

修士論文要旨

肥満及び糖尿病マウスの腎障害に及ぼす核酸系旨味物質投与の効果

別府大学大学院 食物栄養科学研究科 食物栄養学専攻修士課程

M1421001 川上凌人

【目的】 肥満はさまざまな疾患の誘因となることから世界的に深刻な健康問題となっている。さらに近年、肥満が慢性腎臓病の発症にも深く関与することが報告されている。また、糖尿病の進行によって引き起こされる合併症の一つである糖尿病性腎症は透析導入の主要な原因となり、経済的な負担が社会問題となっている。一方、細胞のエネルギーセンサーとして知られている AMP-activated protein kinase (AMPK) の活性化が、最近、エネルギー代謝の調節に加え免疫調節作用を持つことが明らかとなってきており、腎臓病の病態生理に関与していることが注目されている。そこで、本研究において実験 1-①及び 1-②では高脂肪食によって誘導した肥満によってもたらされる腎臓障害が AMP 投与により改善するか否か、そして、その改善には腎臓組織 AMPK 活性化が関与するか否かを検討した。実験 2 では 2 型糖尿病モデルである KK-Ay マウスを用いて、耐糖能及び糖尿病性腎症における腎臓炎症及び腎機能障害に対する AMP 及び IMP の効果について検討した。

【方法】 <実験 1-①> 4 週齢 C57BL/6j 雌マウスを Control 群、高脂肪食 (HFD) 群、AMP 添加高脂肪食 (HFD+AMP) 群の 3 群に分けた。Control 群には AIN93G 精製固形飼料を、HFD 群には高脂肪食を、HFD+AMP 群には AMP0.3% を含む高脂肪食を与えた。実験 10 週目に尿中 MCP-1 濃度を測定した。実験 12 週目にマウスをイソフルラン吸入麻酔下で採血して脱血死させ、腎臓を摘出した。摘出した腎臓は AMPK 及びリン酸化 AMPK (p-AMPK) 発現、炎症関連マーカーの測定と病理組織検査に供した。

<実験 1-②> 実験 1 の被検物の投与方法を飼料から飲料水へと変更し、また、実験期間を 12 週間から 20 週間へと延長して、実験 1 と同様の実験を行った。さらに腎臓組織の炎症を確認するため、尿中 MCP-1 濃度を実験 2、6 及び 12 週目に測定した。解剖時に摘出した腎臓は MCP-1 量の測定に供した。

<実験 2> 4 週齢の KK-Ay 雄マウス及び C57BL/6N 雄マウス (Control 群) を用いた。KK-Ay マウスは DM 群、DM+AMP 群、DM+IMP 群の 3 群に分けた。DM+AMP 群には AMP を蒸留水に添加したものを、DM+IMP 群には IMP を蒸留水に添加したものを飲料水として与えた (被検物摂取量: 10 mg/日/マウス)。飼料は AIN93G 精製固形飼料を与えた。実験 9 週目に尿中アルブミン及び MCP-1 濃度を測定し、実験 10 週目には経口グルコース負荷試験 (OGTT) を実施した。実験 11 週目に実験 1-①と同様の方法で解剖し、腎臓を摘出した。腎臓は炎症関連マーカーの mRNA 発現量の測定、AMPK 及び p-AMPK 検出、病理組織検査に供した。

【結果】 <実験 1-①> 及び <実験 1-②> において高脂肪食摂取により肥満と腎臓の肥大は誘導されたが、腎臓に炎症性の所見は認められなかった。また、AMP 投与は肥満マウスの体重、摂餌量、腎臓重量に影響しなかった。

<実験 2> 糖尿病マウスの腎臓に軽度から中等度の傷害が認められたが、AMP 及び IMP の投与による顕著な改善は認められなかった。OGTT を実施した結果、AMP 投与はグルコース投与後の血糖値の

上昇を抑制し、血糖曲線下面積も有意に低下させた ($p<0.05$)。また、24 時間当たりの尿中アルブミン排泄量は糖尿病マウスにおいて有意に増加したが、AMP の投与はその増加を抑制した。尿中 MCP-1 排泄量も糖尿病マウスで有意に増加した。しかし、AMP 及び IMP 投与による影響は認められなかった。腎臓組織の炎症関連マーカー (INF- γ , TNF- α , IL-1 β 及び IL-10 の mRNA 発現量) には AMP 及び IMP 投与による変化は認められなかった。AMP 及び IMP を投与した糖尿病マウスでは腎臓組織 AMPK の活性化が認められたが、糖尿病マウスとの間に顕著な差は認められなかった。

【結論】 本研究では高脂肪食誘導肥満マウスで腎臓における炎症の所見を確認することができず、AMP の抗炎症作用を確認するための実験が成立しなかった。

一方、KK-Ay マウス糖尿病性腎症において、AMP 及び IMP の抗炎症作用を明らかにすることができなかった。しかしながら AMP の投与が KK-Ay マウスの耐糖能を改善すること、さらにはアルブミン尿のレベルを軽減することがわかった。このように AMP が糖尿病の進行を抑制し腎臓保護的に作用する可能性が示唆された。