

論 文 要 旨

Low-protein diet improves blood and urinary glucose levels and renal manifestations of diabetes in C57BLKS-*db/db* mice

〔低たんぱく食はレプチン受容体欠損 *db* マウスの血中や尿中のグルコースレベルと糖尿病腎所見を軽減する〕

有村 恵美

【序論および目的】

2型糖尿病の発症率は、世界中で増加の一途をたどっている。発症率増加に伴い、糖尿病における3大合併症の1つである腎症も増加しており、糖尿病による主要な死因とされている。近年の2型糖尿病や糖尿病腎症増加の原因は、遺伝的因子よりも、食生活を含む生活習慣や環境因子の変化が大きいと考えられる。

米国糖尿病学会は、1986年より糖尿病腎症発症予防の為に、全ての糖尿病患者に食事中的たんぱく質量 0.8 g/kg/day (30kcal/kg/day の場合：たんぱく質エネルギー比率 10.7%) の摂取を推奨している。しかし、本邦では、糖尿病自体が慢性腎疾患のハイリスク群であるにも関わらず、糖尿病早期では、高たんぱく食傾向 (糖尿病食事指導に用いられる糖尿病食品交換表に掲載される推奨例：たんぱく質エネルギー比率 18%) にある。低たんぱく食事療法の有効性について科学的な検証が求められている。

2型糖尿病マウスを用いて、食事たんぱく質の糖代謝や腎所見に及ぼす影響について多くの報告がある。しかし、食事の設定条件が極端で、通常のヒトの食事とかけはなれている。

本研究では、ヒトが通常摂取する条件 (たんぱく質エネルギー比率 12-24%、動物性たんぱく質比率 50%、植物性たんぱく質比率 50%) の食事について、2型糖尿病腎症発症や進展に及ぼす影響を解析した。

【材料および方法】

4週齢雄性2型糖尿病モデル (*db*) マウスとコントロール (CT) マウスを用いた。

① ベースライン実験 (5週齢時点)

4週齢雄性 *db* マウス (n=6) と CT マウス (n=6) を購入し、1週間馴化後、6時間絶食後、ネブタール麻酔下で心臓採血を行った。臓器重量測定および血液生化学検査を行った。

② 自由摂食実験

4週齢雄性 *db* マウス (n=18) と CT マウス (n=15) を購入し、1週間馴化後、たんぱく質エネルギー比率別に24% (H群)、18% (M群)、12% (L群) の特殊食で8週間飼育した。

体重、摂食量、摂水量は毎週測定し、5,13週に空腹時血糖値 (FBG)、尿糖 (UG)、尿中アルブミン (U-Alb) を測定した。13週に、6時間絶食後、ネンブタール麻酔下で心臓採血を行った。臓器重量測定および血液生化学検査を行った。組織標本を作製し、PAS染色後、画像解析ソフトで定量的に解析した。腎からRNA抽出後cDNAを調製し、特異的プライマーを用いて遺伝子発現解析 (リアルタイムPCR法) を行った。

③ ペアーフェッド実験

4週齢雄性 *db* マウス (n=12) と CT マウス (n=5) を購入し、1週間馴化後、たんぱく質エネルギー比率別に24% (H群)、12% (L群) の特殊食で10週間飼育した。*db*-H群の摂食量は、*db*-L群の摂食量に揃えた。体重、摂水量は毎週測定し、5,15週にFBG、UG、U-Albを測定し、6,9,13,15週にHbA1cを測定した。15週に、6時間絶食後、ネンブタール麻酔下で心臓採血を行った。臓器重量測定および血液生化学検査を行った。膵臓を摘出し、インスリン含量の測定と組織形態学的評価を行った。

【結果】

実験開始時 (5週齢) のFBGは、*db*マウスとCTマウスにおいて、有意な差を認めなかった。自由摂食実験では、*db*-L群は*db*-H群よりも摂食量、摂水量が有意に低値であり、摂食量、摂水量は、たんぱく質エネルギー比率依存的に増加していた。13週齢では、*db*マウスは高血糖を呈し、*db*-L群は*db*-H群よりもUG、U-Alb、尿素窒素、腎臓重量、糸球体内面積、PAS陽性面積、*transforming growth factor beta 1* と *procollagen α 1 chain of type IV collagen* 発現レベル (腎臓) が有意に低値だった。血漿インスリン値は、*db*マウス5週齢の値と比べて、*db*-H群は有意に低値だった。CTマウスにおいて、摂食量、摂水量には差が認められなかった。13週齢では、CT-L群はCT-H群よりもU-Alb、腎臓重量、糸球体内面積、糸球体外面積、PAS陽性面積、*angiotensinogen* と *renin* 発現レベル (腎臓) が有意に低値だった。

ペアーフェッド実験では、*db*-L群は*db*-H群よりも摂水量が有意に低値だった。15週齢では、*db*-L群は*db*-H群よりも、HbA1c、FBG、UG、体重あたりの腎臓重量、尿素窒素が有意に低値で、最大ランゲルハンス島における β 細胞の占める割合は有意に高値だった。

【結論及び考察】

- ① 2型糖尿病腎症発症や進展に及ぼす食事たんぱく質量の影響を解析することが可能なマウスモデルを確立した。
- ② 自由摂食実験では、*db*マウスにおいて、食事たんぱく質量が多いほど摂食量、摂水量が有意に多かったが、体重には有意な差がなかった。CTマウスにおいて、食事たんぱく質量の違いによって、摂食量、摂水量、体重に有意な差がなかった。食事たんぱく質量による摂食量、摂水量の違いは、*db*マウス特異的な現象と考えられた。ペアーフェッド実験では、*db*マウスにおいて、食事たんぱく質量が多いほど摂水量が有意に多かったが、体重は有意に少なかった。このことは、食事たんぱく質量が多いほど尿糖排泄増加によるエネルギー損失が多いことで説明されると考えている。
- ③ *db*マウスにおいて、食事たんぱく質量が少ないほど糖代謝や腎機能の悪化を軽減することから、低たんぱく食は、糖尿病腎症発症や進展予防に対して有効である可能性が示された。
- ④ CTマウスにおいても、食事たんぱく質量が少ないほど腎機能の悪化を軽減することから、一般のヒトにおける食事たんぱく質量の設定 (たんぱく質推奨量 0.9g/kg/day : 2010 食事摂取基準) の意義が確認された。

(European Journal of Nutrition, in press)