

博士(医学) 幸村(小林) 友季子

論文題目

Association between body weight at weaning and remodeling in the subcutaneous adipose tissue of obese adult mice with undernourishment *in utero*

(胎生期低栄養環境にさらされた肥満成獣マウスの離乳時体重と皮下脂肪組織のリモデリングの関係)

論文の内容の要旨

[はじめに]

欧州の疫学研究から胎生期の栄養障害などによる低出生体重児は、授乳期に急速な発育をした場合、成長後にメタボリックシンドロームを高率に罹患することが報告されている。また、肥満において脂肪細胞の慢性炎症によるリモデリングが注目されている。具体的には炎症性の M1 マクロファージが脂肪組織へ浸潤し、MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) や TNF- α などの炎症性アディポカインが産生され、小型の脂肪細胞が増加しリモデリングが進み、「健全な代謝環境にある肥満」から「病的な代謝環境にある肥満」へ移行することが、耐糖能異常、脂質代謝異常などの増悪をもたらすメタボリックシンドローム発症をさせる可能性が明らかとなりつつある。このような背景をもとに、低出生体重児の離乳期の急速な発育が成長後の脂肪炎症のリスク因子であるという仮説を想定し、マウスモデルを調整しその検証を行った。

[方法]

1) C57BL/6 妊娠マウスを自由摂餌群 (以下 AD 群; *ad libitum*) と摂餌制限群 (以下 CR 群; *caloric restriction*) に分けた。摂餌制限群は、妊娠 11.5 日から 17.5 日まで母獣の摂取カロリーを自由摂餌群の 30%減らして与えた。生まれたオスを対象とした。日齢 19.5 日の離乳時において各群で体重が平均より高い個体を UP、平均より低い個体を LO とし、A 群(AD-LO)、B 群 (AD-UP)、C 群 (CR-LO)、D 群 (CR-UP) の 4 群に分けた。9 週齢から 17 週齢まで脂肪を 60%含んだ高脂肪餌を負荷した。

2)日齢 19.5 日、8 週齢、17 週齢にマウスの皮下脂肪、精巣周囲脂肪、後腹膜脂肪、血液を採取した。また血糖値、血清総コレステロール値、血清 HDL 値、血清トリグリセリド値を測定した。

3) 17 週齢皮下脂肪組織において、マクロファージ特異的 F4/80 染色を施行し、2.4mm²あたりの平均陽性細胞数を測定した。また、M1/M2 マクロファージの表面抗原比として CD11c/CD163 遺伝子発現比を定量 PCR 法にて測定した。HE にて染色した 2.4mm²あたりの脂肪細胞の直径を Scion image ソフトにて測定した。17 週齢皮下脂肪組織中の MCP-1, TNF- α , leptin, TLR4, IL-6, IL-10 遺伝子発現を定量 PCR 法にて測定した。

4) 授乳期の発育の指標として、離乳時体重の Z スコア; $(\text{体重} - \text{平均体重}) / \text{SD}$ 値を算出し、各々のパラメータと AD 群、CR 群との相関を検討した。Z スコアが大きいほど、授乳期の catch up 率が高いことを示す。

[結果]

1) 摂餌制限により出生体重は AD 群に比べ有意に減少した (11%, $p < 0.01$)。17 週齢の体重、皮下脂肪重量、後腹膜脂肪重量、血清総コレステロール値、血糖値は離乳時体重の Z スコアと、CR 群のみでいずれも有意な正の相関を認め、D 群 (CR-UP) は C 群 (CR-LO) に比べて有意に高値を示した。

2) F4/80 染色陽性細胞数と CD11c/CD163 遺伝子発現比は、ともに CR 群のみで離乳時体重の Z スコアと正の相関を示し、D 群 (CR-UP) は C 群 (CR-LO) に比べて有意に高値を示した ($p < 0.01$)。

3) 17 週齢の皮下脂肪細胞の直径は、CR 群において $50\mu\text{m}$ 未満の脂肪細胞の比率が有意に増加していた。 $30\mu\text{m}$ 未満の小型脂肪細胞の割合は、D 群 (CR-UP) では C 群 (CR-LO) に比べて有意に高値を示し (D 群; $1.01\% \pm 1.0$, C 群; $0.30\% \pm 0.4$, $p < 0.05$)、離乳時体重の Z スコアと CR 群のみで有意な正の相関を認めた ($r = 0.411$, $p < 0.05$)。

4) 17 週齢の皮下脂肪重量と leptin は AD、CR 両群で正の相関を認めた。MCP-1 と TNF- α は CR 群のみ正の相関を認めた。

[考察]

胎生期低栄養マウスモデルにおいて、授乳期における急速な発育を示した D 群 (CR-UP) において、高脂肪餌を投与した場合の皮下脂肪細胞における種々の慢性炎症のパラメータが亢進し、小型の脂肪細胞の比率が増加した。すなわち、胎生期低栄養環境に曝され、授乳期に急速に発育した場合、高脂肪餌により脂肪細胞の慢性炎症によるリモデリングが亢進し、「健全な代謝環境にある肥満」から「病的な代謝環境にある肥満」へ移行する可能性が明らかとなった。実際、D 群 (CR-UP) では脂肪重量のみならず血清総コレステロール値、血糖値が有意に高値を示した。

[結論]

今回の動物実験より、メタボリックシンドローム発症リスク因子の形成機序の一つとして、胎生期低栄養環境、乳児期の急速な発育、成人期の飽食という環境変化による three hits theory が示唆された。

論文審査の結果の要旨

疫学研究により、胎生期に低栄養環境に曝されたために低体重で出生した児は、生後に通常の栄養環境に復帰することで、乳児期に急速な発育 (catch-up growth) を示すとともに、成人期に

においてメタボリックシンドロームを発症しやすいことが知られている(DOHaD 仮説)。この理由として、体内環境に適応するためのエピジェネティック修飾の影響が考えられており、その一つとして脂肪細胞の慢性炎症が注目されている。

申請者らは、低出生体重児の離乳期の急速な発育が成長後の脂肪炎症を助長するとの仮説を想定し、モデルマウスを用いて、その検証を行った。妊娠マウスを自由摂餌群(AD 群)と妊娠後半期の30%の摂餌制限を加えた群(CR 群)に分け、仔マウスに9~17週齢まで高脂肪餌を負荷し、離乳時体重のZスコアと成獣期における各種パラメーターとの相関を検討した。その結果、以下の成績が得られた。(1) 17週齢体重、脂肪重量、血糖値、血清総コレステロール値は、CR群のみで離乳時体重のZスコアと正の相関を示した。(2) 17週齢皮下脂肪組織において、マクロファージ特異的F4/80染色陽性細胞数、M1/M2マクロファージの表面抗原比、30 μ m未満の小型脂肪細胞の割合は、CR群のみで離乳時体重のZスコアと正の相関を示した。(3) 17週齢皮下脂肪組織中のMCP-1、TNF- α 遺伝子発現は、CR群のみで皮下脂肪重量のZスコアと正の相関を示した。これらの成績は、授乳期の急速な発育が、成長後の肥満、糖代謝異常、脂質代謝異常を助長すると共に、脂肪の炎症性・増殖性リモデリングを助長する可能性を示唆するものである。したがって、これらは上記DOHaD仮説を支持するデータであり、さらに、その発症原因の一端を明らかとするものである。

以上により、本論文は博士(医学)の学位授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 緒方 勤
副査 渡邊 裕司 副査 尾島 俊之