

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Susceptibilities of epicardial and subcutaneous fat tissue for browning gene expression and diet induced volume reduction are different
別タイトル	心外膜脂肪と皮下脂肪組織は、褐色化遺伝子発現および減量に対する感受性が異なる
作成者（著者）	美甘, 周史
公開者	東邦大学
発行日	2019.03.28
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 61.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：龍野一郎 / タイトル：Susceptibilities of epicardial and subcutaneous fat tissue for browning gene expression and diet induced volume reduction are different / 著者：Hiroshi Mikamo, Meizi Jiang, Mahito Noro, Yasuo Suzuki, Nobuyuki Hiruta, Hiroyuki Unoki Kubota, Wolfgang J. Schneider, Hideaki Bujo / 掲載誌：Molecular Medicine Reports / 巻号・発行年等：17:6542 6550, 2018
著者版フラグ	none
報告番号	32661乙第2904号
学位記番号	乙第2749号
学位授与年月日	2019.03.28
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD24001230">https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD24001230</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

美甘周史より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2749 号

学位申請者 : 美 甘 周 史  
                  み       かも       ひろ       し

学位審査論文: Susceptibilities of epicardial and subcutaneous fat tissue for browning-gene expression and diet-induced volume reduction are different

(心外膜脂肪と皮下脂肪組織は、褐色化遺伝子発現および減量に対する感受性が異なる)

著 者 : Hiroshi Mikamo, Meizi Jiang, Mahito Noro, Yasuo Suzuki, Nobuyuki Hiruta, Hiroyuki Unoki-Kubota, Wolfgang J. Schneider, Hideaki Bujo

公 表 誌 : Molecular Medicine Reports 17 : 6542-6550, 2018

論文内容の要旨 :

【緒言】動物研究より、脂肪組織熱産生増加は、高脂肪食の肥満作用を相殺し、熱産生減少は相殺効果が悪化する。成人褐色脂肪組織 (BAT) の存在は画像・組織生検で確認され、構成する褐色/ベージュ脂肪細胞は、全身代謝や隣接組織の熱調節因子である。一方、心外膜脂肪組織 (EAT) は、 $\beta$ -アドレナリン作動性の増加した脂肪分解特性が特徴である。最近の組織化学・細胞生物学的研究より、成人 EAT は BAT と特徴を共有する。肥満患者の糖尿病や冠状動脈疾患予防・治療のため、BAT 特性と心臓熱恒常性・全身代謝との関連解明は課題である。

【目的】ヒト EAT 熱発生遺伝子発現を、皮下脂肪組織 (SAT) と比べ、剖検 15 例とマウス EAT で調べる。更に、EAT・SAT からヒト間葉系細胞 (MC) 由来褐色脂肪細胞における遺伝子発現感受性を解明する。最後に、肥満患者 10 人に SAT および内臓脂肪組織 (VAT) と比べ、マルチ検出器コンピュータ断層撮影 (MDCT) を用いた体重減少の EAT 容積変化の感受性を評価する。

【方法】剖検サンプル: 連続剖検 18 例中 2 例 (甲状腺中毒症例、長時間カテコラミン投与例) を除外し 16 例が対象。EAT および SAT を、心尖部の遠位左前下行枝および上腹壁から得た。脂肪サンプルから結合組織・表面血管をトリミングし、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存。遺伝子発現解析に 15 サンプル、細胞培養実験には 1 サンプルを使用。

マウスサンプル: 全データは雄 db/db マウスから得られた。EAT と SAT は前述のように得られ、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存。

ヒト研究：当科に心疾患で入院した連続 10 名の肥満患者(男 80%、年齢 44.6±16 才、BMI38.7±10kg/m<sup>2</sup>、平均減量期間 44 日)が対象。減量前後で心電図同期下胸腹部 CT を施行し EAT、VAT、SAT 測定。食事療法はマイクロダイエット®1P 法 (947kcal) を 3 週間、以後 1200kcal 食。運動療法は、エルゴメーターかトレッドミルを 20 分間。

【結果】剖検サンプル：剖検 15 例の EAT および SAT サンプルから、UCP-1 および  $\beta$ 3-アドレナリン受容体 (AR) の熱産生遺伝子、また脂肪生成、炎症・血管新生に関与する遺伝子としてのレプチン、TNF- $\alpha$  および VEGF 発現レベルを調べた。UCP-1 は、EAT で有意に増加、 $\beta$ 3-AR は EAT で増加傾向あり。レプチンまたは TNF- $\alpha$  は EAT と SAT との間に有意差なく、VEGF は EAT で有意に減少。以上、熱産生遺伝子発現が EAT で特異的に誘導された。

マウスサンプル：ヒト剖検サンプルの不均一な背景の影響を無くすため、背景の揃った db/db マウスで遺伝子発現を分析した。SAT に比べ EAT で UCP-1 レベルは 16.6 倍、 $\beta$ 3-AR レベルは 15.2 倍増加。一方、レプチンは EAT で有意に低下。TNF- $\alpha$  および VEGF レベルは差異なし。従って、多様な病理学的背景のヒト剖検 EAT で観察された UCP-1 および  $\beta$ 3-AR の増加は、類似マウスモデルで再現された。

剖検サンプル (細胞培養)：上記機序解明のため、ヒト EAT 由来 MC の褐色成熟脂肪細胞への分化刺激に応答する遺伝子発現を調べた。UCP-1 は、EAT および SAT 由来の分化 MC が、未分化 MC と比べ大幅に増加。EAT 由来分化 MC の UCP-1 は、SAT 由来より 3.2 倍高いが、未分化 MC では有意差なし。 $\beta$ 3-AR も、未分化 MC と比べ分化 MC で増加。EAT 由来分化 MC の  $\beta$ 3-AR は SAT 由来より 12.6 倍高いが、未分化 MC では有意差なし。以上、MC 中の褐色分化刺激に応答する感受性変化が EAT は顕著であり、MC の異なる感受性は EAT・SAT 間の熱産生遺伝子発現の差を引き起こす。

ヒト研究：臨床環境で上記特徴を考察するため、肥満患者対象に MDCT を用い EAT 量および VAT、SAT 面積変化を評価する減量プログラムを施行。治療終了後の体重、SAT、VAT の値は、治療前と比べ減少も、EAT 量は有意差なし。SAT、VAT と正相関示すも、EAT は有意なし。SAT と VAT は正相関あるも、EAT 減少は SAT、VAT の間に相関なし。以上より、減量療法に対する EAT の感受性が SAT・VAT と異なる。

【考察】EAT は、脂肪分解特性および  $\beta$ -アドレナリン作動活性を増加させる特有の脂肪細胞の集簇である。本研究では、ヒト剖検およびマウス EAT における UCP-1 および  $\beta$ 3-AR の発現増強に加え、褐色分化後のヒト EAT 由来 MC でも SAT より顕著であった。この結果は、SAT とは異なるヒト EAT の熱産生特性を示し得る。以前の研究では、EAT の画像測定方法の差異により、EAT 減少と体重、SAT、または VAT の減少との関連について不均一な結果が散見される。減量前後で心エコーによる EAT 厚を測定したものとは比べ、MDCT は良好に体重減少と各脂肪は関連した。本研究では MDCT を用い減量療法前後の EAT 量を分析。結果、EAT 減少が体重や SAT 面積減少と関連しないが、以前の報告のように体重、SAT、VAT のペア間に明確な関係があった。従って、本結果は、EAT 減少の感受性が SAT とは異なり、観察された熱産生遺伝子発現の増強に加えて独特な EAT 特性を示唆した。

【結語】EAT 特性に関するヒト組織、細胞およびイメージング研究は、褐色化遺伝子発現および食事および運動に誘発される減量に対する EAT 感受性が SAT と異なる。この知見より、EAT は、SAT および VAT で観察される全身代謝に加え、心臓あるいは心臓血管細胞の熱生成および代謝恒常性の病理学的状態を反映する独特の脂肪組織を構成することが推察される。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2749 号	氏 名	美 甘 周 史
学位審査担当者	主 査	龍 野 一 郎
	副 査	諸 井 雅 男
	副 査	並 木 温
	副 査	弘 世 貴 久
	副 査	盛 田 俊 介

学位審査論文の審査結果の要旨 :

肥満は全世界的に大きな医学的、経済的、そして社会的な課題となっている。肥満の改善には摂取カロリーと消費カロリーとの間でエネルギーバランスを負にすることが必須であり、食事制限とともに体内の熱産生を高めることが重要である。脂肪組織には白色脂肪細胞(WAT)と熱産生能の高い褐色/ベージュ脂肪細胞(BAT)が存在するが、人においてもこのBATの存在が確認され、その臨床的意義が注目を集めている。一方、心外膜脂肪組織(EAT)は、 $\beta$ -アドレナリン作動性の増加した脂肪分解特性が特徴で、最近の研究より、成人のEATにはBATに近い特徴を有するとされ、EATは冠動脈疾患の発症と関係するとの報告もあり、EATと心臓の熱恒常性・全身代謝との関連が注目されるが、その詳細は不明である。

そこで本研究ではまず、ヒトの剖検組織及びマウスの組織を用いてEATと皮下脂肪組織(SAT)で熱発生遺伝子発現を比較した。その結果、剖検15例のサンプルではUCP-1はEATで有意に増加、 $\beta$ 3-ARはEATで増加傾向、レプチンまたはTNF- $\alpha$ はEATとSATとの間に有意差なく、VEGFはEATで有意に減少していた。また、マウスサンプルでもSATと比較してEATではUCP-1は16.6倍、 $\beta$ 3-ARは15.2倍増加していた。一方、レプチンはEATで有意に低下、TNF- $\alpha$ およびVEGFは差が無く、ヒト剖検組織と同様の結果がマウスモデルでも確認された。上記機序解明のため、脂肪組織由来ヒト間葉系細胞(MC)を用いて褐色成熟脂肪細胞分化刺激に応答する遺伝子発現を調べた。未分化MCと比べUCP-1はEATおよびSAT由来の両分化MCで増加、EAT由来分化MCのUCP-1はSAT由来より3.2倍高かった。 $\beta$ 3-ARも未分化MCと比べ分化MCで増加し、特にEAT由来分化MCの $\beta$ 3-ARはSAT由来より12.6倍高値を認め、MC中の褐色分化刺激に応答する感受性変化はEATで顕著であった。最後に、肥満患者対象にMDCTを用いてEAT容積を比較した。減量治療前後で体重、SAT、VATは減少したが、EAT量は変化なく、減量療法に対するEATの感受性がSAT・VATと異なることが判明した。

本研究はEAT特性に関してヒト・マウス組織、細胞分化およびイメージング研究から、褐色化遺伝子発現および減量に対するEAT感受性がSATと異なることを明らかにし、EATは心臓あるいは心血管細胞の熱生成および代謝恒常性の病理学的状態を反映する独特の脂肪組織である事を示唆した。

学位審査会においては研究の動機と研究仮説、EATの病態生理学的意義、剖検組織でのEAT採取部位、剖検病態による違い、ETAからのアディポネクチンを含めたアディポカイン分泌、MDCTによる幅広い病態に対するデータ蓄積の必要性、本研究を踏まえた動物モデルを用いたEAT研究の必要性と今後などの質問に的確に答えた。

本研究はヒト剖検検体、マウス組織、細胞分化実験、臨床研究など多面的なアプローチによりEATの特異性を明らかにした研究であり、今後の虚血性心疾患を含め心血管疾患の予防の観点から新たな研究の可能性を拓く学位に値する論文である。

審査委員一同は申請者に十分な学識があることを確認し、学位に値する研究内容であると評価した。