

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15679

研究課題名（和文）腎疾患の犬と猫において腎臓の脂質代謝異常が尿中脂質プロファイルに与える影響

研究課題名（英文）Influence of renal lipid metabolism abnormalities on urinary lipid profiles in dogs and cats with renal disease

研究代表者

高島 諭（Takashima, Satoshi）

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：70734664

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：慢性腎臓病（CKD）と非罹患の猫の腎臓を材料に含有する脂肪酸を網羅的に解析し、さらに脂肪酸代謝に関わる転写因子の発現を評価した。CKD症例の腎臓において一部の脂肪酸種の含有と不飽和脂肪酸合成の促進に関わるSREBP1の発現が多い傾向を認めた。この結果からCKDの猫の腎臓における脂肪酸の蓄積と不飽和化を予想した。次にCKDと非CKDの猫と犬において尿中の脂肪酸を網羅的に解析した。猫ではCKD症例の尿にC16:1、C18:1、C18:2といった不飽和脂肪酸を多く含有したが、犬でも同様の傾向を認めた。以上から、CKDなどの腎疾患の猫や犬では尿への一部の不飽和脂肪酸の排泄が増加する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CKDに罹患した猫では一部の脂肪酸種が腎尿細管領域に蓄積し、それらに由来する不飽和脂肪酸の尿への排泄が増加すると考えられ、犬でも腎疾患の病態によっては同様の傾向を示すと考えられた。SREBP1は組織における脂肪酸の合成を促進するとともに、飽和脂肪酸を組織傷害性のない不飽和脂肪酸に変化させる組織の保護機能を有している。そのため腎疾患により腎臓組織が傷害されると尿への不飽和脂肪酸の排泄が増加する可能性が考えられた。尿中における一部の中鎖不飽和脂肪酸については、CKDをはじめとする腎疾患の臨床マーカーとしての利用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：We comprehensively analyzed the fatty acid content of the kidneys of cats with and without chronic kidney disease (CKD) as material and further evaluated the expression of transcription factors involved in fatty acid metabolism; we found a trend toward higher content of some fatty acid species and expression of SREBP1, which is involved in promoting unsaturated fatty acid synthesis, in the kidneys of CKD cases. These results predicted fatty acid accumulation and unsaturation in the kidneys of cats with CKD. Next, we comprehensively analyzed urinary fatty acids in CKD and non-CKD cats and dogs. In cats, the urine of CKD cases contained high levels of unsaturated fatty acids such as C16:1, C18:1, and C18:2, while a similar trend was observed in dogs. These results suggest that the excretion of some unsaturated fatty acids in urine may be increased in cats and dogs with renal diseases such as CKD.

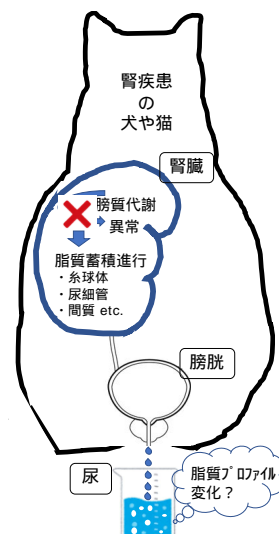
研究分野：獣医内科学

キーワード：尿中不飽和脂肪酸 SREBP1 慢性腎臓病 猫 犬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、人では、慢性腎臓病をはじめとした腎疾患の進行に腎臓における脂質代謝異常が関係すると言われている¹⁾。マウスの腎臓では、脂肪酸の酸化に關係する遺伝子を調整する転写因子である“peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)”や“PPAR”の活性低下、脂肪酸やコレステロールの合成経路を制御する転写因子である“sterol regulatory element binding protein (SREBP)”の発現亢進があると、糸球体上皮細胞、間質細胞および尿管上皮細胞への脂質の蓄積が進行する²⁻⁴⁾。腎臓への脂質の過剰な蓄積は、腎組織の傷害につながる事が報告されている^{5, 6)}。そのため、腎臓における脂質代謝異常と尿中脂質との関係を明らかにできれば、尿に含まれる脂質の量や種類といった脂質プロファイル、腎傷害を反映する価値ある指標として利用できる可能性がある。一方で、犬や猫の腎臓には正常でも多量の脂質が存在しており⁷⁾、尿沈渣にも脂肪滴として出現することから、尿中脂質の臨床病理学的な意義は低いと考えられてきたため、尿中脂質と腎疾患との関係について十分に研究されてこなかった。



参考文献

- 1) Herman-Edelstein M, et al. *J Lipid Res* 55, 561-572, 2014.
- 2) Wang Z, et al. *Diabetes* 54, 2328-2335, 2005.
- 3) Kouroumichakis IN, et al. *Eur. J. Intern. Med* 23, 309-316, 2012.
- 4) Jiang T, et al. *Am Biol Chem* 280, 32317-32325, 2005.
- 5) Wahba IM and Mak RH. *J Am Soc Nephrol* 2, 550-562, 2007.
- 6) Tanaka Y, et al. *Kidney Int* 79, 871-882, 2011.
- 7) 日本獣医病理学会編, *動物病理学各論*, 279-314, 2006.

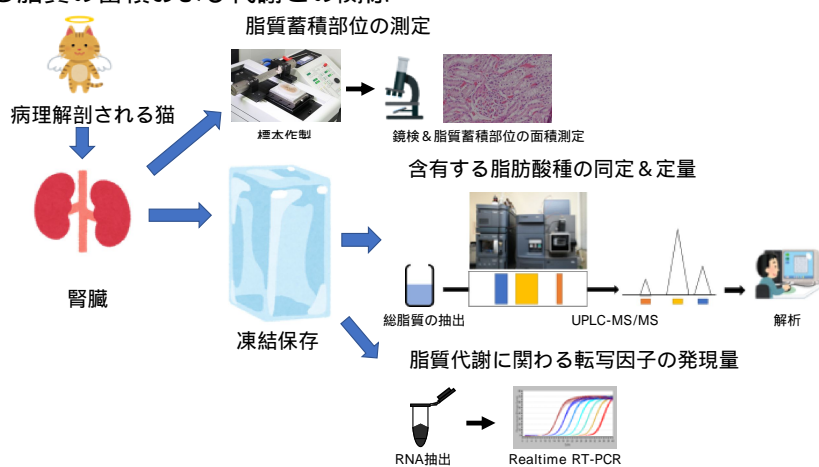
2. 研究の目的

「腎疾患の犬や猫における尿中脂質プロファイルと腎臓における脂質代謝の関係を明らかにすること」を最終的な目的に、脂質として脂肪酸を中心に解析を実施した。本研究の目的は、1) 腎疾患と腎臓における脂質の蓄積および代謝との関係を評価すること、2) 腎疾患と尿中脂肪酸プロファイルとの関係を評価することであった。

3. 研究の方法

1) 腎疾患と腎臓における脂質の蓄積および代謝との関係

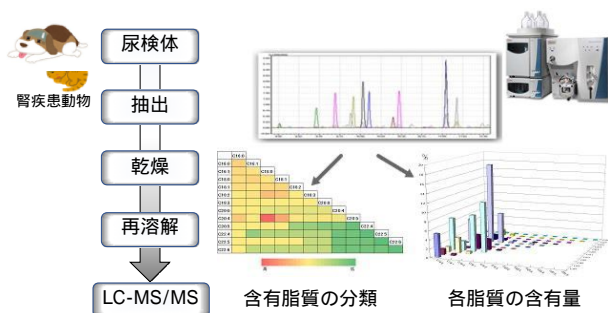
病理解剖に供されたCKD (n=2) と正常 (n=2) の猫から採取した腎臓を用いて以下の評価を行なった；脂質蓄積部位の測定、含有する脂肪酸種の同定と定量、脂質代謝に関わる転写因子 (PPAR、PPAR および SREBP 1) の発現量の定量。腎臓における脂質蓄積部位の測定は、組織のホルマリン固定時に溶出した脂肪滴の痕跡である空胞の面積を測定することで評価した。腎臓組織に含まれる脂肪酸種は、ホモジナイズにより得た組織懸濁液から総脂質を抽出した後、超高速液体クロマトグラフィー質量分析 (UPLC-MS/MS) により解析した。腎臓組織に含まれる脂肪酸の定量値は、内部標準 (オレイン酸) に対する含量比を計算し、さらに組織懸濁液の総タンパク質濃度で補正することで算出した。腎臓における PPAR、PPAR および SREBP 1 の発現量については、組織から総 RNA を抽出した後リアルタイム RT-PCR により定量し、同時に定量した GAPDH に対する相対値を算出することで得た。



2) 腎疾患と尿中脂肪酸プロファイルとの関係

CKD (n=9) と正常 (n=13) の犬から採取した尿に含まれる脂肪酸の種類や量を測定した。また、

CKD (n=8) と正常 (n=9) の猫についても尿を採取して同様に測定した。検体として用いる尿は前処理で総脂質を抽出した後、UPLC-MS/MS により解析した。各脂肪酸の尿中定量値は、内部標準 (オレイン酸) に対する含量比を計算し、さらに尿中のクレアチニン濃度で補正することで算出した。尿中脂肪酸総量は、測定できた脂肪酸の定量値を合計することで算出した。



4. 研究成果

1) 腎疾患と腎臓における脂質の蓄積および代謝との関係

剖検された猫の腎臓組織における空胞は尿細管領域に多く存在し、その割合は CKD に罹患した猫の方が非 CKD 猫より多い傾向を示した。腎臓組織に含有する脂肪酸の種類は、C16:0、C16:1 および C18:0 が多く、これらの含有量は総じて CKD に罹患した猫のほうが罹患していない猫よりも多い傾向を示した。脂質代謝に関わる転写因子の発現量は、PPAR と PPAR については CKD の有無に関係なく同等であったが、SREBP1 については CKD に罹患した猫の方が多い傾向を示した。これらの結果から、CKD に罹患した猫の腎臓では SREBP1 の発現が増加し、尿細管領域への C16:0、C16:1 および C18:0 などをはじめとする脂肪酸の蓄積が増える可能性が考えられた。

2) 腎疾患と尿中脂肪酸プロファイルとの関係

尿中の脂肪酸総量は、犬においては腎疾患の有無による差を認めなかったが、猫においては CKD に罹患した猫が多く、糸球体濾過料の低下に伴い増加する傾向を認めた。また、CKD に罹患した猫では、C16:1、C18:1 および C18:2 といった中鎖の不飽和脂肪酸種において特に顕著に尿中含量が多かった (図 1)。犬ではこの傾向を一部の CKD 症例に限って認めた (図 2)。

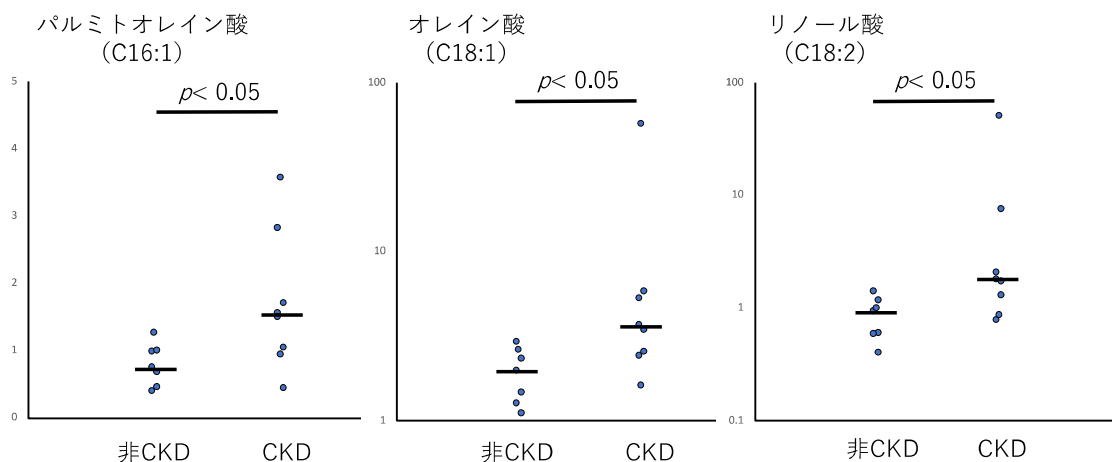


図 1 猫におけるCKDの有無による尿中不飽和脂肪酸含量の比較

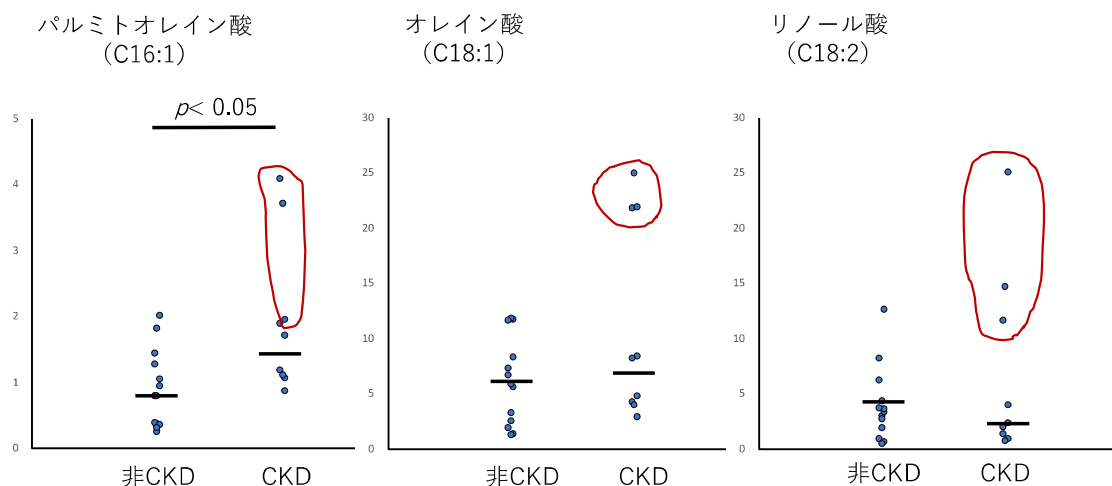


図 2 犬におけるCKDの有無による尿中不飽和脂肪酸含量の比較

考察

CKD に罹患した猫では一部の脂肪酸種が腎尿細管領域に蓄積し、それらに由来する不飽和脂肪

酸の尿への排泄が増加すると考えられ、犬でも腎疾患の病態によっては同様の傾向を示すと考えられた。SREBP1 は組織における脂肪酸の合成を促進するとともに、飽和脂肪酸を組織傷害性のない不飽和脂肪酸に変化させる組織の保護機能を有している。そのため腎疾患により腎臓組織が傷害されると尿への不飽和脂肪酸の排泄が増加する可能性が考えられた。尿中における一部の中鎖不飽和脂肪酸については、CKD をはじめとする腎疾患の臨床マーカーとしての利用が期待できる。

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 廣瀬弘太郎、高島 諭、小島 結、西飯直仁
2. 発表標題 イヌの腎障害における尿中コレステロール濃度測定の有用性
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高島 諭、那須智美、高島茂雄、小島 結、西飯直仁
2. 発表標題 慢性腎臓病の犬と猫における尿中脂肪酸の解析
3. 学会等名 第166回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2023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
---------	---------