

氏 名	出 路 奈緒子
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 1 4 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 3 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目	Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice (高脂肪食負荷肥満マウスの腎臓における組織学的及び機能的変化)
審 査 委 員	主 査 教 授 堀 池 喜 八 郎 副 査 教 授 三 浦 克 之 副 査 教 授 小 森 優

論文内容要旨

*整理番号	619	(ふりがな) 氏名	でじ なおこ 出路 奈緒子
学位論文題目	Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice (高脂肪食負荷肥満マウスの腎臓における組織学的及び機能的変化)		
<p>【目的】 メタボリック症候群 (Metabolic syndrome, MetS) は、内臓肥満・高血圧・糖脂質代謝異常を伴う複合病態であり、その各々が慢性腎臓病の危険因子であることが知られている。慢性腎臓病は、腎不全のみならず心血管障害の危険因子であり生命予後に深く関わるため、MetS に合併する慢性腎臓病の発症予防、治療方法の確立が急がれるが、詳細な病態は未だ不明である。そこで、MetS に類似した病態を示す動物モデルを確立し、その腎病変を検討し病態を解明することを目的とした。</p> <p>【方法】 6 週齢の雄性 C57BL6J マウスを全エネルギー中脂肪比率が 60% の高脂肪食群と 10% の低脂肪食群、低脂肪食群と同等の体重を維持するよう摂取量を制限した高脂肪食制限群の 3 群に分け、各群の全身の代謝変化と腎障害 (尿中アルブミン量、糸球体変化) とを比較した。さらに、種々の腎疾患の病的機転である細胞外基質増加、脂肪毒性、炎症、酸化ストレス増大について、IV 型コラーゲン量 (蛍光免疫染色)、脂肪蓄積量 (Oil red O 染色)、マクロファージ浸潤数 (免疫組織染色)、尿中 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH-dG) 排泄量 (Enzyme-linked immunosorbent assay) により評価した。また MetS 患者は、食塩摂取量増加に伴い血圧が上昇する食塩感受性高血圧を呈するため、腎臓の Na 排泄能を 0.9% 食塩水 1.5ml を腹腔内投与しその後 6 時間に尿中排泄される Na 量の比較により、食塩摂取増加に伴う血圧上昇を飼育用飲料水を 1% 食塩水に換え 4 週間の食塩負荷前後の血圧変化を比較することにより、評価した。さらに、腎臓におけるレニン・アンジオテンシン系 (RAS) 亢進は、腎 Na 代謝に影響する重要な機構であるため、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン変換酵素 (ACE)、レニンの mRNA 発現を Real-time PCR 法にて評価した。</p> <p>【結果】 高脂肪食群では、内臓脂肪を伴う肥満、血圧の上昇、空腹時高血糖、高インスリン血症、高中性脂肪血症などの MetS 患者に類似した全身の代謝異常が生じた。さらに、尿中アルブミン排泄量増加、糸球体面積増大、メサンギウム領域拡大という腎障害を認めた。高脂肪食制限群では、これらの全身の代謝異常および腎障害を認めなかった。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

腎障害を生じた高脂肪食群では、電子顕微鏡にて糸球体基底膜肥厚と上皮細胞足突起癒合を認め、さらに糸球体IV型コラーゲン量、糸球体・尿細管への脂肪沈着量、マクロファージ浸潤数が増加していた。また、尿中 8-OH-dG 排泄量が増加していた。食塩負荷に対しては、負荷後の尿中 Na 排泄反応が遅延しており、4 週間の長期負荷により血圧が上昇した。また、アンジオテンシノーゲン、ACE、レニンの mRNA 発現は、全て増加していた。

【考察】

C57BL6 マウスは、12 週間の高脂肪食負荷により MetS 患者と同様の代謝異常とともに腎障害を発症した。しかし、高脂肪食を摂取しても体重を低脂肪食群と同等に維持すると全身の代謝異常も腎障害も生じないことから、腎障害の発症には、実験に用いた高度の脂肪食自体よりも全身の代謝変化がより重要であると推測される。

高脂肪食群の腎臓IV型コラーゲン量、脂肪蓄積量、マクロファージ浸潤数、尿中 8-OH-dG 排泄量が増加していることから、腎障害発症には、細胞外基質産生増加、脂肪毒性、炎症、酸化ストレス増大が関与していることが示唆された。高脂肪食過剰摂取による脂質代謝異常は、全身の慢性持続性炎症や酸化ストレス増大を介して MetS 患者の心血管障害の危険を増大させる一因と考えられている（脂肪毒性）。高脂肪食負荷マウスでは、全身だけでなく腎臓局所においても脂質代謝が変化することを報告されているが、さらに本研究では、腎臓の脂肪蓄積とともに炎症や酸化ストレスの増大を確認した。これは、腎臓局所的な脂質代謝異常が腎臓での脂肪毒性を増強し、炎症や酸化ストレス増大を引き起こした結果、腎障害が生じた可能性を示唆していると考えられる。

また、高脂肪食負荷マウスが MetS 患者と同様に食塩感受性高血圧を発症することを示した。さらに食塩負荷に対する尿中 Na 排泄反応が遅延していたことから、食塩感受性亢進に腎臓 Na 代謝が重要な役割を担っていることが示唆された。この高脂肪食群の腎臓アンジオテンシノーゲン、ACE、レニンの mRNA 発現増加は、腎局所 RAS 亢進を示唆しており、血圧上昇の一因である可能性がある。

従来の肥満モデルは、遺伝子異常に由来する先天的な代謝異常を有することが多く、遺伝子操作に伴う人為的な影響や、先天的な代謝異常の影響を考慮する必要があった。先天的な代謝異常の存在は、後天的で長期間にわたる生活変化の末、代謝異常を発症する MetS の病態と異なる点である。これに対して高脂肪食負荷は、遺伝子異常、手術侵襲、薬剤毒性を与えずに生活習慣を変えることができる簡便な方法で、かつ、正常な代謝能を持つマウスに実験目的に応じた時期から介入できるという利点がある。よって、高脂肪食負荷マウスは、MetS の腎障害の研究に適した動物モデルであると考えられる。

【結論】

C57BL6J マウスは、12 週間の高脂肪食負荷により腎障害を伴うヒトの MetS 類似病態を示した。この腎臓では、細胞外基質産生増加、脂肪蓄積、炎症、酸化ストレス増大、Na 排泄異常が生じており、これらが腎障害の発症・進展に関与することが示唆された。今後、高脂肪食負荷マウスを用いた検討によって、MetS に伴う慢性腎臓病の病態解明、新たな治療戦略に迫ることができるものと考えられる。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	619	氏名	出路奈緒子
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>慢性腎臓病は腎不全のみならず心血管障害の危険因子であり、メタボリック症候群に合併する。この慢性腎臓病の病態解明と発症予防法や治療法の開発をめざして、本研究ではメタボリック症候群類似の病態を示す動物モデルを作り出し、その腎病変を検討したものである。</p> <p>マウスにおいて12週間の高脂肪食負荷によって、腎障害を伴うヒトのメタボリック症候群類似の病態を作り出すことができた。すなわち、このマウスは、内臓脂肪蓄積を伴う肥満・高血圧・高血糖・高インスリン血症・高中性脂肪血症など、メタボリック症候群類似の全身の代謝異常を示した。腎臓では、細胞外基質の産生増加・脂肪の蓄積・炎症・酸化ストレスの増大・ナトリウムの排泄異常が生じており、これらが腎障害の発症と進展に関与することが示唆された。</p> <p>今後この動物モデルを用いて、慢性腎臓病の病態解明や治療方法の開発ができると期待される。よって本論文は博士(医学)の学位論文に値する。</p> <p>なお申請者は最終試験として論文内容に関連した試問を受け、合格と認められた。</p>			
(平成 22 年 1 月 28 日)			