

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 澤 村 昌 樹

当該研究室では、肥満をはじめとする代謝性疾病の診断基準作成、その治療法の開発などを進めている。申請者は、臨床医としてこの研究事業に参加し、臨床サンプルの提供、特に肥満の可視化手法の開発を担当している。

人と同様に犬や猫でも過体重・肥満は近年、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、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関する規準がなく、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。また、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、各ステージの診断基準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。また、内臓脂肪蓄積の可視化（見える化）として腹腔鏡診断や CT 画像の利用が推奨されている。人の肥満分類フローチャートを参考に猫の肥満症診断フローチャートが作成した。一次性肥満（原発性肥満）、二次性肥満（内分泌性、遺伝性）に分類した。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。脂肪組織の主たる目的はエネルギーの貯蔵であるが、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、肥大した脂肪細胞からは炎症性サイトカインとして TNF- $\alpha$ 、IL-6、インスリン抵抗性因子などが分泌される。人医学では CT 画像、腹腔鏡画像と血中サイトカイン濃度の関連から新たな診断基準の策定が試みられている。

第 1 章では肥満を始めとする代謝性疾患の「見える化」実現のために腹腔鏡手術応用の必要性を明らかにするため、これまでの腹腔鏡手術の動物疾病への応用について歴史的に文献を基に考察した。特に人医学では近年、腹腔鏡を単に外科的手技としてではなく、腹腔臓器の代謝疾患を始めとする種々の疾患の診断検査、組織サンプルの採取、それを基にした病理組織検査、予防医療への応用が普及していることを申請者は示した。

第 2 章では、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。獣医療でよく行われる避妊手術に関して腹腔鏡手術と一般開腹手術の動物への侵襲性を比較検討した。腹腔鏡手術ではストレスマーカーとされる手術後の血中コルチゾル値が開腹手術に比べ有意に低いことが示された。さらに腹腔鏡手術は開腹手術に比べ傷が小さく、出血も少ないことから、開腹手術に比べ低侵襲であることが確認された。また、以前の報告から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。申請者らはマロンジアルデヒド (MDA)、インスリン (INS)、アディポネクチン (ADN) およびコルチゾル (COR) 値の測定結果から、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の外科的ストレスによ

り観察可能にすることを明らかにした。

第3章では、肝リピドーシスを発症した BCS5 の猫において腹腔鏡手術による肝生検を実施し、肝細胞の空砲化、脂肪蓄積を確認した。脂肪変性した肝細胞中のリンゴ酸デヒドロゲナーゼ/乳酸デヒドロゲナーゼ活性比 (M/L 比) を測定した結果、著しい低化を認め、こうした肝細胞では ATP 産生能の著しい低下が明らかとなった。このことから肝内に貯蔵した脂肪の異化亢進が肝臓の代謝機能を超え、過剰に蓄積することで肝リピドーシス発症に至ると推察された。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 BCS スコアだけでは皮下脂肪、内臓脂肪の区別は難しく、腹腔鏡手術の応用により内臓への異所性脂肪の蓄積を直接確認できる(可視化)メリットは極めて重要であると申請者は考えた。

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血中濃度変化との相関を検討した。BCS 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。

肥満のマネジメントを考慮するにあたり、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。肝酵素として 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- $\alpha$ 、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となり得る。

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で、より早期段階での正確な肥満診断も可能になる。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) の開発が行われ、脂肪組織へ直接投与する治療法の検討が進んでいる。腹腔鏡手術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ることを申請者は計画している。

以上のように、本論文は腹腔鏡手術が肥満の可視化を可能にし、早期診断、組織生検のためのサンプル採取に有用で、将来的には薬剤投与による肥満治療への応用も可能であることを明らかにした。これらの成果は、学術上、応用上貢献するところが少なくない。

よって審査委員一同は、本論文が博士 (獣医学) の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。