

2型糖尿病患者・肥満患者における病態と 爪郭毛細血管の定量評価の関連について

東京大学大学院 三好建吾
(共同研究者) 東京大学 近森正智
東京大学大学院 青山倫久
東京大学 松永行子
東京大学大学院 山内敏正

The Relationship of Morphology and Color of Nailfold Capillaries with Disease State of Diabetes and Obesity: An Observational Study

by

Kengo Miyoshi, Tomohisa Aoyama,
Toshimasa Yamauchi

*Department of Diabetes and Metabolic Diseases,
Graduate School of Medicine, The University of Tokyo*

Masatomo Chikamori, Yukiko Matsunaga
Institute of Industrial Science, The University of Tokyo

ABSTRACT

Nailfold capillaries are small hairpin-shaped blood vessels that align the nailfold at the tips of fingers and toes. Those vessels can be repeatedly observed using relatively inexpensive and small microscopy without injecting needles or administering drugs. Nailfold capillary morphology is known to be altered by various diseases, and morphological abnormalities have been associated with type 2 diabetes and its complications. Though, there have been few reports of quantitative analysis of nailfold capillary morphology. The conventional semi-quantitative analysis could

only analyze the presence or absence of diseases and complications, so by shifting to quantitative analysis, nailfold capillaroscopy would be a new examination method in the treatment of type 2 diabetes, as it will provide more accurate results and also enable the evaluation of disease severity. In this study, we quantitatively analyzed not only the morphology of nailfold capillaries but also the colors of the capillaries, and showed that capillary diameters in hospitalized patients with diabetes had a significantly positive correlation with HbA1c levels, a glycemic control index that indicates the disease status of diabetes ($R^2=0.21, p=0.027$). Additionally, obesity, associated with insulin resistance in diabetes, had a significantly negative correlation with delta E, a color contrast between the inside and outside of capillaries in obese and diabetic patients ($R^2=0.19, p=0.035$).

キーワード

爪郭毛細血管, 爪郭毛細血管顕微鏡, 糖尿病, 肥満症

Keyword

Nailfold capillary, Nailfold capillaroscopy, Diabetes, Obesity

要旨

爪郭毛細血管は手指先端の爪郭部に存在するヘアピループ状の微小な血管群のことで、注射針の穿刺や薬剤の使用などの侵襲性なく、比較的低価格の小型顕微鏡で簡便かつ非侵襲に観察が可能である。爪郭毛細血管の形態は様々な疾患によって変化することが知られ、これまでに2型糖尿病や合併症との関連が指摘されてきたが、爪郭毛細血管形態についての画像の定量的解析を行った報告は少ない。従来の半定量的な画像解析では主として疾患・合併症の有無のみの解析が限界で、より精度の高い定量解析に移行することで、疾患の重症度を評価することも可能になるため、爪郭毛細血管顕微鏡が2型糖尿病診療における新たな検査方法となることが期待される。本研究では、糖尿病入院患者の血管径が、糖尿病の病勢を示す血糖コントロール指標であるHbA1cと有意に相関することを示した ($R^2=0.21, p=0.027$)。ま

た糖尿病におけるインスリン抵抗性と関連するとされる肥満度は、肥満患者・糖尿病患者の血管内外の色のコントラストdelta Eと有意に相関した ($R^2=0.19, p=0.035$)。

緒言

糖尿病は国民健康・栄養調査で示されるように予備群も含めると成人の実に27%を占める主要な国民病と呼べる。慢性的な高血糖とインスリンの不足を含む代謝障害により、三大合併症と言われる糖尿病網膜症、糖尿病性腎症、糖尿病性神経障害といった全身の微小な血管の病変(細小血管障害)や狭心症、脳梗塞といった大血管の動脈硬化病変(大血管障害)をきたす疾患である。網膜症は日本における失明原因の第3位¹⁾であり、腎症は同じく透析導入の原疾患の第1位²⁾であり、糖尿病治療において合併症の発症・進展抑制が重要課題といえる。しかし、糖尿病診療の場において合併症のスクリーニング状況が十分とは言い難

く、網膜症の検査を1年に1回以上受けている糖尿病患者は全体の46.5%、腎症の指標である尿蛋白・アルブミン定量検査については同じく19.4%に過ぎないという報告もあり³⁾、合併症の把握について改善の余地は大きいといえる。糖尿病の治療状況の把握には血液・尿検査が用いられ、網膜症の評価には眼底検査が行われているが、いずれも侵襲とコストを伴う検査方法であり、非侵襲的かつ低コストな検査方法が望まれると考えられる。

爪郭毛細血管は、爪の甘皮の中枢側にある爪郭という部分の皮下に水平に並んだヘアピループ状の毛細血管であり、体外から特殊な機器・薬剤を用いずに比較的簡単に観察できる唯一といってよい血管である。これまで強皮症といった全身性自己免疫疾患を中心に、様々な疾患で爪郭毛細血管の形態が変化することが報告されており、糖尿病に罹患した場合や、糖尿病網膜症⁴⁾を合併した場合にも形態が変化することが報告され、糖尿病の発症リスクや難治性に関連するインスリン抵抗性と関連するとされる肥満症でも血管形態が変化しねじれた血管が増えると報告⁵⁾されている。

しかし、これまで糖尿病患者を含め、爪郭毛細血管の定量的な解析は血管長、血管本数、血管径を除くと報告は稀で、他の形態については半定量解析（段階評価）に基づくため統計的な検定力が低い。本研究では、爪郭毛細血管の定量評価を開発し、2型糖尿病または肥満症をもつ患者に対して、臨床所見と爪郭毛細血管の関連について検証した。

1. 研究方法

1.1 対象症例

本研究の対象者は2型糖尿病または肥満症の診断を有し、東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科へ入院した患者から選定し、本研究の参加にあたり口頭及び文書にて十分な説明を受け、書

デサントスポーツ科学 Vol. 45

面による同意が得られた51例（男性30例、女性21例）を参加者とした。また、以下のいずれかに抵触する者は本研究に組み入れないこととした。

1) 悪性腫瘍、膠原病、慢性皮膚疾患の治療の既往歴がある者 2) 認知症や精神疾患により認知機能に問題がある者 3) その他、研究責任医師が本研究の対象として不適切と判断した者。

本研究は東京大学医学部倫理委員会の承認を受け実施した（審査番号：2020316-NI）。

1.2 爪郭毛細血管顕微鏡

本研究で使用した爪郭毛細血管顕微鏡は、顕微鏡 Smart G-SCOPE (Genie Tech) 及び顕微鏡スタンド SGS-H100 (Genie Tech, Korea) を基に、スタンド制御のためのステッピングモーター 8HS15-0604S (OSM Technology, China) 及び Arduino CNC Shield V3.00 (Protoneer, New Zealand), System on Module の Jetson Xavier NX Developer Kit (NVIDIA, USA) を東京大学生産技術研究所 DLX デザインラボにて組み合わせて製作しており、イントラネットで接続したブラウザ Google Chrome (Alphabet Inc, USA) から顕微鏡スタンドの制御を可能にした。(図1)

1.3 研究手順

研究参加者の入院後（入院直後）および退院直前の2回にわたり、非利き手第4指の爪郭毛細血管を上記顕微鏡を用いて250倍の倍率で撮影した。撮影室は病棟内の空調管理がなされ、気温18℃～25℃程度に管理された蛍光灯環境下で、撮影は午前9-12時の間に行われた。画像データの生成時にIDを自動生成し、このIDとともに画像データを接続したPCに保存した。電子診療録からの情報収集もこのIDに紐づけて匿名保存し、別途IDに対して患者番号の対応表を作成し管理した。

また入院患者は入院初日に身体検査として身長、体重を、血液検査でHbA1cを計測し、研究

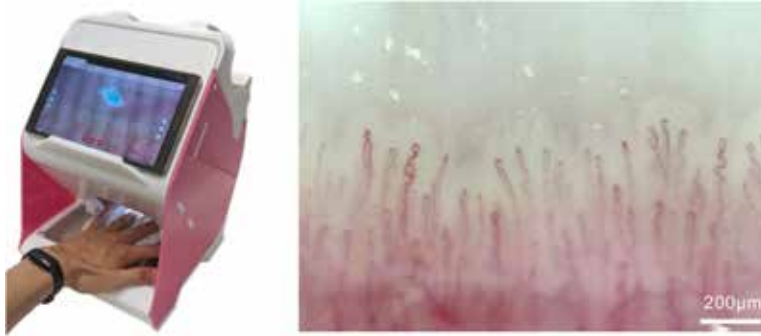


図1 爪郭毛細血管顕微鏡および爪郭毛細血管の顕微鏡写真

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_{\text{capillary}} - L^*_{\text{background}})^2 + (a^*_{\text{capillary}} - a^*_{\text{background}})^2 + (b^*_{\text{capillary}} - b^*_{\text{background}})^2}$$

図2 delta E の計算式

参加者の診療録から情報を得た。

1. 4 画像解析方法

画像解析は、明らかに取得画像が不鮮明もしくは焦点が合っていないためいずれの爪郭毛細血管のヘアピン構造が癒合して1本に見える画像を除いて、画像解析ソフト Fiji⁶⁾ を使用しておこなった。取得画像は爪郭毛細血管と背景の二値化画像に変換した。血管径は二値化画像を爪郭毛細血管径のヒートマップ画像に変換した後、血管に沿って色強度を計測し平均値を計算した。爪郭毛細血管と背景皮膚の色のコントラストは、取得画像を RGB 画像から CIELAB (L*a*b*) 画像に変換した後、二値化画像で爪郭毛細血管と背景皮膚をそれぞれ選択し、色差 delta E として計算した (図2)。

1. 5 データ分析

統計解析には Microsoft Office Excel (Microsoft, USA) 及び JMP[®] Pro 16 (SAS Institute Inc., USA) を使用し、検定には2群比較では Student の t 検定を用い、前後比較では対応のある t 検定を用いた。2変量の相関は Pearson の相関係数を用いた。有意水準はいずれも5%とし、得られた指標は平均値 ± 標準偏差で記載した。

2. 研究結果

2. 1 患者背景

研究参加者のうち、入院直後および退院直前に解析可能な爪郭毛細血管画像を得られたのは23例 (男性15例, 女性8例) だった。患者背景を表1に示す。平均年齢は54.7歳で、糖尿病患者・肥満患者の平均 Body mass index (BMI) は 29.3kg/m² と1度~2度肥満の症例が多くを占め、糖尿病患者における HbA1c は平均8.9%であった。また2型糖尿病の診断を有するものが21例、耐糖能異常を有するものが2例であり、BMI 25kg/m² 以上で肥満を有するものが17例、肥満のないものが6例であった。入院直後に撮影した糖尿病患者・肥満患者の毛細血管画像の解析では、血管径は 7.5 ± 0.8 µm で、delta E は 8.3 ± 2.0 だった (図3, 表2)。

2. 2 爪郭毛細血管画像と臨床データの比較

入院直後の爪郭毛細血管画像と症例のプロ

表1 患者背景

| | |
|-------------------------|-------------|
| 年齢(歳) | 54.7 ± 10.7 |
| 性別(男/女) | (15 / 8) |
| 身長(cm) | 165.3 ± 6.8 |
| 体重(kg) | 80.1 ± 17.8 |
| BMI(kg/m ²) | 29.3 ± 6.1 |
| HbA1c(%) | 8.95 ± 2.06 |

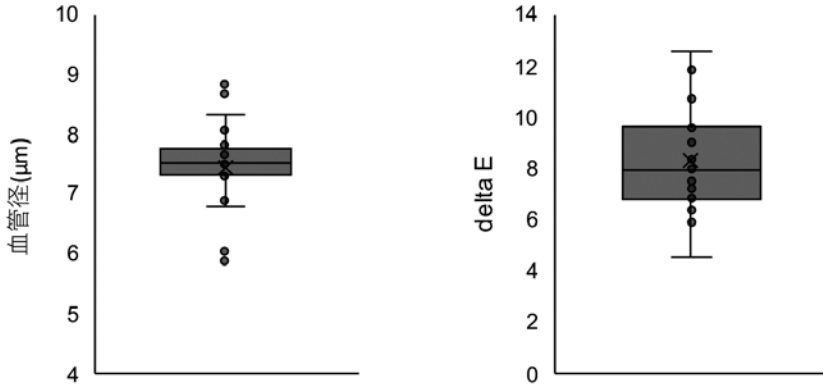


図3 入院直後の血管径および delta E

表2 入院直後の血管径およびdelta E

| | |
|---------|-----------|
| 血管径(μm) | 7.5 ± 0.8 |
| delta E | 8.3 ± 2.0 |

ファイルと比較した(図4, 図5, 表3). 糖尿病患者の血管径は, HbA1c と有意な正の相関を示し ($R^2=0.21, p=0.027$), 入院前の血糖コントロールが不良なほど爪郭毛細血管径が拡大した. また爪郭毛細血管と背景皮膚のコントラストを示す delta E は, BMI と有意な負の相関 ($R^2=0.19, p=0.035$) を示し, 肥満度が高いほどコントラストが低下していた. 一方, 糖尿病網膜症の有無, および糖尿病性腎症の指標である eGFR, 尿中アルブミン/クレアチニン比と血管径および delta E の間で有意な関連はみられなかった. また, 入院直後と退院直前の前後比較では, 血管径および delta E とも有意な変化を示さなかった.

3. 考 察

本研究で, 2型糖尿病および肥満症の入院患者を対象に, 爪郭毛細血管の所見を解析した結果, 入院時のHbA1cと血管径, BMIと血管内外のコントラストに有意な相関がみられ, 爪郭毛細血管の所見が糖尿病や肥満症の病態の指標となる可能性が示された.

糖尿病および肥満症と爪郭毛細血管の形態変化の関連は数多く指摘されている. 複数の研究において, 血糖コントロール不良状態の糖尿病患者では血管径の拡大や部分的な血管拡張, 血管密度の低下や枝分かれ状の血管といった異常所見を示すことが指摘されている⁷⁾. 近年では, 2型糖尿病において爪郭毛細血管の交差所見の有無が糖尿病網膜症の存在を示唆する可能性⁴⁾や, 腹部肥満を

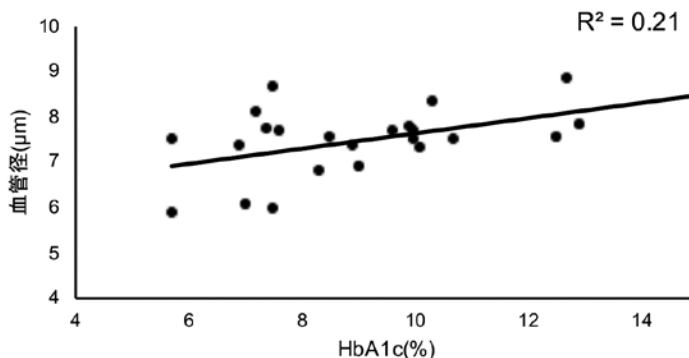


図4 HbA1c と血管径の相関

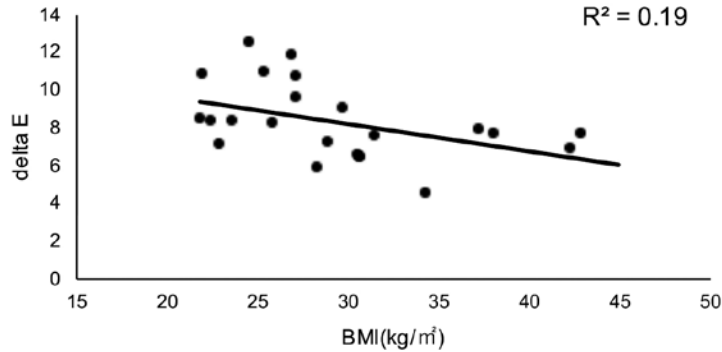


図5 BMIとdelta Eの相関

表3 BMI, HbA1cと関連した画像パラメータ

| | ρ | p値 | |
|-------------------------|---------------|-------|-------|
| HbA1c(%) | 血管径(μ m) | 0.46 | 0.027 |
| BMI(kg/m ²) | delta E | -0.44 | 0.035 |

有する2型糖尿病患者では交差血管が増加しているという所見の報告⁵⁾がみられている。糖尿病治療による血管形態の変化としては、高血糖緊急症をきたし緊急入院を行った中年男性症例の報告で、血糖コントロール改善後では毛細血管の密度が上昇し、血管拡張像や枝分かれした血管が改善したという報告⁸⁾がある。2型糖尿病や肥満症に対する治療介入時の爪郭毛細血管への影響について、Costaらの報告では2型糖尿病患者に対し14日間のL-アルギニン投与により、爪郭毛細血管の血流速度が上昇したが、血管径は変化がなかったとされている⁹⁾。しかし、血管形態に加え色情報について解析した報告はこれまでない。

本研究では、入院時の糖尿病の血糖コントロールの指標であるHbA1cが高値であるほど毛細血管径が増大することが示された。これはUyarら⁷⁾やAbd El-Khalikら¹⁰⁾の報告と一致するものであった。Kuryliszyn-Moskalらの報告¹¹⁾では、高血糖等による血管内皮障害により毛細血管密度が低下し、代償的に血管内皮増殖因子(VEGF, vascular endothelial growth factor)、可溶性トロンボモジュリンやエンドセリン-1といった血管新

生因子が放出され、新生血管形成が促進されることにより枝分かれ状の血管や血管径の拡張が生じるとされている。またSantosらの報告¹²⁾では、糖尿病網膜症において血管周囲のペリサイトの脱落が毛細血管からの出血や浮腫に関与することが示唆されており、爪郭毛細血管においても同様の機序で血管形態が変化している可能性がある。一方で、本研究で算出された血管径は先行論文で報告されたものよりも細かった。これは従来の測定方法では手動で代表的な1ヶ所から血管径を計測している一方で、本研究では爪郭毛細血管に沿って爪郭毛細血管径を全長にわたり合算してから平均化しているため、画像を二値化する際に細く抽出されてしまった血管部位や、先細りしている爪郭毛細血管端点周辺も合算してしまうため低値になったと考えられる。またHbA1cは入院までの2~3ヶ月間の平均血糖に比例するものである一方、入院直後から患者は食事・運動・薬物療法により血糖が改善傾向となるため、入院直後の撮影時点ですでに爪郭毛細血管の状態が改善し血管径が縮小した可能性がある。今後は血管径を抽出血管全体の平均値として計測するのではなく、端点などの特定の部位を除外することで、臨床データとより強く相関する可能性はある。

入院直後のBMIと爪郭毛細血管・背景のコントラスト delta E は有意に負の相関を示した。爪郭毛細血管の周囲は表皮細胞に囲まれており、特

に角化していない生きた表皮細胞が存在する部分 perivascular zone は顕微鏡でも視認可能である。perivascular zone の大きさは心不全患者において心不全の重症度と関連するという報告¹³⁾があり、循環血液量や体水分量による末梢循環への負荷を反映していると考えられる。2型糖尿病においては毛細血管からの微小出血が生じやすく、また肥満では食事からの塩分摂取による体液過剰や、高血圧の合併により末梢血管への負荷が生じると考えられ、それらが血管内外のコントラスト低下につながった可能性がある。

本研究においては、研究参加者の糖尿病性腎症および糖尿病網膜症の進展と、血管径および delta E については有意な関連がみられなかった。腎症および網膜症は糖尿病発症から5~10年程度で進展がみられるものであり、また一部は不可逆的な経過をたどる。一方、爪郭毛細血管の形態は数日単位での変動も生じるため、今回検討した爪郭毛細血管の指標と合併症の状態とは、必ずしも関連するものではない可能性がある。ただし、交差血管の有無と糖尿病網膜症の関連⁴⁾を示唆する報告もあり、検索する所見について検討が必要である。また本研究においては、入院時点で糖尿病網膜症の検査歴がなく、網膜症に関してデータ欠損となった症例が一定数生じていたほか、腎症については23人中19人が eGFR 60mL/min/1.73m² 以上、15人が尿中アルブミン/クレアチニン比 30mg/gCre 未満と腎障害の程度が比較的軽度であったため、有意な所見が得られなかった可能性がある。

また、本研究では入院直後ならびに退院直前の2回にわたり撮影を行ったが、画像が得られた23例の解析では血管径および delta E とも有意な変化を示さなかった。いずれについても、研究対象者をさらに追加しての検討も今後の課題と考えられた。

4. 結 論

本研究では、2型糖尿病患者および肥満症患者に対して、爪郭毛細血管の形態および色情報を定量的に測定した。糖尿病の病勢を示す血糖コントロール指標である HbA1c が悪化し高くなる程、有意に血管径が太くなることが示された。以上から爪郭毛細血管顕微鏡は、糖尿病の病態モニタリングに有用であると考えられる。

謝 辞

本研究は、2023年度公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団学術研究課題の助成金交付により、遂行することができました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。また爪郭毛細血管顕微鏡の開発をいただいた東京大学生産技術研究所 価値創造デザイン推進基盤 Yuri Klebanov 特任研究員、Miles Pennington 教授、同研究所 機械・生体系部門 安藤誉特任研究員に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Morizane Y., Morimoto N., Fujiwara A., Kawasaki R., Yamashita H., Ogura Y., et al., Incidence and causes of visual impairment in Japan: the first nation-wide complete enumeration survey of newly certified visually impaired individuals., *Jpn. J. Ophthalmol.*, **63** (1) : 26-33 (2019)
- 2) 花房規男, 阿部雅紀, 常喜信彦, 星野純一, 和田篤志, 菊地勘, et al., わが国の慢性透析療法の実況 (2021年12月31日現在). *日本透析医学会雑誌*. **55** (12) : 665-723 (2022)
- 3) Sugiyama T., Imai K., Ihana-Sugiyama N., Tanaka H., Yanagisawa-Sugita A., Sasako T., et al., Variation in process quality measures of diabetes care by region and institution in Japan during 2015-2016: An observational study of nationwide claims data., *Diabetes. Res. Clin. Pr.*, **155**: 107750 (2019)
- 4) Shikama M., Sonoda N., Morimoto A., Suga S., Tajima T., Kozawa J., et al., Association of crossing capillaries in the finger nailfold with diabetic

- retinopathy in type 2 diabetes mellitus., *J. Diabetes Investig.*, **12** (6) : 1007–14 (2021)
- 5) Shikama M., Sonoda N., Morimoto A., Suga S., Tajima T., Kozawa J., et al., Association of abdominal obesity with crossing capillaries in the finger nailfold in type 2 diabetes mellitus., *Diabetol. Int.*, **12** (3) : 260–7 (2021)
 - 6) Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., et al., Fiji: an open-source platform for biological-image analysis., *Nat. Methods.*, **9** (7) : 676–82 (2012)
 - 7) Uyar S., Balkarlı A., Erol M.K., Yeşil B., Tokuç A., Durmaz D., et al., Assessment of the Relationship between Diabetic Retinopathy and Nailfold Capillaries in Type 2 Diabetics with a Noninvasive Method: Nailfold Videocapillaroscopy., *J. Diabetes Res.*, **2016**: 1–7 (2016)
 - 8) Maldonado G., Chacko A., Lichtenberg R., Ionescu M., Rios C., Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus: a case of neo-angiogenesis after achieving normoglycemia., *Oxf. Med. Case Rep.*, **2022** (9) : omac088 (2022)
 - 9) Costa G., Shushanof M., Bouskela E., Bottino D., Oral L-Arginine (5 g/day) for 14 Days Improves Microcirculatory Function in Healthy Young Women and Healthy and Type 2 Diabetes Mellitus Elderly Women., *J. Vasc. Res.*, **59** (1) : 24–33 (2022)
 - 10) Abd EL-Khalik D.M., Hafez E.A., Hassan H.E., Mahmoud A.E., Ashour D.M., Morshedy N.A., Nail Folds Capillaries Abnormalities Associated With Type 2 Diabetes Mellitus Progression and Correlation With Diabetic Retinopathy., *Clin. Med. Insights Endocrinol. Diabetes.*, **15**: 117955142211228 (2022)
 - 11) Kuryliszyn-Moskal A., Zarzycki W., Dubicki A., Moskal D., Kosztyła-Hojna B., Hryniewicz A., Clinical usefulness of videocapillaroscopy and selected endothelial cell activation markers in people with Type 1 diabetes mellitus complicated by microangiopathy., *Adv. Med. Sci.*, **62** (2) : 368–73 (2017)
 - 12) Santos G.S.P., Prazeres P.H.D.M., Mintz A., Birbrair A., Role of pericytes in the retina., *Eye.*, **32** (3) : 483–6 (2018)
 - 13) Shirshin E.A., Gurfinkel Y.I., Matskeplishvili S.T., Sasonko M.L., Omelyanenko N.P., Yakimov B.P., et al., In vivo optical imaging of the viable epidermis around the nailfold capillaries for the assessment of heart failure severity in humans., *J. Biophotonics.*, **11** (9) : e201800066 (2018)