂肪率との相関性は、身長体重を用いた肥満度に代わり臀囲/身長比がACH小児の肥満判定に有用な身体計測値である可能性を示しており、ACH小児の治療管理に役立つと考える。一方FGFシグナルとメタボリズム調節因子との関連は報告されているが脂肪細胞に対してFGFR3異常が及ぼす影響については更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In achondroplasia (ACH), obesity is overestimated by physical evaluation based on the degree of obesity using standard height and weight due to the markedly short stature with limbs shortening. In this study, 32 ACH patients were divided into obese and non-obese groups based on the body fat percentage obtained by the DEXA (dual energy X-ray absorptiometry) and were examined for anthropometric parameters (weight, hip/height ratio, abdominal girth, etc.) and glycolipid metabolism-related parameters (insulin, blood glucose, cholesterol, etc.) between the two groups. It was suggested that hip/height ratio may be effective in determining obesity and insulin levels were associated with obesity as in healthy subjects. On the other hand, ACH-specific obesity-related factors could not be identified by examining adipocytes differentiated from disease-specific iPS cells.

研究分野：小児科学

キーワード：軟骨無形成症 小児肥満 インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

軟骨無形成症 (ACH) は、四肢短縮および著明な低身長を呈する頻度の高い骨系統疾患である。軟骨分化を制御している線維芽細胞増殖因子受容体 3 型 (FGFR3) の異常のため、低身長のほか、大後頭孔狭窄、脊柱管狭窄などを合併し、繰り返す中耳炎、歯列不正、睡眠時無呼吸など、疾患関連合併症は多岐にわたる。肥満も合併症の一つであり、罹患率は 13~43%と一般人口より 3~8 倍高いと報告されている¹⁾。ACH における過度の体重増加は、腰椎や下肢への荷重が増えるため、脊柱管狭窄症、変形性関節症などの整形外科的、神経学的な合併症が増悪する。また肥満は、ACH に多い睡眠時無呼吸にも悪影響を及ぼす。一方、ACH の生命予後に関しては、乳幼児の突然死、若年成人での心血管関連死による死亡率が高く、平均寿命は一般人口に比べ 10 年以上短い。心血管関連死は全体の 32% を占める主要な死因であり²⁾、健常人と同様に、高血圧、糖尿病など体重増加に伴うメタボリックシンドロームの関与が推察されているが、その関連性は不明である。

2. 研究の目的

- 1) ACH の肥満判定基準となる体格指数を導き出しインスリン抵抗性の影響の有無を明らかにする
- 2) ACH の疾患特異的 iPS 細胞 (ACH-iPS 細胞) 由来の脂肪細胞における FGFR3 異常の影響を明らかにする

3. 研究の方法

- 1) 患者コホートに基づく ACH の肥満判定基準及びインスリン抵抗性についての検討
 当科フォロー中の ACH 症例 32 名 (男 19 名、女 13 名)、年齢 (1.9~18.7 歳、中央値 9.8 歳) において、身長、体重、肥満度、BMI、腹囲、臀囲、DEXA (dual energy X-ray absorptiometry) 法により測定した体脂肪率、血圧、空腹時採血でのインスリン濃度、血糖、コレステロール値 (LDL-cho, HDL-cho)、ヘモグロビン A1c (HbA1c) について検討した。
- 2) ACH-iPS 細胞と健常者由来 iPS 細胞の脂肪細胞分化の相違についての検討
 iPS 細胞から間葉系幹細胞を介した脂肪細胞分化のプロトコル³⁾を用いて、ACH-iPS 細胞および健常者由来 iPS 細胞から間葉系幹細胞を経て脂肪細胞へ分化させる。脂肪細胞分化過程において FGFR3 異常による影響の有無について、両者の分化過程における FGFR3 や脂肪細胞マーカー遺伝子の発現を比較検討する。

4. 研究成果

- 1) 患者コホートに基づく ACH の肥満判定基準及びインスリン抵抗性についての検討
 本邦では肥満の判定に肥満度を用いる⁴⁾。肥満度の判定のために標準となる身長体重曲線に各 ACH 症例の身長体重データをプロットして肥満度の分布を検証したところ、表 1 の通り判定区分がふとりすぎ (+30% 以上)、やや太り過ぎ (+20% 以上、+30% 未満) に該当した症例は男 17 名、女 12 名であり、体重コントロールを要すると判定される症例の割合が高かった。

表 1. 日本人小児の肥満度判定基準を用いた ACH 症例の肥満度の分布

判定区分	男児	女児
+ 30% 以上	15 名	11 名
+ 20% 以上 + 30% 未満	2 名	1 名
+ 15% 以上 + 20% 未満	0 名	1 名
15% 超え + 15% 未満	2 名	0 名

一方、海外では体重パーセンタイルを用いて肥満を判定する。そこで ACH 児の身長体重曲線にデータをプロットして身長に対する体重パーセンタイルを評価したところ 95%tile 以上の肥満および 85%tile 以上 95%未満の過体重に該当する症例は、男児 2 名、女児 1 名であった。以上より ACH 児の体重を評価するにあたっては ACH 特有の低身長を加味して体重を評価しなければ肥満度を過大評価してしまうことが伺える。しかしながら ACH における疾患関連合併症として肥満は潜在的に存在しているため、ACH の身長体重曲線には肥満や過体重の症例も含まれていることが想定され、そのため ACH の身長体重曲線を用いた体重パーセンタイルによる評価では肥満を過小評価する可能性が考えられた。そこで DXA 法による体脂肪率を用いて評価したところ、男児では体脂肪率 25% 以上の症例は 6 名 (31.6%)、女児において体脂肪率 30% 以上の症例は 6 名 (46.2%) であった。この体脂肪率と肥満の関連を元に ACH 小児の肥満のリスクを判定する身体測定パラメータを解析した。

ACH 小児 32 名の内、身体計測パラメータが揃っている男児 14 名、女児 13 名で検討を進めた。体脂肪率 25% 以上の男児、30% 以上の女児をを肥満群と定義して、肥満群 11 名 (男児 5 名、女児 6 名) と非肥満群 16 名 (男児 9 名、女児 7 名) で各測定パラメータを比較検討した。

表 2. 身体計測パラメータの肥満群および非肥満群の比較

	肥満群 (n=11)	非肥満群 (n=16)	p
年齢 (歳)	11.4 ± 1.3 [8.0-14.8]	10.9 ± 4.0 [8.8-13.1]	0.773
体脂肪率 (%)	35.3 ± 8.7 [29.4-41.2]	20.2 ± 3.8 [18.2-22.2]	<0.001
腹囲 (cm)	65.1 ± 9.8 [58.5-71.6]	56.7 ± 7.2 [52.8-60.5]	0.016
臀囲 (cm)	83.9 ± 16.4 [72.9-94.9]	73.2 ± 13.0 [66.3-80.2]	0.072
腹囲/身長比	0.56 ± 0.08 [0.51-0.61]	0.52 ± 0.06 [0.49-0.55]	0.105
臀囲/身長比	0.72 ± 0.08 [0.66-0.78]	0.65 ± 0.03 [0.63-0.66]	0.003
腹囲/臀囲比	0.78 ± 0.07 [0.73-0.83]	0.78 ± 0.06 [0.75-0.81]	0.874

(平均 ± SD [95%信頼区間])

表2のように肥満群と非肥満群で有意差があったパラメータは腹囲と臀囲/身長比であった。そこで肥満の判定により影響のあるパラメータを導出するために、腹囲、臀囲/身長比に体重を加えて多重ロジスティック回帰分析を行ったところ、表3のように臀囲/身長比がACH小児の肥満の評価に適している可能性が示唆された。さらに臀囲/身長比についてROC解析を行ったところ、AUC 0.902、感度 84.6%、特異度 91.7%でカットオフ値 0.67 が導き出された。

表3.肥満群に関連する身体計測パラメータの解析

	推定値	標準誤差	カイ2乗	P
腹囲 (cm)	0.18859542	0.2092563	0.81	0.367
臀囲/身長比	43.3179062	19.408068	4.98	0.026
体重 (kg)	-0.0557601	0.1118286	0.25	0.618

次にACH小児32名の内、糖脂質代謝関連パラメータが揃っている男児14名、女児12名でACH小児の肥満リスクに対する糖脂質代謝の影響について検討を進めた。肥満群10名(男児4名、女児6名)と非肥満群16名(男児10名、女児6名)で各測定パラメータを比較検討した。

表4.糖脂質代謝関連パラメータの肥満群および非肥満群の比較

	肥満群 (n=10)	非肥満群 (n=16)	p
インスリン (μIU/mL)	10.1 ± 4.7 [6.7-13.5]	6.1 ± 2.9 [4.6-7.7]	0.015
空腹時血糖 (mg/dL)	89.2 ± 5.5 [85.3-93.1]	87.8 ± 14.1 [80.2-95.3]	0.760
LDL-cho (mg/dL)	95.7 ± 32.0 [72.8-118.6]	100.7 ± 28.6 [85.4-115.9]	0.683
HDL-cho (mg/dL)	57.6 ± 9.2 [51.0-64.2]	61.0 ± 9.4 [56.0-66.0]	0.375
中性脂肪 (mg/dL)	71 ± 36.0 [45.3-96.7]	60.6 ± 30.3 [44.5-76.8]	0.437
HbA1c (%)	5.3 ± 0.2 [5.2-5.5]	5.4 ± 0.2 [5.2-5.5]	0.870
HOMA-R	2.2 ± 0.3 [1.7-2.8]	1.3 ± 0.2 [0.9-1.8]	0.020
収縮期血圧 (mmHg)	115.9 ± 12.8 [106.7-125.0]	110.3 ± 14.4 [102.6-118.0]	0.327
拡張期血圧 (mmHg)	68.8 ± 11.9 [60.3-77.3]	62.8 ± 8.2 [58.5-67.2]	0.140

(平均 ± SD [95%信頼区間])

表4のように肥満群と非肥満群で有意差があったパラメータはインスリンとHOMA-Rであった。そこで肥満により影響のあるパラメータを導出するために、血清インスリン値、空腹時血糖値にLDL-コレステロール値を加えてロジスティック回帰分析を行ったところ、表5の通り空腹時の血清インスリン濃度がACH小児の肥満との関連が強いことが示された。

表5.肥満群に関連する糖脂質代謝関連パラメータの解析

	推定値	標準誤差	カイ2乗	p
インスリン (μIU/mL)	0.42995499	0.1989508	4.67	0.031
空腹時血糖 (mg/dL)	-0.0084808	0.0453527	0.03	0.852
LDL-cho (mg/dL)	-0.0266316	0.0199408	1.78	0.182

以上より、身長体重による肥満度では過大評価してしまう ACH 小児の肥満の判定には身体計測パラメータとして臀囲/身長比が有効である可能性があり、著明な低身長を来す ACH 小児の適正な体重維持のために有用な指標となり、肥満の治療管理に役立つものと考えられる。また健常者と同様にインスリン値は肥満との関連があるため、著明な体重増加を呈する ACH 小児においては空腹時採血による糖脂質代謝の評価とともに食事、運動などの日常生活における指導管理を行う必要がある。

2) ACH-iPS 細胞と健常者由来 iPS 細胞の脂肪細胞分化の相違についての検討

FGFR3 異常が脂肪細胞に及ぼす影響を検証するために、ACH-iPS 細胞および健常者由来 iPS 細胞を用いて脂肪細胞分化の相違を検討した。ACH 症例 3 名と健常対照 1 名の iPS 細胞より中胚葉系および神経堤細胞系の 2 種類の方法で間葉系幹細胞を作成した⁵⁾。作成した間葉系幹細胞を経て脂肪細胞へ分化させた。分化過程における FGFR3 遺伝子発現について検討したところ、ACH-iPS 細胞および健常者由来 iPS 細胞から分化した脂肪細胞において FGFR3 異常の影響を明確に示す所見を同定しえなかった。FGF シグナルとメタボリズム調節因子との関連⁶⁾は報告されているが脂肪細胞に対して FGFR3 異常が及ぼす影響については更なる検討が必要である。

引用文献

- 1) Hecht JT, Hood OJ, Schwartz RJ, et al. Obesity in achondroplasia. *Am J Med Genet.* 31:597-602,1988.
- 2) Wynn J, King TM, Gambello MJ, et al. Mortality in achondroplasia study: a 42-year follow-up. *Am J Med Genet A.* 143A:2502-2511,2007.
- 3) Fukuoka M, Nakai Y, Kirino K, et al. Derivation of mesenchymal stromal cells from pluripotent stem cells through a neural crest lineage using small molecule compounds with defined media. *PLoS One.*9:e112291,2014.
- 4) Ito T, Fujieda K, Okuno A. Weight-for-height charts for Japanese children based on the year 2000 Report of School Health Statistics Research. *Clin Pediatr Endocrinol.* 25: 77-82,2016.
- 5) Eto S, Goto M, Soga M, et al. Mesenchymal stem cells derived from human iPS cells via mesoderm and neuroepithelium have different features and therapeutic potentials. *PLoS One.* 13:e0200790,2018.
- 6) Itoh N, Ornitz DM. Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family. *Dev Dyn.* 237:18-27,2008.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中野由佳子, 窪田拓生, 北岡太一, 大幡泰久, 武鍵真司, 藤原誠, 三善陽子, 大園恵一
2. 発表標題 軟骨無形成症小児における肥満の評価法とメタボリック症候群の検討
3. 学会等名 第53回 発育異常研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中野由佳子, 北岡太一, 宮田 京, 山本賢一, 武鍵真司, 中山尋文, 大幡泰久, 窪田拓生, 大園恵一
2. 発表標題 軟骨無形成症、軟骨低形成症小児例の肥満症の評価
3. 学会等名 第92回 日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakano Y, Kitaoka T, Miyata K, Yamamoto K, Takeyari S, Nakayama H, Fujiwara M, Ohata Y, Kubota T, Ozono K
2. 発表標題 Clinical study on factors relevant to metabolic syndrome in obese children with Achondroplasia and Hypochondroplasia
3. 学会等名 第53回 日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野 由佳子、北岡 太一、宮田 京、山本 賢一、武鍵 真司、山本 景子、中山 尋文、大幡 泰久、窪田 拓生、大園 恵一
2. 発表標題 軟骨無形成症、軟骨低形成症における肥満の評価
3. 学会等名 第52回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yukako Nakano, Taichi Kitaoka, Kei Miyata, Kenichi Yamamoto, Shinji Takeyari, Hirofumi Nakayama, Yasuhisa Ohata, Takuo Kubota, Keiichi Ozono
2. 発表標題 Assessment of obesity in children with Achondroplasia and Hypochondroplasia
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (国際学会)
4. 発表年 2018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
研究分担者	木村 武司 (Kimura Takeshi) (50774402)	大阪大学大学院・医学系研究科・助教 (14401)	

	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
研究協力者	中野 由佳子 (Nakano Yukako)	大阪大学大学院・医学系研究科・大学院生 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------