

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K00856

研究課題名(和文)食餌中の脂質が慢性腎臓病における異所性脂肪蓄積に及ぼす影響

研究課題名(英文)Effects of dietary fat on renal ectopic lipid accumulation in chronic kidney disease model rats

研究代表者

吉田 卓矢 (Yoshida, Takuya)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教

研究者番号：80622448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では食餌中の脂質が糖尿病性腎症の腎臓で見られる脂肪蓄積に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、糖尿病性腎症のモデル動物を用いて基礎的に検討した。その結果、食事の脂質が多い高脂肪食は、脂質が少ない食事よりも腎臓に脂肪を蓄積させ、腎機能を低下させることが明らかとなった。また、血中脂質を低下させるエイコサペンタエン酸(EPA)を摂取すると血中脂質の低下だけでなく、腎臓中の脂肪蓄積が減少することが明らかとなった。しかし、EPA摂取によって腎臓の脂肪蓄積が改善されたにもかかわらず、腎機能の低下は抑制されなかったことから、糖尿病性腎症では脂質の量の摂取に注意が必要であることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、糖尿病性腎症の腎臓で見られる脂肪蓄積について、高脂肪食による影響を糖尿病性腎症モデルラットを用いて検討した。その結果、高脂肪食が糖尿病性腎症モデルラットの腎臓に脂肪を蓄積させる機序として、高脂肪食の摂取による血中脂質の増加に加えて、腎臓の組織で脂肪酸の取り込みに関する脂肪酸輸送体の遺伝子発現量の増加が関与していることが示唆された。また、血中の脂質を改善するエイコサペンタエン酸は高脂肪食摂取による血中脂質の増加と腎臓の脂肪蓄積を改善したが、腎機能の低下は抑制できなかった。本研究結果は糖尿病性腎症の食事療法を考えるための科学的根拠となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the effect of dietary lipids on renal lipid accumulation in diabetic nephropathy (DN) model rats. In this present study, we found that a high-fat diet causes renal lipid accumulation and reduces renal function compared with a low fat diet. It was also found that eicosapentaenoic acid (EPA), which lowers blood lipids, not only lowers blood lipids but also reduces renal lipid accumulation in DN model rats. However, EPA did not improve the renal dysfunction in DN model rats fed high fat diets. These results indicated that HFD may accelerate the progression of DN.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：糖尿病性腎症 高脂肪食 低炭水化物食 エイコサペンタエン酸 異所性脂肪

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、わが国の慢性腎臓病 (CKD) 患者は年々増加し、軽症のものを含めると国民の 8 人に 1 人が CKD であると考えられている。そのため、CKD は新たな国民病として早急に解決すべき課題となっている。腎機能が著しく低下した CKD 患者の食事療法には、たんぱく質の摂取量を制限する低たんぱく食が推奨されている。たんぱく質を制限すると食事全体からのエネルギー摂取量が減少し、エネルギー不足になるため、炭水化物もしくは脂質の摂取量を増加させてエネルギーを充足させる必要がある。CKD の中でも特に糖尿病性腎症では、糖質の摂取にも注意が必要であるが、適切なエネルギー産生栄養素の摂取比率については明らかではない。また、エネルギーを充足させるために脂質を多く摂取すると、腎臓に脂肪が蓄積することがこれまでの研究で明らかとなっている。しかし、この脂質の比率が高い高脂肪食の摂取による腎臓の脂肪蓄積の機序については明らかにされていない。

2. 研究の目的

CKD において、腎臓における異所性脂肪の蓄積と脂質代謝の異常は相互に関係しており、腎臓の異所性脂肪を抑制できれば、CKD の進展を抑制できる可能性がある。また、脂質の代謝異常がある状態では、食事の脂質によってさらに脂肪蓄積が促進されることが考えられる。しかし、蓄積した脂肪に食事の脂質がどの程度起因しているかは不明であり、腎臓に蓄積した脂肪酸組成についても不明である。本研究では、CKD の原疾患として最も多い糖尿病性腎症について食事の脂質が腎臓の脂肪蓄積及び腎機能低下させる機序を明らかにすることを目的とする。また、魚油に多く含まれ血中脂質を低下させることが知られているエイコサペンタエン酸 (EPA) の摂取により血中脂質を低下させることが、高脂肪食摂取による腎臓の脂肪蓄積および腎機能の低下を改善するか検討することにより、食事の脂質と腎臓の脂肪蓄積及び腎機能の関連について明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では糖尿病モデルラットである Hos:ZFD^m-Lepr^{fa/fa} (DN) ラットを用いて、糖尿病の進展により腎症を合併させた後、高脂肪食もしくは高炭水化物食を与え、腎臓の脂肪蓄積および腎機能への影響を基礎的に検討した。

(1) 実験 1. 高脂肪食が DN ラットにおいて腎臓に脂肪を蓄積する機序の検討

DN ラットおよびその正常対照ラットである Lepr^{fa/+} (コントロール) ラットを市販の固形飼料を自由摂取させて DN ラットが糖尿病を発症し、さらに尿蛋白排泄が確認できるまで飼育してから実験に用いた。DN ラットおよびコントロールラットを体重、血糖値、血漿中性脂肪濃度、尿糖排泄量、尿蛋白排泄量が同等のパラメータになるようにそれぞれ 2 群ずつに分けた。各ラット群の一方には高炭水化物食を与える群、もう一方は高脂肪食を与える群とし、それぞれエネルギーとたんぱく質の摂取量が同等になるようにペアフィードで試験食を与え 7 週間飼育した。7 週間後に経口血糖負荷試験を行った後、24 時間尿、血漿、腎臓を採取した。腎臓は組織学的評価および脂質代謝に関わる遺伝子発現量の測定に用いた。

(2) 実験 2. 高脂肪食による腎臓の脂肪蓄積に対する EPA の効果の検討

実験 1 と同様に DN ラットとコントロールラットを高炭水化物食か高脂肪食に分け、さらに DN ラットは高脂肪食に EPA を加えて与える群を設計し 5 群で実験した。EPA は 1g/体重 1kg となる量を高脂肪食の脂質に置き換えて配合して与えた。7 週間後に 24 時間尿、血漿、腎臓を採取した。腎臓は組織学的評価および腎臓の脂肪酸組成の測定に用いた。

4. 研究成果

(1) 実験 1. 高脂肪食が DN モデルラットにおいて腎臓に脂肪を蓄積する機序の検討

DN モデルラットにおいて、高炭水化物食を与えた DN ラットよりも高脂肪食を与えた DN ラットは腎機能が低下し、尿蛋白排泄が増加した。また腎臓を組織学的に評価すると、高脂肪食を与えた DN ラットにおいて顕著な脂肪蓄積がみられた。高脂肪食を与えた DN ラットでみられた腎臓の脂肪蓄積は近位尿細管特異的にみられた。そのため、近位尿細管の障害マーカーである L 型脂肪酸結合蛋白 (L-FABP) を評価したところ、高脂肪食を与えた DN ラットで顕著に L-FABP の尿中排泄量の増加が認められた。このことから、DN ラットでは高炭水化物食よりも高脂肪食によって腎臓の近位尿細管が障害されることが明らかとなった。近位尿細管において中性脂肪の蓄積が顕著であったことから、脂肪酸の利用が低下しているか脂肪酸の合成が増加していることが考えられたため、脂肪酸からエネルギーを産生する際に関わる酵素 (Cpt1 および Cpt2) と脂肪酸の合成に関わる酵素 (Acc, Fas) の遺伝子発現量を調べたところ、高脂肪食を与えた DN ラットはコントロールラットに比べて脂肪酸からのエネルギー産生に関わる酵素の遺伝子発現量は増加し、脂肪酸合成に関わる酵素の遺伝子発現量は低下していた。本研究結果はこれまでに報告されている研究とは異なる結果であり、本研究の DN モデルラットにおいては脂質代謝異常が近位尿細管の脂肪蓄積の主な

原因ではないことが示唆された。そのため、近位尿細管の脂肪蓄積に用いられる脂肪酸は腎組織中で合成されたのではなく、細胞外から細胞内に取り込まれた可能性が考えられた。そこで、本研究では近位尿細管の脂肪酸取り込みに関わる輸送体と近位尿細管において脂肪酸の再吸収に関わる脂肪酸輸送タンパク質の遺伝子発現量を調べた。その結果 DN ラットではコントロールラットに比べて、これらの脂肪酸の輸送体の遺伝子発現量が増加していた。また、DN ラットの高脂肪食群では高炭水化物食群よりも脂肪酸の輸送体が増加傾向を示した。高脂肪食を与えた DN ラットでは血中の遊離脂肪酸が顕著に高く、また、尿蛋白排泄量も多かった。血中の遊離脂肪酸はアルブミンと結合して体内を輸送されているが、糖尿病が進展するとアルブミンは糸球体から漏出するようになるため、脂肪酸もアルブミンと共に尿細管に漏出するようになる。そのため、脂肪酸の再吸収に関わる脂肪酸輸送タンパク質の発現が増加した DN ラットでは近位尿細管で脂肪酸の再吸収が多くなったと考えられる。また、脂肪酸は細胞内では脂肪毒性を有するため、中性脂肪に合成され脂肪滴に蓄積される。本研究では脂肪酸から中性脂肪を合成する際に働く酵素 (*Dgat2*) の遺伝子発現量が高脂肪食を与えた DN ラットで増加することも確認されたことから、近位尿細管で大量に取り込まれた脂肪酸は中性脂肪として脂肪滴に取り込まれたことが示唆された。これらのことから、DN ラットでは、高脂肪食によって血中の遊離脂肪酸が増加することに加えて腎臓における脂肪酸の輸送体が増加することにより近位尿細管に大量の脂肪酸を取り込むことになり、その脂肪毒性により腎臓を障害していると考えられた(図 1)。

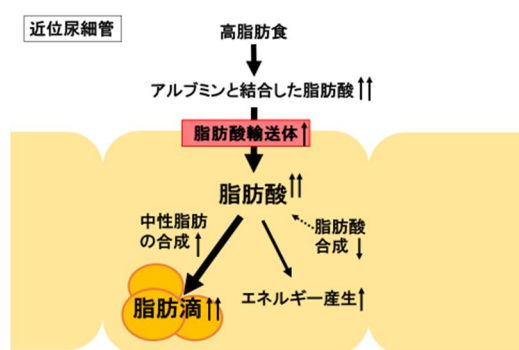
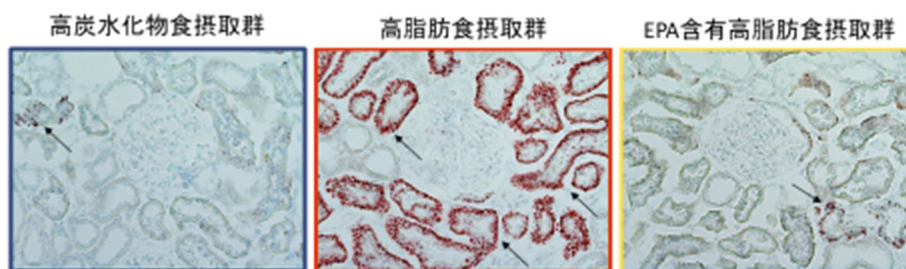


図 1 本研究の DN ラットにおいて腎臓に脂肪酸が蓄積した機序の模式図

(2) 実験 2 . 高脂肪食による腎臓の脂肪蓄積に対する EPA の効果の検討

実験 1 では、高脂肪食による血中の脂肪酸の増加が近位尿細管の脂肪酸取り込みを増加させ、腎臓の脂肪蓄積の原因となることが考えられたため、血中脂質の改善効果がある EPA を高脂肪食に加えて DN ラットに与え、腎臓の脂肪蓄積を低減するか検討した。その結果、DN ラットに EPA を加えた高脂肪食を摂取させると、高脂肪食を摂取した DN ラットに比べて血中の中性脂肪が低下し、さらに近位尿細管の脂肪蓄積が顕著に低下した(図 2)。



Oil red O 染色による中性脂肪の染色像
矢印は脂肪滴を示す。

図 2 . DN ラットにおける脂肪蓄積の結果

腎臓の脂肪酸組成について GC-MS で測定したところ、高脂肪食を与えた DN ラットでは食餌に多く含まれていた飽和脂肪酸(パルミチン酸、ステアリン酸)が顕著に検出された。一方、EPA 含有の高脂肪食を摂取した DN ラットでは飽和脂肪酸の量はコントロールラットや高炭水化物食を与えた DN ラットと同程度だった。また、EPA 含有の高脂肪食を与えた DN ラットにおいて、EPA が多く検出された。このことから、腎臓に取り込まれる脂肪酸は食餌に由来することが示唆された。

しかし、EPA 摂取によって高脂肪食による腎臓の脂肪蓄積が軽減されたが、腎機能を表す

クレアチニンクリアランスは EPA 摂取により改善しなかった(図 3)。

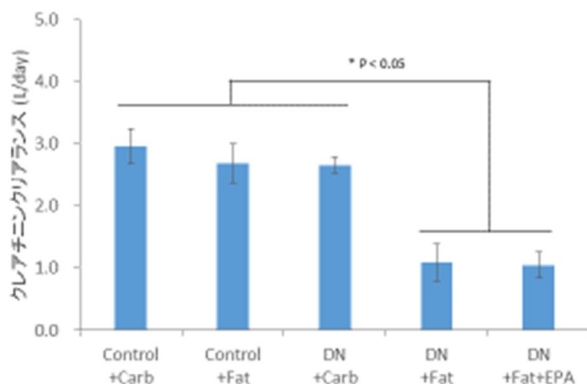


図 3 . クレアチニンクリアランス

また、L-FABP の尿中排泄量にも有意差は見られなかった。これらのことから、高脂肪食摂取による DN ラットの腎障害の要因は組織中の脂肪酸の増加や脂肪蓄積だけでは説明ができなかった。本研究では EPA によって血中の中性脂肪、腎臓中の脂肪量は低減されたが、摂取した脂質はほとんどが飽和脂肪酸であったことから、EPA の効果が十分ではなかった可能性がある。

以上の結果から、高脂肪食は血中脂質の増加を介して腎臓の脂肪蓄積を増加させることが示唆された。しかし、EPA によって腎臓の脂肪蓄積を改善しても腎機能の低下を抑制することはできなかった。したがって、高脂肪食の摂取は DN ラットにおいて腎臓の脂肪蓄積以外の機序によって腎障害を進展させ、腎機能を低下させる可能性があることが考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 吉田卓矢、杉本実穂、熊谷裕通	4. 巻 32
2. 論文標題 食餌中の脂質が慢性腎臓病における腎臓の脂肪蓄積に与える影響	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 94-97
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 杉本実穂、吉田卓矢、池谷直樹、熊谷裕通
2. 発表標題 糖尿病性腎症モデルラットにおける食餌の脂肪エネルギー比率の違いが腎臓に与える影響の検討
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Miho Sugimoto, Takuya Yoshida, Naoki Ikegaya, Hiromichi Kumagai
2. 発表標題 Effect of dietary fat/carbohydrate ration on renal lipid deposition in rats with diabetic nephropathy
3. 学会等名 American Society of Nephrology, Kidney Week 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 1. 杉本実穂、吉田卓矢、池谷直樹、馬場直道、三澤嘉久、熊谷裕通
2. 発表標題 糖尿病性腎症モデルラットにおいてエイコサペンタエン酸が腎臓中の脂肪蓄積に及ぼす影響
3. 学会等名 日本病態栄養学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miho Sugimoto, Takuya Yoshida, Naoki Ikegaya, Hiromichi Kumagai
2. 発表標題 Effect of dietary fat/carbohydrate ration on renal lipid deposition in rats with diabetic nephropathy
3. 学会等名 第22回健康長寿学術フォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉本実穂、吉田卓矢、池谷直樹、熊谷裕通
2. 発表標題 高脂肪食が糖尿病性腎症モデルラットの腎機能と腎組織像に及ぼす影響の検討
3. 学会等名 日本病態栄養学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	熊谷 裕通 (Kumagai Hiromichi) (40183313)	静岡県立大学・食品栄養科学部・教授 (23803)	