

研究事業名：小児肥満児における、感染症重症化リスク因子の検討

研究者：齋藤玲子、平川潤

産業医科大学 小児科学教室、

<要旨> 【背景】成人において、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の感染や重症化の独立したリスク因子として肥満があげられているが、小児肥満児においては不明である。【目的】小児肥満児において、小児肥満児の免疫機構を解析し、肥満児における感染症重症化との関連について検討する。【方法】2022年4月から2023年3月の期間に当科の内分泌外来に通院している症例のうち、肥満児30例、非肥満児22例の52例を対象とした。非肥満児は特発性低身長症、思春期早発症、先天性甲状腺機能低下症のうち治療介入を行っていないものとした。患者背景として、年齢、身長、体重、肥満度、白血球数、AST、ALT、血糖をカルテより抽出し、フローサイトメトリー法を用い、リンパ球サブセット解析を行った。またサブ解析として合併症の有無で上記を調査した。【結果】年齢、身長、体重、肥満度、白血球数、AST、ALTでいずれも有意差を認めた。またFCMではmemory T細胞(%)とnaïve T細胞(%)で2群間に有意差を認め、肥満群ではmemory T細胞が有意に高く、一方でnaïve T細胞(%)肥満群が低かった。【考察】本検討の結果では、肥満群がmemory T細胞が高くnaïve T細胞が有意に低いことがわかった。肥満児において感染症の重症化が起こりうる原因解明の一助になる可能性がある。【結論】肥満児が免疫異常に伴う感染症の重症化の原因になりうることを示唆している。

【緒言】

脂肪の蓄積（肥満）は、体重増加のみならず脂質異常、高血圧、2型糖尿病、脂肪肝などの合併症を引き起こす。肥満における脂肪組織には慢性炎症の所見が見られるが、これは脂肪細胞に集積したマクロファージをはじめとする免疫細胞と、脂肪細胞などとの相互作用により進行し、この相互作用はサイトカインなどにより仲介されると報告されている。成人肥満と小児肥満では脂肪細胞の数や大きさに違いがみられるが、脂肪組織炎症に関して小児における検討は少ない。

一方で、近年、肥満にともない、脂肪組織に慢性の炎症が生じることが明らかになっている。肥満にともなう脂肪組織にはM1マクロファージが浸潤するだけでなく、最近では、CD8陽性T細胞が浸潤し脂肪組織の炎症を正に制御していることが明らかになっている。さらに、CD4陽性T細胞、制御性T細胞、M2マクロファージは脂肪組織の炎症を負に制御している。このように、脂肪組織には多数の免疫細胞が存在し、細胞のあいだの複雑な相互作用のもと脂肪組織の炎症が規定されており、非感染性の免疫応答について研究されている。しかし、小児肥満における免疫細胞を分析した報告は少ない。そこで、今回、小児肥満児において、小児肥満児の免疫機構を解析し、肥満児における感

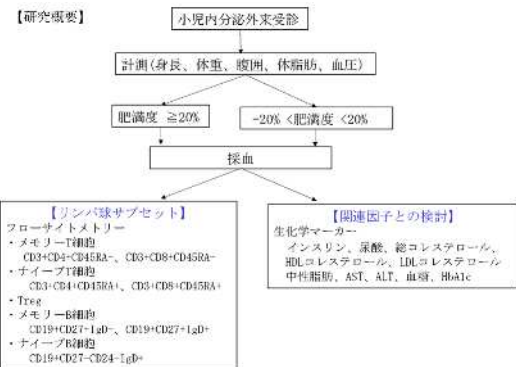
感染症重症化との関連について検討する。

【方法】

・リンパ球サブセット解析による小児肥満児の免疫応答の関連性の検討

産業医科大学小児科の内分泌外来を受診した患者を対象とし、小児肥満（肥満度 20%以上）群と小児非肥満（ $-20\% < \text{肥満度} < 20\%$ 未満）群にわけ、同意を得た方を対象とする。採取した検体は、フローサイトメトリーによるリンパ球サブセット解析用として EDTA 添加容器に入れる。

【研究概要】



①採血後、リンパ球サブセット解析用として EDTA 添加容器に、残りの血液は肥満評価項目として、

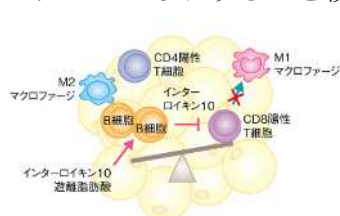
インスリン、尿酸、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪、AST、ALT、血糖、HbA1c、血算などを測定する。

②リンパ球分画解析は当大学小児科にあるフローサイトメトリーを利用して行う。T 細胞サブセットでは、メモリーT 細胞（CD3+CD4+CD45RA-、CD3+CD8+CD45RA-）、Treg、ナイーブ T 細胞（CD3+CD4+CD45RA+、CD3+CD8+CD45RA+）の解析を行う。B 細胞サブセットでは、メモリーB 細胞（CD19+CD27-IgD-、CD19+CD27-IgD+）、ナイーブ B 細胞（CD19+CD27-CD24-IgD+）の解析を行う。

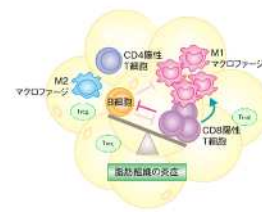
・リンパ球サブセットとの関連因子の検討

フローサイトメトリーの結果を用い、小児非肥満児と比較し、小児肥満の合併症と T 細胞および B 細胞サブセット、その他の生化学マーカー（インスリン、尿酸、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪、AST、ALT、血糖、HbA1c）との

相関についてスピアマンの順位相関分析を行う。また、その経時的な変化について Mann-Whitney U 検定およびカイ二乗検定を用いて単変量解析を行う。小児肥満児と非肥満児におけるリンパ球分画、生化学マーカーとの関連を比較検討しその関連性を検討する事、小児肥満児と非肥満児におけるリンパ球分画を比較検討することにより、小児肥満が易感染性のリスクになりうるかを検討する。



《正常な脂肪細胞》



《想定される変化》

【結果】

(1) 患者背景

肥満群 30 名(男児 18 名、女児 12 名)、非肥満群 22 名(男児 9 名、女児 13 名)が対象となった。年齢はそれぞれ 11.5 歳、10.6 歳と有意差は認めなかった。身長、体重、肥満度、腹囲は、肥満群が非肥満群に比べ有意に高い結果であった。また、収縮期血圧、拡張期血圧ともに肥満群が非肥満群に比べ有意に高い結果であった。(表 1)

	肥満 (n=30) median (IQR)	control (n=22) median (IQR)	p
年齢 (歳)	11.5 (10-13.8)	10.6 (9.1-15.1)	0.34
身長 (cm)	154.0 (140-164.2)	142.3 (132.8-159.5)	0.07
身長 (SD)	0.7 (0.5-1.3)	1 (-0.7-0.6)	<0.001
体重 (kg)	69.9 (50-88.5)	40.2 (31.5-50.9)	<0.001
肥満度 (%)	53.7 (43.6-67.9)	40.2 (31.5-50.9)	<0.001
腹囲 (cm)	94.8 (82.1-103.1)	60 (52.5-69.1)	0.01
収縮期血圧 (mmHg)	120 (114-128.3)	102 (94.5-117)	<0.001
拡張期血圧 (mmHg)	73 (67-77)	67 (57-70.5)	<0.001

【表 1 患者背景】

一般血液検査では、肥満群が非肥満群と比べ、WBC、肝機能(AST、ALT)、中性脂肪、尿酸、インスリンが有意に高値であり、肥満の合併症を有していることを示しているデータであった。尚、コレステロール(悪玉コレステロール)、糖代謝(血糖、HbA1c)に有意差は認めなかった。(表 2)

	肥満 (n=30) median (IQR)	control (n=22) median (IQR)	p
WBC	7359 (6700-9175)	5900 (4925-7150)	<0.001
AST	25.5(20.3-39.5)	21.5(17.3-25.8)	<0.05
ALT	42.5(24.3-74.3)	15(12-18.5)	<0.001
中性脂肪	129 (88-168.5)	70 (53.8-90.5)	<0.001
コレステロール	178 (157-200)	163 (149-184)	0.11
LDL-cho	112 (94.5-137.5)	81 (73-93)	0.09
尿酸	6.5 (5.9-7.6)	4.4 (3.9-4.9)	<0.01
BS	95 (90.8-102.8)	98 (91.5-102.5)	0.41
HbA1c	5.7 (5.5-5.8)	5.5 (5.5-5.7)	0.49
インスリン	15.1 (10.7-31.2)	7.1 (5.3-7.8)	<0.001

【表 2 一般血液検査】

(2) リンパ球分画解析

フローサイトメトリー法を用いた解析では、WBCのうち肥満群ではリンパ球が35.5%であるのに対し、control群では44.3%と有意に肥満群のリンパ球の割合が少なかった($P<0.001$)。

	肥満 (%)	cont (%)	p
WBC (Lym)	(35.5)	(44.3)	(<0.001)
CD3% in CD45	62.5	65	0.08
CD4% in CD3	39	50.4	<0.001
CD8% in CD3	31.4	32	0.376
4/8 ratio	1.2	1.6	0.48
T cell% in Ly	52.3	60.7	<0.05
activated T% in CD8	4.4	3.3	0.17
memory T% in CD4	35.8	33.1	0.04
memory T% in CD8	23.1	20.3	0.13
naive T% in CD4	58.1	61.8	0.02
naive T% in CD8	67.7	70.5	0.13
Treg	3.9	1.9	<0.001

さらに、

【表3 リンパ球分画】

memory T細胞が肥満群では35.8%であるのに対し、control群では33.1%であり、肥満群が有意に高い結果であった($p=0.04$)。また、naiveT細胞が肥満群では58.1%であるのに対し、control群では61.8%であり、肥満群が有意に低い結果であった($p<0.001$)。その他、B細胞系には有意差は認めなかった。(表3)

(3) 肥満症の有無による解析

肥満群の中でも、図1に示すように、小児肥満症の診断基準をみたした、肥満症の有無や、A項目やB項目に合致する数で再度リンパ球分画解析を行った。その結果、肥満症の有無、肥満症の有無で、リンパ球分画解析に明らかな有意差を認めなかった。

小児肥満症診断フローチャート(次ページに続く)



【考察】

成人において、肥満は代謝性疾患としてだけではなく、全身性に軽微な炎症が遷延す

る慢性炎症という概念で捉えられる。成人肥満では炎症の T 細胞は、間質細胞のうち 10%程度をしめるが、その数は肥満に伴って増加する。特に CD8+T 細胞は脂肪組織炎症部位に浸潤し、マクロファージの浸潤を誘導する。肥満脂肪組織では CD8+T 細胞と Th1 細胞は増加するが、Th2 細胞、制御性 T 細胞は減少する。健常の脂肪組織では、B 細胞は 10%程度だが、肥満では 20%程度になり、B 細胞は、肥満脂肪組織に浸潤し、炎症性のフェノタイプへと変化し、IgG2 抗体、IL-6、IFN- γ を産生し炎症を促進する。これまでの報告より成人では、M1 マクロファージ、好中球マスト細胞 CD8 陽性 T 細胞、NKT 細胞は主に炎症促進的に、M2 マクロファージ、制御性 T 細胞は主に炎症抑制的に働くことが明らかとなっている。しかし、脂肪細胞や免疫細胞は相互作用を及ぼしており、慢性炎症におけるその役割は未だ不明な部分も多い

現在、成人では COVID-19 の重症化のリスク因子に高齢・糖尿病・肥満・高血圧などがあり、更に重症患者では、血液中の炎症性物質（炎症性サイトカイン）の量が増え免疫系が過剰反応していることが知られる一方で、免疫細胞の司令塔「T 細胞」が血液中で著しく減少していることが認められている。更に COVID-19 の重症化肺炎患者の肺組織では T 細胞が著明な活性化を示している一方で、FoxP3 の誘導が阻害されており、T 細胞の反応を止めるブレーキ機能に異常があることが報告されている (Bahire Kalfaoglu et al., Front Immunol. 8;589380, 2020)。すなわち、ブレーキ機能が低下することで多くの T 細胞が過剰反応し、COVID-19 感染症患者の肺炎が重症化している可能性が示されている。このように、成人では COVID-19 と免疫細胞である T 細胞異常の関連性が明らかになりつつあり、感染症患者における重症化メカニズム解明につながる新たな知見が報告されている。COVID-19 流行により小児でも肥満が重症化のリスクであることが報告され始めており、肥満と免疫応答との関連性については不明な点も多く、小児での検討はない。

今回の我々の検討では、memory T 細胞の割合が肥満群では増加しており、一方で naiveT 細胞の割合が減少されていることが示された。naiveT 細胞は樹状細胞により提示を受けた特異的抗原に遭遇すると活性化され、エフェクター T 細胞に分化するとされている。エフェクター T 細胞はウィルス抗原などを認識して活性化し、感染細胞を排除するとされている。肥満で naiveT 細胞が減少しているということは、感染細胞を排除する細胞が少ないということが示唆される。一方で memory T 細胞はウィルスに感染し、感染がおさまるとメモリー T 細胞として長期間残存し、再び感染がおこると memory T 細胞により、B 細胞からの抗体産生を促進する。一方で新規の感染症に対しては効果が弱いことが示唆された。

今回、肥満症の有無や、肥満症の診断項目の数で解析も行ったが、明らかな有意差は認めなかった。以上より、合併症に伴う変化は関与しておらず、肥満による慢性炎症そのものが、影響していると考えられる。今回の検討により、小児においても肥満そのものが感染症重症化の原因になり得ることが示された。

【結語】

肥満児が免疫異常に伴う感染症の重症化の原因になりうることを示された。