

令和 6 年 5 月 3 日現在

機関番号：27401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11795

研究課題名（和文）慢性腎臓病の腎線維化に食餌および運動が与える影響の検討

研究課題名（英文）Effects of diet and exercise on renal fibrosis in chronic kidney disease model rats

研究代表者

吉田 卓矢（Yoshida, Takuya）

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：80622448

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：慢性腎臓病の腎臓では、エネルギー代謝の異常がみられ、腎障害の進展に関与していると考えられている。また、腎障害の進展は、骨格筋の萎縮を促進し、サルコペニアの合併にも関与する。本研究では、慢性腎臓病モデルラットを用いて、食餌療法および運動療法が、腎臓の線維化および骨格筋に及ぼす影響を検討した。その結果、運動は、高脂肪食を与えたラットに対して腎保護作用があることが明らかになった。また、食事の脂質含有量を低くすることで、運動と同様に腎障害の進展を抑制した。さらに食事と運動を組み合わせることは、骨格筋の量ではなく、質に影響することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、世界的に慢性腎臓病患者数が増加している。慢性腎臓病の食事療法や運動療法については、科学的根拠が少ないため、誤った食事療法や運動制限が行われたりしている。本研究により、食事と運動療法を組み合わせることで腎障害の進展を抑制することが慢性腎臓病によるサルコペニアにも有用である可能性が示唆された。今後、さらに詳細に適切なエネルギー産生栄養素の摂取比率や運動による効果が明らかとなれば、食事療法や運動療法による慢性腎臓病の予防や重症化予防の重要性が明らかとなり、患者の健康寿命の増進、QOLの改善、医療費の削減などに貢献できる可能性があるため、本研究成果は社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In chronic kidney disease, abnormalities in energy metabolism are observed in the kidneys, and it may relate to the progression of renal damage. Furthermore, progression of renal damage induces skeletal muscle atrophy, which contributes to sarcopenia. In this study, we investigated the effects of diet and exercise on renal fibrosis and skeletal muscle mass and quality using chronic kidney disease model rats. The results showed that exercise had a renal protective effect in the rats fed a high-fat diet. In addition, lowering the fat content in the diet inhibited the progression of renal damage, similar to the effect of exercise. The combination of diet and exercise was suggested to affect the quality, rather than the skeletal muscle mass.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：腎臓 脂質 代謝 運動

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の慢性腎臓病 (CKD) 患者数は年々増加傾向にあり、その背景には高齢化や生活習慣病患者数の増加がある。CKD は我が国における新たな国民病として位置づけられるようになり、CKD の予防、さらに重症化予防は我が国の喫緊の課題と言える。また、近年、サルコペニアを合併した CKD 患者は生命予後が悪いことが明らかとなり、高齢の CKD 患者が多い我が国では、CKD のサルコペニア対策の重要性が認識されるようになってきた。最近では CKD のサルコペニア対策として運動療法の有用性が動物実験や臨床研究で報告され、世界各国の CKD におけるガイドラインにおいても定期的な運動や身体活動量の増加が推奨されている。また、CKD における運動の効果は筋肉だけではなく、腎臓の保護に対しても有用であることがいくつかの研究で示されている。しかし、運動が腎臓の線維化を抑制する詳細なメカニズムは十分に明らかにされていない。CKD の腎臓ではミトコンドリア機能が低下しており、脂肪酸分解が低下して糸球体や近位尿細管に異所性脂肪の蓄積がみられる。糸球体および尿細管におけるミトコンドリア機能の低下には、エネルギー代謝調節に重要な PGC-1 の低下が関与していることが明らかになっているが、腎臓の PGC-1 の低下は、腎組織中の異所性脂肪の蓄積だけでなく、腎線維化の進展にも直接関与していることが報告されている。一方で運動は骨格筋においてエネルギー代謝に關与するペルオキシソーム増殖因子活性化レセプター 共役因子 1 (PGC-1) の発現を増加させることがよく知られている。このことから、運動は、筋肉のように腎臓でも PGC-1 を活性化し、腎臓の線維化抑制に關与する可能性がある。しかし、これまでに、運動が CKD の腎線維化を抑制するメカニズムとして腎臓の PGC-1 を介したエネルギー代謝調節に着目した研究はない。

また、運動はエネルギー消費を増大させるため、筋蛋白が異化しやすい CKD ではエネルギー不足にならないように、いかにエネルギーを補給するかが重要なポイントとなる。CKD では、たんぱく質の過剰な摂取により腎機能の低下が進展することから、たんぱく質摂取量が多くならないようにエネルギーを脂質と炭水化物によって充足させる必要がある。しかし、運動によるエネルギー消費分を充足させるためにエネルギー産生栄養素として脂質と炭水化物のどちらがよいかはこれまで検討されていない。腎臓の食事療法や運動療法については、以上のような明らかにされていない問題が存在している。

### 2. 研究の目的

本研究では運動が腎線維化を抑制するメカニズムとして PGC-1 を介したエネルギー代謝の関与を明らかにすること、また、CKD において食餌中のエネルギー産生栄養素の違いが運動の効果に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

実験には 12 週齢の雄性 Wistar ラット (Japan SLC, Hamamatsu, Japan) を用いた。ラットは 42 匹購入し、29 匹を CKD 群、13 匹を Sham 群とした。搬入後 1 週間は、市販の固形飼料と水を自由に与えて飼育環境に順化させた。順化後、CKD 群のラットは三種混合麻酔 (ドミトール 7.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , ミダゾラム 0.4mg/mL, ベトルファール 0.5mg/mL) 下で片腎を摘出し、Sham 群のラットには麻酔下で Sham 手術を行った。片腎摘後に CKD 群には腎臓に負荷をかけるために高脂肪食 (HFD) を自由摂食させ 6 カ月間飼育した。6 カ月後に CKD 群のラットで尿たんぱく排泄量が増加したことを確認し、CKD 群のラットを 4 群に分けた。一方、Sham 群のラットは 2 群に分けた。CKD 群は HFD を引き続き与える群と食事を HFD から普通食 (脂肪含有量が少なく炭水化物が多い餌、ND) に変更して与える群に分けた。Sham ラットには、実験期間中 ND を与えた。CKD ラットと Sham ラットをそれぞれ運動群と非運動群に分け、食餌と運動の条件の違いで最終的に 6 群 (CKD-HFD、CKD-HFD+Ex、CKD-ND、CKD-ND+Ex、Sham、Sham+Ex) に分けて実験を行った。群分け後は、ラットを個別飼育して毎日体重と摂餌量を測定し、ペアフィードで体重あたりの摂餌量が同程度になるように給餌して飼育した。運動群にはトレッドミルで 20m/分、30 分/日、5 日/週の運動を実施した。11 週間の運動後、個別の代謝ケージに移し 24 時間尿を採取した。24 時間尿は、尿蛋白質排泄量、尿中クレアチニン排泄量、尿細管障害のマーカーである尿中 L-fatty acid binding protein 1 (L-FABP1) 排泄量の測定に用いた。運動負荷 12 週目に全てのラットを 16 時間絶食後に三種混合麻酔下で開腹し、下大動脈から採血し、冷却した PBS (phosphate buffered saline pH7.4) で灌流した。腎臓、腓腹筋を採取し実験に用いた。

腎臓は組織学的に脂肪蓄積および線維化の評価に用いた。また、腎組織から mRNA を抽出し脂肪酸代謝や炎症、線維化に関する遺伝子発現量を評価した。腓腹筋を用いて、筋線維横断面積および骨格筋の線維タイプを評価した。

### 4. 研究成果

体重は、CKD モデルラットにおいて、運動をしていない CKD-HFD 群および CKD-ND 群は、Sham ラットに比べて有意に高値であったが、運動をした CKD-HFD+Ex 群および CKD-ND+Ex 群は、体重増加が有意に抑制された。HFD と ND の食餌の違いによる差はみられなかった (図 1)。腎臓重量は、CKD ラットの 4 群で片腎摘による肥大化が見られ、sham ラットの 2 群よりも有意に高値だ

ったが、CKDの4群間で有意な差は見られなかった。腓腹筋の重量は、CKD-HFD+Ex群でCKD+ND群よりも有意に低値であったが、他の群間では有意な差は見られなかった。また、他の下肢筋肉においても著しい筋萎縮はみられなかった。

腎障害の評価として、尿蛋白排泄量はCKD-HFD群に比べて運動を負荷したCKD-HFD+Ex群で有意に低下した(図2)。また、食事をNDに変更したCKD-ND群、CKD-ND+Ex群においても有意に尿蛋白排泄量が低下していた。尿中L-FABPにおいても同様の結果であった。一方で、クレアチニンクリアランスは、CKDの4群間で有意な差はみられなかった(図2)。

腎臓の組織学的評価では、CKD-HFD群に比べ、運動を負荷したCKD-HFD+Ex群で尿細管の間質障害度(TII)が低下した。

CKD-HFD群において、腎臓中の炎症のマーカーであるIL-6やTNF- $\alpha$ の遺伝子発現量が増加しており、腎尿細管障害のマーカーであるKim-1の発現量も増加していた。また線維化のマーカーであるFibronectin 1の発現量も増加していた。

一方で、運動はこれらの遺伝子発現量を低下させ、腎障害の組織学的評価と同様の結果を示した。

運動によるCKDの腎障害抑制のメカニズムとしてPGC-1

および脂肪酸代謝に関連する遺伝子(Cpt1, Cpt2, Crat等)の発現量を検討したが、本研究において、PGC-1や脂肪酸代謝に関連する遺伝子の発現量は、各群間で有意な差は見られなかった。CKDラットにおいて各ラットのCKDの重症度のバラつきが本結果に影響していることが考えられた。そこで、PGC1や脂肪酸代謝に関連する遺伝子の発現量と尿細管間質障害度の相関を調べたところ、これらの遺伝子発現量は、TIIと有意な負の相関を示した(図3)。これらの結果は、CKDにおける腎障害の進展とPGC-1および脂肪酸代謝の関係を示唆しているが、運動による腎障害抑制効果の直接的な要因であるかは明らかではない。運動は、全身へも影響することから、全身の脂質代謝の改善が、結果として腎臓に良い効果をもたらしている可能性もある。今後、腎臓と他の臓器との連関について検討し、運動による腎障害抑制効果の詳細な機序が明らかになることが望まれる。

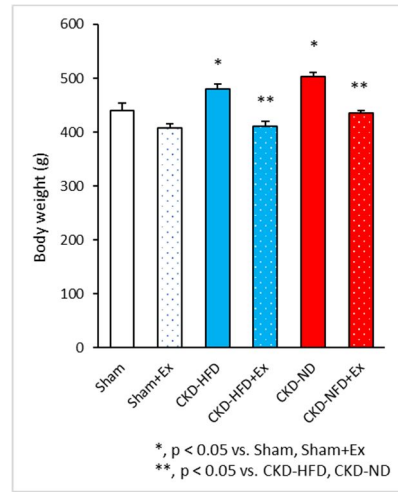


図1 体重

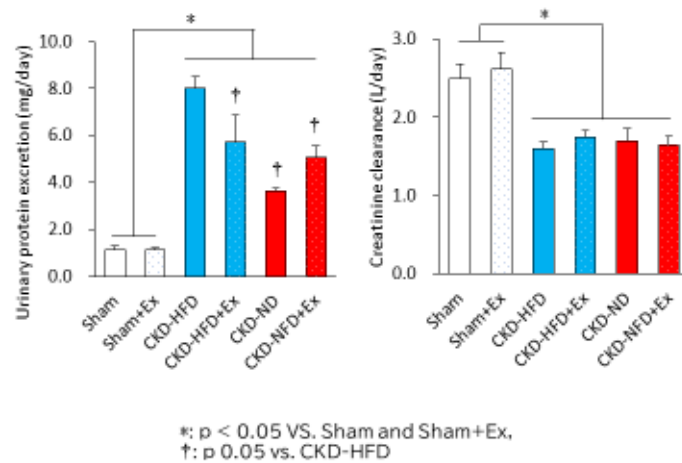


図2 尿蛋白排泄量およびクレアチニンクリアランス

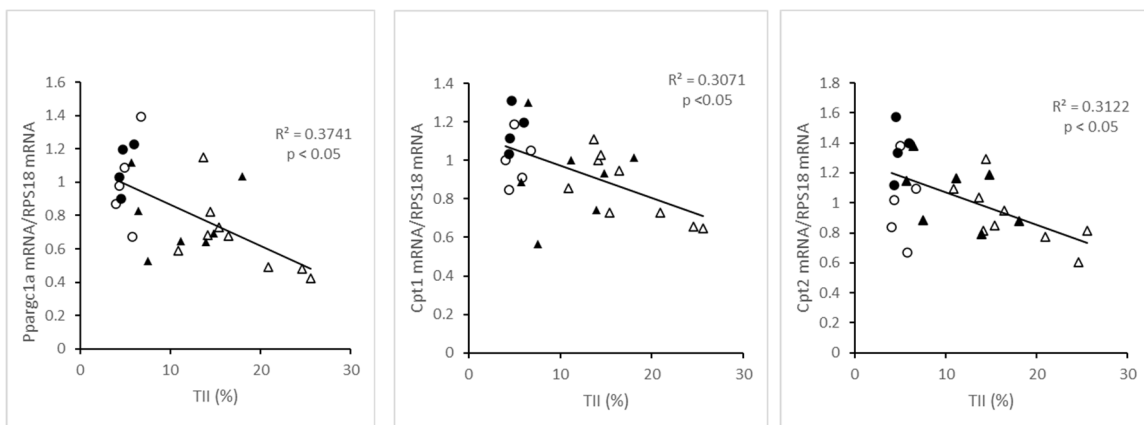


図3 腎障害とPGC-1および脂肪酸代謝に関連する遺伝子発現との関連

次に、運動が骨格筋に及ぼす影響について検討した。HFDによるCKDや食餌の違い、運動の有無によって骨格筋の重量に差は見られなかった。しかし、ミオシン重鎖のタイプから運動による骨格筋の遅筋化を評価したところ、CKD-HFDでは、Shamに比べて骨格筋の遅筋化率が低下することが明らかとなった。一方、食餌をNDに変えたCKD-ND群では、運動による骨格筋の遅筋化が

Shamと同程度であった(図4)。これらのことから、本研究において、運動は、CKDによる骨格筋の量よりも質を改善する効果が示唆された。しかし、本研究では、食事をHFDからNDへ変更することで、腎障害の進展が抑制されたことから、食餌の効果か、食餌を変更することによってCKDの進展が抑制された結果として運動による骨格筋の質を改善することにつながったかは明らかではない。以上の結果から、CKDに対して運動は腎障害を抑制することが示唆されたが、運動の効果をさらに発揮させるためには食餌中のエネルギー産生栄養素についてはさらなる検討が必要である。しかしながら、腎臓への負担を軽減できる食餌を選択することは、運動の効果を腎臓だけでなく、筋肉の質を改善するためにも重要となる可能性が示唆された。今後さらに長期的に観察することにより腎障害による予後への影響や重症化したモデルにおいても同様の結果が得られるか検討したい。

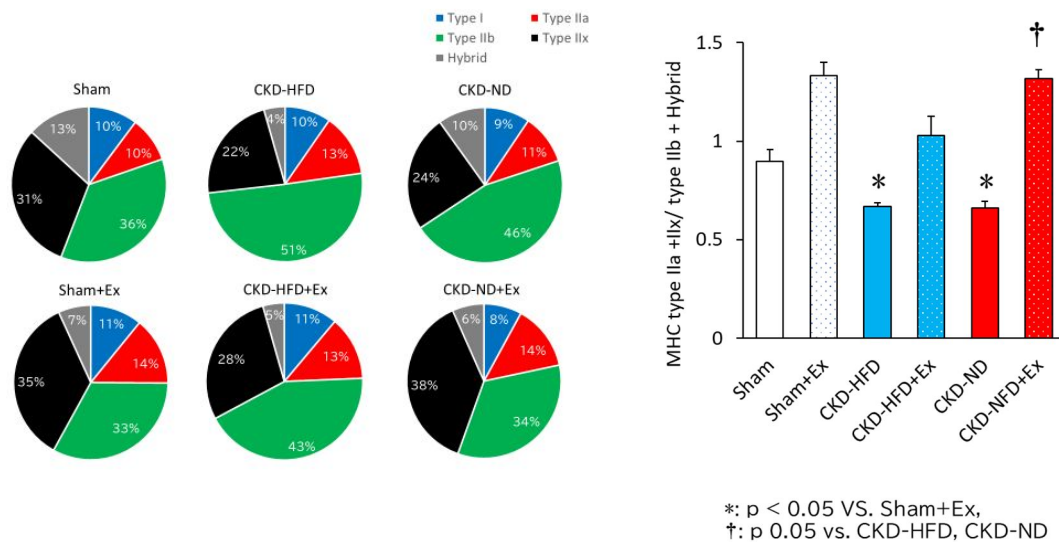


図4 腓腹筋におけるミオシン重鎖のタイプと遅筋化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大泉萌絵、吉田卓矢、保坂利男
2. 発表標題 高脂肪食による慢性腎臓病モデルラットにおける持続的運動の効果
3. 学会等名 日本腎臓リハビリテーション学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田卓矢、前村祐理子、熊本郁香、黒瀬奈月、池田結李
2. 発表標題 食餌と運動が持久性運動による慢性腎臓病モデルラットの筋線維タイプ変換に及ぼすの影響
3. 学会等名 第27回日本病態栄養学会
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------