

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：34507

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20167

研究課題名(和文)CKDにおける脂肪酸代謝に着目したPEW発症機序の解明と食事療法の開発

研究課題名(英文)the elucidation of the mechanism of PEW onset in CKD

研究代表者

伊美 友紀子 (Imi, Yukiko)

甲南女子大学・医療栄養学部・助手

研究者番号：60823979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(CKD)における脂肪萎縮や筋萎縮を特徴とするProtein-Energy Wasting (PEW)の発症メカニズムの解明を目的として、アデニン誘導性CKDモデルラットを用いて検討を行った。アデニンの混餌投与により著しい体重減少と、体重当りの白色脂肪組織量の減少がみられた。肝臓中の脂質含量も減少しており、白色脂肪組織と肝臓で脂肪合成関連遺伝子の発現減少と脂肪分解関連遺伝子の発現増加が確認された。アデニン投与群では血中遊離脂肪酸濃度が減少しインスリン抵抗性も見られなかったことから、アデニン投与による腎障害ではエネルギー消費が亢進することで体脂肪量が減少する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PEWはCKD患者において予後の悪化につながることから、その予防法や治療法の確立が求められる。PEW発症のメカニズムは摂食量低下による低栄養だけでなく炎症やインスリン抵抗性など様々な要因が関与していると考えられる。そのメカニズム解明や食事療法の開発には、実験動物を用いた検討が必要であり、本研究ではアデニン投与によるCKDモデル動物のエネルギー代謝や脂肪酸組成について示した。結果はこれまでヒトにおける報告と矛盾したものとなったが、モデル動物についての新たなデータを示した学術的意義のある成果となった。

研究成果の概要(英文)：CKD patient often becomes the state known as protein-energy wasting (PEW) which shows depletion of whole protein and energy fuel such as fat. In this study, we investigated the effect of primary kidney dysfunction on lipid metabolism and fatty acid composition using adenine-induced CKD model rats to reveal the mechanism of PEW onset. Adenine intake induced marked reduction of body weight, fat mass, and hepatic lipid accumulation. Lipogenic genes expression was decreased and lipolytic genes expression was increased in the liver and white adipose tissue of adenine group. Fatty acid composition was changed by adenine. Monounsaturated fatty acid levels were decreased consistent with fatty acid desaturase expression in adenine group. Plasma unesterified fatty acid level was decreased in adenine group although lipolysis was enhanced. It is indicated that primary kidney dysfunction induced body fat reduction through by enhancing energy consumption.

研究分野：基礎栄養学

キーワード：脂肪酸組成

1. 研究開始当初の背景

Protein-Energy Wasting(PEW)は脂肪萎縮や筋萎縮を特徴とする慢性腎臓病(CKD)特有の低栄養状態であり、予後の悪化や生存率の低下につながるため適切な管理が必要である。しかしPEW発症のメカニズムや治療法に関しては未だ不明な点が多く、PEWは食欲・摂食量の低下による低栄養状態ではなく、その発症には全身の炎症反応やインスリン抵抗性、アシドーシス、酸化ストレスなど様々な要因が関連していると考えられている。さらに臨床研究では、白色脂肪組織から分泌されるアディポネクチンやレジスチンの血中濃度がPEWを合併したCKD患者で増加していることが報告されており、白色脂肪組織の機能が変動していることが示唆されている。CKDモデル動物では、脂肪量や骨格筋量減少、骨格筋や肝臓への異所性脂肪沈着、インスリン抵抗性が惹起されることが報告されているが、CKDにおける脂肪組織の代謝異常については明らかではない。

また、ステアрил-CoA 不飽和化酵素(SCD)1は、飽和脂肪酸を一価不飽和脂肪酸へ変換する酵素であり、パルミトレイン酸(C16:1)とオレイン酸(C18:1)を合成する。SCD1の発現減少は、ヒト近位尿管上皮細胞や高脂肪摂取時のマウス腎臓において脂肪酸代謝異常によるERストレスを惹起し、一価不飽和脂肪酸の添加により改善することが報告されている。白色脂肪組織でのSCD1の発現量が減少したマウスでは、血中パルミトレイン酸濃度の低下と肝臓での脂肪合成の亢進がみられ、パルミトレイン酸の投与により肝臓での脂質代謝異常が改善したことが報告されている。以上のように各組織の脂肪酸組成の変化はその組織の機能維持に關するだけでなく、血中へ放出され臓器連関にも關与すると考えられるが、CKDでの脂肪酸組成についての報告はみられなかった。

2. 研究の目的

本研究ではCKDモデル動物を用い、腎障害が白色脂肪組織、肝臓、骨格筋でのエネルギー代謝調節及び脂肪酸組成に及ぼす影響について明らかにし、新たな栄養療法の標的を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

雄性Wistarラットにアデニンを6週間混餌投与しCKDモデルとした。その後アデニンを含まない通常食を与え4週間飼育し、血漿、白色脂肪組織、肝臓、骨格筋、腎臓を採取した。血漿中の糖脂質代謝及び腎機能に関する生化学データを測定した。血漿、白色脂肪組織、肝臓、骨格筋、腎臓の脂肪酸組成、白色脂肪組織、肝臓、骨格筋のエネルギー代謝に關連する遺伝子のmRNA発現量及びタンパク量を測定した。脂肪酸組成やエネルギー代謝は高脂肪食によって変動する。脂質は効率の良いエネルギー源でもあることから、高脂肪食の摂取がPEW発症に關与するかどうかを検討するため、アデニン投与後、高脂肪食を投与する群も設けた。

4. 研究成果

本研究ではアデニン投与により著しい体重減少、脂肪組織量の減少がみられ、これはインスリン抵抗性によるものではなくエネルギー消費の亢進によるものである可能性を示した。

実験動物へのアデニン投与はCKDモデル動物の作製法として一般的であり多くのCKD研究で用いられているが、エネルギー代謝について検討した報告はなかった。前述のCKDモデル動物における脂肪量や骨格筋量減少、骨格筋や肝臓への異所性脂肪沈着やインスリン抵抗性の惹起は5/6腎臓摘出によるものである。本研究で用いたCKDモデル動物も脂肪組織量や速筋優位な骨格筋重量の減少はみられたが、肝臓への異所性脂肪沈着やインスリン抵抗性はみられず、寧ろコントロール群に比し肝脂肪量や血糖値、血中インスリン濃度は有意に低下していた。白色脂肪組織、肝臓、腓腹筋において、脂肪合成関連遺伝子の有意な低下と脂肪分解及び脂肪酸酸化関連遺伝子の有意な増加がみられた。腎機能マーカーとして血中クレアチニン濃度やリン濃度を測定したところ、アデニン投与群では有意な上昇がみられ、これまでに報告されている5/6腎臓摘出によるCKDモデルの値と同程度であった。CKDモデル作製方法の違いにより、糖脂質代謝の変動が異なる可能性が示唆された。

CKDモデル動物の脂肪酸組成についての報告は見当たらず、本研究ではアデニン投与によるCKDモデルの血中及び組織中の脂肪酸組成について検討した。アデニン投与群では血中の一価不飽和脂肪酸、特にC16:1の割合が減少し、C20以上の飽和脂肪酸が増加していた。この脂肪酸割合の変化は肝臓と白色脂肪組織での脂肪酸組成及び脂肪酸代謝酵素の遺伝子発現の変化と一致していた。C16:1の増加はインスリン抵抗性を改善することが報告されている一方、近年ヒトのCKD患者で血中一価不飽和脂肪酸が増加し、心血管疾患発症リスクとなることが報告されたが、本研究ではこれらの報告と矛盾する結果となった。

CKDラットではSCD1発現量の低下によりC16:0からC16:1の変換ができず、代償反応としてC20:0以上の飽和脂肪酸が生成されたと考えられることから、SCD1及び細胞内C16:1の減少が脂肪細胞に及ぼす影響について検討するため、脂肪前駆細胞である3T3-L1細胞へSCD1阻害薬

を添加したところ、細胞内への脂肪蓄積は著しく抑制された。脂肪酸合成過程において SCD1 より上流で関与する脂肪合成関連酵素や脂肪分解関連酵素のタンパク発現量には阻害剤は影響を与えなかった。また、SCD1 阻害により平常時では AKT リン酸化による同化作用は抑制されていたが、インスリン添加時におけるシグナル伝達は亢進する傾向がみられた。また、C22:0 添加においても細胞内脂肪蓄積が抑制された。平常時の AKT シグナルは上昇していた。SCD1 減少が肝臓に及ぼす影響として、ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞に対しても SCD1 阻害薬を用いて検討を行ったところ、細胞内脂肪蓄積量は減少した。一方、リノール酸/オレイン酸溶液の添加による細胞内脂肪蓄積量の増加は SCD1 阻害薬によって抑制されなかった。よって SCD1 発現量の減少や長鎖飽和脂肪酸の増加が肝臓や白色脂肪組織の脂肪量減少やインスリン感受性に関与する可能性が示唆された。

アデニン投与後高脂肪食の摂取は通常食の摂取に比し摂食量に差はなかったが、体重や脂肪量、骨格筋量を増加させた。これは摂取エネルギー量の増加によるものと考えらる。高脂肪食群において白色脂肪組織や肝臓で SCD1 の発現減少は増強され、脂肪分解酵素の発現増加は抑制されていた。高脂肪食は耐糖能異常や腎機能障害を惹起することが知られているが、高脂肪食群と通常食間で生化学データに差はみられなかった。この原因として、試験食摂取期間が短かったことや、上記研究で用いられている高脂肪食はラードなど飽和脂肪酸を豊富に含む脂肪が主体であるのに対し、本研究で用いた高脂肪食は不飽和脂肪酸を豊富に含む大豆油を主体としたものであったことが考えられる。しかしながら、脂肪酸の質を考慮した高脂肪食はエネルギー利用亢進状態における望まない異化代謝亢進に対し有用である可能性は否定できず、今後の検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------