

腹腔鏡を用いた犬および猫の肥満診断法の
開発に関する研究

(Studies on development of new diagnostic system with
laparoscopy for obesity in dogs and cats)

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

澤村昌樹

(指導教授：新井敏郎)

平成 29 年 9 月

目 次

序章	動物における新しい肥満概念	5
	はじめに	5
第1節	肥満の定義とその病態	5
第2節	猫の肥満の現状	7
第3節	新しい肥満の分類	8
第1章	腹腔鏡手術の動物疾病への応用(文献的考察)	11
	はじめに	11
第1節	腔鏡手術とは	12
第2節	腹腔鏡手術の人及び動物医療への応用	14
第3節	動物手術における外科的侵襲	17

小括	22
第2章 犬の代謝疾病診断法としての腹腔鏡手術の応用	23
はじめに	23
材料と方法	23
結果	27
考察	28
小括	30
第3章 腹腔鏡手術を用いた猫肝リピドーシスの診断	33
はじめに	33
材料と方法	33
結果	36

考察	38
小括	49
第4章 腹腔鏡手術を用いた肥満猫の新しい診断法の開発と応用	41
はじめに	41
材料と方法	41
結果	44
考察	46
小括	47
総括	48
謝辞	52

文献 53

Summary 67

序章

動物における新しい肥満の概念

はじめに

近年、人と同様に犬や猫でも顕著に肥満の発生が増えている。特に猫は、主たるエネルギー源をグルコースよりアミノ酸に依存するという肉食動物特有の代謝特性を有することから、糖質を多く摂取した場合には、犬に比べより肥満しやすい動物であると考えられる。肥満症 (obesity = obesity disease) は、糖尿病、脂質異常症をはじめとする代謝性疾患や、それらを基盤とする腎障害、骨関節疾患など様々な健康障害のリスクファクターであり、肥満の予防は獣医臨床において喫緊の課題である。岡田らは肥満症の正確な判定のため、肥満を一次性肥満 (原発性肥満)、二次性肥満に分け、一次性肥満を健康障害の有無により、さらに細かく分類した。健康障害のあるもの (獣医療の介入が必要なもの) を肥満症と定義し、それを内臓脂肪蓄積の有無によりメタボリックシンドロームと皮下脂肪型肥満に分類することにした (Okada et al., 2017)。こうした新しい診断フローチャート作成により治療方針がより明確になることが期待される。また、肥満のより精密な診断のためには、フローチャートの各ステージにおける生化学マーカーの基準値を定める必要がある。診断の例数をふやし、明確な数値基準を策定することにより、より早期段階での肥満の判定、さらにはその予防が可能になると考えられる。

第1節 肥満の定義とその病態

肥満は脂肪組織にトリグリセライドが過剰に蓄積した状態をいう。肥満は直ちに医学的介入が必要な病気として分類されるわけではないが、肥満は糖尿病や脂質異常症をはじめとする代謝性疾患や、それらを基盤として発症する冠動脈疾患や脳血管障害、

腎障害、骨・関節疾患など様々な健康障害を引き起こすことから、人では医学的に減量の必要な状況を「肥満症」と定義している（日本肥満学会，2016）。世界保健機関（WHO）の診断基準では、body mass index, BMI \geq 25 を over weight（過体重）、BMI \geq 30 を obese（肥満）と定義している（World Health Organization, 2016）。わが国の BMI \geq 25 の男性は 28.6%、女性は 20.3%であるのに対し（厚生労働省 平成 25 年国民健康・栄養調査結果の概要, 2014）、BMI \geq 30 の割合は 3.5%程度であることから（厚生労働省 平成 24 年国民健康・栄養調査報告, 2013）、わが国では高度肥満が少なく、隠れ肥満が多いという特徴がある。これまでの研究から BMI 26~27.9 の群で高血糖、高血圧、高トリグリセライド血症、高コレステロール血症、低 HDL-コレステロール血症の発症が増えることが報告されており、日本人は軽度肥満でも健康障害につながりやすい特徴が明らかにされている（吉池ら, 2000）。さらに、わが国における BMI 25~30 の頻度がここ数十年で 2~4 倍に増加し、該当者では動脈硬化危険因子が集積している（吉池ら, 2000）。肥満（BMI \geq 25）と診断されたもののうち、①肥満に起因ないし関連し減量を要する健康障害を有する者、または、②健康障害を伴いやすい高リスク肥満としてウエスト周囲長によるスクリーニングで内臓脂肪蓄積を疑われ、腹部 CT 検査によって確定診断された内臓脂肪型肥満、のいずれかの条件を満たす場合にわが国では肥満症 obesity disease と診断する（Examination Committee of Criteria for ‘Obesity Disease’ in Japan, 2002）。肥満症の診断基準に必須な健康障害として、肥満診断基準 2011 では、耐糖能異常、脂質異常症、高血圧、高尿酸血症・痛風、冠動脈疾患、脳梗塞、脂肪肝、月経異常・不妊、睡眠時無呼吸症候群・肥満低換気症候群、運動器疾患、肥満関連腎臓病の 11 の病態があげられている（日本肥満学会肥満症診断基準検討委員会, 2011）。診断基準には含まれないものの、肥満と関連し、注意を払うべき疾患群として、胆石症、静脈血栓塞栓症・肺塞栓症、気管支喘息、皮膚疾患、

男性不妊、胃食道逆流症、および一連の悪性腫瘍（大腸がん、食道がん、子宮体がん、膵臓がん、腎臓がん、乳がんなど）があげられる。

20 世紀後半から疾病構造が大きく変化し、かつて多くの人命を奪った感染症が減少し、心血管系疾患、2 型糖尿病、がん、閉塞性肺疾患などの非感染性疾患(non-communicable diseases : NCD)が先進国、発展途上国ともに増えている(井村, 2015)。WHO は全世界での NCD による死亡の 80%は発展途上国で見られるとしており、今後の重大な健康問題であると指摘している。NCD は一般に中年以降の成人に多く発症するので、それに伴う社会的、経済的損失は極めて大きい。そして NCD の発症の多くに肥満が関連していると考えられることから、肥満予防の重要性は今後、一層高まる。こうした状況は、犬や猫の平均寿命が 15 歳を超えるようになった獣医療でも同様の傾向であると考えられる。

第 2 節 猫の肥満の現状

世界各地で猫の肥満発生状況が調査されている。英国では猫の過体重、肥満率は 52%と推定され(Russell et al., 2000)、デンマークでは猫の約 40%が過体重、肥満であると報告されている(Sloth,1992)。アメリカでは 1995 年に 8,159 頭の成猫を調査した結果、約 35%が過体重ないし肥満であった(Elizabeth, 2005)。同時代のスコットランド、イングランド、アメリカにおける犬の肥満率は 22~40%とされ(森, 2014)、いずれの国でも猫の過体重・肥満の割合は犬のそれらと比べて有意に高い数値を示している。日本では、多くの獣医師から近年、犬や猫でも肥満が増えているという声を聴くが、多くの動物を対象にした本格的な疫学調査は行われていない。当該研究室のグループでは 2008 年から 2012 年にかけて各地の動物病院に協力をいただき、猫の健康調査を行い、約 42%の猫が過体重ないし肥満であるとの結果を得ている(森ら,

2013)。従来報告されていた値（25%程度）に比べかなり高い値であり、同時に調べた犬の値に比べ高値であった（森, 2014）。

我々のグループは、猫が犬に比べて肥満しやすいことをこれまで報告してきた（Tanaka et al., 2005; Mori et al., 2009a; Mori et al., 2009b）。猫の肝臓には基質であるグルコースに対して高い Km 値を有するグルコキナーゼ活性を欠き（糖取り込みおよび処理能力が犬に比べ著しく低い）、猫の各組織ではインスリンシグナル伝達遺伝子の発現量が低い。これらの遺伝子は肥満するとさらに低下するなど猫は独特の糖・脂質特性を有し、インスリン抵抗性に陥りやすく、結果的に犬に比べ肥満しやすい動物であると考えられている。こうしたことから猫は人の肥満研究モデルとしても有用である。

犬に比べ肥満しやすい特性を持つ猫では、寿命延伸や室内飼育の増加などの生活習慣の変化に伴い予想以上に速いペースで肥満が増えている現状が窺える。肥満が NCD のリスクファクターになっていることを考え合わせると、世界的に通用する猫の肥満診断基準を作り、早期に肥満を発見し、適切な処置を行いその重症化を予防するシステムを開発することが獣医療の喫緊の課題といえる。

第3節 新しい肥満の分類

人医学領域では日本肥満学会が中心となって関連学会の協力を得て5年に一度の割合で「肥満症診療ガイドライン」を作成している。近年、良質な医療を提供する一つの手段として「科学的根拠に基づく医療」(EBM: evidence-based medicine)が提唱されている。2016年度のガイドラインでは、科学的根拠をガイドラインの中になるべく多く取り入れられるように工夫されている。すなわち、診療の指針となるべきステートメントをまず表示し、各ステートメントについてその推奨の強さを表す「推奨グレ

ード」と科学的根拠の水準を表す「エビデンスレベル」を付記するようになった。これにより各種マーカーの客観的な数字により肥満を判定するようになっている（「肥満の可視化」を促進している）。診療ガイドラインの最大の特徴は、肥満を **body mass index (BMI)** で規定するだけでなく、減量を必要とする肥満症を選び出し、医学的に適切な治療ならびに管理を行う点である。人と同じようなメカニズムで肥満が起こる猫で、こうしたエビデンスに基づく診断基準を作ることは、その予防を進める上で極めて重要である。

小林らは、人の肥満症診断のフローチャート(日本肥満学会, 2016)を参考に「猫の肥満症診断フローチャート (新しい肥満の分類)」を作成した(小林ら, 2016, Fig.1)。ボディコンディションスコア (BCS) の 5 段階評価の場合の 4 以上ないし 9 段階評価の場合の 7 以上を肥満とし、主として栄養過多・運動不足により肥満した場合を一次性 (原発性) 肥満とする。クッシング病やインスリノーマなどの内分泌性肥満、遺伝性肥満、視床下部性肥満、薬物による肥満など、それらの治療は原因疾患の要因に対して行う必要がある肥満を二次性肥満 (症候性肥満) として分類する。一次性肥満を健康障害のある場合とない場合に分け、健康障害がない場合は単純肥満 **simple obesity** として獣医療の対象外とする。健康障害がある場合には多くの場合に炎症反応を伴い、耐糖能障害、脂質異常症、インスリン抵抗性、脂肪肝などが随伴して現れる。これらを肥満症 **pathological obesity (= obesity disease)** と総称する。肥満症はさらに内臓脂肪の蓄積がある場合とない場合に分け、内臓脂肪蓄積がある場合をメタボリックシンドローム **metabolic syndrome (MS)** として分類すると、治療方針が明確になる。内臓脂肪蓄積がない場合は皮下脂肪型肥満として分類すると、これにより引き起こされる疾病は関節症、脊椎症などの運動器疾患や呼吸器障害などが主な疾病となる。内臓脂肪蓄積がある場合は **MS** を介して脂質異常症、脂肪肝、糖尿病、腎障害など多様かつ

重篤な代謝障害が誘発される危険性が高まる。今後、例数を増やし、血液生化学マーカーの値（科学的エビデンス）をそれぞれのステージ、疾病に当てはめていく作業が必要となる。

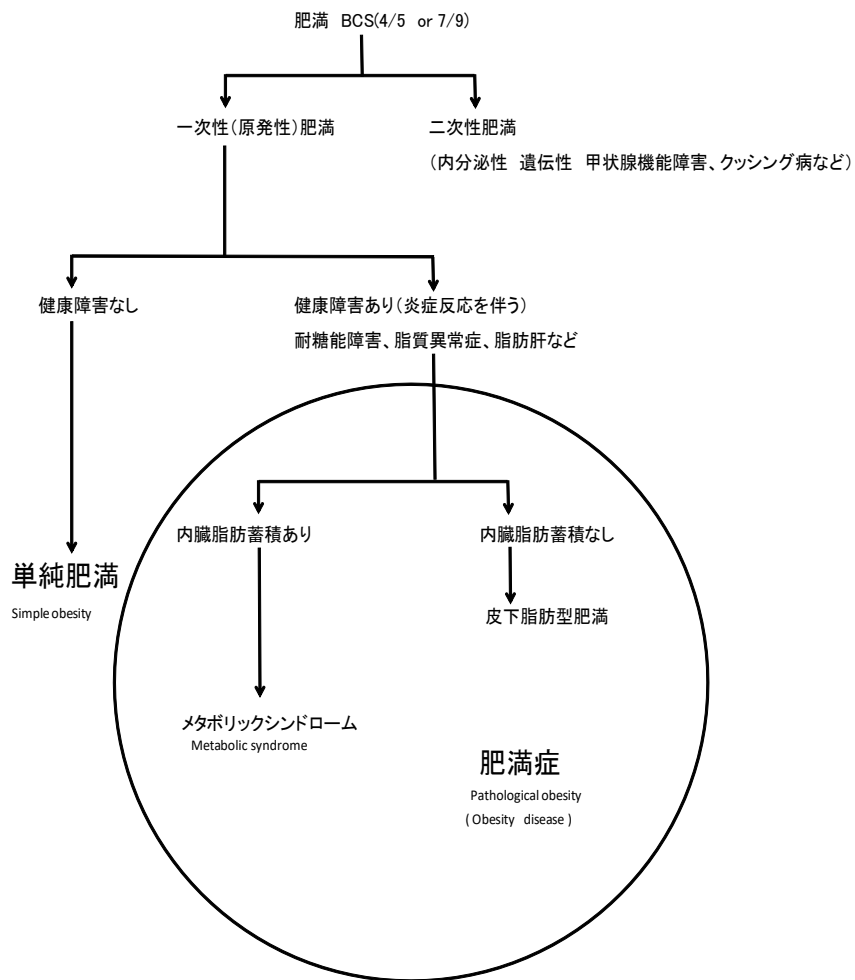


Fig. 1 猫の肥満症診断フローチャート（新しい肥満の分類）

（獣医生命科学（2016）2:41-46 より引用）

第 1 章

腹腔鏡手術の動物疾病への応用

はじめに

現在、人と同様、犬や猫でも過体重・肥満は著しく増えている。人では 2005 年に日本肥満学会などから提案されたメタボリックシンドローム(Metabolic Syndrome, MS)基準にも記されているように、Body Mass Index (BMI)を用いた明確な肥満の判定基準が定められている。これに対し、犬や猫では客観的な判定基準が設けられておらず、犬や猫の肥満を早期に正確に評価することが出来ない。その為、現状では獣医師が身体検査で BCS (body Condition Score) を主観的に評価し、肥満度を分類している。肥満の対応には動物の飼育環境(食餌・運動など)の改善が非常に重要かつ必要である。その為には飼い主に、動物の肥満状態を具体的に説明し、理解してもらうことが必要である。

獣医療の進歩に伴い伴侶動物の飼い主の意識は高まり、飼い主に対する疾病の診療や治療行為についての説明が人医療同様に求められるようになった。医療技術の獣医療への導入も進んでおり、その一つに腹腔鏡手術(内視鏡下手術)がある。内視鏡を用いた手術は低侵襲的手法で、生体の自然開口部(天然孔)を用いるか、小切開やトロッカーを用いて、目的組織や臓器にダイレクトにアクセスできる。従来、行われてきた外科手術を用いた切開アプローチに比べ、術後のストレス反応や疼痛を抑えることが明らかとなり、獣医療でも盛んに使用されるようになってきている。

腹腔鏡手術を利用して、内臓組織だけでなく皮下組織、腹腔内背側(後腹膜)、鎌状間膜など、様々な部位の脂肪組織を安全に正確に採取することが可能となる。肥満した動物では脂肪が本来蓄積すべき場所と異なる場所に蓄積(異所性蓄積)するので、腹

腔鏡手術を利用しての診断がよりその重症度を正確に確認できると考えられる。腹腔鏡手術を肥満を初めとする各種の代謝疾病の診断に有効な新しい診断技術と捉え、未だ普及が十分でない獣医療領域においてその有用性を検討した。さらに腹腔鏡手術が動物の代謝性疾病の予防検査の有効な技術になり得ると考え、蓄積脂肪を直接検査材料とする組織検査の有用性を検討した。

第1節 腹腔鏡手術とは

体腔内あるいは人工的に作成した体内の作業空間内に、体壁を貫く外套を通して内視鏡を挿入し、モニターで術野を見ながら専用の手術器具を用いて行う手術が「内視鏡手術」と定義されている(橋爪, 2005)。同義語として内視鏡下手術、鏡視下手術、内視鏡外科手術または低侵襲手術 (Minimally invasive surgery) がある。さらに腹腔鏡下 (Laparoscopic surgery)、胸腔鏡下 (Thoracoscopic surgery) など部位別に称する場合もある。内視鏡とは、照明付き観察器具のことであり、軟性、硬性、またそれらを組み合わせたハイブリッド型の内視鏡がある。硬性内視鏡は一般的にテレスコープと呼ばれることが多く、解剖学的領域に応じて名称がつけられる。腹腔鏡、胸腔鏡、膀胱鏡、鼻鏡、耳鏡、関節鏡などが有る。フレキシブルな軟性鏡には、上部消化管内視鏡、下部消化管内視鏡、気管支鏡、尿道・尿管鏡などがある(Radlinsky, 2009)。呼吸器外科では胸腔鏡補助下肺葉切除術(VATS: Video-Assisted Thoracic Surgery)などにハイブリッドタイプが用いられる(Online Olympus EVIS LUCERA 2007)。

体腔内を観察して治療するという発想は、いくつかの報告によると、10世紀中期に自然光で体腔内臓器を観察し、1902年ドイツで内視鏡(膀胱鏡)に無菌のコットンフィルターを通し、犬の腹腔内に空気を注入して腹腔内を観察する手技が報告された。初めての腹腔鏡検査の報告で、当時「*Coelioscopy*」(腹腔鏡)という名称がつけられた。

腹腔鏡の主な利点として、治療期間の短縮、薬剤や包帯などにかかる費用の削減、患者への経済的負担の軽減、さらには検査目的の開腹手術の回避などが強く強調された(Dalton and Hill, 1972; Johnson et al., 1976; Kalbasi, 2001; Doglietto et al., 2005; Harrell and Heniford, 2005)。この理論は、現在の腹腔鏡の利点としてあげられる治療期間短縮による患者への負担の軽減を説いた初めてのものである。1969年USAのBell LaboratoriesがChanged-Couple Device(CCD)を開発し、1983年には軟性ビデオ内視鏡が紹介された(Philip and David, 2008)。1985年ドイツのErich Muheが腹腔鏡下胆嚢摘出術を実施し、German Surgical Societyにその概要が報告された。1987年フランス、リオンのPhillipe Mouretが腹腔鏡にCCDカメラを接続し、テレビモニタに映しながら胆嚢摘出術を行った(Polychronidis et al., 2008)。医師と助手、技師が視野を共有しながら、協力して手術を行う現在のスタイルを確立された。1988年USA, Mckermann Sayeは腹腔鏡下胆嚢摘出術の術式を標準化したことを報告し(Reynolds, 2001)、全米で一躍、腹腔鏡手術が普及した。日本では1990年帝京大学の山川達郎教授らにより、はじめて内視鏡下胆嚢摘出術が行われ(田尻ら, 2001)、1991年以降、内視鏡補助下胃切除が行われる様になった。

獣医外科領域では1970年代、O'BrienやJohnsonらがはじめて軟性気管支鏡と消化管内視鏡に関する論文を発表し(O'Brien, 1970; Johnson et al., 1976)、1976年には開腹手術をせずに消化管内異物の摘出が行われた。しかしながら、当時は内視鏡に使用される機器のコストに問題があり、また早期の先駆者達が人医療と同様に阻害されるような懐疑的な状況であったため、低侵襲外科の発展は時間のかかる結果となった。

第2節 腹腔鏡手術の人および動物医療への応用

人医療において、1990年代から2011年まで、腹腔鏡手術を中心に徐々に内視鏡手術件数が増加したが、一時2005年には全体の手術件数は減少した。この理由には胆嚢摘出術以外の術式が標準手術として確立していないことが要因として考えられる。未熟な手術操作により死亡事故が増加した事により世論を通じて、腹腔鏡下手術は多くの一般人に認知されるようになったことも事実である。2006年より各診療科で多くの症例報告と術式の標準化が行われ、悪性腫瘍に対する実施が飛躍的に伸びた。内視鏡下手術における洗練された深い議論がなされた結果と考えられる(Fig. 2)。

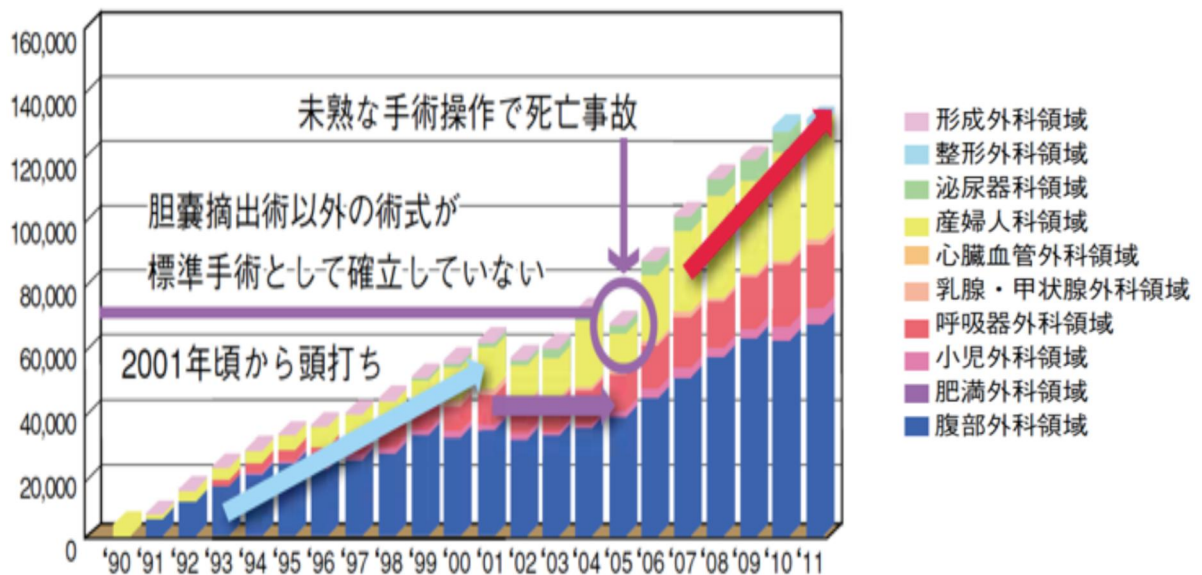


Fig.2 人の領域別内視外科手術総症例数の推移 1990年~2011年

(日本内視鏡外科学会誌 2012年17巻5号より引用)

現在、人医療における胆嚢摘出術は 1998 年以降、約 80%以上が腹腔鏡下手術で行われている(Fig. 3)。

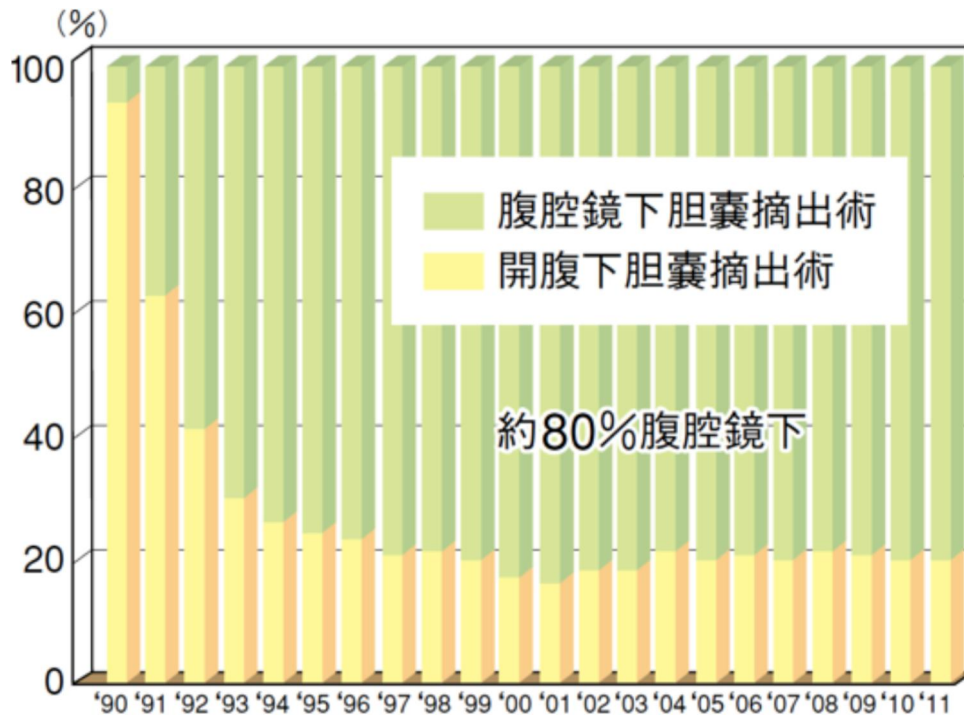


Fig.3 医療における胆嚢摘出術の開腹術・腹腔鏡の件数

(日本内視鏡外科学会誌 17 巻 5 号より引用)

Mayhew らは、犬において合併症を持たない粘液嚢腫 6 頭に腹腔鏡下胆嚢摘出手術が行われ、合併症を伴うことなく安全に行われ、効果的な治療法であることを報告している(Mayhew et al., 2008)。また人医療と同様に獣医療においても、腹腔鏡を用いた手術が低侵襲であるという多くの科学的証拠が報告されている(Araujo-Teixeira et al., 1999; Avrutis et al., 2000; Pessaux et al., 2001; Schietroma et al., 2001)。

腹腔鏡手術は安全に腹部臓器の観察が行え、侵襲性が低く、術後の活動性の低下を低く抑えることができる術式として認められ、数多くの疾病の治療に応用されている。低侵襲手術と呼称されている腹腔鏡下胆嚢摘出術、胃部分切除術、中等度侵襲手術：開腹下幽門側胃切除術、高度侵襲手術：開腹下胃全摘術を対象とした術後状況を加速

度センサー(active tracer A C-200®)を足首につけた体動累積加速度測定により腹腔鏡下手術群が優位に術後の身体活動性が高く、術前の90%のまでの recovery time は侵襲度が低いほど短く、術後の体動の回復が早い事が報告されている(井上ら, 2001)。

また、小型犬 20 頭の首に加速度センサーを設置し、避妊手術後 48 時間の活動性低下を術前と比較した結果、腹腔鏡群は 25%、開腹手術群は 62%の活動性低下を認め、腹腔鏡手術は開腹手術に比べ、術後の活動性の低下が少ないことが明らかとなった(Culp et al., 2009)。

繁殖犬における術後の Creatine kinase(CK)、Aspartate aminotransferase(AST)活性の調査では、開腹手術群の CK は腹腔鏡下手術及び単純麻酔群に比べ有意に上昇し、腹腔鏡下手術の筋肉の損傷は開腹手術に比較し低いことが報告されている。(Alves et al., 2009)。

獣医領域の腹腔鏡下避妊手術の手技は、開腹手術と比べアクセスポートの数(Dupré et al., 2009)や卵巣子宮摘出術における結紮、クリップ、vessel-sealing device においても有意な変化はないと報告されている(Mayhew and Brown, 2007)。

犬や猫以外では、馬、鳥の精巣摘出、熊の胆嚢摘出、トナカイの潜在精巣摘出、亀の体腔内検査等が腹腔鏡下又は腹腔鏡補助下手術の症例として報告されている(Janowitz, 1998; Hernandez-Divers et al., 2007; Hernandez-Divers et al., 2009; Rossignol et al., 2007; Pizzi et al., 2011a,b)。さらに馬の術後ヘルニアにてメッシュを用いた修復(Caron and Mehler, 2009)、立位による顆粒膜細胞腫ならびに卵巣の切除(Smith and Mair, 2008)、片側性腎疾患の腎臓摘出(Röcken et al., 2007)等の手術が腹腔鏡下で安全かつ効果的に実施されている。

第3節 動物手術における外科的侵襲

外科的侵襲(surgical stress)とは、手術によって生じる正常な生理的平衡を乱そうとする有害事項である(Fig. 4)。

神経内分泌反応とサイトカイン

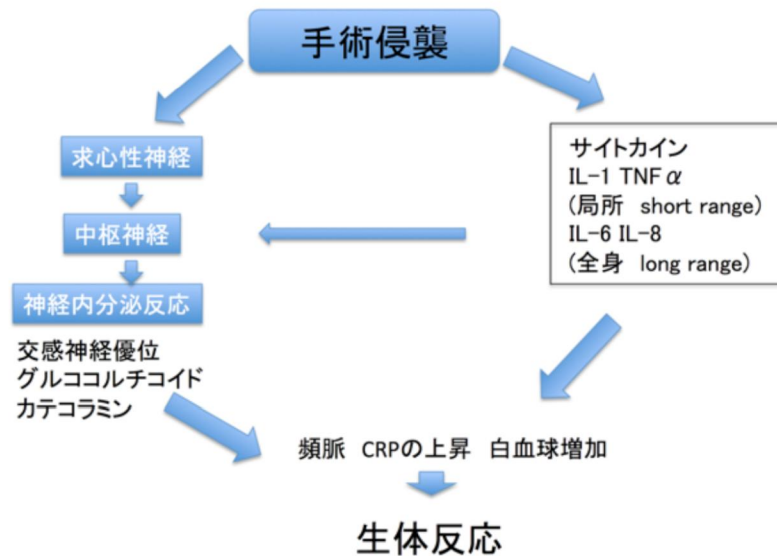


Fig. 4 神経内分泌反応とサイトカイン

(小野聡ら,2003)

侵襲の評価には、神経内分泌代謝反応と免疫炎症反応に分類される全身生体反応評価(Biological and systemic response)および、疼痛、免疫抑制などの機能障害による評価がある。侵襲に対する生体反応は様々な内分泌ホルモンによって制御され、視床下部-下垂体-副腎神経路が重要な役割を持っている。侵襲が生体に加わるとコルチゾールやカテコールアミンなどのストレスホルモンの分泌が亢進し、様々な生体防御反応を示すことが明らかになっている。

サイトカインを中心とする炎症性メディエーターによって引き起こされる炎症反応も

重要である(Fig.4)。サイトカインは単球、マクロファージ、リンパ球、好中球、血管内皮細胞、線維芽細胞などの多数の細胞から産生される微量で活性を持つ糖蛋白で、細胞間の液性情報伝達に関与する。ホルモンが一般に固有の単一標的臓器に作用するのに対して、サイトカインは多彩な作用を持ち、多数の細胞から多種類産生され、かつ多数の細胞がこの情報を受け取る。この複雑な相互作用はサイトカイン・ネットワークと呼ばれる(小野ら, 2003)。急性相反応は炎症性サイトカインの相互作用による。ストレスにより即時に神経内分泌反応が惹起される。

炎症性サイトカイン(IL-1,TNF,IFN,IL-6,IL-8,G-CSF など) が、マクロファージなどの産生細胞を活性化し、過剰産生・放出されることにより、全身性炎症反応症候群(Systemic Inflammatory Response Syndrome : SIRS)へ移行する(Fig. 5)。

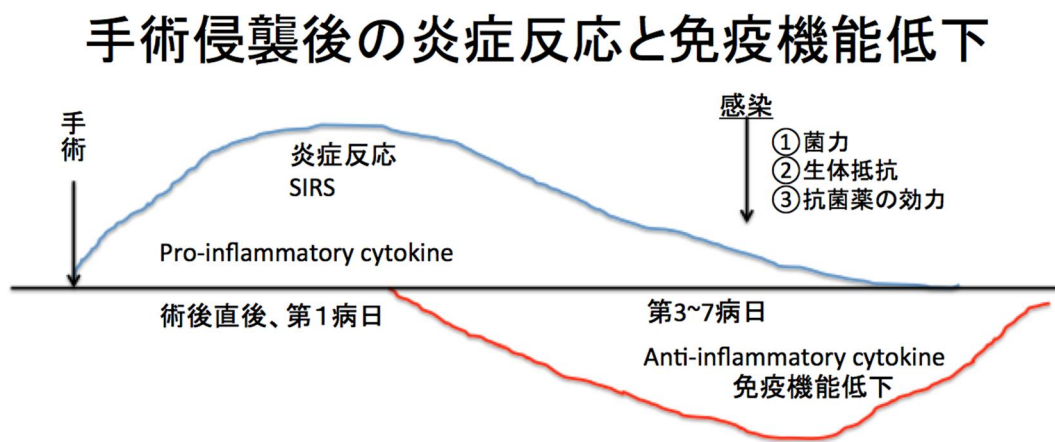


Fig5. 手術後の炎症反応と免疫機能低下との関連

脂肪組織はこれまでエネルギー貯蔵が主な機能と考えられていたが、内分泌臓器としての役割が近年大きく注目されている。一般に肥大した(リモデリング)脂肪細胞

は $\text{TNF}\alpha$ や遊離脂肪酸(Free fatty acid: FFA)を分泌し、インスリン抵抗性を悪化させる。インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体は、主に脂肪組織に発現している脂肪細胞分化や脂肪蓄積の主要調節因子である Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ)を介して、肥大脂肪細胞のアポトーシスと前駆脂肪細胞から小型脂肪細胞への分化・生成をもたらし、肥大脂肪細胞を小型脂肪細胞に置き換えインスリン抵抗性を改善する(Okuno et al.,1998 ; Yamauchi et al., 2001(a),2001(b); Kadowaki, 2000) 。小型脂肪細胞が増加する結果、FFA、 $\text{TNF}\alpha$ などのインスリン抵抗性惹起分子の分泌は低下し、インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの発現が亢進し、インスリン抵抗性は改善される(Yamauchi et al., 2001a;2001b)。

小型脂肪細胞がアディポネクチンをはじめとするインスリン感受性ホルモンを産生する一方で、肥大脂肪細胞はインスリン抵抗性を惹起するホルモンを分泌する。アディポネクチンが抗炎症作用を持つホルモンであるのに対し、肥大脂肪細胞からは炎症性アディポカインである $\text{TNF}\alpha$ 、IL-6 などが分泌され、インスリン抵抗性を増悪させる。これらの炎症性アディポカインは肥大脂肪細胞のみならずマクロファージにおいても強く発現される。

肥満者の脂肪組織ではマクロファージの浸潤が増加していることから(Weisberg et al., 2003)、脂肪細胞の肥大がマクロファージを引き寄せ、脂肪組織局所における炎症反応を惹起させている。MCP-1(monocyte chemoattractant protein-1)は単球遊走性分泌蛋白である。肥満マウスでは MCP-1 の血中濃度が増加する。白色脂肪組織における MCP-1 の発現亢進と共に、肥満の進行過程において、他のマクロファージ上のマーカー分子に先行して MCP-1 の発現が発現する(Xu et al., 2003)。また、脂肪細胞に MCP-1 を過剰発現させたマウスでは、脂肪組織におけるマクロファージの浸潤が

増加し、全身性のインスリン抵抗性を認めている(Kamei et al., 2006; Kanda et al., 2006)。

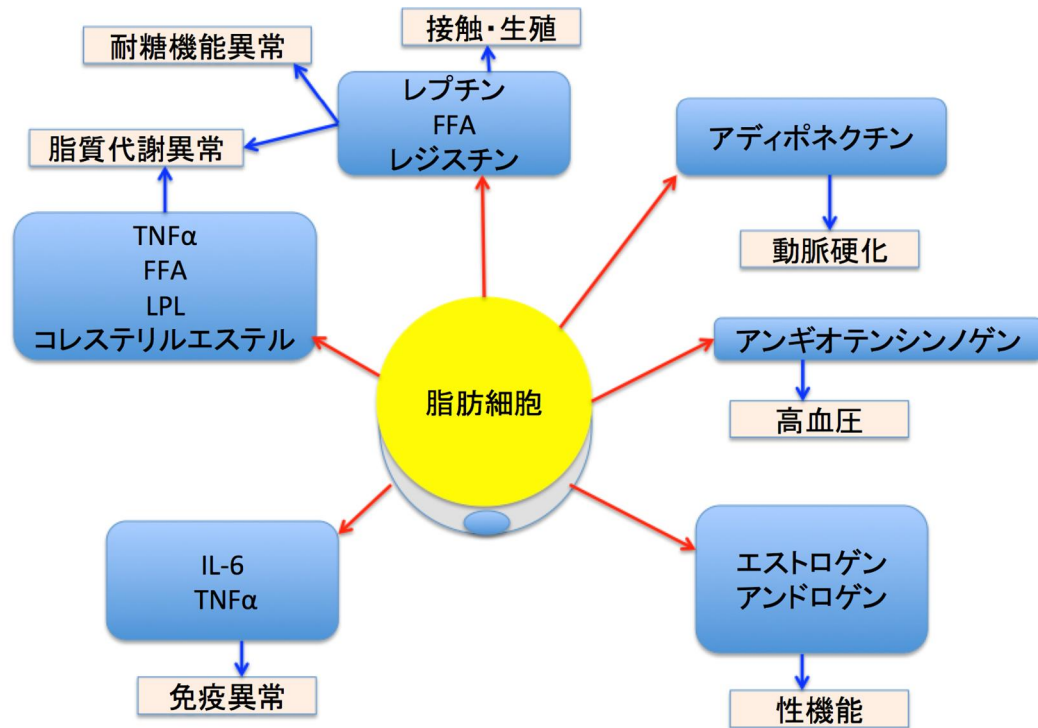


Fig.6 脂肪細胞から分泌されるサイトカイン

近年、アディポカインの発現が手術侵襲でも影響を受ける事が報告され、異なる脂肪組織においてアディポネクチンの作用が異なることが推測されている。人の心臓外科手術患者におけるインスリン抵抗性を惹起する脂肪組織産生ホルモンの役割を調査した研究では、心外膜付着脂肪組織と皮下脂肪組織にレジスチンと IL-6 の mRNA 発現が著しく増加し、MCP-1 および TNF α の mRNA 発現も増加していることから、これらのアディポカインがインスリン抵抗性を増加させる要因の一つとされている。一方、虫垂切除術を施行した 24 例の患者において、術後低下したアディポネクチン

は回復とともに上昇することを特異的 ELISA 検査により認め、アディポネクチンは組織の修復因子として術後の有用な指標となる事が示唆されている(菅沼ら, 2007)。

また食道がん手術侵襲後の炎症反応と末梢血アディポネクチンの関連を検討した研究では、末梢血アディポネクチンは術後 3 日に最低値(5.1ng/ml)を示し、術後 7 日(6.9ng/ml)で術前値の 79%まで回復し、CRP の上昇が続く SIRS 群は術後の 3、5、7 日で有意に低値を示し、アディポネクチン値の低下が SIRS 発症と術後感染症発症に関与する可能性を示唆している(松田ら, 2007)。これらの報告で動物においても、脂肪蓄積に伴う肥満はサイトカインの異常分泌を引き起こし、ストレスの原因となる事が想定される。肥満におけるアディポネクチンの動態は外科的侵襲ストレス時に生じるサイトカインの放出と類似している。従って腹腔鏡手術を、肥満をはじめとする代謝性疾病の予防診断に応用するためには、アディポネクチンをはじめとした各種アディポカインの動態を検討する必要がある。本論文中、以下の章における研究は、腹腔鏡手術を単に外科手術手技の一つとしてではなく疾病診断技術として確立し、広く獣医学領域に普及させるためのチャレンジとして検討した。

小 括

人同様に、犬や猫でも肥満は著しく増加しているが、その対応は人同様に生活環境の改善が必要である。伴侶動物の場合、それは飼育環境の改善につながる。動物には人の BMI のような明確な肥満状態の客観的な判定基準がない為、主に BCS により飼い主に説明されている。人の腹腔鏡手術は器具の発達や技術の進歩、洗練された議論により、低侵襲で安全性の向上が確立され、多くの一般人に認知されるようになった。外科的侵襲がより少ない事が重要である。今日、動物医療においても、腹腔鏡下組織生検、腹腔鏡下避妊手術などの基本的手術が数多く実施されている。特に腹腔鏡下における肝臓、膵臓、腎臓など各臓器の生検は、安全に有効に行われている。腹腔鏡下手術は低侵襲性のため、炎症性サイトカイン反応を軽減させ、脂肪細胞から発現するアディポカインも軽減される。

肥満猫における脂肪細胞の異所性蓄積、肥大化を伴う肥満の早期発見を目的とした、腹腔鏡による腹腔内観察および、安全に採取した脂肪組織を用いた新たな肥満の診断法について次章で検討する。

第 2 章

犬の代謝疾病診断法としての腹腔鏡手術の応用

はじめに

前章で考察したように腹腔鏡手術を犬や猫の代謝性疾病の予防診断へ適用させることにより新たな代謝性疾患診断法が開発される可能性がある。多くの外科的侵襲を伴う開腹手術に比べ、腹腔鏡手術は人、動物において術後の疼痛、活動性、回復、全身性免疫反応システムが良好であることが明らかにされている(Culp et al., 2009)。腹腔鏡手術は基本的手技を守れば、極めて安全な技術である。最小の侵襲で、腹腔内を観察し迅速に組織を採取することも可能にする。しかしながら、低侵襲とはいえ動物に外科的手術を施すことから、腹腔鏡手術が動物にストレスを与えることは否定できない。本章では、現在、獣医療で主に実施されている腹腔鏡による避妊手術を例に、腹腔鏡手術と開腹手術による動物に与える外科的侵襲の程度を生化学的検査値の変動を基に比較検討した。

材料と方法

1. 動物

腹腔鏡手術および開腹手術による避妊手術を以下のように行った。

腹腔鏡手術症例 (3 例)

No1:犬 (種 : Mix 3 歳 9.9kg 室内屋外飼育) Ovariohysterectomy

No2:犬 (種 : Siberian Husky 14 ヶ月 18.4kg) Ovariectomy

No3:犬 (種 : Chihuahua 1 歳 7 ヶ月 4.6kg) Ovariohysterectomy

開腹手術症例(2例)

No4:犬(種:Yorkshire Terrier 6ヶ月 2kg 室内飼育) Ovariectomy

No5:犬(種:Shih Tzu 14か月 4.9kg 室内飼育) Ovariectomy

2. 腹腔鏡手術

1) 機器

一般外科手術器具の他、内視鏡手術に特別に必要な基本的な手術器具を以下に示す。光学システムとして、5mm 30° 硬性鏡〈テレスコープ〉(KARL STORE Endoscopy Japan (株)、東京)(Fig.7)、TV装置HDハイビジョン (KARL STORE Endoscopy Japan 株式会社、東京) ハイビジョン対応モニター(LMD-2450 MD, SONY CORPORATION, 東京)、光源装置 (Xenon nova 175, KARL STORE Endoscopy Japan 株式会社、東京)を用いた。手術スペースの維持のため、気腹装置 (electronic endoflator, KARL STORE Endoscopy Japan 株式会社、東京)、気腹気体としてCO₂を用いた。内視鏡外科手術器具として、トロッカー(5×5.5mm)(Applied Medical セパレートトロッカー、(オリンパスメディカルシステムズ株式会社、東京)(Fig.8)、専用操作鉗子(Fig.9): 5mm 無傷性デリケート鉗子、5mm バブコック鉗子、5mm バイオプシー鉗子を用いた。卵巣動静脈および卵巣堤靭帯・子宮広靭帯の切離には超音波凝固切開装置(ハーモニックII ジョンソン&ジョンソン株式会社、米国)を用いた。

2) 手術手技

まず一般的な麻酔の為の術前評価を行い、麻酔管理が十分に行えることを確認後、導入および維持麻酔を以下の用量にて実施した。Diazepam 0.3mg/kg Butorphanol tartrate 0.1mg/kg 静脈投与(IV)による前処置後、15分の酸素化を実施した。さらに Atropine sulfate 0.025mg/kg IV、thiopental sodium 12.5mg/kg を IVにて導入麻

酔後、気管内挿管し、Isoflurane および 100%酸素にて麻酔維持した。

導入麻酔安定後、臍下皮膚をトロッカーサイズに合わせ正中切開し、その後、腹壁正中を確認し、小切開し開腹した。さらに腹腔内臓器を傷つけないように第 1 トロッカーを挿入し、テレスコープにて腹腔内にトロッカーが入っていることを確認後、気腹を開始した (Fig.10)。気腹圧 10mmHg に達し安定した後、腹腔内全体の環境の確認のため、骨盤腔側から横隔膜までの腹腔内全体を観察した。トロッカーより挿入したテレスコープで確認しながら、子宮頸管部および膀胱頭側部に第 2 トロッカーを設置し、さらに、左右の卵巣を頂点としたトライングルフォーメーションを作れる位置に第 3 トロッカーを設置した (Fig.13)。左の卵巣が確認しやすいように犬を右横臥位に変位させ、腹腔内臓器を右側に変位させた。

左卵巣を確認後、第 3 トロッカーより挿入したバブコック鉗子を用いて卵巣周囲組織を牽引した。第 2 トロッカーより挿入した超音波凝固切開装置の鉗子を用いて、卵巣動静脈の血管凝固切開および卵巣堤靭帯切離を行った。同装置を用いて卵巣および子宮の連絡部を注意深く血管凝固切開および切離を行った。

子宮を同時に切除する場合は、子宮広間膜の剥離を行った。卵巣摘出のみの場合、バブコック鉗子を用いて、切離した左卵巣を把持した。

次に犬を左側横臥位に変位させ、腹腔内臓器を左側に変位させた。卵巣摘出術の場合、先に切離した左卵巣を手術操作画面上に置いた。右卵巣を確認し、左卵巣と同処置を行なった。卵巣摘出術では切離された左右の卵巣を第 2 トロッカーより挿入したバブコック鉗子で把持した。気腹解除を行った後、第 2 トロッカーを抜去した。左右の卵巣が腹腔外に摘出できる程度の腹壁切開を加え、バブコックで把持した左右卵巣を摘出した。

卵巣子宮摘出術の場合、左卵巣と同処置を行った後、右卵巣周囲組織を第 2 トロッ

カーより挿入したバブコック鉗子で保持し、気腹を解除した。摘出臓器の大きさに応じて必要であれば腹壁切開を拡大し、右卵巢および子宮角を腹腔外に牽引し、子宮広間膜を切離後、左側卵巢子宮を腹腔外に牽引した。子宮頸管および子宮動静脈を PDS-II にて結紮し、頸管部を切離し、結節側を腹腔内に戻した。常則に従い、3カ所の腹壁、皮下織、皮膚を縫合し、手術を終了した。

3. 血液生化学検査

腹腔鏡手術および開腹手術による避妊手術の前後に採血し、分離された血漿中のグルコース (GLU), 総コレステロール (TC), トリグリセリド (TG), 総蛋白 (TP), 血中尿素窒素 (BUN), クレアチニン (CRE) 値およびアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アルカリファオスファターゼ (ALP), 乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性は自動分析機 (JCA-BM2250, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) により測定された。コルチゾールの測定は市販の ELISA 測定キット (Parameter™ Cortisol Assay, R&D SYSTEM 社, USA) を用い、マニュアルに従い測定された。

結 果

表 1 に腹腔鏡手術と開腹手術による避妊手術の手術時間、退院までの期間ならびに手術前後における血液生化学性状を示した。

手術の種類		腹腔鏡手術			開腹手術	
No,		1	2	3	4	5
手術時間(min)		35	20	46	25	50
平均手術時間(min)			33.3		37.5	
退院までの期間(day)			1泊2日		1泊2日	
手術後の血液生化学的变化						
総蛋白	Pre	6.7	6.4	5.8	5.6	6
	gdl ⁻¹ Post	7.7	6.7	5.5	5.2	6.2
ALT	Pre	15	6.4	31	27	83
	IU L ⁻¹ Post	12	6.7	29	24	86
AST	Pre	21	18	21	10	10
	IU L ⁻¹ Post	26	21	14	6	7
ALP	Pre	52	111	98	356	173
	IU L ⁻¹ Post	93	160	98	335	241
LDH	Pre	25	46	61	23	34
	IU L ⁻¹ Post	14	61	39	41	16
Tcho	Pre	142	120	168	151	150
	mgdl ⁻¹ Post	169	125	157	142	159
TG	Pre	21	17	24	14	64
	mgdl ⁻¹ Post	33	33	36	31	41
BUN	Pre	14	14	15	16	18
	mgdl ⁻¹ Post	14	17	16	18	15
Cre	Pre	1.1	0.9	0.7	0.4	0.5
	mgdl ⁻¹ Post	1.2	0.9	0.7	0.4	0.7
Glu	Pre	94	100	91	115	104
	mgdl ⁻¹ Post	111	99	100	124	107
Cortisol	Pre	4.1	1.3	7.7	7.7	12.1
	Ngdl ⁻¹ Post	8.1	6.4	30.4	65.3	33.1

表 1 手術に伴う血液生化学検査値の変動

2 例の開腹手術に要した時間は各々 25 分、50 分で、平均 37.5 分であった。一方 3 例の腹腔鏡手術に要した時間は各々 20 分、45 分、35 分で、平均 33.3 分であった。退院

までの期間はすべて 1 泊 2 日であった。腹腔鏡手術によって卵巣のみ摘出した No.2 の犬の術後コルチゾール値は 6.4ng/ml を示し、開腹手術によって卵巣のみ摘出した No.4, No.5 の犬の術後コルチゾール値 65.3ng/ml, 33.1ng/ml に比べ著しく低値であることが認められた。また腹腔鏡手術によって卵巣と子宮を摘出した No.3 の犬は開腹手術によって卵巣のみ摘出した No.4 の犬に比べ、ストレスマーカーである術後コルチゾール値は 50%以下の低値を示した。腹腔鏡手術、開腹手術ともに手術の前後において血漿 GLU、TC、TG、TP、BUN、CRE、ALT、AST、ALP、LDH 値には大きな変化は認められなかった。

考 察

胸腔鏡、腹腔鏡などの内視鏡下検査、手術の最大のメリットは開放手術に比較して傷が小さく、また血液凝固系の異常や American Society of Anesthesiologists physical status classification (ASA) 分類による麻酔リスク分類を十分に行う必要はあるが、侵襲性が低く、腹腔内全体の観察を行うことによって、確実に目的の体腔内組織を正確に採取・切除できることである。超音波探索による盲目的な生検に比べ、確実に十分量の組織を採取できるだけでなく、その後の出血に対する評価、止血に対する処置も可能となり安全性も高くなる。テレスコープからの映像はきわめて鮮明で、画像を拡大して観察し、術者はモニターより画像を確認しながら手術できるので、操作に熟練すれば、開腹手術で行う手技よりも微細な操作を行うことも可能となる。

2011 年 2 から 12 月に行われた当施設における避妊手術 77 例を開腹手術と腹腔鏡下手術での手術時間を比較した。切皮から皮膚縫合までの時間を手術時間として、開腹手術では 20～49 分で平均は 35 分であった。腹腔鏡下手術では 21～45 分で平均 36 分と手術時間に有意な差は認められなかった。そのことから、開腹手術との手術時

間は大差ないと考えられる。

人において術後の血中 CRP (Nakagoe et al. 2001)、IL-6、TNF- α (Haq et al. 2004) は開腹手術に比べ低値で、現在、人の胆嚢摘出術は 80%以上が腹腔鏡下で手術が行われている(日本内視鏡外科学会, 2012)。犬においても人同様に術中の CRP、IL-6 などの炎症性マーカーの発現を低く抑えることができ(宮本ら, 2008)、また、開腹手術による術後の活動性の低下を防げることが報告されている(Culp et al., 2009)。従って、腹腔鏡手術による犬の代謝疾病診断の為の皮下および内臓脂肪の採取は可能であると考察される。少量の脂肪組織による遺伝子や酵素活性の測定が可能になれば、より早期の確定診断が可能となり、術後の回復の早さや侵襲性の低さという利点から腹腔鏡手術は有効な代謝疾病の診断検査法になることが大いに期待される。

脂肪組織から分泌される Adipokine は Leptin (Zhang et al., 1994)、Adiponectin (Hocking et al., 2013)、TNF α (Hotamisligil et al., 1993)、MCP-1 (Sartipy and Loskutoff, 2003)、IL-6 (Fried et al., 1998)など 100 種類以上の報告があり、これらは、食欲、エネルギーバランス、糖脂質代謝、血圧調整などの広範囲の生体機能の調節にかかわっている(Rajala and Scherer, 2003)。人の心臓手術において、皮下および心外膜脂肪組織での IL-6 および MCP-1 の mRNA 発現の増加、血中での有意な増加に伴うインスリン抵抗性の惹起が報告されており(Kremen et al., 2006)、これら adipokine の解析には可能な限り低侵襲で、正確な脂肪組織の採取が必要とされる。

今日の小動物臨床では、肥満の評価に対し、身体検査で BCS(body condition Score) を評価し、肥満度を分類しているにすぎないが、近い将来、飼い主に対して飼育環境(食餌・運動など)の改善を指導する際、腹部内部に蓄積した脂肪由来の Adipokine に関する情報を飼い主に提供すべきであると考えられる。

人医療において経口血糖降下薬であるチアゾリジン誘導体が PPAR γ を介して、脂

脂肪組織の量を不変のまま脂肪細胞を小型化し、全身のインスリン抵抗性を大きく変化させることが報告され、インスリン感受性の維持には小型脂肪細胞が重要という概念（小型脂肪細胞仮説）が提唱された(Kadowaki, 2000; 門脇ら, 2007)。今後経口血糖降下薬の効果が乏しい犬において、人同様に小型脂肪細胞仮説を検証することが必要であり、その際腹腔鏡手術は不可欠なものなる。

我々は糖尿病治療の為、培養脂肪幹細胞を用いたインスリン産生細胞の膵臓への移植手術の検討も行っているが、本技術利用し、低侵襲で正確に膵臓への移植を可能にする事も検討しており、獣医医療における再生医療の普及にもその活用が大いに期待される。

小 括

人医療と同様に腹腔鏡手術は低侵襲性により獣医療においても発展し、外科的治療に適用されてきた。開腹手術と腹腔鏡手術による避妊手術前後における血漿グルコース (GLU) , 総タンパク (TP) , アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) , トリグリセリド (TG) , アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) , アルカリファオスファターゼ (ALP) , 乳酸脱水素酵素 (LDH) , 血中尿素窒素 (BUN) , クレアチニン (CRE) , 総コレステロール (TC) , コルチゾール (COR) 値を比較検討した。その結果、腹腔鏡手術の術後コルチゾール値は開腹手術に比べ著しい低値を認めた。したがって、開腹手術に比べ低侵襲性と考えられる腹腔鏡手術は腹腔内の状態や肝臓や腎臓周囲の異所性脂肪の蓄積状態を最小の侵襲で詳細に観察することを可能とし、代謝障害診断の為のパラメーター測定に必要な腹部組織を採取するのに有用な手術手技となる。

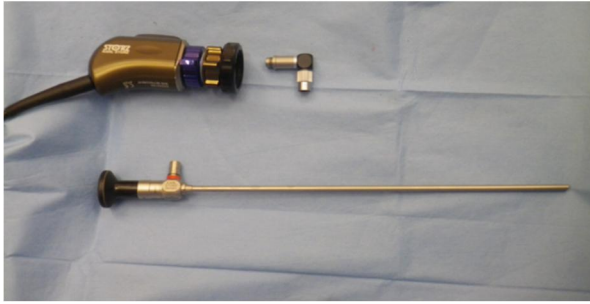


Fig. 7 5mm 硬性鏡（テレスコープ）と HD カメラ



Fig. 8 トロッカー

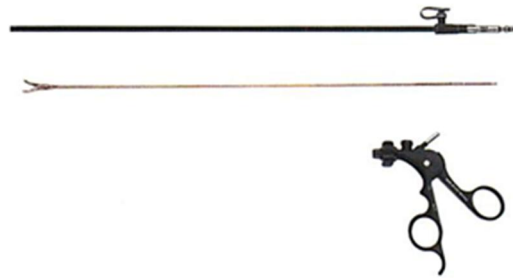


Fig. 9 腹腔鏡用鉗子基本構造

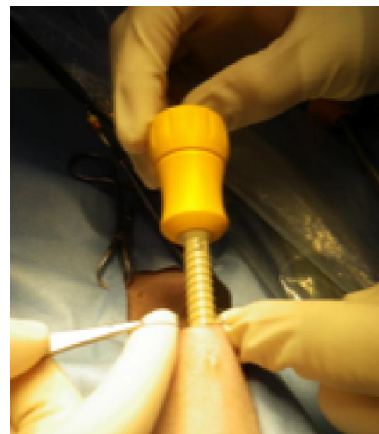
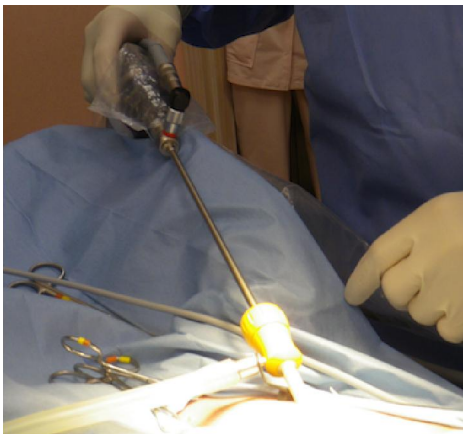


Fig. 10 トロッカー（左）とカメラ（右）の挿入

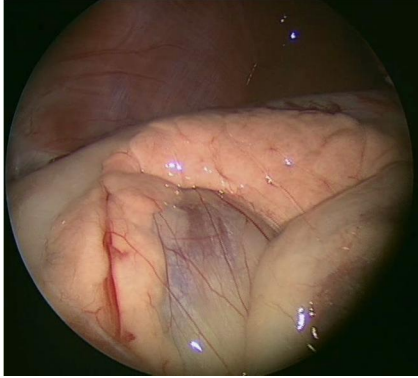


Fig. 11 腹腔鏡下での膵臓

第3章

腹腔鏡手術を用いた猫肝リピドーシスの診断

はじめに

肥満に伴い肝臓に異所性の脂肪が蓄積する事がよく知られる。猫では肥満だけでなく飢餓によっても肝リピドーシスが誘発されることが明らかになっている。こうした脂質代謝異常の診断に腹腔鏡手術は有効と考えられる。本章では腹腔鏡手術を猫の肝リピドーシスの診断に応用した。本術式により被検ネコのリピドーシス肝細胞が確実に採取され、採取された肝臓組織の病理組織検査の実施により、肝リピドーシスの確定診断が可能となる。さらに肝細胞中のリンゴ酸脱水素酵素と乳酸脱水素酵素の比(M/L)の測定により脂質を中心とした体全体のエネルギー代謝状態(ATP産生状態)の推定が可能となる。

腹腔鏡手術は獣医領域において従来、主として避妊手術などの外科的治療に用いられてきた。安全に腹部臓器の観察ができ、侵襲性が低く、術後動物の活動性の低下を低く抑えることができるため、数多くの疾病治療に用いられているが(Richter, 2001)、腹腔鏡手術は、腹部臓器の状態を直接診断する上でも極めて有効な技術である(Rothuizen, 1985)。今回、我々は腹腔鏡手術を用いた肝臓生検による猫肝リピドーシスの診断を行なった。

材料と方法

1. 動物

猫(種: Mix、雄(去勢済)、9歳)。室内飼育。

主訴: 食欲減退、削そう

病歴：突然の食欲廃絶による体重減少。他院にて黄疸を指摘され1週間点滴治療するが、症状の改善がないため沢村獣医科病院に来院した。来院初診時、身体検査では眼球結膜や皮膚の黄疸は顕著ではなかったが、血液検査において ALT, 209U L⁻¹、AST, 82U L⁻¹、ALP, 1934U L⁻¹、T-Bil, 2.8mg dL⁻¹、TC 228mg dL⁻¹（富士ドライケム(DRI-CHEM 7000V, Fuji film Medical Co., Japan) を示し、肝臓の脂質代謝異常を示唆する血液検査所見が得られた（表2）。また、レントゲン所見より小肝を認めたことより、肝リピドーシスが疑われ、経鼻カテーテルより強制給餌し、10日間の静脈点滴による管理を行なった。その後、動物の活動性は上昇するも、黄疸は改善されなかった。

表2 肝リピドーシス猫の血液生化学検査

ALT	(U L ⁻¹)	209
AST	(U L ⁻¹)	82
ALP	(U L ⁻¹)	1934
γ-GTP	(U L ⁻¹)	11
T-Bil	(mg dL ⁻¹)	2.8
TC	(mg dL ⁻¹)	228
TG	(mg dL ⁻¹)	99
TP	(g dL ⁻¹)	6.4
BUN	(mg dL ⁻¹)	12.9
CRE	(mg dL ⁻¹)	0.9
ALB	(g dL ⁻¹)	3.3
GLU	(mg dL ⁻¹)	113
Ca	(mg dL ⁻¹)	11.2

2. 腹腔鏡手術

1) 機器

一般外科手術器具の他、内視鏡手術に特別に必要な基本的な手術器具を以下に示す。光

学システムとして、5mm 30°硬性鏡〈テレスコープ〉(KARL STORZ Endoscopy Japan (株)、東京)、TV 装置 HD ハイビジョン (KARL STORZ Endoscopy Japan (株)、東京) ハイビジョン対応モニター (LMD-2450 MD, SONY CORPORATION, 東京)、光源装置 (Xenon nova 175, KARL STORZ Endoscopy Japan (株)、東京) を用いた。手術スペースの維持のため、気腹装置 (Electronic Endoflator, KARL STORZ Endoscopy Japan (株)、東京)、気腹気体として CO₂ を用いた。

内視鏡外科手術器具として、トロッカー (5 × 5.5mm) (Applied Medical セパレートトロッカー, オリンパスメディカルシステムズ (株)、東京)、専用操作鉗子：5mm 無傷性デリケート鉗子、5mm バブコック鉗子、5mm バイオプシー鉗子、探查棒を用いた。これらに加えて、状況によっては超音波凝固切開装置、電気メス、摘出臓器回収袋を使用した。

2) 手術手技

術前検査を行い、麻酔リスクの度合いを ASA 分類に基づき飼い主に説明後、導入および維持麻酔を以下の用量にて実施した。Diazepam 0.3mg/kg Butorphanol tartrate 0.1mg/kg 静脈投与 (IV) による前処置後、15 分間、酸素化を実施した。Atropine sulfate 0.025mg/kg IV、thiopental sodium 12.5mg/kg を経静脈にて導入麻酔後、気管内挿管し、2% Isoflurane および 100% 酸素にて麻酔維持をした。導入麻酔安定後、正中臍下に約 5mm 皮膚腹壁切開を行い、オープン法にて第 1 トロッカーを挿入した。続いてテレスコープにて腹腔内にトロッカーが入っていることを確認後、気腹を開始した。気腹圧 10mmHg に達し安定した後、腹腔内全体の環境の確認のため、骨盤腔側から横隔膜までの腹腔内全体を観察した。トロッカーより挿入したテレスコープで確認しながら、必要な本数のトロッカーを挿入した。その映像をモニターで見ながら、バイオプシー鉗子を用いて、肝臓の採取を行った。止血を確認後、2 カ所、5mm

程の腹壁を 4-0PDS-□にて閉腹し、その後常則に従い皮膚縫合した。術後強制給餌のため咽頭食道チューブを設置した。

3. 病理組織検査

腹腔鏡手術により採取された肝臓組織について H-E 染色による病理組織学的検査をノースラボ株式会社（札幌）にて行なった(Fig.15)。

4. 肝細胞酵素の測定

腹腔鏡手術により採取後、 -80°C に保存された肝臓組織約 0.3g よりサイトゾル分画を抽出し、肝細胞中のリンゴ酸脱水素酵素(malate dehydrogenase, MDH)は Bergmeyer らの方法(Bergmeyer et al., 1974)により、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase, LDH) 活性は Kaloustian らの方法(Kaloustian et al., 1969)により各々測定し、さらにその割合を M/L 比として算出した。

結 果

飼い主の精査の希望により、腹腔鏡手術によりテレスコープを腹腔内に挿入し、臓器を観察したところ、黄色に変性した肝臓が観察された (Fig. 14)。この肝臓の一部を採取し、病理組織検査を行なった結果、びまん性の顕著な肝細胞の腫脹と少量の細胞内脂肪滴の貯留を認めた。正常肝細胞は認められなかった。脂肪変性像より被検ネコは肝リピドーシスであると診断された (Fig.15)。肝臓細胞サイトゾル中のリンゴ酸脱水素酵素 (M)、乳酸脱水素酵素 (L) の比活性およびその割合 (M/L 比) を測定したところ、サイトゾル中の M/L 比は 0.235 であった (表 3)。

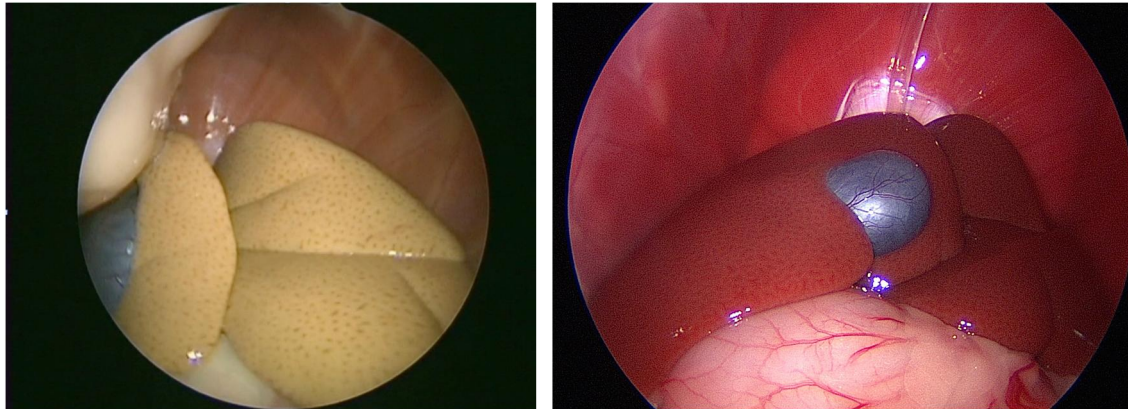


Fig.14 本症例の肝臓（腹腔鏡）と正常肝*

*1歳令避妊手術時に健康猫の肝臓

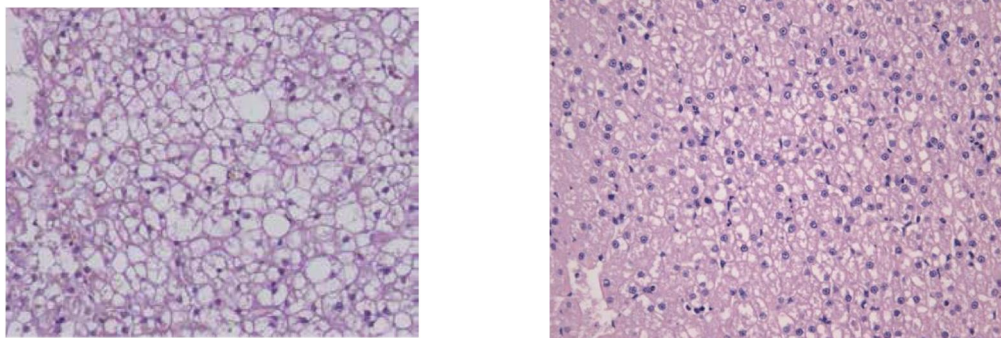


Fig.15 肝臓病理組織像(H-E 染色)と正常肝

表3 肝細胞中の MDH,LDH 活性及び M/L 比

	MDH	LDH	M/L
mU/mg protein	18.299	77.739	0.235

考 察

我々の以前の研究において健常な Balb/c ByJ マウスの肝細胞サイトゾル中の M/L 比を 2.8 ± 0.3 と報告しており (Arai et al., 2002)、この値と比較すると今回のネコ肝細胞サイトゾル M/L 比は非常に低値で、変性した猫の肝細胞では ATP 産生能力が低下した状態であることが示唆される。一般に M/L 比の上昇は肝ミトコンドリアの TCA サイクルの亢進による ATP 産生能が高まっている状態と捉えることができる。長期間の激しいトレーニングにより競走馬では、血漿中 M/L は高値を示し (Li et al., 2012)、またヒトプロトタイプ c-Ha-ras 遺伝子を組み込んだ遺伝子改変マウスに実験的に Diethylnitrosamine により発癌させた場合、肝細胞サイトゾル中の M/L 比はコントロール値 2.8 ± 0.3 (mean \pm SD) に比べ 3.8 ± 0.2 と高値を示し、腫瘍細胞での ATP 合成の亢進を報告している (Arai et al., 2002)。新井らはこれまで、直接肝生検ができない動物に対して白血球サイトゾル中の M/L 比を検討してきた。競争馬ではレース 24-26 時間後、レース前と比べて白血球サイトゾル中の M/L が減少することを認め (Hosoya et al., 2004)、また 1 型糖尿病の猫において、白血球サイトゾル中の M/L 比は対照 0.17 ± 0.04 に比べ、 0.12 ± 0.02 (mean \pm SD) と低値を示し、M/L 比の測定意義を報告している (Magori et al., 2005)。障害のある組織の M/L 比の測定が診断にとって最も望ましいと考えられるが、腹腔鏡を用いることで直接採取した組織の M/L を測定することが可能となり、安全に確実に肝細胞組織が採取できる腹腔鏡下肝生検の有用性は高いと考えられる。ネコの場合、白血球サイトゾル中の M/L 比の測定に必要な 5ml 以上の血液を常に採血することは難しく、また白血球サイトゾル中の M/L 比の測定では疾患非特異的な炎症反応による LDH の上昇が考えられる。よってエネルギー代謝の中心である肝細胞サイトゾル中の M/L 比の測定により、正確に病態を捉えるものと考えられる。肝細胞をより低侵襲で採取できる技術の向上に期

待がかかる。今回は肝細胞サイトゾル中 M/L 比を検証した。今後、臓器や白血球サイトゾル中の MDH、LDH 活性の絶対値を比較検討するためには、サイトゾル抽出までの時間や検査室の温度管理などの標準化が必要になる。

今回腹腔鏡下において猫の肝生検を実施した。スコープの挿入部位は横臥位による挿入よりも、正中臍下からの挿入の方が肝臓腹側面の観察に優れているため (Tams and Rawlings, 2011)、正中臍下より行った。肝生検では、生検部位が腫瘍や腫瘍の場合を除き、生検部位が腹側や肝葉辺縁であれば通常血管を損傷する事がないと考えられる。しかし、その実施に当たっては血液凝固系の異常の有無を確認する事が望ましいと考えられる。出血がある場合には生検鉗子を当て、圧迫止血を行うかコラーゲンを使った局所止血剤 (アビテン, ゼリア新薬工業株式会社、東京) を用いて止血を行うことが必要である。腹腔鏡下ではこれらの止血された状況を確実に確認できる。肝リピドーシスの確定診断には画像所見にて肝外胆道系疾患および結節性病変がない事を確認することが必要である。猫の肝リピドーシスは急速に肝不全が進行している事が多いが、慌てて麻酔をかけて組織生検を行う事は推奨されていない。初期は無麻酔で複数箇所の FNA を行い肝臓空胞変性が認められれば、仮診断して治療を開始する。治療の反応が乏しく状態が安定している場合には全身麻酔下腹腔鏡肝生検の実施を考慮する (Ohno, 2011)。当施設に転院後、暫定的診断のもと肝リピドーシスの治療を約 10 日間実施したが、著効が認められず、飼い主の強い希望により、腹腔鏡下での肝生検をおこない、肝臓の病理組織検査および肝細胞サイトゾル中の M/L 比を測定し、肝リピドーシスを確定診断した。治療が長期にわたる事の同意を飼い主から得る事ができた為、さらに麻酔下による食道咽頭チューブ療法を併用し集中治療を行った。生検後、約 10 日間の加療を行なった結果、徐々に食欲・元気が回復した。現在、外でけんかをして外傷を負うほど回復している。今後、本診断技術法の確立に向けて

症例数を増やして検討する必要がある。

小 括

腹腔鏡下肝生検は最小侵襲で安全確実に組織の採取が可能であり、猫の肝リピドーシスの診断に有用であることが確認された。腹腔鏡下肝生検は全身麻酔をかけるというリスクはあるが、肉眼的な肝臓外観状態や肝臓に隣接する臓器との状況を把握できまた腹腔内全体を観察することが出来る。肝リピドーシスと確定診断された肝細胞中リンゴ酸脱水素酵素と乳酸脱水素酵素の比(M/L)は 0.235 と低値を示すことから、脂肪変性した猫の肝細胞は ATP 産生機能が正常マウスのそれと比較すると著しく低下していることが示唆された。本研究のように肝生検により、肝細胞のエネルギー代謝状況を測定することが可能となる。猫の肝リピドーシスは肝細胞内に重度にトリグリセライドが蓄積して肝機能障害を生じる症候群であり、貯蔵脂肪の異化亢進の結果、肝臓の代謝量を超えて脂肪酸が蓄積して発症すると考えられているが、その発生機序は十分に解明されていない。本検査法は今後大いに期待されると考えられる。

第 4 章

腹腔鏡手術および CT を用いた肥満猫の新しい診断法の開発と応用

はじめに

第 1 章で示したとおり、腹腔鏡手術は獣医臨床分野において診断や様々な外科処置を目的に行われる最小侵襲手術である。腹腔鏡手術は開腹手術に比べて、術後の疼痛、活動性、回復、全身性免疫反応システムに良好であることよりが明らかにされている。基本的手技を守れば、とても安全な技術である。腹腔鏡手術により動物に最小の侵襲で、腹腔内の視覚を確認しながら、迅速に組織のサンプルを観察することが可能となる。

本章では、肥満猫のより早期の診断方法を開発する目的で 16 頭の猫について、腹腔内の脂肪蓄積を腹腔鏡により観察、CT 画像による評価、血漿生化学的分析を行いその相関性を調べた。

材料と方法

1. 動物

関東地区の 6 つの動物病院から 16 頭の猫（0-16 歳、雌：n = 5、雄：n = 11）を集め、本研究に用いた。一般臨床で用いられる 5 段階 BCS (body conditional score) (BCS1:非常に痩せている、BCS 2 : 痩せている、BCS 3 : 理想、BCS 4 : 太っている、BCS 5 : 肥満) によって 4 つのグループに分けた。BCS3 (n=7)、BCS4 (n=5)、BCS5 (n=2)、BCS5 の糖尿病を発症している猫 (DM) (n=2)。

表 4 使用した動物

群	頭数	平均年齢 (歳)	平均体重 (kg)
BCS 3	7	3.1 (1-12)	2.68 (1.55-3.42)
BCS 4	5	6.6 (1-12)	5.32 (3.68-6.30)
BCS 5	2		
BCS 5 DM	2	14 (12-16)	7.97 (7.50-8.44)

2. サンプル

食前血液を頸静脈採血しへパリンプラスチックチューブに採取した。これらのサンプルは 4°C、10 分の間 1,700 回転で直ちに遠心分離機で血漿分離した。分離した血漿サンプルは測定まで -80 度下で保存した。

3. 血液生化学分析

血漿ブドウ糖 (GLU)、中性脂肪 (TG)、コレステロール (TC)、aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT) をモノリス社自動分析装置 (JCA - BM2250、J E O L 社、東京、日本) を用いて測定した。不飽和脂肪酸 (NEFA) 濃度は市販の測定キット (NEFA - C テスト、和光純薬工業 (株)、東京、日本) を用いて測定した。血漿インスリン (INS) および adiponectin (ADN) 濃度はそれぞれ市販のキット (猫インスリン ELISA キット、SHIBAYAGI 社、群馬、日本; マウス/ラット Adiponectin ELISA キット、Otuka Pharmaceutical 社、東京、日本) により測定した。血漿パラメーターのための統計上の分析は Mann-Whitney U-test ($p < 0.01$) によって行なった。

4. 腹腔鏡による観察

BCS3-5 のグループの猫を腹腔鏡で腹腔内の脂肪の観察は沢村獣医科病院の施設で行

った。本研究に用いる基本的装置は、30 度硬性内視鏡 (KARL STORZ Endoscopy 日本 東京)、5mm トロッカーカニューレ (Olympus Medical systems, 東京)、光源装置 (Xenon nova 175, KARL STORZ Endoscopy 日本、東京)、自動二酸化炭素気腹装置 (KARL STORZ Endoscopy Japan, 東京)、ビデオモニター (LMD - 2 4 5 0 MD、ソニー (株)、東京) である。これらの猫はアトロピン硫酸塩 (0.025mg / kg)、酒石酸ブトルファンール (0.1mg / kg)、ジアゼパム (0.3mg / kg) と Cefazolin (20mg / kg) の静脈内前投薬後、Thiopental Na (12.5mg / kg) の静脈内投与により気管内挿管を行った。麻酔は最終末期気道濃度を 100%酸素および isoflurane 2% に調節し維持麻酔を行った。麻酔安定後、二酸化炭素による気腹圧が 10mmHg に安定させた。その後正中臍下 1cm 程度の位置に、皮膚切開を行い、皮下脂肪の採取後、第 1 トロッカーを設置した。第 1 トロッカーは同部位の腹壁正中を 5mm 程度小切開した後、5mm トロッカーカニューレを腹腔内に挿入し設置した。硬性鏡を用いて、第 1 トロッカーを通して、はじめの腹腔内観察を行った。

5. CT 画像による観察

腹腔鏡で観察を行う直前に、全身麻酔下 CT 画像検査を行った。全ての CT 画像はマルチスライス CT (BrightSpeed 8 列, GE Healthcare, Tokyo, Japan) 画像診断装置で、120KV 管球, 118mA, 1.25mm 圧の設定で撮影した。撮影された画像は同機に内蔵される Retro Recon 再構築機能を用いて観察、記録した。

結果

A: BCS3

B: BCS4

C: BCS5

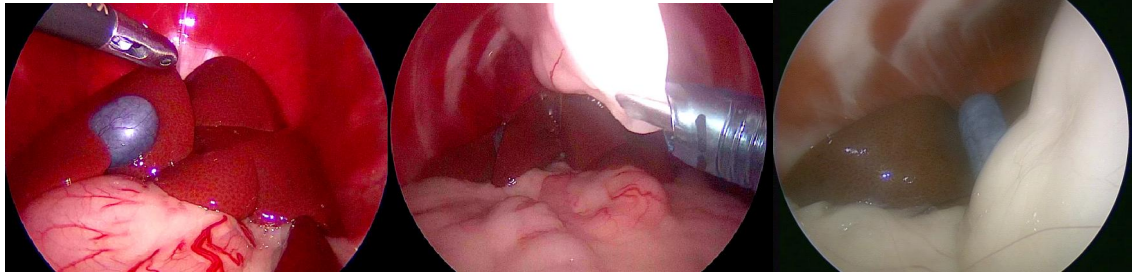
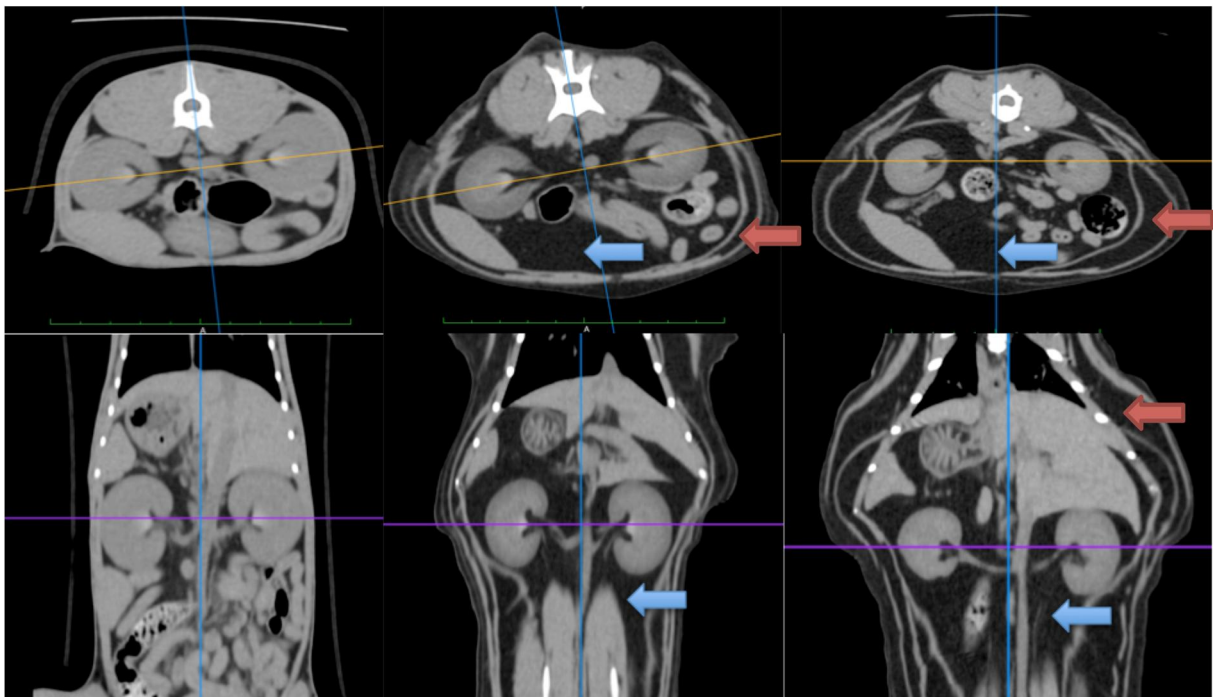


Fig.16 Laparoscopic observation of feline abdominals

A: BCS3

B: BCS4

C: BCS5



赤矢印：皮下脂肪 青矢印：腹腔内脂肪

Fig17 Comparison of cross-section abdominal CT images at the level of renal pelvis

Fig.16 は、BCS 3 (A)、BCS 4 (B)、BCS 5 (C) の腹腔鏡で観察された腹腔内画像である。BCS3 の猫では赤色の健康的な外観の肝臓が観察され、BCS4 の猫では少量の脂肪組織の沈着と思われる赤みがやや薄くなった肝臓が観察された。BCS5 の猫では黄白色に変色した肝臓と大量の腹腔内脂肪の蓄積が観察された。

Fig.17 は、BCS3(A),BCS4(B),BCS5(C)の腎盂を中心とした矢状および横断面画像である。図中の赤矢印は皮下脂肪、青矢印は腹腔内脂肪を指す。BCS の増加とともに腹腔内および皮下脂肪の増加が観察された。

BCS 3、BCS 4、BCS 5 の猫間で GLU、TC、AST、ALT 値に有意な変化は認められなかった。BCS 5 の猫の血漿 TG 値とインスリン濃度は、BCS 3 および BCS 4 の猫より著しく高値を示した。血漿 ADN 濃度は BCS の増加に伴い減少を認め、BCS 3 の猫に比べ BCS 4 の猫は統計学的に有意に低値を示した(Mann-Whitney U-test, $p<0.01$)。糖尿病発症 BCS 5 の猫は糖尿病を発症していない BCS5 の猫より、著しく高値な GLU、TG、TC 値と NEFA 濃度を示した (表 5)。

表 5 BCS 3,4, 5 の猫における血漿パラメーターの比較

	BCS 3 (7)	BCS 4 (5)	BCS 5 (2)	BCS 5/DM (2)
GLU (mg/dL)	102.9±6.7	114.0±16.4	97	446
TG (mg/dL)	30.0±10.3	48.8±9.0	121.5	498.5
TC (mg/dL)	149.9±41.6	166.2±12.0	138.0	297.5
AST (IU/L)	27.4±2.5	29.2±2.1	20	35
ALT (IU/L)	42.1±4.6	46.8±5.0	54.0	34
NEFA (mEq/L)	0.270±0.003	0.295±0.051	0.327	1.831
INS (ng/mL)	1.3±0.1	1.3±0.1	1.8	0.7(1)
ADN (μ g/mL)	10.1±1.6	2.5±0.7*	0.6(1)	5.1

Data of BCS 3, 4 and 5 are presented as mean \pm SE.

Data of BCS5/DM are presented as mean.

The numbers in parentheses indicate the number of animals examined.

DM: diabetes mellitus

*Significantly different from the values BCS 3 by Mann-Whitney U-test, $p<0.01$

考 察

血漿 ADN は小型脂肪細胞 (small adipocyte) (Fu et al. 2005)から分泌されるが、大型脂肪細胞は ADN に変換産生できない大量のトリグリセライドを含んでいる。異所性に蓄積された脂肪組織の殆どは大型脂肪細胞に構成されるように変化する(リモデリング) (Suganami et al., 2012)。 BCS 4 および 5 の猫は、異所性蓄積脂肪として内臓脂肪組織が増加し、BCS5 で皮下脂肪の蓄積が顕著に増加していることが腹腔鏡による腹腔内観察および CT 画像診断によって明らかとなった。内臓への異所性蓄積脂肪は目立った血漿脂質濃度の変化が認められない体重増加の早期から認められた。一方、血漿 ADN 濃度は体重増加の早い段階で、すでに減少を示した。血漿 ADN 濃度は猫の異所性蓄積脂肪を早期に診断する明確な診断指標の一つである。村中らは、猫の肥満の診断において血中 ADN およびインスリン値の動態を重要視し (Muranaka et al., 2011)、また森らは肥満猫の脂質代謝異常を反映する指標として HDL/LDL 比を挙げている (Mori et al., 2015)。血漿 NEFA、インスリン、ADN、HDL/LDL 比の定常的な検査が行われていない現状において、腹腔鏡による腹腔内の観察は最小侵襲の外科手技であり、病的体重増加 (肥満) の猫における腹腔内脂肪の蓄積状況を診断するための有効な診断法といえる。

小 括

肥満は、健康に問題が生じる可能性がある超過した体脂肪が蓄積した医学的な状態である。人では、体重超過と肥満は 2 型糖尿病 (DM)、心臓病、高血圧、アルコール非依存性脂肪肝へと悪化する危険因子である。近年、体重超過と肥満の猫が多くの国々で人と同様、インスリン抵抗、メタボリック症候群 (MS) などの合併症を併発し、2 型糖尿病へと進むことが報告されている。(Fujiwara et al., 2015)。

日本では、猫の肥満度判定に通常 5 段階の Body conditional Score (BCS) が用いられる(澤村ら, 2015)。しかしながら、BCS だけでは腹腔内に蓄積する脂肪の割合の判定は難しい。この研究で、我々は猫の肥満診断に血漿パラメータレベルの変化および内臓脂肪の蓄積状態を腹腔鏡観察により検討した。血中 ADN の低下は早期肥満の有用な指標であることが明らかとなった。血漿 NEFA、インスリン、ADN、の定常的な検査が行われていない現状において、腹腔鏡による腹腔内の観察は最小侵襲の外科手技であり、病的体重増加 (肥満) の猫を判断する為の有効な診断方法となり得ることが明らかとなった。

総 括

第 1 章で述べたように、人と同様に犬や猫でも過体重・肥満は著しく増えている。特に猫はその独特の代謝特性から犬に比べ肥満しやすい動物である。肥満は脂肪組織にトリグリセライドが過剰に蓄積した状態であり、直ちに病気に分類されるわけではないが、様々な健康障害を引き起こすことから、人医学では減量の必要な状態を「肥満症」と定義している。人のメタボリックシンドローム(MS)は近年の食生活を中心とする生活環境の変化に伴い急速に表面化した。MS の基準に示されているように、人では **body mass index(BMI)**を用いた客観的な肥満の判定基準が定められている。これに対し、獣医学では肥満の早期診断に拘わる規準がなく、獣医師は主観的な 5 段階ボディコンディションスコア (BCS) により個々の動物を評価しなければならない。動物の体重マネジメントには生活習慣や飼育環境の改善が非常に重要であり、その為には飼い主に、動物の肥満状態を具体的に説明し理解してもらうことが重要である。

人医学では「肥満症診断ガイドライン」が 5 年ごとに作成され、各ステートメントについてエビデンスレベルを付記した推奨グレードが明記されている。人の肥満分類フローチャートを参考に、猫の BCS4 または 5 と診断された肥満症診断フローチャートが作成された。まず一次性肥満 (原発性肥満)、二次性肥満 (内分泌性、遺伝性) が定義された。一次性肥満については更に健康障害の有無により分類し、健康障害のあるものを肥満症、健康に障害のないものを単純性肥満と定義した。肥満症については更に皮下脂肪型肥満と内臓脂肪蓄積型肥満およびメタボリックシンドロームに分類した。

表6 人における肥満症の分類

一次性肥満		二次性肥満	
原発性		内分泌性 遺伝性など	
健康障害			健康障害なし
内臓脂肪蓄積	皮下脂肪蓄積		
メタボリックシンドローム	皮下脂肪型肥満		単純肥満
肥満症			

第1章、2章で述べたように、脂肪組織の主たる目的はエネルギーの貯蔵であり、一方、最近では内分泌器官として認識されている。脂肪組織から分泌される多数のサイトカインには小型脂肪細胞からアディポネクチン、レプチン、一方肥大脂肪細胞から分泌され炎症性サイトカインとして知られる TNF- α 、IL-6、インスリン抵抗性因子などがある。第2章で代謝疾病診断としての腹腔鏡手術の有効性について検証した。以前の報告より腹腔鏡手術において脂肪組織から放出されるアディポカインはその外科的ストレスの低さより開腹手術に比べ軽減されることが示唆されている。加えて著者らは MDA,INS,ADN,および COR 値の測定結果より、犬の腹腔鏡手術による卵巣子宮摘出術における侵襲性は開腹手術に比べ低く

、腹腔鏡手術は代謝性疾患により影響される肝臓、腎臓などの腹部臓器を最小外科ストレスにて観察可能にすることが示唆された。

第3章では肝リピドーシスを発症した猫において腹腔鏡下肝生検を実施し、生検された肝細胞中の M/L 比を測定した結果低化を認め、脂肪変性した猫肝細胞では ATP 産生機能の悪化が示唆された。このことより、貯蔵脂肪の異化亢進が肝臓の代謝を超え、脂肪蓄積することで肝リピドーシスを発症することが示唆された。人医学と異なり、獣医学では肥満症の診断は、BCS 分類を用いた個々の獣医師の主観に依存している。さらに各々の BCS スコアで区別された猫の異所性蓄積脂肪を測定あるいは直接観察した報告はない。

4章では、BCS 3（健常）、4（過体重）、5（肥満）の猫について腹腔鏡手術およびCT スキャンを実施し、腹腔内脂肪の異所性蓄積状態を観察し、血液検査により生化学マーカーの変化との相関を検討した。BCS の増加に伴い血漿 ADN 値は低下し、腹腔内脂肪の蓄積増加、脂肪細胞のリモデリング（肥大化）が進むことが明らかとなった。BCS4 の猫では既に肝臓および腹腔内に異所性の脂肪蓄積を認め、血漿 ADN 濃度が減少していることから、BCS4 の猫では小型脂肪細胞から炎症サイトカインを分泌する肥大性脂肪細胞に変化が進んでいることが示唆された。（Fig.18）。

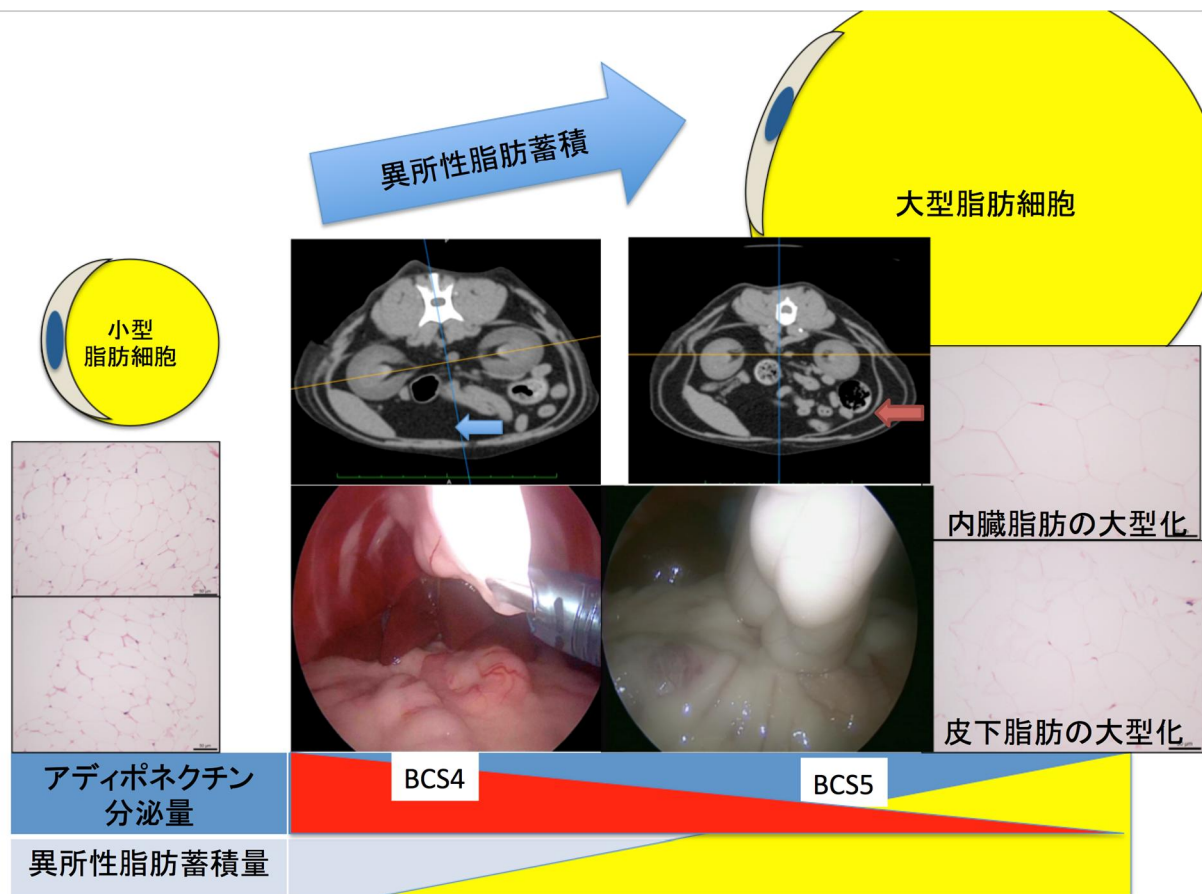


Fig.18 生化学マーカーをもとにした肥満診断・治療

肥満のマネジメントを考慮するにあたり、現在の肥満状態の正確な評価に基づい

た治療戦略の構築が必要である。そのためには肥満診断の各ステージに相応した生化学マーカーの開発およびその数値基準の設定が必要となる。適正と考えられる代謝マーカーとしては、エネルギー代謝状態を反映する M/L 比、脂質代謝状態を反映する HDL コレステロール/LDL コレステロール比、トリグリセリド濃度などである。ホルモンとしてインスリン、アディポネクチンの血中濃度の変動は診断マーカーとして欠かすことはできない。肝酵素の変動として血中の ALT, AST は有用なマーカーとなる。炎症マーカーとして高感度 CRP、TNF- α 、MCP-1、インターロイキン、過酸化脂質のマーカーとして MDA 濃度、抗酸化酵素であるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) やグルタチオンペルオキシダーゼ (GSHpx) 活性なども肥満の有用なマーカーである。

腹腔鏡手術を利用することにより、直接、内臓脂肪の蓄積が確認できる、さらに腹腔内器官だけでなく、腹腔内背側壁、鎌状間膜などの部位から安全に正確にサンプリングすることにより、肥満動物の異所性脂肪の蓄積部位、その重症度をより正確に診断することが可能となる。BCS、血液生化学マーカー、腹腔鏡による組織観察を組み合わせることにより、より早期段階での正確な肥満診断が可能になる。さらに、現在、脂肪細胞に直接作用して脂肪合成を抑制、分解を促進する薬物 (Apoptosis Inhibitor of Macrophage, AIM) の開発が進んでおり、脂肪組織へ直接投与する治療法が開発が進んでいる。腹腔鏡はこうした新しい治療法の開発にも大きな貢献を果たす可能性が高い。今後、更に症例数を増やし、犬や猫の肥満診断基準の策定、肥満予防法さらに治療法の確立に繋げていきたい。

謝 辞

本研究を行うにあたり、懇篤なご指導とご高配を賜りました日本獣医生命科学大学、獣医生化学教室、新井敏郎教授に厚くお礼申し上げます。また、研究のすべての段階において有益なご示唆を頂戴し、更に本稿を纏めるにあたって、終始ご指導・ご助言を賜りました日本獣医生命科学教室、獣医生化学教室、川角浩准教授に深甚ある感謝の意を表します。

結びに、本研究に関わる各種実験およびその解析などにご尽力を賜りました日本獣医生命科学大学、獣医生化学教室の先生、在籍教室員の方々、並びに大学院学生、沢村獣医科病院所属の獣医師および看護師諸君に衷心よりお礼申し上げます。

文 献

Alves AE, Ribeiro AP, Filippo PA et al. Evaluation of creatine kinase (CK) and aspartate aminotransferase (AST) activities after laparoscopic or conventional ovariectomy in queens. *Schweiz Arch Tierheilkd* (2009) 151(5):223-227.

Arai T, Ogawa T, Nakamura M et al. Changes in hepatic enzyme activities in transgenic mice carrying human prototype c-Ha-ras gene treated with Diethylnitrosamine. *J Vet Med Sci* (2002) 64: 1065-1067.

Araujo-Teixeira JP, Rocha-Reis J, Costa-Cabral A et al. Laparoscopy or laparotomy in acute cholecystitis (200 cases). Comparison of the results and factors predictive of conversion. *Chirurgie* (1999) 124: 529–535.

Avrutis O, Friedman SJ, Meshoulm J et al. Safety and success of early laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis. *Surg. Laparosc Endosc Percutan Tech* (2000) 10: 200–207.

Bergmeyer HU, Bernt E. Maltate dehydrogenase. UV-assay. *Methods of Enzymatic Analysis*, vol.2. (Bergmeyer HU Ed.) Academic Press, New York (1974) p.613-617.

Caron JP, Mehler SJ. Laparoscopic mesh incisional hernioplasty in five horses. *Vet Surg* (2009) 38:318-325.

Culp WT, Mayhew PD, Brown DC. The effect of laparoscopic versus open ovariectomy on postsurgical activity in small dogs. *Vet Surg* (2009) 38:811-817.

Dalton JR, Hill FW. A procedure for the examination of the liver and pancreas in dogs. *J Small Anim Pract* (1972) 13:527-530.

Doglietto F, Prevedello DM, Jane JA Jr et al. Brief history of endoscopic transphenoidal surgery: from Philipp Bozzini to the First World Congress of Endoscopic Skull Base Surgery. *Neurosurg Focus* (2005) 19:E3.

Dupré G, Fiorbianco V, Skalicky M et al. Laparoscopic ovariectomy in dogs: comparison between single portal and two-portal access. *Vet Surg* (2009) 38:818-824.

Elizabeth ML, Jane A, Claudia AK et al. Prevalence of risk factors for obesity in adult cats from private US Veterinary practices. *Intern J Appl Res Vet Med* (2005) 3:88-96.

Examination Committee of Criteria for 'Obesity Disease' in Japan; Japan Society for Study of Obesity. New Criteria for 'obesity disease' in Japan. *Circ J* (2002) 66:987-992.

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* (1988) 83: 847-850.

Fu Y, Luo N, Klein RL et al. Adiponectin promotes Adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res* (2005) 46:1369-1379.

Fujiwara M, Mori N, Sato T et al. Changes in fatty acid composition in tissue and serum of obese cats fed a high fat diet. *BMC Vet Res* (2015)11:200. doi:10.1186/s12917-015-0519-1

Haq Z, Rahman M, Siddique MA et al. Interleukin-6 (IL-6) and tumour necrosis factor-alpha in open and laparoscopic cholecystectomy. *Mymensingh Med J* (2004) 13:153-156.

Harrell AG, Heniford BT. Minimally invasive abdominal surgery : lux et veritas past, present, and future. *Am J Surg* (2005) 190:239-243.

橋爪 誠. 安全な内視鏡外科手術のための基本手技トレーニング. 大同学館出版部 (2005)

Hernandez-Divers SJ, Stahl SJ, Wilson GH et al. Endoscopic orchidectomy and salpingohysterectomy of pigeons (*Columba livia*): an avian model for minimally invasive endosurgery. *J Avian Med Surg* (2007) 21:22-237.

Hernandez-Divers SJ, Stahl SJ, Farrell R. An endoscopic method for identifying sex of hatchling Chinese box turtles and comparison of general versus local anesthesia for coelioscopy. *J Am Vet Med Assoc* (2009) 234:800-804.

Hocking S, Samocha-Bonet D, Milner KL et al. Adiposity and insulin resistance in humans: The role of the different tissue and cellular lipid depots. *Endocr Rev* (2013) 34:463-500.

Hosoya M, Inoue A, Kimura N et al. Enzyme activities in some types of peripheral leukocytes of thoroughbred race horses before and after the races. *Res Vet Sci* (2004) 77: 101-104.

Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α :direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* (1993) 259:87-91.

井村裕夫. 先制医療とは何かーなぜ今それが必要か. *実験医学* (2015) 33:13-18.

井上善文 木村聡宏 藤田繁雄ら. あたらしい指標による内視鏡外科の評価:加速度センサーによる術後活動性回復状況の判定. *日本消化器外科学会誌* (2001) 34:381-386.

Janowitz H. Laparoscopic reposition and fixation of the left displaced abomasum in cattle. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* (1998) 26:308-313. (in German)

Johnson GF, Jones BD, Twedt DC. Esophagogastric endoscopy in small animal medicine. *Gastrointestinal Endoscopy* (1976) 22:226.

Kadowaki T. Insights into insulin resistance and type2 diabetes from knockout mouse models. *J Clin Invest* (2000) 106:459-465.

門脇 孝ら. 糖尿病学 基礎と臨床 初版 (2007) 西村書店 東京 pp. 517

Kalbasi H. History and development of laparoscopic surgery official. *J Assoc Iran Endoscop Surg* (2001) 1:45-48.s

Kaloustian HD, Stolzenbach FE, Everse J et al. Lactate dehydrogenase of lobster (*Hormarus americanus*) tail muscle. I. Physical and chemical properties. *J Biol Chem* (1969) 244:2891-2901

Kamei N, Tobe K, Suzuki R et al. Overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 in adipose tissue causes macrophage recruitment and insulin resistance. *J Biol Chem* (2006) 281:26602-26614.

Kanda H, Tateya S, Tamori Y et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* (2006) 116:1494-1505.

小林元郎, 岡田ゆう紀, 新井敏郎. 猫の肥満 獣医生命科学(2016) 2:41-46.

厚生労働省 . 平成 24 年国民健康・栄養調査報告 (2013).
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyoudl/h24-houkoku.pdf>

厚生労働省 . 平成 25 年国民健康・栄養調査結果の概要 (2014).
<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyouku-Gantaisakukenkouzoushinka/0000106403.pdf>

Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J et al. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* (2006) 91:4620-4627.

Li G, Lee P, Mori N et al. Long term intensive exercise training leads to a higher plasma malate/lactate dehydrogenase (M/L) ratio and increased level of lipid mobilization in horses. *Vet Res Commun* (2012)36:149-155.

Magori, E, Nakamura M, Inoue A et al. Malate dehydrogenase activities are lower in some types of peripheral leucocytes of dogs and cats with type 1 diabetes mellitus. *Res Vet Sci* (2005)78:39-44.

松田昭久, 笹島耕二, 松谷毅, 手術侵襲後感染症におけるアディポネクチンの役割. 日本外科学会誌(2007) 108: DP-191-7 703.

Mayhew PD, Brown DC. Comparison of three techniques for ovarian pedicle hemostasis during laparoscopic-assisted ovariohysterectomy. *Vet Surg* (2007) 36:541-547.

Mayhew PD, Mehler SJ, Radhakrishnan A. Laparoscopic cholecystectomy for management of uncomplicated gall bladder mucocele in six dogs. *Vet Sur* (2008) 37:625-630.

宮本光葉, 岡野昇三, 朴 泳泰ら。腹腔鏡下卵巣子宮摘出術における CRP および IL-6 の変動 動物臨床医学会年次大会プロシーディング (2008) 29 : 287-288.

森伸子, 藤原めぐみ, 新井敏郎. 犬および猫のメタボリックシンドロームとその早期診断法. 予防動物医学 (2013) 5:1-12.

森伸子. 脂質代謝異常による疾病を防ぐー検査の治療と今. *J-Vet* (2014) 6:8-22.

森伸子. 猫の肥満と糖尿病. *CAP* (2014) 305:15-22.

Mori A, Lee P, Takemitsu H et al. Comparison of insulin signaling gene expression in insulin sensitive tissues between dogs and cats. *Vet Res Commun* (2009a) 33:211-226.

Mori A, Lee P, Takemitsu H et al. Decreased gene expression of insulin signaling genes in insulin sensitive tissues of obese cats. *Vet Res Commun* (2009b) 33:315-329.

Mori N, Okada Y, Tsuchida N et al. Preliminary analysis of modified low-density lipoproteins in serum of healthy and obese dogs and cats. *Front Vet Sci* (2015) 2:34.

Muranaka S, Mori N, Hatano Y et al. Obesity induced changes to plasma adiponectin concentration and cholesterol lipoprotein composition profile in cats. *Res Vet Sci* (2011) 91:358-361.

Nakagoe T, Matsuo T, Nakamura S et al. Acute inflammatory response to colorectal cancer resection according to different laparotomy incision lengths. *Acta Medica Nagasakiensia* (2011) 56 :13-18.

日本肥満学会 肥満症診断基準検討委員会. 肥満診断基準 2011. 肥満研究 (2011) 17 (臨時増刊) :1-78.

日本肥満学会. 肥満の判定と肥満症の判定基準. 肥満症診断ガイドライン, ライフサイエンス出版, 東京(2016)4-8.

日本内視鏡外科学会. 内視鏡外科手術に関するアンケート調査- 第 11 回集計結果報告 日本内視鏡外科学会誌(2012)17:574-621.

O'Brien JA. Bronchoscopy in the dog and cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* (1970)156(2):213-217.

Ohno K. Hepatic lipidosis. *Journal of Small Animal Medicine* (2011)13:37-40.

Okada Y, Kawasumi K, Koide M et al. Changes in energy metabolic indicators with aging I thoroughbred riding horses. *Asian J Anim Vet Adv* (2016) 11:253-257.

Okada Y, Kobayashi M, Sawamura M et al. Comparison of visceral fat accumulation and metabolome markers among cats of varying BCS and novel classification of feline obesity and metabolic syndrome. *Front Vet Sci* (2017) 4:17
doi:10.3389/fvets.2017.00017

Okuno A, Tamemoto H, Tobe K et al. Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest* (1998)101:1354-1361.

Online Olympus EVIS LUCERA (2007)11.20 細径胸腔ビデオスコープ

小野聡, 市倉隆, 望月英隆、手術侵襲とサイトカイン, 日本外科学会誌, 104(7):499-505, 2003.

Pessaux P, Regenet N, Tuech JJ et al. Laparoscopic versus open cholecystectomy: a prospective comparative study in the elderly with acute cholecystitis. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* (2001)11: 252-255.

Philip L. and David S. Manual of Canine and Feline Endoscopy and endosurgery, BSAVA , *Chapter* (2008)1:4-6.

Pizzi R, Cracknell J, David S et al. Laparoscopic cholecystectomy under field conditions in Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*) rescued from illegal bile farming in Vietnam. *Vet Rec* (2011a)169:469.

Pizzi R, Girling S, Bell A et al. Laparoscopic- Assisted Cryptorchidectomy in an Adult Reindeer (*Rangifer tarandus*). *Vet Med Int* (2011b).

doi:10.4061/2011/131368

Polychronidis A, Laftsidis P, Bounovas A et al. Twenty years of laparoscopic cholecystectomy:Philippe Mouret-March 17, 1987, *JSLS* (2008)12:109-111.

Radlinsky MG. Endoscopy. Preface. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* (2009) 39: ix-x doi: 10.1016/j.cvms.2009.06.001

Rajala MW, Scherer PE. The adipocyte –at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* (2003) 144: 3765-3773.

Reynolds W Jr. The first Laparoscopic Cholecystectomy. *JSLs* (2001). 5:89-94.

Richter KP. Laparoscopy in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* (2001)31:707-727.

Röcken M, Mosel G, Stehle C et al. Left- and right-sided laparoscopic-assisted nephrectomy in standing horses with unilateral renal disease. *Vet Surg* (2007) 36:568-572.

Rossignol F, Perrin R, Boening KJ. Laparoscopic hernioplasty in recumbent horses using transposition of a peritoneal flap. *Vet Surg* (2007) 36:557-562.

Rothuizen J. Laparoscopy in small animal medicine. *Vet Q* (1985)7:225-228.

Russell K, Sabin R, Holt S et al. Influence of feeding regimen on body condition in the cat. *J Small Anim Pract* (2000) 41:12-17.

Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2003) 100:7265-7270.

澤村昌樹, 岡田ゆう紀, 川角 浩ら. 腹腔鏡下生検法を用いた猫肝リピドーシスの診断. *獣医臨床病理* (2015)13:9-12.

Schietroma M, Carlei F, Liakos C et al. Laparoscopic versus open cholecystectomy. An analysis of clinical and financial aspects. *Panminerva Med* (2001) 43: 239–242.

Sloth C. Practical management of obesity in dogs and cats. *JSAP* (1992) 33: 178-182.

Smith LJ, Mair TS. Unilateral and bilateral laparoscopic ovariectomy of mares by electrocautery. *Vet Rec* (2008) 163:297-300.

Suganami T, Tanaka M, Ogawa Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. *Endocr J.* (2012)59:849-857.

菅沼理江、土岐 彰、八塚正四ら. 小児のアディポネクチン濃度;正常値と手術侵襲に関する検討, *日本小児外科学会誌* (2007) 43:456.

田尻 孝、恩田昌彦、有馬保生ら. -臨床医のために-消化器外科領域における内視鏡下手術の現状：胆道疾患を中心に *J Nippon Med Sch* (2001) 68:530-533.

Tams TR, Rawlings CA. Small Animal Endoscopy 3 rd ed. *liver biopsy* (2011)p.423.
U.S.A., Mosby

Tanaka A, Inoue A, Takeguchi A et al. Comparison of expression of glucokinase gene and activities of enzymes related to glucose metabolism in livers between dogs and cats. *Vet Res Commun* (2005) 29:477-485.

Weisberg SP, McCann D, Desai M et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin invest* (2003) 112:1796-1808.

World Health Organization Obesity and overweight (2016)

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> 2017年3月16日引用

Xu H, Barnes GT, Yang Q et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* (2003)12:1821-1830.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator-activated receptor gamma(PPAR gamma)deficiency and PPAR gamma agonist improve insulin resistance. *J Bio Chem* (2001a) 276:41245-41254.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* (2001b)7:941-946.

吉池信夫、西信雄、松島松翠ら. Body mass index に基づく肥満の程度と糖尿病, 高血圧, 高脂血症の危険因子との関連 - 多施設共同研究による疫学的検討. *肥満研究* (2000) 6:4-17.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* (1994) 372: 425-432.

Summary

As in human, prevalence of overweight and obesity has increased remarkably in dogs and cats recently. In particular, cats tend to become obese compared to dogs due to their characters in glucose and lipid metabolism. Obesity is described as the state of excessive triglyceride accumulation in the adipose tissue, and although it is not diagnosed as a disease, since it can lead to a variety of health issues, human medicine defines the state of needing weight reduction as “Obesity disease” . Metabolic syndrome (MS) is considered to be rapidly emerged as a result of a change in our lifestyle, including our everyday diet. As described in the MS guideline, there exists a definite standard for evaluating obesity in human, which uses the body mass index (BMI) as an objective parameter. However, in veterinary medicine, there are no criteria for early diagnosis of obesity, and veterinarians must assess each animals using a subjective parameter, the 5-point body condition score (BCS). Improvement in lifestyle and environment are critical in weight management of animals; thus it is necessary for each owner to realize and understand their pets’ weight condition.

In human medicine, the “Guideline for diagnosis of obesity disease” is published every 5 years, and each statement, supplemented with level of evidence, is given a suggested grading score. By referring to the human obesity classification flowchart, a counterpart for cats with BCS 4 or 5 was designed. First, “Primary Obesity” and “Secondary Obesity” was defined. The primary obesity was then divided into those with or without health issues, and the former was termed pathological obesity (obesity disease), the later was termed simple obesity.

Pathological obesity (obesity disease) was further divided into subcutaneous fat obesity and visceral fat obesity or metabolic syndrome.

In Chapter 1, we described that the history of application of laparoscopy to medicine to clarify the necessity of laparoscopy to visualize obesity state in veterinary medicine. In particular in human medicine, laparoscopy is used as not only surgical technique but also diagnostic method for metabolic disorders in recent years.

In Chapter 2, we discussed the possibility of laparoscopy as diagnostic method for metabolic disorders in dogs and cats. Invasiveness by operation was compared and discussed between laparoscopy and open surgery for contraception operation in dogs. Plasma concentrations of cortisol after operation was significantly lower with laparoscopy than with open surgery. Plasma cortisol concentration is considered as stress marker after the surgery. Laparotomy has many advantages that surgical area is small and recovery after the operation is quick etc., compared to open surgery. As reported previously, adipose tissue's main purpose is to store energy, and its part as an endocrine organ has been recently recognized. The many cytokines that are released from the adipose tissue include adiponectin and leptin, which are both secreted from small fat cells, while TNF- α , IL-6, and insulin resistance factor, all of which are also known as inflammatory cytokines, are released from enlarged fat cells. Previous reports have suggested that the release of adipokines from adipose tissues decreases in laparoscopic surgery compared to an open surgery owing to its low level of surgical stress. Additionally, because the levels of MDA, INS, ADN, and COR were lower in dogs that underwent laparoscopic ovariohysterectomy compared with dogs that had an open surgery, it

was suggested that laparoscopic surgery enables the observation of abdominal organs such as the liver and kidney possibly effected by metabolic disease under minimum surgical stress.

In Chapter 3, tissue sample sampling from cat with BCS5 suffering from lipidosis was done. Lipidosis is considered as the latest stage of visceral fat accumulation. Vacuolation was observed in most of liver cells, and M/L ratio as marker of energy production ability was significantly decreased. These results suggest that the ATP generating ability of feline liver cell with adipose degeneration deteriorates. This suggested that the hypermetabolism of the reserved adipose tissue exceeds the liver's metabolism, causing the accumulation of fat and ultimately leading to liver lipidosis. Unlike human medicine, veterinary medicine depends on each veterinarian's subjective analysis using the BCS system for diagnosing obesity, and there were no reports that has measured or directly observed the aberrant fat accumulation in cats according to the respective BCS scores to this day.

In Chapter 4, we performed a laparoscopic surgery and a CT scan in cats with a BCS of 3, 4, or 5, which enabled a direct observation of the state of aberrant peritoneal fat accumulation as well as a biopsy of adipose and liver tissue. As BCS increased, the level of blood serum ADN decreased, while the increase in peritoneal fat accumulation was evident. Seeing that cats with BCS 4 already had aberrant fat accumulation on the liver and other intraperitoneal organs, as well as decreased blood serum ADN level, it was suggested that even in cats with BCS 4, the small fat cells would start to evolve into enlarged fat cells which release insulin resistance hormone.

When managing obesity, it is necessary to build a treatment strategy based upon an accurate evaluation of the current body weight status. This would require development of a biochemical marker and a quantitative scaling system for each corresponding stage of the disease. The metabolome markers deemed appropriate were malate dehydrogenase / lactate dehydrogenase activation ratio which reflects energy metabolism, HDL / LDL ratio reflecting the lipid metabolism, and triglyceride concentration. In addition, the change in blood concentration levels of insulin and adiponectin are also indispensable as a diagnostic marker. Blood concentrations of ALT and AST are useful indication for changes in liver enzymes. High-sensitivity CRP, TNF- α , MCP-1, and interleukin are inflammatory marker, whereas MDA concentration as lipid peroxide marker, SOD and GSHpx activities as antioxidant enzyme marker are also effective for diagnosing obesity.

Those with simple obesity and even those with a moderate physical impairment without visceral adipose accumulation, will benefit from physical exercise and dietary enhancement. By using laparoscopy, we were able to accurately and safely take samples not only from intrabdominal organs, but also from the dorsal peritoneal wall and the falciform mesenterium. This allowed for an understanding of the severity of aberrant fat accumulation in obese animals. By performing more of the same procedure and increasing the number of data, we aim to establish the obesity diagnostic criteria in dogs and cats.