

健常猫における加齢に伴う代謝病診断マーカーの変動
(Studies on Changes in Diagnostic Markers for Metabolic
Disorders in Healthy Cats)

溝呂木喬之

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医学専攻博士課程平成 30 年入学

(指導教授：新井敏郎)

令和 3 年 3 月

目次

第1章 猫の寿命延伸とそれに伴う疾病の変化

1.1 猫の寿命の延伸	3
1.2 寿命延伸に伴う疾病構造の変化	7
1.3 予防医療の重要性	9
1.4 小括	10

第2章 健常猫における体重及びボディコンディションスコア (BCS) の変化

2.1 材料と方法	12
2.2 結果	15
2.3 考察	19
2.4 小括	23

第3章 健常猫における血液中の代謝病診断マーカーの変動

3.1 材料と方法	25
3.2 結果	27
3.3 考察	41
3.4 小括	45

第4章 体重、BCS、代謝病診断マーカーの相関解析

4.1 材料と方法	47
4.2 結果	49
4.3 考察	51
4.4 小括	55

総括 (要約)	56
---------	----

引用文献	64
------	----

謝辭

..... 72

第1章

猫の寿命延伸とそれに伴う疾病の変化

第1節 猫の寿命の延伸

猫の平均寿命は、1983-1986年では4.3歳、1990年、5.1歳、1994年、6.7歳との報告(小川ら, 1997)があり、10歳を超えることは珍しかった。しかし、現在、猫全体の平均寿命は14.2歳と推定され、2008年から2017年までの10年間で0.5歳(6ヶ月)延びている。これは人の年齢に換算すると(Table1-1)、3~3.5歳分の延びに該当する(anicom, 2019)(Fig.1-1)。この10年間における日本人の平均寿命の延びが、男性で1.8歳・女性で1.2歳であることと比べても、猫の寿命の延びは驚異的と言える(厚生労働省・統計調査結果, 2018)。また、2019年に一般社団法人ペットフード協会が発表した「全国犬猫飼育実績調査」によると、猫全体の平均寿命は15.03歳とされ、他にも2016年に発表された東京農工大学と日本小動物獣医師会が実施した大規模調査の結果では、「日本でペットとして飼育される猫の平均寿命が2014年時点で、11.9歳で過去最高」だったことが分かっており、これらの事実から、猫の平均寿命が年々延びている傾向にある事が分かる。この寿命の延伸は新たな薬やワクチンの開発、ペットフードの改良、室内飼育の増加など、猫の飼育環境の改善によるものとされる。

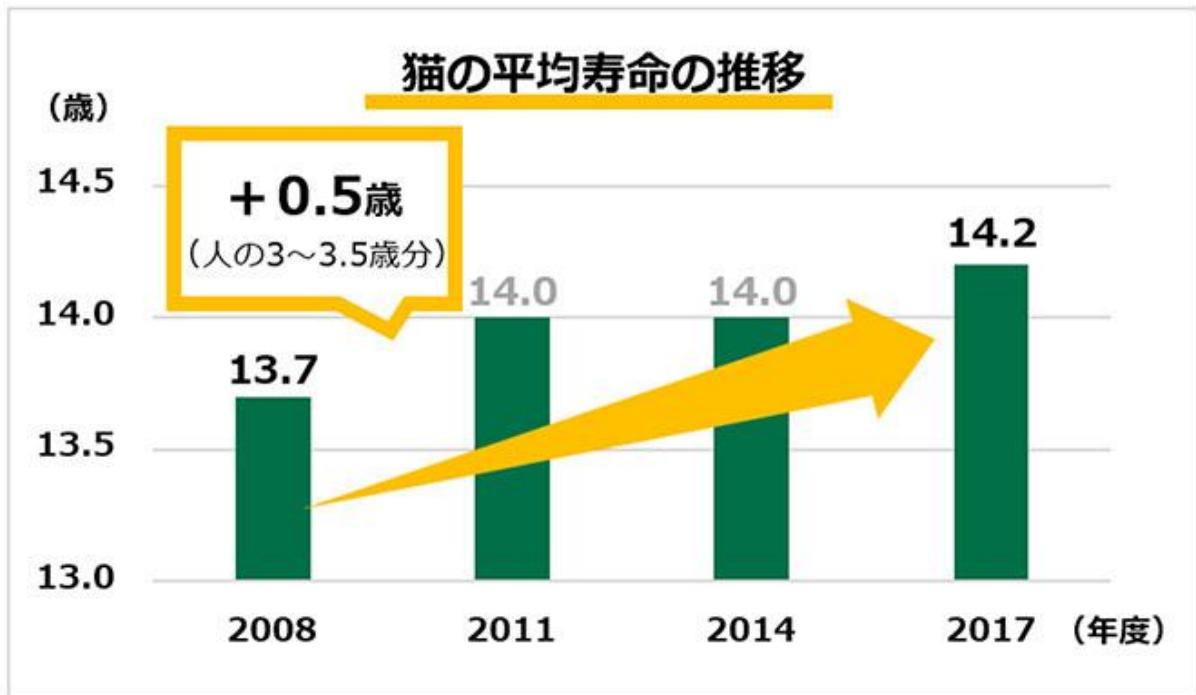


Fig. 1-1 猫の平均寿命の推移

Table1-1 猫と人の年齢早見表

猫年齢	人年齢	猫年齢	人年齢
1ヶ月	1歳	5歳	36歳
2ヶ月	3歳	6歳	40歳
3ヶ月	5歳	7歳	44歳
6ヶ月	9歳	8歳	48歳
9ヶ月	13歳	9歳	52歳
1歳	18歳	10歳	56歳
1歳半	20歳	1歳ごとに+4歳	
2歳	24歳	15歳	76歳
3歳	28歳	18歳	88歳
4歳	32歳	20歳	96歳

猫の寿命を性別で比較すると、雄が 13.7 歳、雌が 14.8 歳であった(anicom 2017) (Fig. 1-2)。人でも男性より女性のほうが平均寿命が長いと言われており、日本人では男性が 81.0 歳、女性が 87.1 歳 (平成 28 年度、厚生労働省) である。女性のほうが長生きである理由は諸説あるが、エストロジェンの抗酸化・抗炎症作用が加齢ストレスを軽減している可能性や、寿命の長さに影響を与えるテロメアとエストロジェン濃度との関連性を示唆した報告がある。動物の場合も、哺乳類では概して雌のほうが長生きであり、これは一般的な雌雄の役割の違いからきている可能性がある。雄は繁殖のための闘争や狩りの遂行といった役割を持つことが多く、雌よりも外的リスクにさらされることが多い。一方で雌は出産し子供を育てる役割を持つので、子供を産むに耐える体力が必要になる。こうした行動学的パターンや生理学的違いから、雌のほうが長生きとなっているのかもしれない。猫の寿命の性差に関する過去の調査では、単なる性差よりも避妊・去勢の影響が強いとの報告がある。野生下に比べて外的ストレスがかからない飼育下では性差についての科学的な根拠はまだ明確ではなく、今後の研究調査によって明らかとなっていくと考えられる。

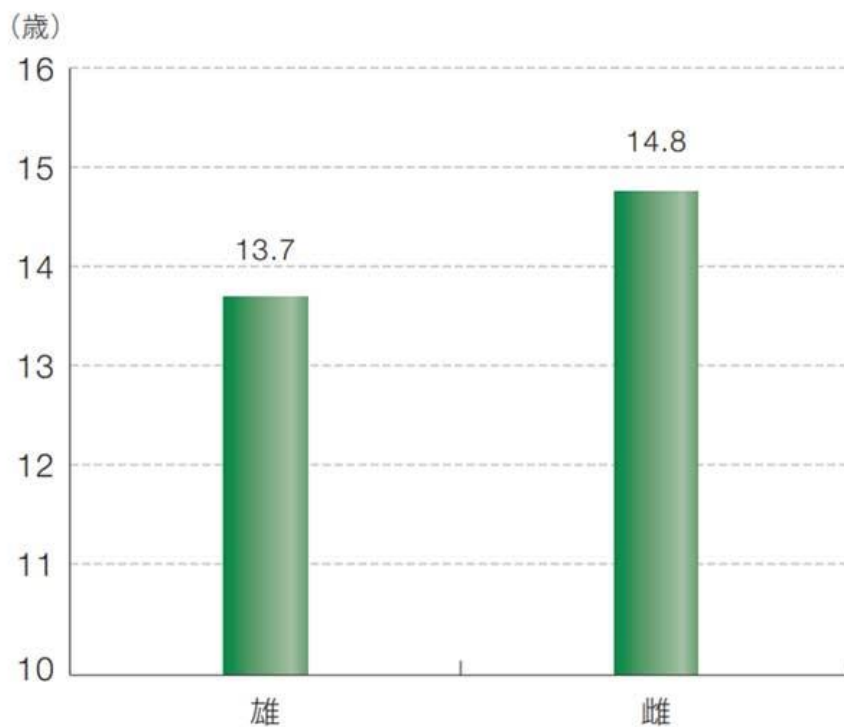


Fig. 1-2 猫の平均寿命の性差

また、品種ごとの平均寿命 (Table1-2) に関しては、混血猫・日本猫の寿命が長く、他の品種が短いという傾向がみられた。犬では大型犬と小型犬を比較した場合に、小型犬のほうが寿命が長い傾向にあることがわかっているが、猫では品種間の体格差はほとんどみられない。品種特異的な疾患が影響している可能性もあり、今後精査していく必要がある (anicom, 2017)。

Table1-2 猫の品種ごとの平均寿命

順位	品種	平均寿命(歳)
1	混血猫	14.3
2	スコティッシュ・フォールド	13.4
3	アメリカン・ショートヘア	13.5
4	日本猫	14.3
5	マンチカン	11.2
6	ロシアンブルー	13.1
7	ノルウェージャン・フォレスト・キャット	12.6
8	ペルシャ (チンチラ)	13.9
9	メイン・クーン	12.5
10	ラグドール	13.5
-	猫全体	14.2

第2節 寿命延伸に伴う疾病構造の変化

寿命が延びるということは、ペットと一緒に暮らす時間が長くなることであり、それ自体は喜ばしいものである。しかし、その一方で寿命が延びることで新たな問題も生じている。加齢に伴う種々の疾病の発症が増えることである。

アニコムデータを基に、加齢に伴う疾病構造の変化を図示した(Table1-3)。表から分かるように、加齢に伴い、慢性腎臓病や腫瘍などの発症が増えたり、運動器疾患や、認知症になったりと、介護が必要になるケースが増えることが考えられる。高齢化するのは、動物だけでなく、飼い主も同様である。高齢者が高齢のペットの世話を苦勞する新たな「老々介護」問題が出てきている。高齢者が感じているペットに関する悩みは、

- ①膝・腰の痛みで、ペットの散歩や世話が難しくなる
- ②認知症で、ペットの世話ができなくなったらどうしよう
- ③入院時にペットの面倒をみてくれる人がいない
- ④老人ホームに入るとき、ペットを誰に飼ってもらおうか

これに関して、ペット共生型老人ホームやペット信託など高齢者のニーズに応えるサービスが生まれてきているが、これらの問題は今後ますます大きな社会問題となることが予想される。

Table1-3 猫で多い疾病

猫で多い病気TOP10と年間平均診療費

順位	病名	請求数 (件)	金額 (円)
1	慢性腎臓病 (腎不全含む)	61,923	272,598
2	嘔吐/下痢/血便 (原因未定)	20,523	37,601
3	膀胱炎	14,620	45,741
4	胃炎/胃腸炎/腸炎	11,934	36,334
5	心筋症	7,377	164,135
6	結膜炎 (結膜浮腫含む)	7,354	18,647
7	原因未定の外耳炎	6,630	28,166
8	元気喪失 (食欲不振含む、原因未定)	6,922	48,947
9	糖尿病	6,084	321,831
10	原因未定の皮膚炎	6,072	24,592

※猫の保険金請求289,196件のうち、請求件数が多かった病気TOP10を掲載

第3節 予防医療の重要性

我が国では少子高齢化が急速に進み、社会から求められる医療の質が大きく変わってきている。肥満をはじめとして、糖尿病、腎疾患、がんなどの非感染性疾患（non-communicable diseases: NCDs）の発生が増え、世界の国々で大きな社会問題となっている。家庭で飼育されている犬や猫においても、獣医療の進歩による寿命延伸、生活習慣の変化により人の75歳に相当する15歳を超える高齢の犬や猫が近年、目立って増え、加齢に伴う非感染性疾患発症も増大している。こうした非感染性疾患の対応として早期診断、早期治療の重要性が高まっている。このことは獣医療についても同様と考えられる。犬や猫などの動物を狩猟、牧畜や家の見張りなどといった従来の実用的な目的から愛玩、さらには癒しや充足感を与えてくれる人生の伴侶と考えて飼育する人が増加してきた。それに伴いペットと呼ばれていたこれらの動物は近年、伴侶動物（コンパニオンアニマル）と呼ばれるようになり、人との間に相互に深い依存関係を築くようになってきた。このように、動物に対する意識や位置づけが大きく変化してきた。伴侶動物としてのペットの健康への関心が高まり、医療への要求・期待が高まっている中、より長く健康でいてもらうためには、まず健康状態の変化や病気の早期発見、早期診断をして疾病の重症化をいかに抑えるかが大切である。そこで早期診断、治療による個を対象とした「予防動物医療」という新たな動物医療システムが普及してきた。この動物医療システムは肥満をモデルにして考えると理解しやすい。一般に疾病の早期診断のためには適切な疾病診断マーカーの開発が必要になる。また、疾病診断マーカーは加齢に伴い変動する可能性もあることから、健常猫における加齢に伴うこうした診断マーカーの変化を調べる必要がある。そこで、本研究では、様々な年齢の臨床的に健康な猫を用いて加齢に伴う体重やボディコンディションスコア（BCS）、生化学項目および代謝マーカーの変化を調べた。

小 括

近年、猫の平均寿命の延伸は著しい。これは動物医療の発展や食環境・飼育環境の変化が主たる要因と考えられる。現在、猫全体の平均寿命は14.2歳と推定され、2008年から2017年までの10年間で0.5歳(6ヶ月)延びている。一方で寿命が延びることで新たな問題も生じている。加齢に伴う種々の疾病の発症が増えることである。加齢に伴い、慢性腎臓病や腫瘍などの発症が増えたり、運動器疾患や、認知症になったりと、介護が必要になるケースが増えることが考えられる。高齢化するのは、動物だけでなく飼い主も同様である。高齢者が高齢のペットの世話を苦勞する新たな「老々介護」問題も生じている。我が国では少子高齢化が急速に進み、社会から求められる医療の質が大きく変わってきている。肥満をはじめとして、糖尿病、腎疾患、がんなどの非感染性疾患(non-communicable diseases: NCDs)の発症が増え、世界の国々で大きな社会問題となっている。家庭で飼育されている犬や猫においても、獣医療の進歩による寿命延伸、生活習慣の変化により人の75歳に相当する15歳を超える高齢の犬や猫が近年、目立って増え、加齢に伴う非感染性疾患発症も増大している。こうした非感染性疾患の対応として早期診断、早期治療の重要性が高まっている。そこで早期診断、治療による個を対象とした「予防動物医療」という新たな動物医療システムが普及してきた。疾病の早期診断のためには適切な疾病診断マーカーの開発が必要になると考えられる。また、疾病診断マーカーは加齢に伴い変動する可能性もあることから、健常猫における加齢に伴うこうした診断マーカーの変化を調べる必要がある。

第2章

健常猫における体重及びボディコンディションスコア (BCS) の変化

人では加齢とともに活動性が低下し、体格指数 (BMI: body mass index=体重 (kg)/身長 (m)²) と体内の脂肪分布が変化するとされている (Krotkiewski et al, 1983; Lind et al, 2020)。年齢とともに脂肪細胞が食餌性脂質を緩衝する能力は低下し、脂質は異所性に肝臓や筋肉などに沈着し、炎症、インスリン抵抗性、メタボリックシンドロームなどの発生が増える (Peter M et al, 2019)。

肥満とは「脂肪組織にトリグリセリドが過剰に蓄積した状態」と定義され、その主因はエネルギーの過剰摂取 (過食) が運動によるエネルギー消費量を超える (運動不足) ためと考えられている (日本肥満学会, 2016)。人では、肥満は世界的な健康問題となっていて、国によって肥満者の割合には大きな差異があるが世界全体で見れば増加傾向にある。肥満度の判定には、国際的な標準指標である BMI (Body Mass Index: 体重 (kg)/身長 (m)²) が用いられる。日本肥満学会では、BMI 25 以上を肥満 (obese) とし、35 以上を高度肥満としている。一方、WHO の国際基準では 30 以上からが肥満とされ、25 以上 30 未満は過体重 (overweight) としている。男女合わせて約 15 万人の集団健診データから、BMI と高血糖、脂質異常、高血圧等の危険因子を持つ人の頻度を、最も有病率、死亡率が低いとされている BMI 22 を 1 とし、その増加の程度を調査した。その結果、高血圧、高トリグリセリド血症、低 HDL-コレステロール血症は 25 で、高血糖は 27 で、高コレステロール血症が 29 で 2 倍となった (肥満研究 6: 4—17, 2000)。これらの結果をふまえ、日本では BMI 25 以上を肥満と判定している。

一方、犬や猫では人の BMI に相当する体格を数値で表す適当な指標がない。代わりに動物の外貌、触診から得られるボディコンディションスコア (BCS) を使用している (Sandoe et al, 2014)。本章では、種々の年齢の健常猫の体重、BCS の変化を測定し、その加齢に伴う変動を検討した。

2.1 材料と方法

1. 動物

2018年(10~12月)に健康診断を目的として当院(成城こばやし動物病院、東京都世田谷区)に来院した70頭の猫の内、すでに疾患を抱えていた3頭の猫を除いた臨床的に健康な67頭の猫(10ヶ月齢~16歳9ヶ月、雌25、雄42)を対象とした。除外した3頭は全て歯周病があり、1頭は細菌性膀胱炎及び膀胱腫瘍を併発していた。67頭を年齢に応じて5つのグループに分けた: New born (≤ 1 歳)、Young (1~ ≤ 5 歳)、Middle (5~ ≤ 10 歳)、Old及びOld-thin (10歳~)。後述(第2章及び第3章)にあるように、Oldグループの中で明らかにBCSと血清TG濃度の低下した動物がいた為に、それらをOld-thinグループとした。67頭の猫で、40(95.2%)/42頭の雌が避妊され、25匹の雄猫の21(84.0%)が去勢されていた。67頭の猫の品種及び雄雌の数はTable2-1の通りである。また、それぞれのグループの平均年齢をTable2-2に示した。今回の研究では、10ヶ月が最低年齢、16歳9ヶ月が最高年齢となった。肥満度の評価として、ボディコンディションスコア body condition score (BCS) を Laflamme の基準 (Laflamme et al, 1997a) に基づき 9段階評価で行い、Fig. 2-1 を参考に BCS $>7/9$ を過体重と判定した。

本試験の実施は日本獣医生命科学大学動物実験委員会で承認されており(承認番号30K-05)、また動物の飼い主からは書面でインフォームドコンセントを得た。

2. 統計分析

結果は平均±標準誤差(SE)として表示している。また、統計的有意性は、マンホイットニーU検定によって決定した。有意水準は $P < 0.05$ に設定した。

Table2-1 Profile of the age, breed and gender of 67 cats in this study

Breed	gender	0~<1	1~<5	5~<10	10~	total
Mix	f	0	10 (10)	7 (7)	12 (11)	29 (28)
	m	0	4 (4)	5 (4)	6 (5)	15 (13)
Scottish Fold	f	1 (1)	2 (2)	0	0	3 (3)
	m	1 (1)	1 (1)	1(1)	0	3 (3)
Munchkin	f	0	2 (2)	2(2)	0	4 (4)
	m	0	0	0	1 (1)	1 (1)
Japanese Cat	f	0	0	0	2 (2)	2 (2)
	m	0	0	0	2 (1)	2 (1)
American Shorthair	f	0	0	1 (1)	0	1 (1)
	m	0	0	2 (2)	0	2 (2)
Ragdoll	f	0	0	1 (1)	0	1 (1)
	m	0	1 (1)	0	0	1 (1)
Selkirk Rex	f	0	0	0	0	0
	m	0	1 (0)	0	0	1 (0)
Norwegian Forest Cat	f	0	0	0	1 (1)	1 (1)
	m	0	0	0	0	0
Persian	f	0	0	0	1 (0)	1 (0)
	m	0	0	0	0	0

f: female, m: male

The number in parentheses indicate the number of animals examined.

Table2-2 Average ages of different groups in 67 cats

		New born	Young	Middle	Old	Old-thin
Age (range)		0~1≦	1<~5≦	5<~10≦	10<~17≦	10<~17≦
Age (Av)	f+m	0.9 (2)	2.7±0.2 (21)	7.6±0.3 (19)	12.1±0.4 (22)	15.6±1.2 (3)
	f	1.0 (1)	2.6 ±0.3 (14)	7.8±0.5 (11)	12.1±0.5 (14)	15.0 (2)
	m	0.8 (1)	2.7±0.3 (7)	7.4±0.4 (8)	12.2±0.7 (8)	16.8 (1)

f: female, m: male

The numbers in parentheses indicate the number of animals examined.

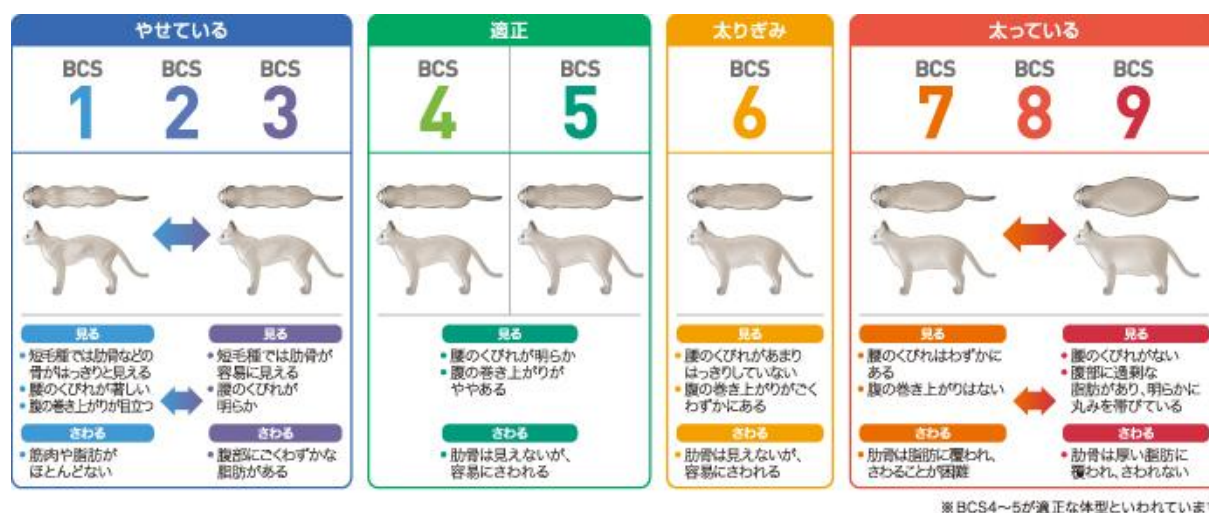


Fig. 2-1 猫のボディコンディションスコア (BCS)

(出展: ロイヤルカナンホームページ)

<https://www.royalcanin.co.jp/dictionary/column/20150220>

2.2 結果

1. 体重 (body weight, BW)

New born、Young、Middle、Old 及び Old-thin グループのそれぞれの平均体重は、4.4kg、 4.1 ± 0.2 kg、 5.0 ± 0.3 kg、 4.8 ± 0.3 kg、 3.4 ± 0.3 kg となった

(Fig. 2-3)。図 2-2、図 2-3 を見て分かるように、Middle group は Young group に対して統計学的に有意に増加していることが分かった。性別で分けると、雌は 4.1kg、 4.0 ± 0.2 kg、 4.4 ± 0.2 kg、 4.3 ± 0.2 kg、3.3kg となり、雄は 4.8kg、 4.4 ± 0.4 kg、 5.9 ± 0.6 kg、 5.7 ± 0.4 kg、3.6kg となった。Middle グループでは雄の体重は雌に比べて統計学的に有意に重いことが分かった。

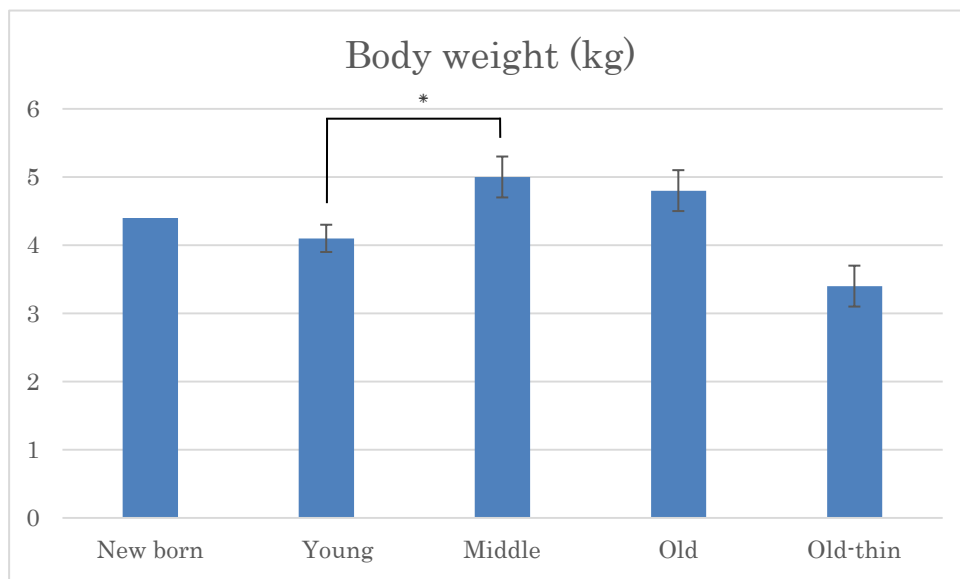


Fig. 2-2 Average body weight of different groups

*Significantly difference ($p < 0.05$)

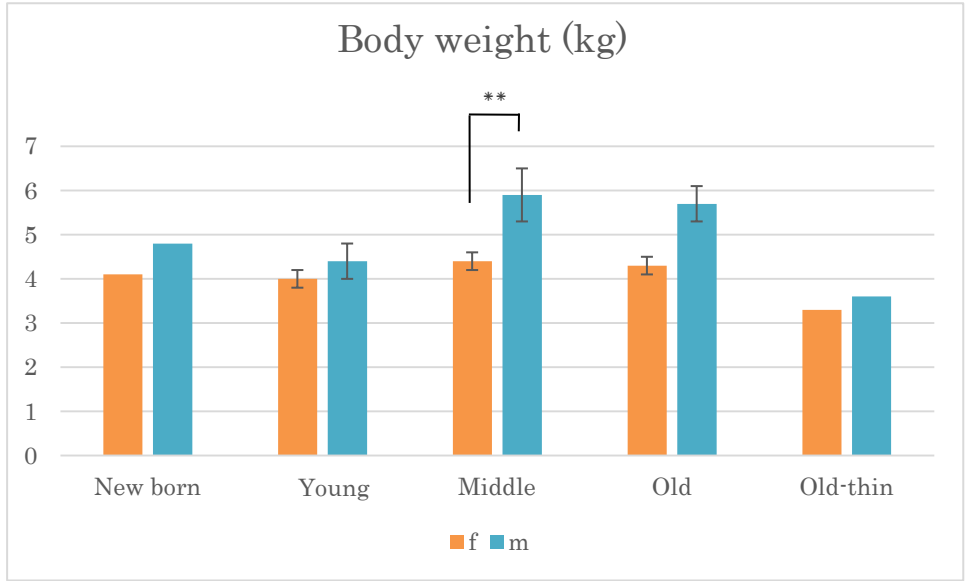


Fig.2-3 Average body weight by sex of different groups
**Significantly difference (p<0.05)

2. BCS

それぞれのグループの BCS 値は、6.0、 5.5 ± 0.2 、 6.4 ± 0.3 、 6.6 ± 0.3 、 4.0 ± 0.0 となった (Fig.2-4)。性別で分けると、雌は 7、 5.5 ± 0.2 、 6.4 ± 0.2 、 6.6 ± 0.3 、4.0 となり、雄は 5、 5.4 ± 0.3 、 6.9 ± 0.5 、 6.9 ± 0.5 、4.0 となった。67 頭中 22 頭が BCS7/9 以上となり全体の 32.8%が過体重および肥満であることが分かった。グループ別で見ると、New born グループでは、2 頭中 1 頭 (50%) の猫が、Young グループでは、21 頭中 2 頭 (9.5%) の猫が、Middle グループでは、19 頭中 9 頭 (47.4%) の猫が、Old グループでは、22 頭中 10 頭 (45.5%) が BCS の 7/9 以上であった。逆に、理想体重以下となる BCS4/9 以下は Old-thin グループのみで認められた。Old グループ全体でみると、25 頭中 3 頭 (12.0%) が BCS4/9 であった。

Middle グループと Old グループでは性別関係なく、平均が BCS6 を超えていて、雌に比べて明らかな有意差はないが、雄の BCS は過体重の BCS7 に近い値となっている。

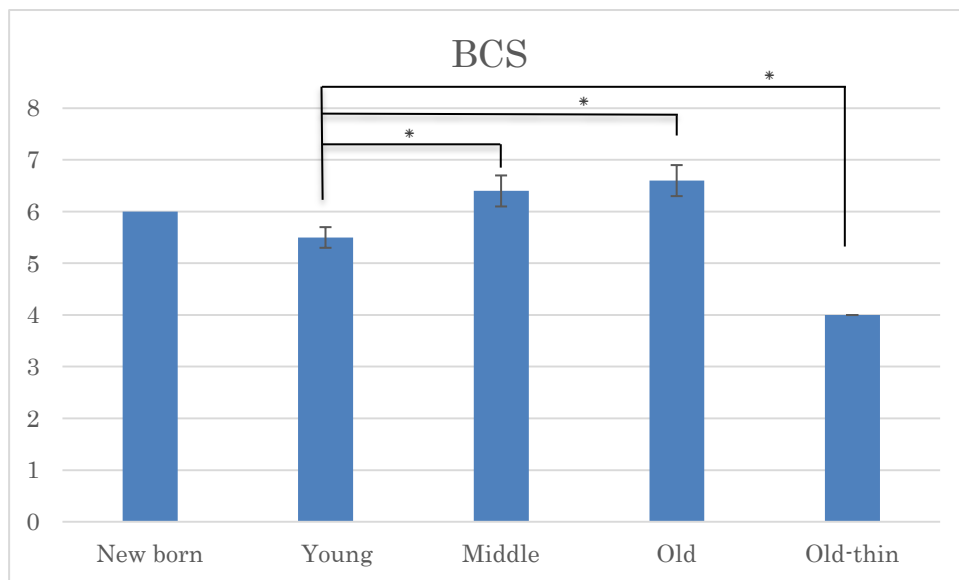


Fig.2-4 Average BCS of different groups

*Significantly difference ($p < 0.05$)

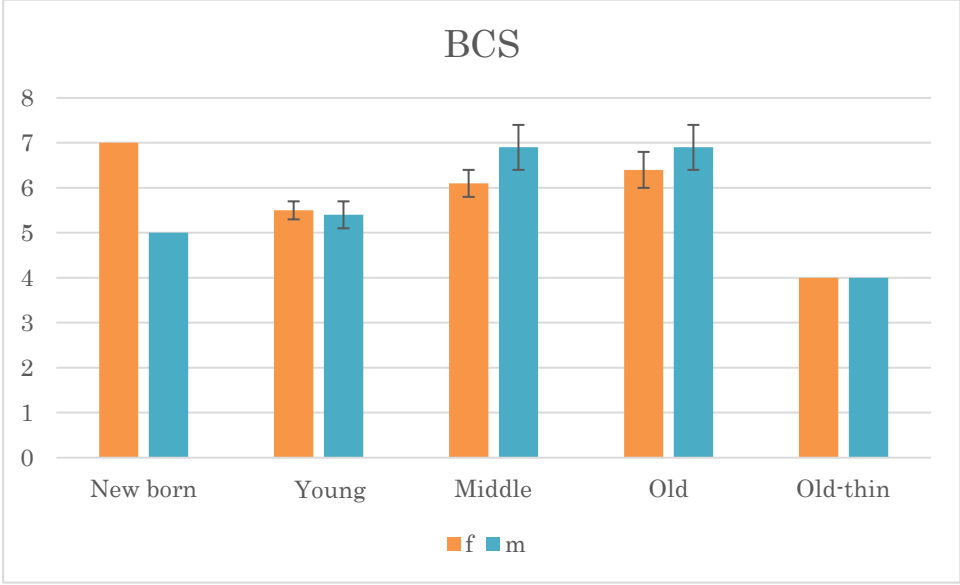


Fig.2-5 Average BCS by sex of different groups

2.3 考 察

肥満は、現在世界的な健康問題となっている。肥満率は1975年以来、ほぼ3倍になり、子供と青年で約5倍に増加し、先進国と発展途上国の両方の全ての社会集団の全ての年齢層で増える傾向にある。WHOの調査では2016年において成人のうち19億人以上が過体重（39%弱）、6億5千万人以上が肥満（13%）と推定される（WHO, 2018）。2019年には、3800万人の5歳未満の子どもが過体重か肥満ということも分かっている。図2-6から分かるように、2030年に向けて、肥満者の割合はさらに増加すると予測されている（OECD:肥満アップデート2017より改変）。わが国においては、図2-7および図2-8（2016年国民栄養調査より引用）を見ると、加齢に伴い肥満率が増えてきており、特に男性においては年々BMI \geq 25の肥満割合が増えてきていることが分かる。

一方、犬や猫でも肥満は増え続けており（Loftus et al, 2015; Chandler et al, 2017）、獣医領域においても肥満は大きな健康問題でもある。わが国では、1章で記したように平均寿命の延伸があり、室内で飼育しやすい猫の飼育頭数が犬を上回り、その飼育形態から、より飼い主の生活習慣の影響を受けやすい猫での肥満発症が目立って増えてきている。猫は健常であっても、加齢に伴って体重や血中脂質濃度が増える、つまり肥満傾向を示すことが知られている

（Edney et al, 1986; Mori et al, 2016）。米国のAssociation for Pet Obesity Prevention (APOP)は肥満を理想体重の30%以上と定義し、さらに世界中の獣医療コミュニティーに対し犬と猫の肥満の指標として9段階のBody Condition Score (BCS)を採用することを推奨している（APOP, 2019）。

英国では猫の過体重、肥満率は52%と推定され（Russell et al, 2000）、デンマークでは猫の約40%が過体重、肥満であると報告されている（Sloth, 1992）。アメリカでは1995年に8,159頭の成猫を調査した結果、約35%が過体重ないし肥満であった（Elizabeth, 2005）。同時代のスコットランド、イングランド、アメリカにおける犬の肥満率は22~40%とされ（森, 2014）、いずれの国でも猫の過体重・肥満の割合は犬と比べて高い数値を示している。

人同様に、猫においても肥満は糖尿病、高血圧、動脈硬化症、心血管障害、ガンなどのリスクファクターとなることが推測される。そこで本章では、実際の臨床現場での年齢ごとの肥満傾向を把握することで、その後の合併症の予防に繋がると考えた。

今回の結果から、臨床的に健康な猫は、加齢に伴って肥満傾向を示すことが分かった。具体的には、全体の32.8%が過体重および肥満であることが分かった。グループ別には、BCS7/9以上の割合がMiddleグループでは47.4%、Oldグループでは40%であるのに対して、Youngグループでは9.5%に留まっている。Oldグループでは、BCS4/9と加齢に伴って、疾病を抱えていて痩せてきている猫もいるので全体的なパーセンテージはMiddleグループに対して低い。普段の一般診療や健診などにおいてBCSを毎回記載しているわけでは無かったので、改めて今回の結果から体重やBCSの変化に注視していく必要がある。獣医師も飼い主も肥満は健康に良くないことは頭の中で理解していても、実際に症状や疾病に繋がるまではその場での注意で終わってしまい、徹底した管理には進まないのが現状である。また、健康診断で来院された動物のみを対象にしているため、実際の肥満傾向の割合はそれ以上であると想像できる。

肥満とは、エネルギーの過剰摂取（過食）と運動によるエネルギー消費量（運動不足）のアンバランスが原因となるので、本来であれば調査した猫の食事量や運動量、食事内容や飼育環境なども評価内容に入るので調べないといけないが、今回調査したのは実験的に飼育されている動物ではなく実際の飼育動物なので細かい内容の把握は難しい。これらは今後の課題である。

体重が増加し、肥満傾向にある猫はエネルギー代謝が低下し、組織におけるATP産生能が低下する。過剰なエネルギーは脂肪として体内に蓄積されることが予想され、その結果肥満しやすくなると考えられる。非感染性疾患の予防や重症化の抑制には「肥満させないこと」が、最も効果的であるとされる。そのために次のステップとして、加齢に伴うその具体的な各マーカーの値を測定することで肥満症の適切な診断マーカー（代謝産物やホルモン濃度酵素活性など）を見つけることが必要で、それが肥満の早期発見、予防に繋がると考えた。

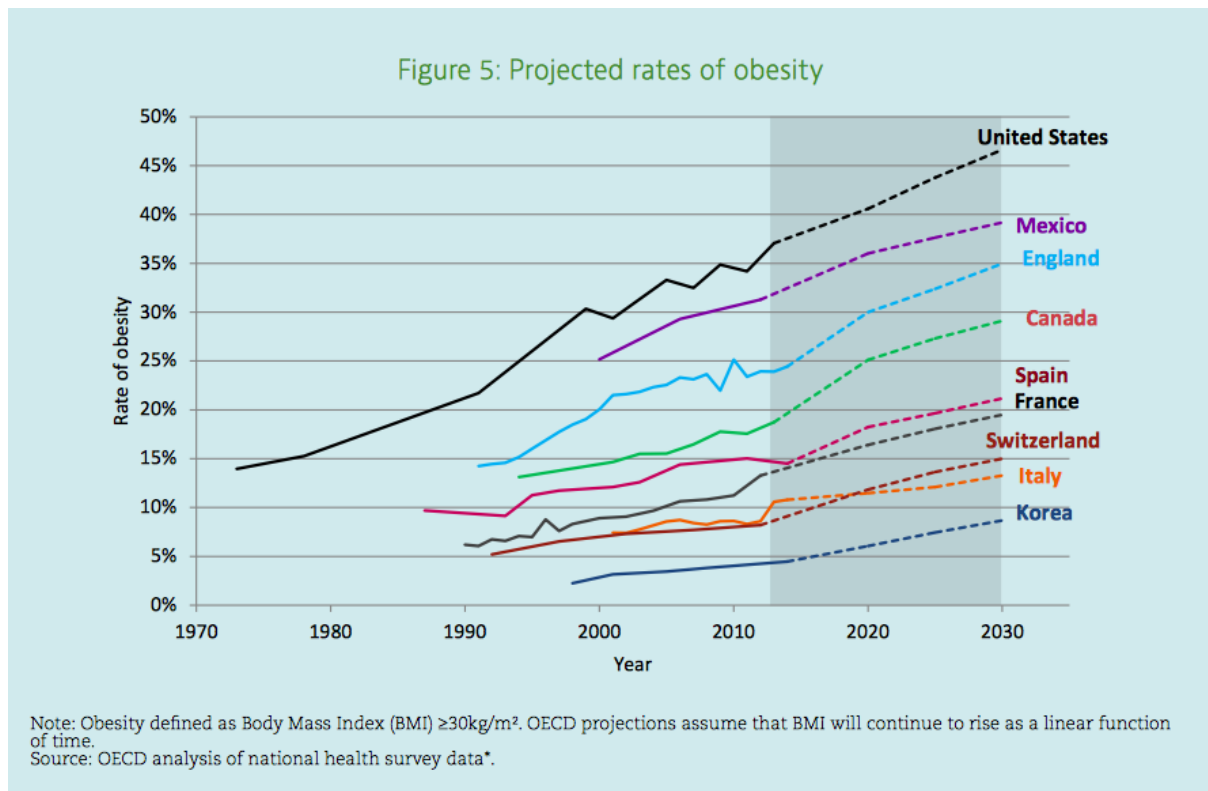


図 2-6 BMI30 以上の肥満者の増加予測

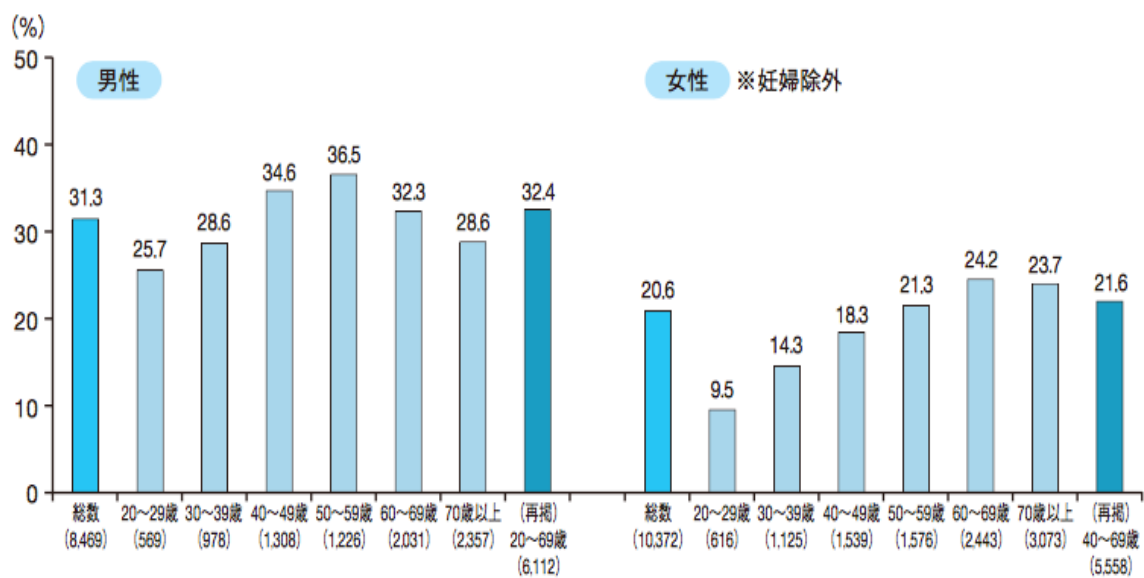


図 2-7 日本における肥満者 (BMI ≥ 25) の割合 (2016)

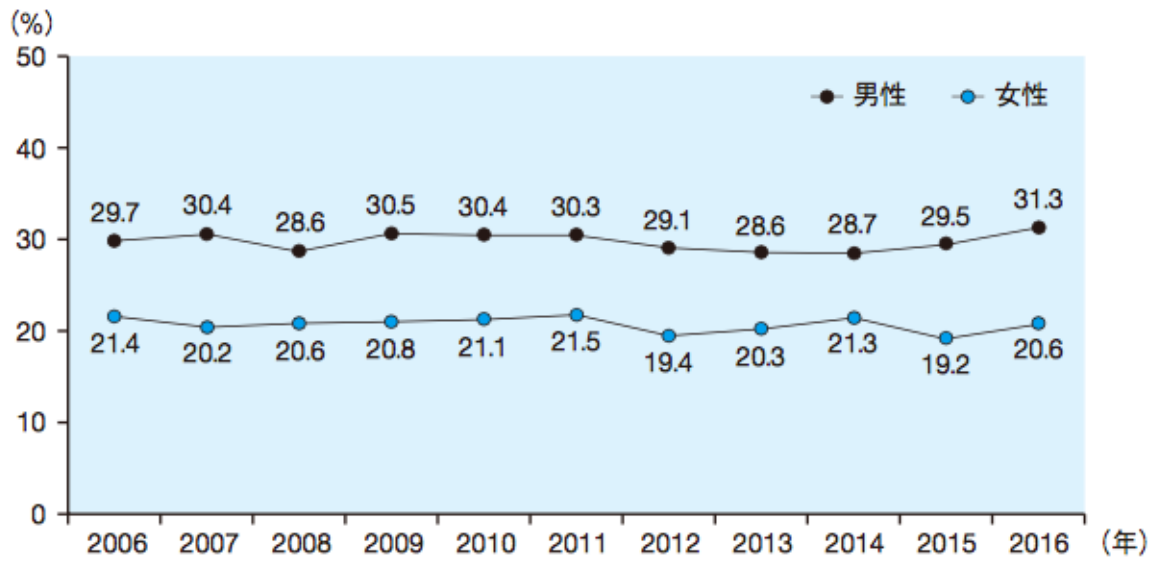


図 2-8 日本における肥満者(BMI ≥ 25)の割合の年次推移(20 歳以上)

2.4 小 括

犬や猫では人の BMI に相当する体格を数値で表す適当な指標がない。替わりに動物の外貌、触診から得られるボディコンディションスコア (BCS) を使用している。本章では、種々の年齢の健常猫の体重、BCS の変化を測定し、その加齢に伴う変動を検討した。Young グループと Old グループで比べると、平均年齢は、Young グループが 2.7 ± 0.2 歳、Old グループが 12.1 ± 0.4 歳であり、体重は、Young グループが 4.1 ± 0.2 kg、Old グループが 4.8 ± 0.3 kg、BCS は Young グループが 5.5 ± 0.2 、Old グループが 6.6 ± 0.3 となった。つまり、猫は健常であっても、加齢に伴って体重や BCS が増え、それに伴い血中脂質濃度が増えることが明らかとなった。猫は犬に比べ肥満しやすい動物であることが知られており、各地の調査でも近年、肥満の割合が増えている。その発生率は 30~40% で、世界的に増える傾向にある。今回の調査でも全体の 32.8% が過体重および肥満であることが分かった。しかし、一般の飼い主に比べ比較的健康に関心の高い健診受診動物を対象にしたので、実際の来院動物のその比率はより高値である事が予想される。

肥満は多くの人々の死因に関与している非感染性疾患 NCDs のリスクファクターとなっている。これら NCDs の予防や重症化の抑制には根本的な治療は難しいため、「肥満させないこと」が、最も効果的であると考えられる。一般に肥満症など非感染性疾患 (NCDs) への対応は早ければ早いほど効果的で、そのためには適切な早期診断が必要となる。早期診断・予防をするためには、適切なマーカーが必要になるので、これらの検討は今後の課題である。

3章 健康猫における血液中の代謝病診断マーカーの変動

人では、加齢に伴い肥満率が増加し、肥満を基盤とする代謝異常であるメタボリックシンドロームが大きな注目を集めている。肥満を始めとして糖尿病や腎臓病、がんなどの非感染性疾患 (non-communicable diseases: NCDs) が増加している (井村ら, 2015)。獣医領域においても、獣医療の進歩による寿命延伸、生活習慣の変化により人の75歳に相当する15歳を超える高齢の犬や猫が近年、目立って増え、加齢に伴うNCD発症が増大している (Edney et al, 1986; McGreevy et al, 2005; Lund et al, 2006; Okada et al, 2017)。特に猫は種特異的な糖脂質代謝メカニズムを有し、犬に比べて肥満しやすく、加齢に伴って体重や血中脂質濃度が増え、肥満傾向になることが知られている。DeFronzoによる脂肪毒性の報告 (2010) 以来、肥満は異所性脂肪蓄積による内臓脂肪の増加、それに由来する持続的な全身性の軽度炎症という概念が確立され、従来使用されてきた血液中の中性脂肪、コレステロール濃度という診断マーカーに加え炎症性サイトカインやインスリン抵抗性を軽減するアディポネクチンなどホルモンを肥満早期発見のためのバイオマーカーとして利用する (Gehmann et al, 2010; 高木ら 2010; 日本肥満学会 2016) ことにより、早期段階での診断、食事療法など予防的介入が進み、メタボリックシンドローム、糖尿病などより重篤な代謝障害への移行を未然に防ぐことに成功している (菅波ら 2015; 山岡ら 2016)。犬猫においても、同様の取り組みが効果を挙げている (岡田ら 2016; Okada et al, 2017)。

上記のようにNCDs対策としては早期診断、早期治療が最も現実的な方法で、「病気を治す」より「病気にさせない、重症化させない」といった予防的対応がより重要となる。そこで、本章では、実際に動物病院に来院したさまざまな年齢の健康な猫のエネルギー代謝の診断マーカーとして、糖脂質代謝産物、ホルモン濃度や酵素活性の変化を調べた。加齢に伴う健康な猫のこれらの基準値の変化は、肥満を含む加齢関連疾病の発症メカニズムを理解するのに役立つと考えられる。

3.1 材料と方法

1. 動物

2章と同じく2018年(10~12月)の健康診断を目的に当院(成城こぼやし動物病院)に来院した70頭の猫の内、すでに疾患を抱えていた3頭の猫を除いた臨床的に健康な67頭の猫(10ヶ月齢~16歳9ヶ月、雌25、雄42)を対象とした。67頭を5つのグループに分けた: New born (<1歳)、Young (1~<5歳)、Middle (5~<10歳)、Old及びOld-thin (10歳~)。本試験は日本獣医生命科学大学動物実験委員会で承認されたもので(承認番号30K-05)、また動物の飼い主からは書面でインフォームドコンセントを得た。

2. 血液検査

採血は8時間以上の絶食後、朝食前に頸静脈から行った。採血された血液から3000g、4°C、5分間の遠心分離により血清を回収し、使用するまで-80°Cで保存した。グルコース (GLU)、トリグリセリド (TG)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (ALB)、カルシウム (Ca)、無機リン (iP)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、血中尿素窒素 (BUN) とクレアチニン (CRE) 濃度、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP) 及び γ グルタミルトランスぺプチターゼ (γ -GTP) 活性は、自動分析装置 (JCA-BM2250、日本電子、東京、日本) を使用して、富士フィルムモノリス (日本、東京) で製造元の試薬を使って測定された。血清乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) とリンゴ酸デヒドロゲナーゼ (MDH) 活性は、以前に報告された方法でそれぞれ測定された (Kaloustain et al, 1969; Bergmeyer et al, 1974)。血清 MDH / LDH (M / L) 比は、MDH 活性を LDH 活性で割ることにより算出した。血清アディポネクチン (ADN) 濃度は、市販の ELISA キット、マウス/ラットアディポネクチン ELISA キット (大塚製薬株式会社、東京、日本)、血清アミロイド A (SAA) 濃度は、市販の ELISA キット (CAT 血清アミロイド A (SAA) ELISA、Life Diagnostics、Inc.、West Chester、USA)、血清 AMP activated protein kinase (AMPK) 濃度

は、市販の ELISA キット、CycLex AMPK Kinase Assay Kit (CycLex Co. Ltd., 長野, 日本) でそれぞれ測定した。

3. 統計分析

結果は平均±標準誤差 (SE) として表示している。また、統計的有意性は、マンホイットニーU 検定によって決定した。有意水準は $P < 0.05$ に設定した。

3.2 結 果

3-2-1. 糖脂質代謝関連マーカーの変動

1. 血糖値 (Glucose, GLU)

Table3-1 より New born、Young、Middle、Old 及び Old-thin グループのそれぞれの血清 GLU 濃度 (平均±SE) は、90.5 mg 100mL⁻¹、102.6±4.6 mg 100mL⁻¹、136.1±10.0 mg 100mL⁻¹、142.0±8.8 mg 100mL⁻¹、113.3±10.6 mg 100mL⁻¹ となった。性別で分けると、雌は、89.0 mg 100mL⁻¹、98.9±5.6 mg 100mL⁻¹、113.4±8.7 mg 100mL⁻¹、134.9±10.4 mg 100mL⁻¹、120.5 mg 100mL⁻¹ となり、雄は、92.0 mg 100mL⁻¹、110.0±7.6 mg 100mL⁻¹、167.3±15.0 mg 100mL⁻¹、154.4±16.1 mg 100mL⁻¹、99 mg 100mL⁻¹ であった。性別に関係なく、加齢に伴い平均濃度が増加傾向にあることが分かった。Young グループの血清 GLU 濃度 (平均±SE、102.6±4.6 mg 100 mL⁻¹) に対して、Middle グループ (136.1±10.0 mg 100 mL⁻¹) および Old グループ (142.0±8.8 mg 100 mL⁻¹) の血清 GLU 濃度は統計学的に有意に高かった。Middle グループでは、雌猫の血清 GLU 濃度 (113.4±8.7 mg 100 mL⁻¹) は雄猫の血清 GLU 濃度 (167.3±15.0 mg 100 mL⁻¹) よりも統計学的に有意に低かった。

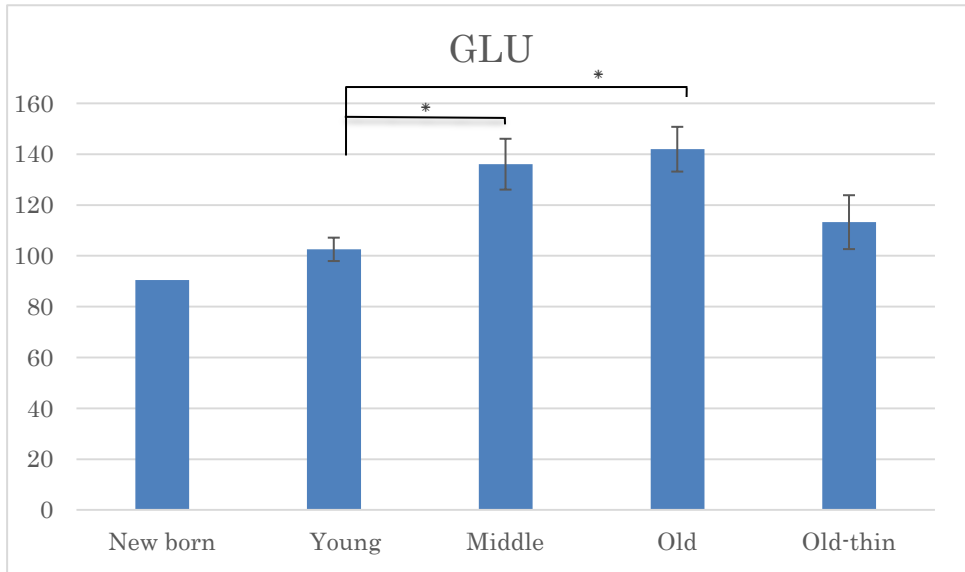


Fig. 3-1 Average serum GLU concentrations (mg 100mL⁻¹) of different groups
*Significantly difference (p<0.05)

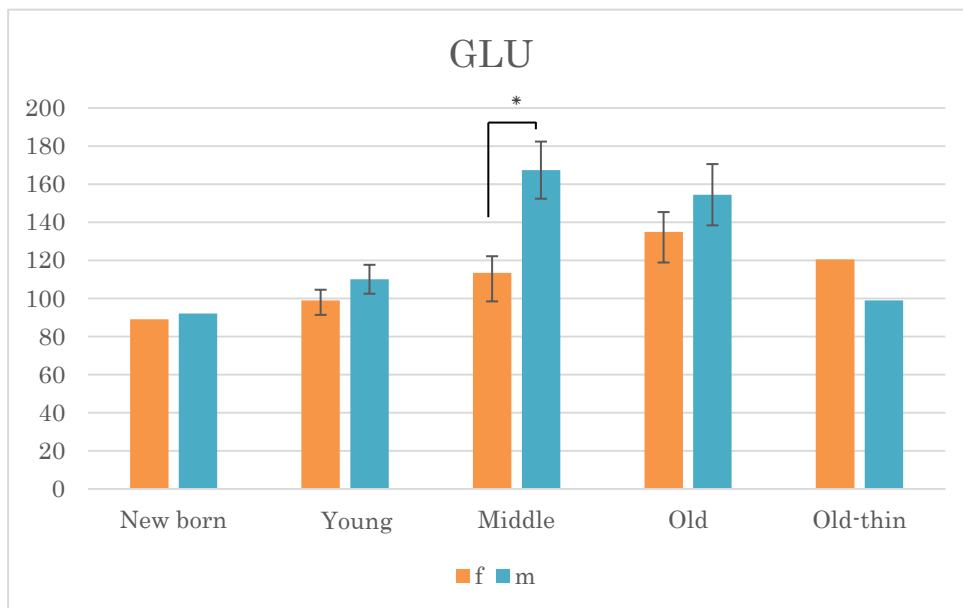


Fig. 3-2 Sex differences in average blood GLU concentrations (mg 100mL⁻¹) of different groups

2. 中性脂肪 (Triglyceride, TG) 濃度

Table3-1 より New born、Young、Middle、Old 及び Old-thin グループのそれぞれの血清 TG 濃度 (平均±SE) は、26.5 mg 100mL⁻¹、40.7±7.1 mg 100mL⁻¹、56.4±12.0 mg 100mL⁻¹、108.2±28.8 mg 100mL⁻¹、25.0±9.0 mg 100mL⁻¹ となった。雌は、31.0 mg 100mL⁻¹、40.8±9.1 mg 100mL⁻¹、44.4±11.5 mg 100mL⁻¹、117.1±42.8 mg 100mL⁻¹、24.5 mg 100mL⁻¹ となり、雄は、22.0 mg 100mL⁻¹、40.5±12.5 mg 100mL⁻¹、71.4±22.8 mg 100mL⁻¹、93.9±33.0 mg 100mL⁻¹、26.0 mg 100mL⁻¹ となった。性別に関係なく、加齢に伴い平均血中濃度が増加傾向にあることが分かった。Old グループの血清 TG 濃度 (108.2±28.2 mg 100mL⁻¹) は、Young グループのそれら (40.7±7.2 mg 100mL⁻¹) に対して統計学的に有意に高かった。

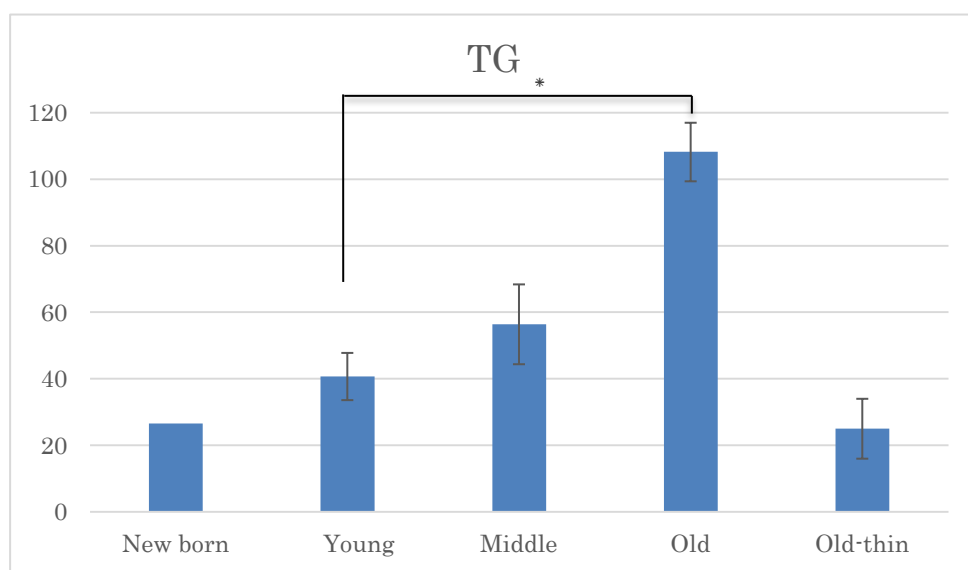


Fig. 3-3 Average serum TG concentrations (mg 100mL⁻¹) of different groups

*Significantly difference (p<0.05)

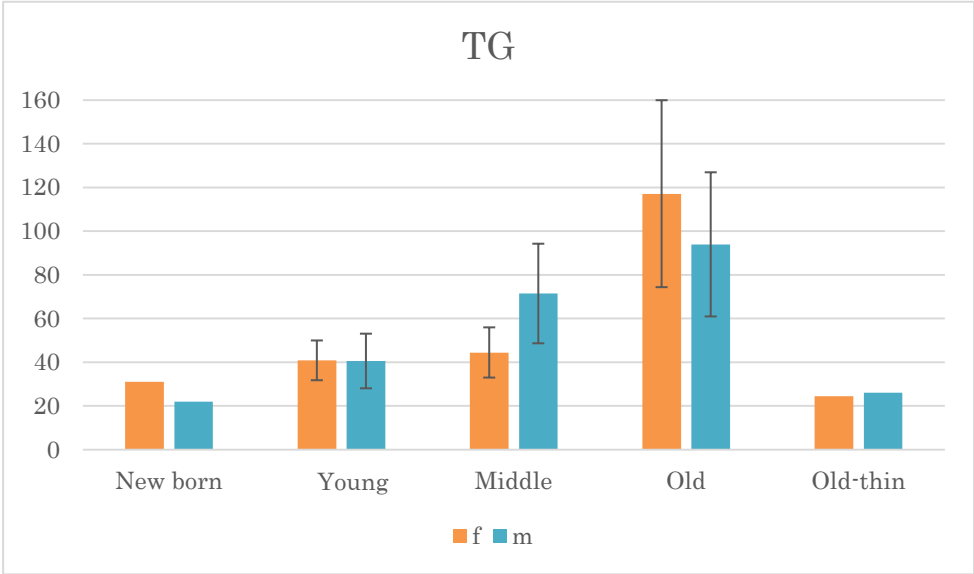


Fig.3-4 Sex differences in average blood TG concentrations (mg 100mL⁻¹) of different groups

3-2-2. 肝臓酵素活性の変動

1. ALT, AST, ALP, γ -GTP 活性

Table3-1 に示すように、肝酵素である ALT、AST、ALP、 γ -GTP の活性には統計学的に有意差は認められず、年齢および性別による変化も認められなかった。

2. M/L 比

Table3-1 に示すように、エネルギー代謝指標としてのリンゴ酸デヒドロゲナーゼ/乳酸デヒドロゲナーゼ (M/L) 比は、統計的に有意ではなかったものの、Young グループ (0.38 ± 0.15) と比較して Middle グループ (0.27 ± 0.05)、Old グループ (0.30 ± 0.06)、Old-thin グループ (0.14 ± 0.04) で減少した。加齢に伴い、減少する傾向にあった。Middle group では、メス猫の M / L 比はオス猫のそれと比較して統計学的に有意に高かった。

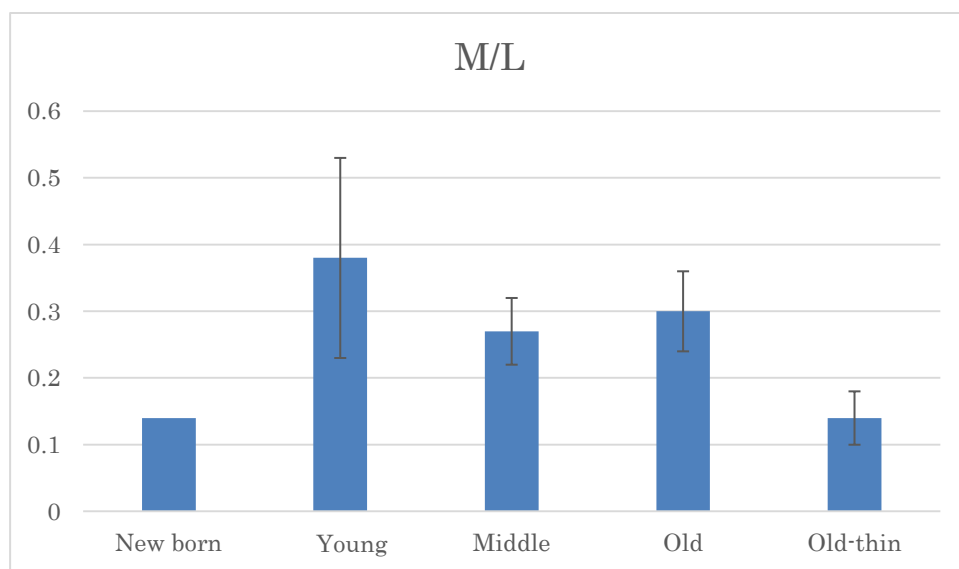


Fig. 3-5 Average blood M/L ratios of different groups

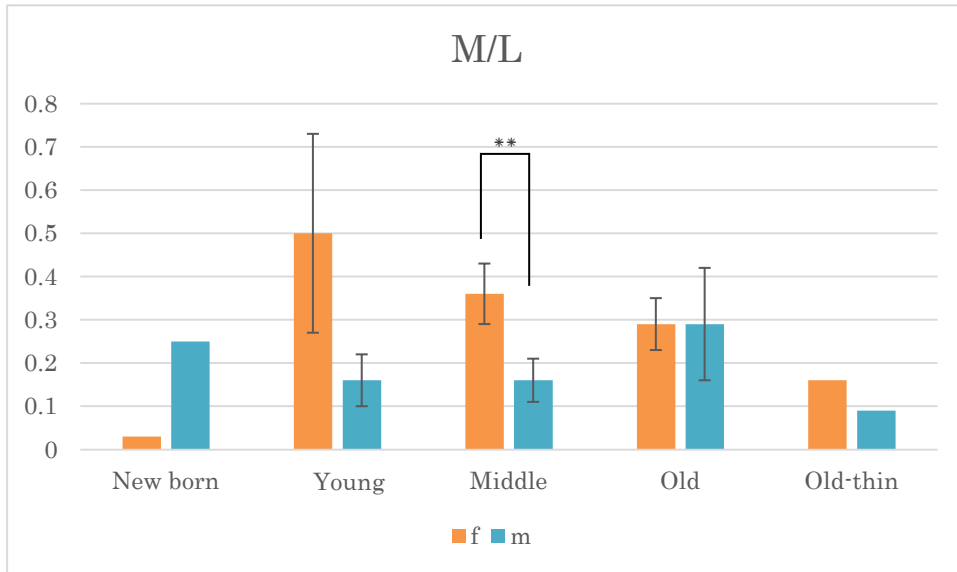


Fig.3-6 Sex differences in average blood M/L ratios of different groups
 **Significantly difference (p<0.05)

3-2-3. 炎症マーカーの変動

Serum Amyloid A (SAA)

Table3-1 に示すように、炎症マーカーである SAA の血中濃度は、New born グループでは検出限界以下の低い値であった。統計的に有意差はなかったものの Old グループの SAA 濃度 ($84.7 \pm 38.4 \text{ ng mL}^{-1}$) は、Young グループ ($22.5 \pm 10.9 \text{ ng mL}^{-1}$) および Middle グループ ($39.3 \pm 14.8 \text{ ng mL}^{-1}$) に比べて高値となった。Old-thin グループの血清 SAA 濃度は、Young グループの血清 SAA 濃度と比較して大幅に増加した ($212.1 \pm 89.9 \text{ ng mL}^{-1}$ 対 $22.5 \pm 10.9 \text{ ng mL}^{-1}$)。また、SAA が 200 ng mL^{-1} 以上の高値を示した猫は 5 頭いた (486 ng mL^{-1} 、 601 ng mL^{-1} 、 266 ng mL^{-1} 、 370.7 ng mL^{-1} 、 218 ng mL^{-1})。5 頭中 4 頭は Old グループに属し、1 頭は Middle グループの動物だった。

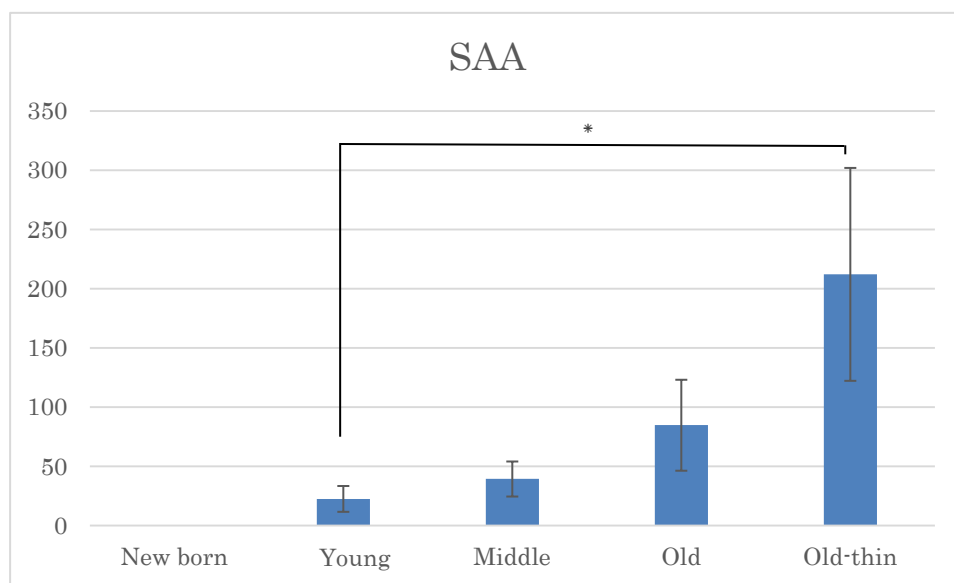


Fig. 3-7 Average serum SAA concentrations ($\text{ng } 100\text{mL}^{-1}$) of different groups

*Significantly difference ($p < 0.05$)

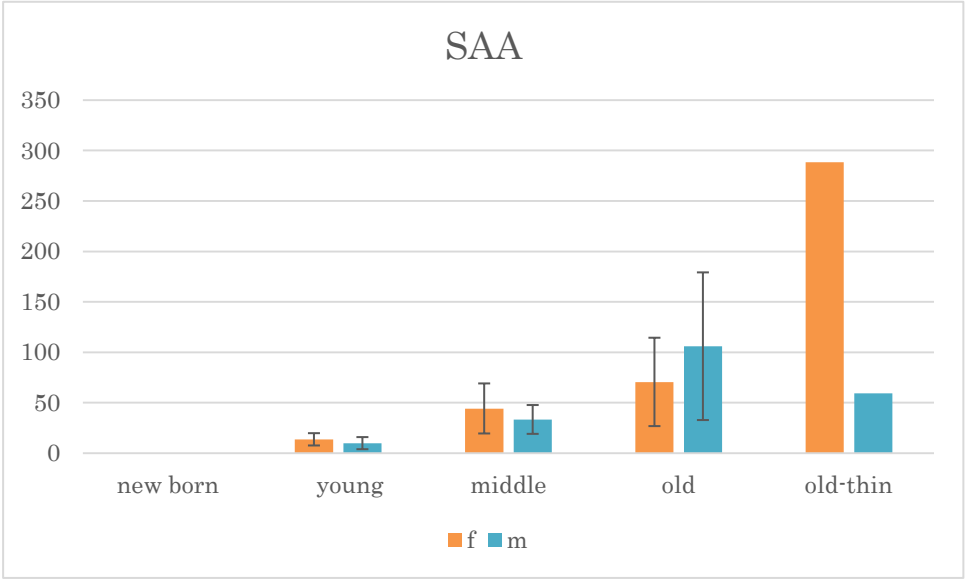


Fig.3-8 Sex differences in average blood SAA concentrations (ng 100mL⁻¹) of different groups

3-2-4. その他のマーカーの変動

1. 血清アディポネクチン(ADN)濃度

Table3-1 に示すように、血清 ADN 濃度の有意差は、Young グループ ($5.3 \pm 0.9 \mu\text{g mL}^{-1}$)、Middle グループ ($4.4 \pm 0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$)、Old グループ ($4.7 \pm 1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) および Old-thin グループ ($4.0 \pm 1.3 \mu\text{g mL}^{-1}$) に認められなかったが、加齢に伴って低下する傾向にあった。

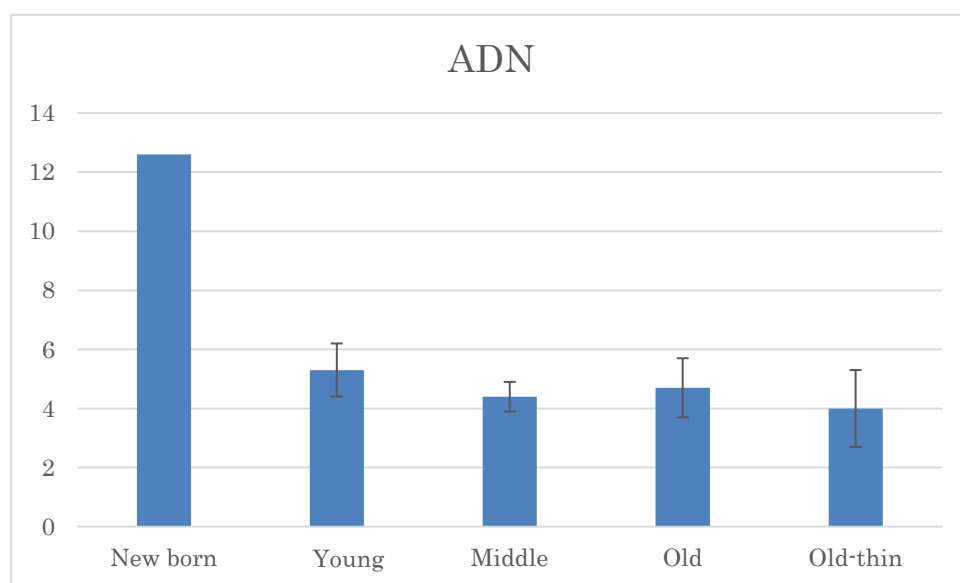


Fig.3-9 Average serum ADN concentrations ($\mu\text{g 100mL}^{-1}$) of different groups

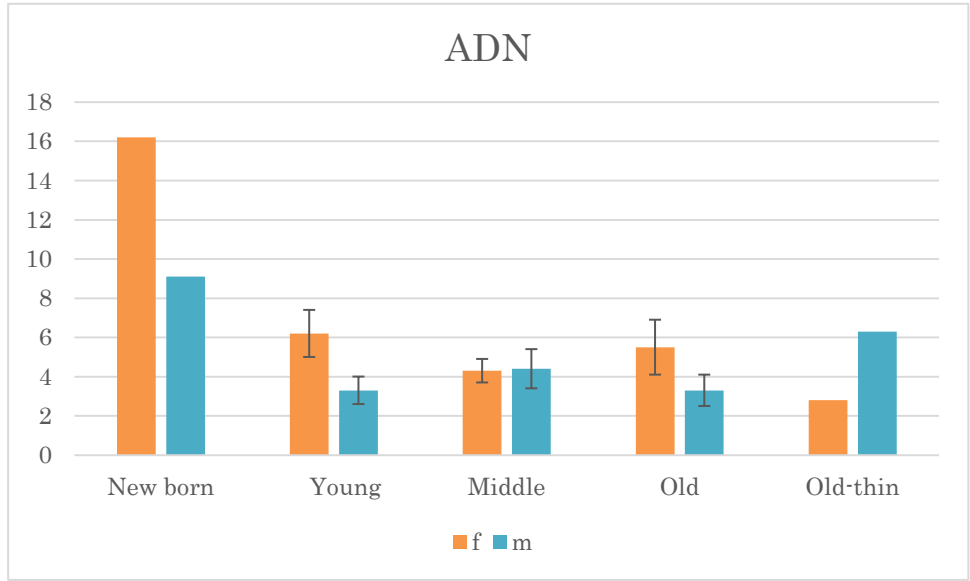


Fig.3-10 Sex differences in average blood ADN concentrations ($\mu\text{g mL}^{-1}$) of different groups

2. Serum AMPK (ng/mL)

Table3-1に示すように、血清 AMPK 濃度は、Young グループ (4.7 ± 2.5 ng/mL)、Middle グループ (3.9 ± 3.0 ng/mL)、Old グループ (3.8 ± 2.1 ng/mL) および Old-thin グループ (1.4 ± 1.4 ng/mL) の間で有意差は認められなかったが、加齢に伴って低下する傾向にあった。また、New born グループでは検出限界以下の低値であった。

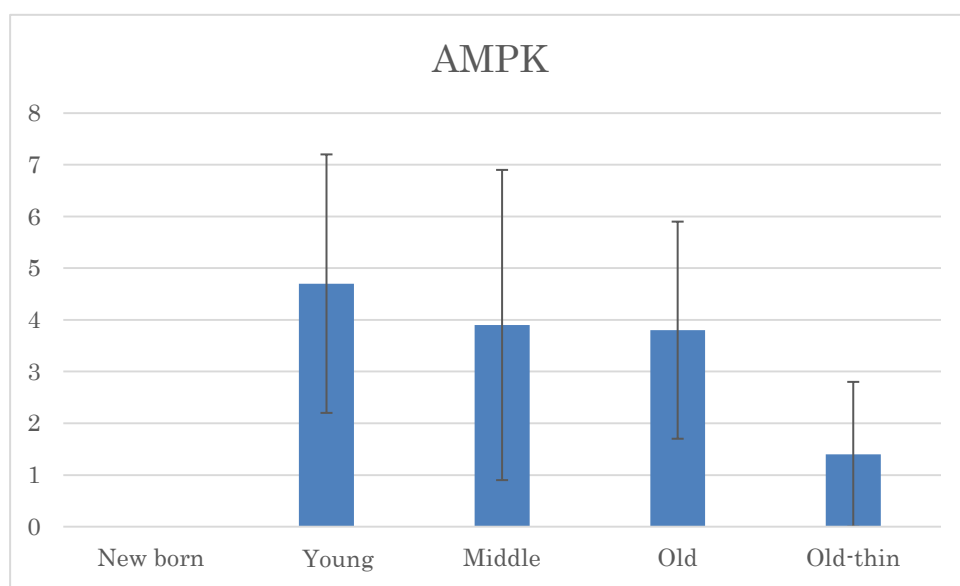


Fig.3-11 Average serum AMPK concentrations (ng/mL) of different groups

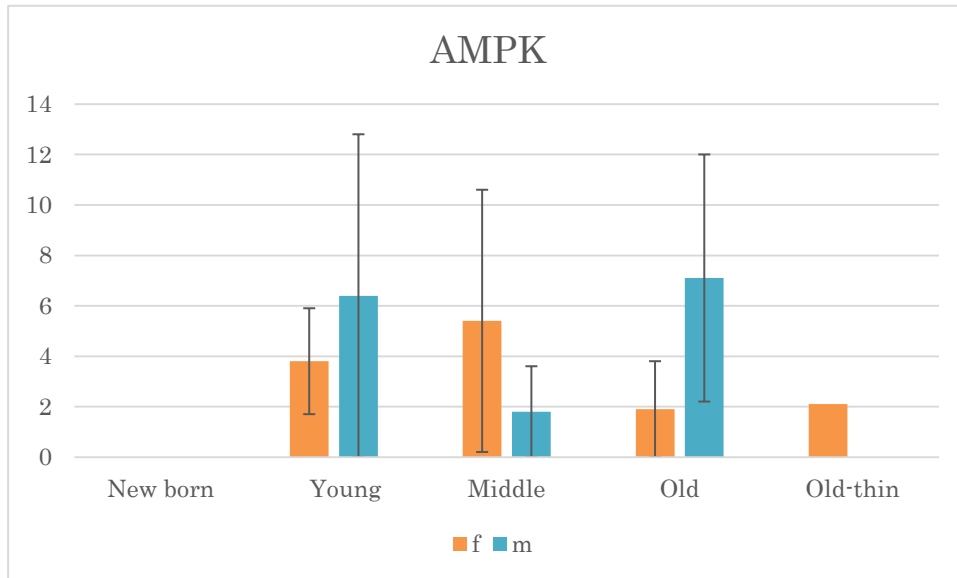


Fig.3-12 Sex differences in average blood AMPK concentrations (ng/mL) of different groups

3. Ca, iP, Na, Cl, K イオン濃度

Table3-2 に示すように、これらイオン濃度について加齢に伴う変化は認められなかった。

Table 3-1 Changes in biomarkers among different ages in 67 cats

		new born	young	middle	old	old-thin
Age (range)		0~1≤	1<~5≤	5<~10≤	10<~17≤	10<~17≤
Age (Av)	f+m	0.9 (2)	2.7±0.2 (21)	7.6±0.3 (19)	12.1±0.4 (22)	15.6±1.2 (3)
	f	1.0 (1)	2.6 ±0.3 (14)	7.8±0.5 (11)	12.1±0.5 (14)	15.0 (2)
	m	0.8 (1)	2.7±0.3 (7)	7.4±0.4 (8)	12.2±0.7 (8)	16.8 (1)
weight (kg)	f+m	4.4 (2)	4.1±0.2 (21)	5.0±0.3* (18)	4.8±0.3 (22)	3.4±0.3 (3)
	f	4.1 (1)	4.0±0.2 (14)	4.4±0.2 (11)	4.3±0.2 ** (14)	3.3 (2)
	m	4.8 (1)	4.4±0.4 (7)	5.9±0.6 (7)	5.7±0.4 (8)	3.6 (1)
BCS	f+m	6 (2)	5.5±0.2 (21)	6.4±0.3* (19)	6.6±0.3* (22)	4.0±0.0* (3)
	f	7 (1)	5.5±0.2 (14)	6.1±0.3 (11)	6.4±0.4 (14)	4.0 (2)
	m	5 (1)	5.4±0.3 (7)	6.9±0.5 (8)	6.9±0.5 (8)	4.0 (1)
GLU (mg 100mL ⁻¹)	f+m	90.5 (2)	102.6±4.6 (21)	136.1±10.0* (19)	142.0±8.8*	113.3±10.6 (3)
	f	89.0 (1)	98.9±5.6 (14)	113.4±8.7** (11)	134.9±10.4 (14)	120.5 (2)
	m	92.0 (1)	110.0±7.6 (7)	167.3±15.0 (8)	154.4±16.1(8)	99.0 (1)
AST (IU L ⁻¹)	f+m	16.0 (2)	28.4±2.6 (21)	27.8±1.3(19)	25.5±2.0 (22)	24.7±2.3 (3)
	f	17.0 (1)	28.2±3.6 (14)	28.3±2.0 (11)	25.1±2.4 (14)	23.5 (2)
	m	15.0 (1)	28.9±3.7 (7)	27.3±1.6 (8)	26.1±3.9 (8)	27.0 (1)
ALT (IU L ⁻¹)	f+m	34.0 (2)	65.0±12.8 (21)	48.7±3.4 (19)	47.9±6.5 (22)	34.0±5.0 (3)
	f	39.0 (1)	65.1±18.4 (14)	52.3±5.0 (11)	46.6±6.9 (14)	29.0 (2)
	m	29.0 (1)	64.7±12.9 (7)	43.8±3.8 (8)	50.1±13.7 (8)	44.0 (1)
TG (mg 100mL ⁻¹)	f+m	26.5 (2)	40.7±7.1 (19)	56.4±12.0 (18)	108.2±28.8*(21)	25.0±9.0 (3)
	f	31.0 (1)	40.8±9.1 (13)	44.4±11.5 (10)	117.1±42.8 (13)	24.5 (2)
	m	22.0 (1)	40.5±12.5 (6)	71.4±22.8 (8)	93.9±33.0 (8)	26.0 (1)
SAA (ng 100mL ⁻¹)	f+m	0.0 (2)	22.5±10.9 (18)	39.3±14.8 (18)	84.7±38.4 (20)	212.1±89.9* (3)
	f	0.0 (1)	13.6±6.1 (13)	44.2±24.8 (10)	70.5±43.8 (12)	288.4 (2)
	m	0.0 (1)	9.8±6.0 (5)	33.3±14.3 (8)	105.9±73.2 (8)	59.4 (1)
ADN (µg mL ⁻¹)	f+m	12.6 (2)	5.3±0.9 (19)	4.4±0.5 (18)	4.7±1.0 (19)	4.0±1.3 (3)
	f	16.2 (1)	6.2±1.2 (13)	4.3±0.6 (10)	5.5±1.4 (12)	2.8 (2)
	m	9.1 (1)	3.3±0.7 (6)	4.4±1.0 (8)	3.3±0.8 (7)	6.3 (1)
LDH (IU L ⁻¹)	f+m	62.5 (2)	95.9±14.2 (18)	54.0±6.01*(18)	48.3±6.77* (21)	69.7±31.5 (3)
	f	129.0 (1)	89.7±16.4 (12)	45.6±5.9 (10)	43.0±7.6 (13)	84.1 (2)
	m	58.0 (1)	108.4±28.8 (6)	64.4±10.7 (8)	57.1±12.9 (8)	40.8 (1)
MDH (IU L ⁻¹)	f+m	6.7 (2)	32.8±15.0 (17)	11.8±1.51 (18)	15.9±7.17 (21)	8.4±2.9 (3)
	f	2.7 (1)	45.3±22.6 (11)	13.8±1.9 (10)	10.6±2.4 (13)	10.8 (2)
	m	10.8 (1)	10.0±1.8 (6)	9.3±2.3 (8)	24.6±18.8 (8)	3.6 (1)
M/L	f+m	0.14 (2)	0.38±0.15 (17)	0.27±0.05 (18)	0.30±0.06 (21)	0.14±0.04 (3)
	f	0.03 (1)	0.50±0.23 (11)	0.36±0.07 ** (10)	0.29±0.06 (13)	0.16 (2)
	m	0.25 (1)	0.16±0.06 (6)	0.16±0.05 (8)	0.29±0.13 (8)	0.09 (1)
TP (g 100mL ⁻¹)	f+m	7.2 (2)	7.5±0.2 (21)	7.6±0.1(19)	7.6±0.1(22)	7.8±0.3 (3)
	f	7.3 (1)	7.5±0.2 (14)	7.7±0.2 (11)	7.5±0.1 (14)	7.9 (2)
	m	7.0 (1)	7.4±0.3 (7)	7.5±0.2 (8)	7.7±0.1 (8)	7.6 (1)
ALB (g 100mL ⁻¹)	f+m	3.4 (2)	3.4±0.1 (21)	3.4±0.1(19)	3.2±0.1* (22)	3.1±0.1 (3)
	f	3.4 (1)	3.4±0.1 (14)	3.4±0.1 (11)	3.2±0.1 (14)	3.0 (2)
	m	3.4 (1)	3.4±0.1 (7)	3.3±0.1 (8)	3.3±0.1 (8)	3.2 (1)
ALP (IU L ⁻¹)	f+m	139.5 (2)	100.5±11.1 (21)	85.9±8.21(19)	86.1±5.74 (22)	100.0±34.5 (3)
	f	133.0 (1)	87.8±11.5 (14)	93.5±12.5 (11)	91.0±7.0 (14)	118.5 (2)
	m	146.0 (1)	125.9±22.4 (7)	75.6±8.8 (8)	77.5±9.7 (8)	63.0 (1)
γ-GPT (IU L ⁻¹)	f+m	0.1 (2)	0.2±0.0 (21)	0.3±0.1(19)	0.2±0.0 (22)	0.3±0.1 (3)
	f	0.1 (1)	0.1±0.1 (14)	0.2±0.0 (11)	0.2±0.0 (14)	0.3 (2)
	m	0.1 (1)	0.1±0.1(7)	0.2±0.0 (8)	0.3±0.1 (8)	0.4 (1)
BUN (mg 100mL ⁻¹)	f+m	28.5 (2)	25.4±1.0 (21)	27.2±1.0 (19)	31.0±3.5 (22)	26.7±3.9 (3)
	f	32.0 (1)	26.0±1.0 (14)	27.6±1.6 (11)	32.6±5.4 (14)	24.0 (2)
	m	25.0 (1)	24.3±2.1 (7)	26.6±1.1(8)	28.4±2.3 (8)	32.0 (1)
CRE (mg 100mL ⁻¹)	f+m	1.5 (2)	1.5±0.1 (21)	1.6±0.1 (19)	1.6±0.1(22)	1.7±0.4 (3)
	f	1.5 (1)	1.5±0.1 (14)	1.5±0.1** (11)	1.7±0.2 (14)	1.4 (2)
	m	1.4 (1)	1.6±0.1 (7)	1.7±0.1 (8)	1.4±0.1 (8)	2.5 (1)
AMPK (ng/ml)	f+m	0(2)	4.7±2.5(21)	3.9±3.0(19)	3.8±2.1(22)	1.4±1.4(3)
	f	0(1)	3.8±2.1(14)	5.4±5.2(11)	1.9±1.9(14)	2.1(2)
	m	0(1)	6.4±6.4(7)	1.8±1.8(8)	7.1±4.9(8)	0(1)

Data are expressed mean ± standard error (SE).

* Significant (P < 0.05) when compared against Young group (Mann-Whitney U test)

** Significant (P < 0.05) when compared against male group (Mann-whitney U test)

The number in parentheses indicate the number of animals examined.

Table 3-2 Changes in serum iron biomarkers among different ages in 67 cats

		new born	young	middle	old	old-thin
Age (range)		0~1 \leq	1<~5 \leq	5<~10 \leq	10<~17 \leq	10<~17 \leq
Ca (mg 100mL ⁻¹)	f+m	10.3 (2)	10.0 \pm 0.2 (21)	9.9 \pm 0.1(19)	9.9 \pm 0.1(22)	10.3 \pm 0.3 (3)
	f	10.4 (1)	10.0 \pm 0.2 (14)	9.9 \pm 0.1 (11)	9.9 \pm 0.1(14)	10.4 (2)
	m	10.2 (1)	10.0 \pm 0.2 (7)	9.8 \pm 0.2 (8)	9.9 \pm 0.2 (8)	10.1(1)
iP (mg 100mL ⁻¹)	f+m	6.2 (2)	3.9 \pm 0.2 (21)	3.7 \pm 0.1(19)	3.8 \pm 0.1 (22)	3.8 \pm 0.2 (3)
	f	6.2 (1)	4.0 \pm 0.2 (14)	3.9 \pm 0.2 (11)	3.8 \pm 0.2 (14)	4.0 (2)
	m	6.1 (1)	3.8 \pm 0.3 (7)	3.5 \pm 0.2 (8)	3.8 \pm 0.2 (8)	3.4 (1)
Na (mEq L ⁻¹)	f+m	158.5 (2)	154.4 \pm 0.3 (21)	154.5 \pm 0.7 (19)	154.4 \pm 0.2 (22)	154.0 \pm 0.6 (3)
	f	158.0 (1)	154.3 \pm 0.3 (14)	154.6 \pm 0.7 (11)	154.7 \pm 0.3 (14)	154.0 (2)
	m	159.0 (1)	154.6 \pm 0.8 (7)	151.9 \pm 1.2 (8)	153.8 \pm 0.4 (8)	154.0 (1)
Cl (mEq L ⁻¹)	f+m	123.5 (2)	119.5 \pm 0.4 (21)	119.1 \pm 0.7 (19)	119.7 \pm 0.5 (22)	120.7 \pm 0.3 (3)
	f	126.0 (1)	119.5 \pm 0.5 (14)	120.2 \pm 0.7 ** (11)	119.6 \pm 0.6 (14)	121.0 (2)
	m	121.0 (1)	119.4 \pm 0.7 (7)	117.6 \pm 1.1 (8)	119.8 \pm 0.9 (8)	120.0 (1)
K (mEq L ⁻¹)	f+m	5.2 (2)	4.3 \pm 0.1 (21)	4.4 \pm 0.1 (19)	4.1 \pm 0.1 (22)	4.2 \pm 0.3 (3)
	f	5.5 (1)	4.4 \pm 0.1 (14)	4.4 \pm 0.1 (11)	4.1 \pm 0.1 (14)	4.5 (2)
	m	4.9 (1)	4.1 \pm 0.1 (7)	4.4 \pm 0.1 (8)	4.1 \pm 0.1 (8)	3.6 (1)

Data are expressed mean \pm standard error (SE).

* Significant (P < 0.05) when compared against Young group (Mann-Whitney U test)

** Significant (P < 0.05) when compared against male group (Mann-whitney U test)

The number in parentheses indicate the number of animals examined.

3.3 考 察

今回、健康診断を目的として動物病院に来院した様々な年齢の 67 頭の猫の血清中の代謝産物、イオン、ホルモン濃度および酵素活性の変動を調査した。血清 GLU 濃度と TG 濃度は加齢に伴い増加した。猫の肝臓では糖の取り込み能が低く、解糖系の律速酵素であるグルコキナーゼ活性を欠くことから犬に比べ糖処理能力(糖に対する依存度)が低い(Tanaka et al, 2005; 2006)。一方でペントースリン酸経路の活性が高く、フルクトキナーゼ活性やグルコース-6-ホスファターゼ活性が高いことから、脂肪酸産生能や糖新生能は犬に比べて高い(Washizu et al, 2005)。また猫では組織におけるインスリンシグナル伝達(IRS-1, IRS-2 and PI3-K)に関わる分子の mRNA 発現量も犬に比べて著しく低い(Mori et al, 2009)。以上のような特徴を持つ猫は犬に比べ糖に対するエネルギー依存度が低く、インスリン抵抗性に陥りやすく、肥満しやすい動物といえる。血清 GLU, TG 濃度の加齢に伴う上昇はこの猫の特性を反映したものといえる。肥満とは「脂肪組織にトリグリセリドが過剰に蓄積した状態」と定義され、その主因はエネルギーの過剰摂取(過食)と運動不足とされる。肥満は脂肪組織の蓄積する部位によって、皮下に脂肪のたまりやすい皮下脂肪型肥満と、小腸などの内臓の周囲に脂肪のたまりやすい内臓脂肪型肥満とに分類される。外見上、皮下脂肪型肥満は「洋なし型肥満」、内臓脂肪型肥満は「りんご型肥満」とも呼ばれる(慶應義塾大学病院, 2019)。この中で特に内臓脂肪型肥満は、2型糖尿病、高血圧、動脈硬化症、心血管障害、ガンのリスクファクターとなることが知られている(Gonzalez-Muniesa et al, 2017)。肥満の特徴の一つとして、慢性的な軽度の炎症が持続し、それが原因となりインスリン抵抗性や脂肪異常症といった代謝障害が誘発され(Arner et al, 2015)、免疫担当細胞の組織への浸潤や脂肪組織での炎症性サイトカインの産生増加がみられるようになる。こうした炎症シグナルに反応して、脂肪組織は炎症メディエーターや急性相タンパク質などを放出する。これらは肥満に関連する合併症の主たる原因となる(Zhu et al, 2014 ; Dias et al, 2015)。

リンゴ酸脱水素酵素 (MDH) は、グルコース代謝から ATP を生成する NADH シヤトルの 1 つであるリンゴ酸-アスパラギン酸シヤトルの主要酵素である。乳酸脱水素酵素 (LDH) は、細胞質 NADH を消費して乳酸からピルビン酸への変換する反応を触媒する酵素である。MDH 活性増加はグルコースからのエネルギー産生の亢進を意味する。MDH/LDH 活性比 (M/L 比) は、動物のエネルギー代謝状態を評価するための優れた指標と見なされている (Li G et al, 2012; Okada et al, 2016)。この研究では、M / L 比は、統計的な有意差はなかったが加齢に伴い低下する傾向にあった。健康な猫では、グルコースからのエネルギー代謝 (解糖による ATP 生成) は加齢とともに徐々に減衰すると考えられる。老化の過程では人や動物のミトコンドリアにおける ATP 産生機能の低下を伴うことが明らかである (Akbari et al, 2019)。

炎症マーカーである血清アミロイド A (SAA) は、健康な猫では加齢とともに徐々に増加した。分子量が 12kDa 程度のタンパク質である SAA は、炎症が起こったときに血中に検出される急性期反応物質である。人では、血清 SAA 濃度は、炎症性刺激後 24~48 時間以内に 1,000 倍に増加する (Husby et al, 1994)。猫の SAA 濃度は、ヒトと同様に有用な炎症マーカーとしても認識されている。炎症や組織の損傷が発生すると、猫の SAA 濃度は人と同様に 1,000 倍に増加する (Tamamoto et al, 2008)。以前に我々は、SAA 濃度が肥満症の猫で大幅に増加することを報告している (Okada et al, 2019)。今回の研究では、老齢の猫で SAA 濃度の増加が観察された。これは、加齢に伴って体のどこかに微小な炎症が発生している可能性を示唆するものである。

今回の研究では血清アディポネクチン濃度は、加齢に伴った顕著な変化は認められなかったが、低下していることは分かった。内臓脂肪が蓄積している肥満猫では、血清アディポネクチン濃度の低下する傾向があることを以前に報告している (Okada Y et al, 2017)。しかし、今回の結果では、老猫の血清アディポネクチン濃度は、若い猫の血清アディポネクチン濃度とほぼ同じであった。健康な老猫では、アディポネクチンの減少を来すほど多量な内臓脂肪が蓄積されてはいないと予想される。血清アディポネクチン濃度は、内臓脂肪の蓄積と

密接に関連していることも分かっている (Gulcelik et al, 2013)。したがって、健康な老猫では、アディポネクチンの変動が少ないと考えられた。

AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) は、統計学的に有意差はなかったが加齢に伴い、減少傾向にあることが分かった。AMPK は人から酵母まで真核細胞に高度に保存されているセリン・スレオニンキナーゼ (セリン・スレオニンリン酸化酵素) の一種で、代謝物感知タンパク質キナーゼファミリー (metabolite-sensing protein kinase family) のメンバーとして細胞内のエネルギーのセンサーとして重要な役割を担っている (Steinberg and Kemp, 2009; Hardie, 2011; Mihaylova and Shaw, 2011) (Fig. 3-13)。

アディポネクチンは肝臓と骨格筋の脂肪酸輸送タンパク質の発現を調節し、AMPK の活性化を介して脂肪酸の酸化と血糖の利用を促進する (Chandran et al, 2003)。食物摂取、体重、血糖および脂質の代謝におけるアディポカインの効果を仲介し (Kahn et al, 2005)、肥満とインスリン抵抗性に対する保護作用を持つ (Kahn et al, 2005; Balsan et al, 2015)。さらに、活性型の AMPK は、肥満者によく見られる特徴である酸化ストレスと炎症のプロセスを抑制する。人では、この AMPK 活性は加齢に伴い低下することが分かっている (Antero and Kai, 2011)。今回の研究でも加齢に伴い、AMPK 活性は減少傾向にあることから猫においても人と同じことが予想される。

肝臓に関与する血清 LDH、AST および ALT に値の変化は認められなかったが、老猫の血清 ALB 濃度は、若い猫よりも低かった。ALB と M/L 比の低下は、加齢に伴うエネルギー代謝に関連する肝機能の低下を示している可能性がある。

以上のように健常猫でも加齢に伴い脂質代謝を中心にエネルギー代謝は徐々に低下することが明らかになった。そして加齢に伴い GLU, TG, ALB, M/L 比, AMPK, SAA, ADN は肥満を含めた代謝性疾患の初期の微小な変化を検出するための有用なマーカーになると考えられた。

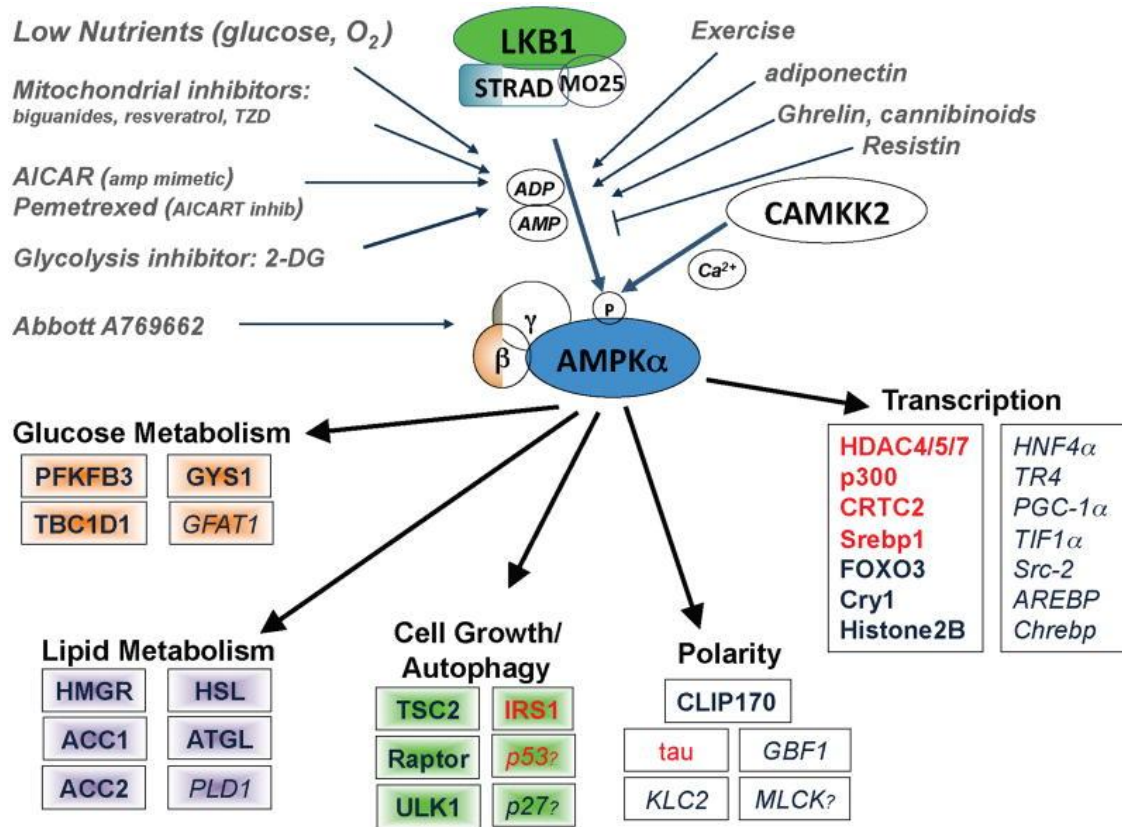


Fig. 3-13 The AMPK signaling pathway (Mihaylova and Shaw, 2011)

3.4 小 括

今回、一般の臨床施設において来院した健康な猫を対象に糖脂質代謝産物、ホルモン濃度や酵素活性の変化を調査した結果、血清中の GLU, TG, ALB, M/L 比, SAA, AMPK などの項目に加齢に伴った変動が認められた。血清 TG 濃度 (平均±SE) は、Young グループが $40.7 \pm 7.1 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 、Old グループが $108.2 \pm 28.8 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ で、Old グループで統計学的に有意に高かった。血清 SAA 血清濃度は、Young グループが $22.5 \pm 10.9 \text{ ng mL}^{-1}$ 、Old グループが $84.7 \pm 38.4 \text{ ng mL}^{-1}$ となり、有意差はないが増加した。ADN 濃度は、Young グループが $5.3 \pm 0.9 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ 、Old グループが $4.7 \pm 1.0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ となり有意差はないが、低下した。これは健常な猫でも加齢に伴って脂質代謝を中心にエネルギー代謝が低下し、肥満傾向を示す前章の結果を反映していると考えられる。肥満～肥満症発生には遺伝、栄養、生活習慣など様々な要因が関与し、個体ごとに発生要因は異なる。人と同様高齢動物が増え、糖尿病や腎臓病や肥満などの非感染性疾患 (NCDs) が増えている獣医領域でもこれらに対する対策は急務と考える。今回の結果から、GLU, TG, ALB, M/L 比, AMPK, SAA, ADN は肥満を含めた代謝性疾患の初期の微小な変化を検出するための有用なマーカーであると考えられた。また、肥満は糖尿病や癌などの病気や様々な代謝異常のリスクを高めるため、定期的な身体検査を行い、こういったマーカーを駆使し、肥満の初期段階を見つけることが極めて重要となる。

4章 加齢に伴う体重、BCS、代謝病診断マーカーの相関

近年、我が国では少子高齢化が急速に進み、社会から求められる医療の質が大きく変わってきている。肥満をはじめとして、糖尿病、腎疾患、がんなどの非感染性疾患（non-communicable diseases: NCDs）の発生が増え、世界の国々で大きな社会問題となっている。肥満は加齢に伴って増えることも知られており、その発症は今後増えることはあっても減ることはない。こうしたことから「肥満は21世紀の流行病」と言われ（Greenberg et al, 2006）、その克服は人類にとって喫緊の課題といえる。

一方、動物でも、平均寿命が及び、それに伴う加齢性疾病の発症が目立って増えてきており、人における少子高齢化に伴うNCDs発生増加などと似た問題が獣医療でも顕在化している。NCDsの対策は早期発見・早期治療が最も効果的であるが、こうしたことを研究対象とする予防医療～先制医療が医学領域で重要度を増している。早期発見・早期治療をするためには、適切な体重の基準及び適切なマーカーが必要となると考えられる。米国のAssociation for Pet Obesity Prevention (APOPOP)は肥満を理想体重の30%以上と定義し、さらに世界中の獣医療コミュニティーに対し犬と猫の肥満の指標として9段階のBody Condition Score (BCS)を採用することを推奨している (APOPOP, 2019)。過去に我々も血液生化学マーカーを基に猫の肥満症の判定基準を制定している (Okada et al, 2017)。上述のように犬や猫でも肥満は増え続けており (Loftus et al, 2015; Chandler et al, 2017)、獣医領域の大きな健康問題となっている。

今回、前章で加齢に伴い変動するいくつかのマーカーをピックアップし、年齢ごとの各マーカーのデータを統計的に詳細に検討することにより、健康猫の年齢ごと基準を定めることを試みた。NCDsをはじめとする疾病の早期発見・早期治療に繋がることを期待できる。

4.1 材料と方法

1. 動物

2章と同じく2018年(10~12月)の健康診断を目的に当院(成城こばやし動物病院)に来院した70頭の猫の内、すでに疾患を抱えていた3頭の猫を除いた臨床的に健康な67頭の猫(10ヶ月齢~16歳9ヶ月、雌25、雄42)を対象とした。67頭を5つのグループに分けた: New born (<1歳)、Young (1~<5歳)、Middle (5~<10歳)、Old及びOld-thin (10歳~)。本試験は日本獣医生命科学大学動物実験委員会で承認されたもので(承認番号30K-05)、また動物の飼い主からは書面でインフォームドコンセントを得た。

2. 血液検査

採血は8時間以上の絶食後、朝食前に頸静脈から行った。採血された血液から3000g、4°C、5分間の遠心分離により血清を回収し、使用するまで-80°Cで保存した。グルコース (GLU)、トリグリセリド (TG)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (ALB)、カルシウム (Ca)、無機リン (iP)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、血中尿素窒素 (BUN) とクレアチニン (CRE) 濃度、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP) 及び γ グルタミルトランスぺプチターゼ (γ -GTP) 活性は、自動分析装置 (JCA-BM2250、日本電子、東京、日本) を使用して、富士フィルムモノリス (日本、東京) の製造元の試薬で測定された。血清乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) とリンゴ酸デヒドロゲナーゼ (MDH) 活性は、以前に報告された方法でそれぞれ測定された (Kaloustain et al, 1969; Bergmeyer et al, 1974)。血清 MDH / LDH (M / L) 比は、MDH 活性を LDH 活性で割ることにより算出した。血清アディポネクチン (ADN) 濃度は、市販の ELISA キット、マウス/ラットアディポネクチン ELISA キット (大塚製薬株式会社、東京、日本)、血清アミロイド A (SAA) 濃度は、市販の ELISA キット (CAT 血清アミロイド A (SAA) ELISA、Life Diagnostics、Inc.、West Chester、USA)、血清 AMP activated protein kinase (AMPK) 濃度は、市販の ELISA キット

ト、CycLex AMPK Kinase Assay Kit (CycLex Co., Ltd. na, 長野、日本) でそれぞれ測定した。

3. 統計分析

結果は平均±標準誤差 (SE) として表示している。また、統計的有意性は、マンホイットニーU検定によって決定した。有意水準は $P < 0.05$ に設定した。また、年齢と検査されたパラメーターの間の相関係数はピアソンの方法によって $|0.7-1.0|$: excellent, $|0.4-0.7|$: moderate, $|0.2-0.4|$: weak, $|0-0.2|$: no correlation と評価した。有意水準は $P < 0.05$ または $P < 0.01$ に設定した。

4.2 結果

1. 年齢との相関係数と P 値

Table 4-1 (ピアソンの分析)に示すように、グルコース濃度、SAA 濃度、アルブミン濃度、LDH 活性、BUN 濃度は雌猫で有意に低い P 値を示した。各々の相関係数からグルコース、SAA、BUN 濃度は加齢に伴って増加するマーカー、アルブミン、LDH は加齢に伴って減少するマーカーと言える。グルコース、SAA、アルブミン、LDH、BUN は雄猫では加齢に伴って雌猫同様に变化するが、その差は有意ではない。雄猫では ALP 活性が加齢に伴って有意に低下した。アディポネクチン濃度、M/L 比、AMPK 活性は加齢に伴い有意ではないが低下する傾向を示した。

2. 脂質代謝異常に関連するマーカーの基準値の策定

前章で加齢に伴い猫は肥満傾向となることが明らかとなった。肥満は脂質代謝異常の結果と考えられるので、脂質代謝に関連する血清トリグリセリド TG、アディポネクチン ADN、SAA 濃度、M/L 比に、年齢ごとの基準値の策定を試みた (Table 4-2)。TG は Young グループで $45 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 、Middle グループ $70 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 、Old グループ $120 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ とそれぞれ上限値を設定し、この 50% を超える値を高脂血症の判定基準とすると高脂血症の早期診断が可能になる。加齢に伴って増える脂質代謝異常の診断基準であるので、Old group のそれぞれのバイオマーカーの診断基準として低アディポネクチン血症を $2.0 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$ 、高 SAA 血症を $200 \text{ ng}/\text{mL}$ と定義すると肥満に伴うそれぞれの疾患を早期診断できる。

Table 4-1 Correlation coefficients and P values between the age and examined parameters in this study

Correlation	Coefficient (male)	P value	Coefficient (female)	P value
BCS	0.214	0.304	0.02	0.901
GLU	0.268	0.194	0.419	0.006 **
TG	0.199	0.351	0.213	0.193
SAA	0.186	0.384	0.423	0.008 **
ADN	-0.003	0.989	-0.171	0.304
TP	0.201	0.335	-0.032	0.838
ALB	-0.213	0.307	-0.415	0.006 **
LDH	-0.328	0.118	-0.34	0.034 *
MDH	0.074	0.73	-0.298	0.073
M/L ratio	0.037	0.864	-0.169	0.316
AST	0.012	0.955	-0.143	0.367
ALT	-0.119	0.57	-0.22	0.162
ALP	-0.519	0.008 **	-0.05	0.753
γ GTP	0.251	0.226	0.091	0.567
CRE	0.112	0.595	0.229	0.144
BUN	0.371	0.068	0.307	0.048 *
AMPK	0.017	0.935	-0.035	0.827

Correlation coefficients were calculated by Pearson's method

*Significance level was set at $P < 0.05$

**Significance level was set at $P < 0.01$

Table 4-2 Reference values of metabolic diagnosis markers in cats with aging

	Young	Middle	Old
Triglyceride (mg 100mL ⁻¹)	35 - 45	45 - 70	80 - 120
Adiponectin (μ g mL ⁻¹)	4.4 - 6.0	3.8 - 5.0	3.0 - 4.0
SAA (ng mL ⁻¹)	10 - 30	25 - 60	60 - 120
M/L ratio	0.3 - 0.5	0.3 - 0.4	0.2 - 0.3

4.3 考察

加齢に伴いエネルギー代謝は変化し、肝機能、腎機能の低下に伴いグルコースを主たる原料とした ATP 産生機能は低下する。ATP 産生に供されなかった余剰のエネルギーは脂肪として蓄積され、結果的に過体重～肥満を招く。加齢に伴ってグルコースや TG 濃度が上昇する、BUN 濃度が上昇する、ALB 濃度が減少するなどの変化は肝や腎機能の低下、それに伴う組織のエネルギー産生能力の低下を反映するものといえる。したがって、加齢に伴うエネルギー代謝の変化を判定するマーカーの基準値も変動させる必要がある。

実際に猫では様々なマーカーの基準値は定められているが、年齢には関係なく定められている。しかし、今回の結果から健康でも加齢に伴って変化するマーカーが存在している事が明らかとなった。本来、人でもそうであるように体の大きさや性別が変われば基準値も変わってくるはずである。年齢ごとの基準値を作成する事で、脂質代謝の異常や微小な炎症の変化をより早期に捉えることができ、疾病の早期発見・早期診断に繋がると考えられる。特に脂質代謝に関連する物質は加齢に伴い非常に鋭敏に変動することが明らかとなった。

Table4-2 に示すように TG, SAA 濃度は加齢に伴い増加、アディポネクチン濃度、M/L 比は低下することが明らかとなった。エネルギー代謝の効率的な合成は細胞の恒常性維持にとって重要となり、それが崩れることは疾病を引き起こし、健康な老化を危険に晒すこととなる。

生体のエネルギー代謝の中心に AMP 活性化キナーゼ (AMPK) がある。AMPK はサイトソル中での活性化のみならず、最近ではラットの血清中における測定が報告されている (Yuan L et al, 2012)。その為、今回は猫の血清中での AMPK 活性を測定した。AMPK 活性は加齢とともに明らかに低下し、AMPK 活性の増加が寿命の延伸に繋がることが明らかとなっている。そして、AMPK 活性の低下は、多くの組織でインスリン抵抗性を誘発し、肥満や糖尿病、心血管疾患のリスクを高める。Fig. 4-1 に示すように、様々な因子や活性経路が関与しているが、この AMPK 活性が加齢と共に低下することで、①オートファジーの減少②酸化ストレスの増加③小胞体ストレスの増加④アポトーシス抵抗性の増加⑤炎症の増

加⑥脂肪沈着の増加⑦高血糖の増加⑧メタボリックシンドロームの発症が起こると言われている (Antero, 2012)。しかし、今回は例数が少ないので AMPK の加齢に伴って変化する基準値は作れないが、データを積み重ねることで今後の重要なマーカーの一つになる。

Fig. 4-2 に示すように、ストレスやウイルス感染などに対して寿命に関連する SIRT1 - AMPK シグナルはオートファジーを活性化して抗酸化能を高め、ウイルス複製を抑え、アンチエイジング作用を示すことが報告されている (Park S-K et al, 2016)。AMPK 活性の低下は老化を進めることに繋がるともいえる。

こうした結果から、以前、我々が発表したメタボリックシンドロームや肥満症の判定基準 (Okada et al, 2017) (表 4-3) も変える必要がある。

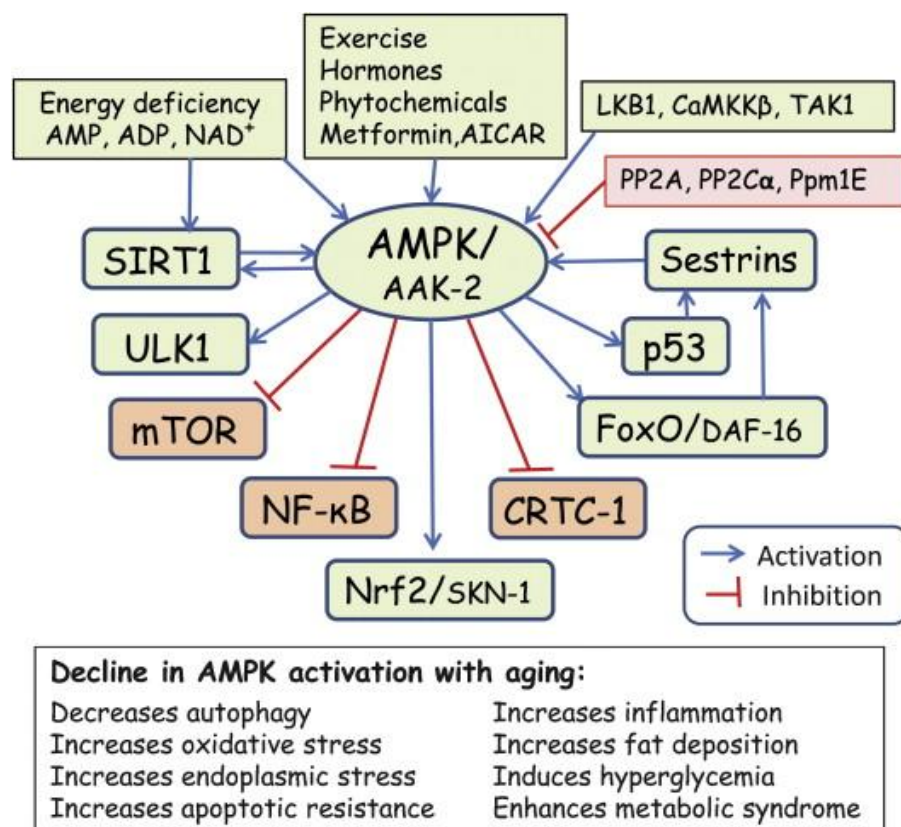


Fig.4-1 Schematic overview of the signaling pathways targeted by AMPK activation (Salminen & Kaarniranta, 2012)

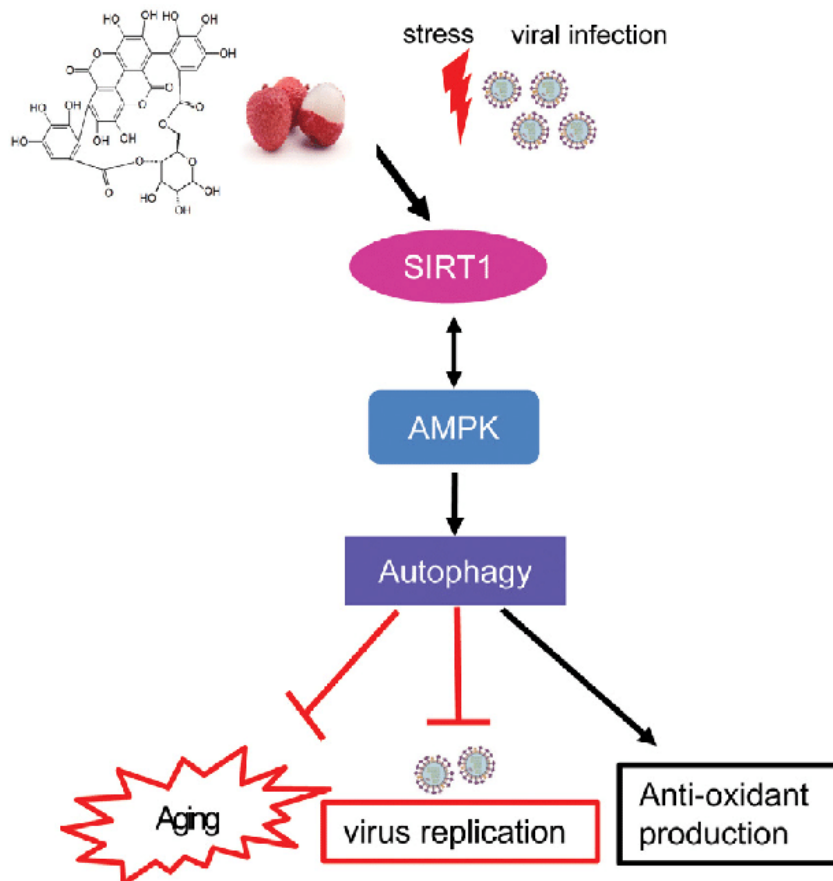


Fig. 4-2 Schematic representation of oligonol-mediated activation of sirtuin 1 (SIRT1)-AMP-activated protein kinase (AMPK)-autophagy pathway. (Park S-K et al, 2016)

猫の肥満症の判定基準は BCS >7/9 の過体重を示す個体のうち、さらに低アディポネクチン、高脂血症、高 SAA の 3 症状の 2 つ以上を呈するものと規定している (Table 4-3, Okada et al, 2019)。Young, Middle グループはこの基準をそのまま当てはめても問題はないが、健康猫の Old グループでは $165 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 以上の TG 濃度、 $3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ 以下のアディポネクチン濃度を呈することから、この基準では多くの健康猫が肥満症と判定されてしまう。早期発見と言え言えなくもないが、病気でない個体を病気と判定してしまふことになりかねず、実際の臨床現場で混乱を招く可能性がある。一方で、 $165 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ という基準は Young, Middle グループでは高すぎと考えられ、早期発見できない可能性が予想される。Young, Middle グループに対しては $100 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 程度の低

い値を設定しないと早期診断に結びつかない。こうした疾病の判定基準も加齢に伴い修正が必要である。

Table4-3 猫の肥満症の診断基準

過体重 (BCS > 7/9) + 以下の 3 症状のうち 2 つ以上 ・ 低アディポネクチン (<3 μ g/mL) ・ 高脂血症 (TG >165 mg/100mL) ・ 高 SAA (>200 ng/mL)
--

(Okada et al, 2019)

今回は脂質代謝を中心とした診断マーカーの基準値の作成であるが、これを他のマーカーに広げることにより（たとえば免疫に関係するマーカーなど）動物の疾病を早期に診断できるようになり、この取り組みは少子高齢化が進む人への応用も可能であるかもしれない。また、今後このようなデータを蓄積する事で、より正確な基準値の作成が可能となり、疾病の早期発見に繋がる事が期待できる。

4.4 小括

加齢に伴ってエネルギー代謝は変化することから、その状態を判定するマーカーの基準値も変化させる必要がある。これまでのデータから脂質代謝に関連する TG、ADN、SAA、M/L 比の加齢に伴う基準値の策定を試みた。TG は Young グループで $45 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$, Middle グループ $70 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$, Old グループ $120 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ とそれぞれ上限値を設定し、この 50% を超える値を高脂血症の判定基準とすると高脂血症の早期診断が可能になる。加齢に伴って増える脂質代謝異常の診断基準であるので、Old グループのそれぞれのバイオマーカーの診断基準として低アディポネクチン血症を $2.0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, 高 SAA 血症を 200 ng mL^{-1} と定義すると肥満に伴うそれぞれの疾患を早期診断できる。それ以外に、加齢に伴い減少し、寿命の延伸に繋がる事が明らかとなっている AMPK 活性もまた今後注目すべきマーカーの一つと言える。

今後、これらのデータを積み重ねてより正確な基準値の作成をするとともに、免疫などの他のマーカーに広げることも必要となり、この取り組みは少子高齢化が進む人への応用も可能であるかもしれない。

総括

わが国は世界でも類を見ないスピードで超高齢化社会を迎えている。これに伴い肥満、糖尿病、ガンなどの非感染性疾患（non-communicable diseases, NCDs）が増え、大きな社会問題となっている。また、こうした疾患では根治が難しいことから、早期発見～早期診断を中心とした予防医療の重要性が高まっている。犬や猫でも近年、寿命の延伸が顕著で、かつては珍しかった15歳を超えるような動物も増えてきている。人と同様、加齢に伴う疾病も増え、従来の獣医療とは異なる視点からの対応が求められるようになってきている。

本論文では、健康診断で訪れた健常猫の対象に加齢に伴う体重、ボディコンディションスコア（BCS）の変化および、これに伴う血液生化学的な診断マーカーの変化を調べた。その結果から特に脂質代謝に関わる診断マーカーについて年齢ごとの基準値の作成を試みた。予防医療、特に早期診断には適切な診断マーカーの確立が求められることから、ここで策定される年齢ごとの基準値は動物の疾患の早期診断に役立つ可能性がある。

1. 猫の寿命延伸とそれに伴う疾病の変化

近年、猫の平均寿命の延伸は著しい。これは動物医療の発展や食環境・飼育環境の変化が主たる要因と考えられる。現在、猫全体の平均寿命は14.2歳と推定され、2008年から2017年までの10年間で0.5歳（6ヶ月）延びている。一方で寿命が延びることで新たな問題も生じている。加齢に伴う種々の疾病の発症が増えることである。加齢に伴い、慢性腎臓病や腫瘍などの発症が増えたり、運動器疾患や、認知症になったりと、介護が必要になるケースが増えることが考えられる。高齢化するのは、動物だけでなく、飼い主も同様である。高齢者が高齢のペットの世話を苦勞する新たな「老々介護」問題が出てきている。我が国では少子高齢化が急速に進み、社会から求められる医療の質が大きく変わってきている。肥満をはじめとして、糖尿病、ガンなどの非感染性疾患

（non-communicable diseases: NCDs）の発生が増え、世界の国々で大きな社会問題となっている。家庭で飼育されている犬や猫においても、獣医療の進歩に

よる寿命延伸、生活習慣の変化により人の 75 歳に相当する 15 歳を超える高齢の犬や猫が近年、目立って増え、加齢に伴う非感染性疾患発症も増大している。こうした非感染性疾患の対応として早期診断、早期治療の重要性が高まっている。そこで早期診断、治療による個を対象とした予防動物医療という新たな動物医療システムが普及している。そのシステムは、肥満をモデルにして考えると分かりやすい。疾病の早期診断のためには適切な疾病診断マーカーの開発が必要になる。また、疾病診断マーカーは加齢に伴い変動する可能性もあることから、健常猫における加齢に伴うこうした診断マーカーの変化を調べる必要がある。

2. 健常猫における体重及びボディコンディションスコア (BCS) の変化

犬や猫では人のボディマスインデックス (body mass index, BMI: 体重 kg ÷ 身長 m²) に相当する体格を簡単に数値で表す適当な指標がない。代わりに動物の外貌、触診から得られるボディコンディションスコア (body condition score, BCS) を使用している。本章では、種々の年齢の健常猫の体重、BCS の変化を測定し、その加齢に伴う変動を検討した。動物を年齢に応じて 5 つのグループに分けた: New born (≦1 歳)、Young (1~≦5 歳)、Middle (5~≦10 歳)、Old 及び Old-thin (10 歳~)。Young グループと Old グループで平均を比べると、年齢は、Young グループが 2.7±0.2 歳、Old グループが 12.1±0.4 歳であり、体重は、Young グループが 4.1±0.2kg、Old グループが 4.8±0.3kg、BCS は Young グループが 5.5±0.2、Old グループが 6.6±0.3 となった。猫は健常であっても、加齢に伴って体重や BCS が増え、それに伴い血中脂質濃度が増えることが明らかとなった。猫は犬に比べ肥満しやすい動物であることが知られており、各地の調査でも近年、肥満の割合が増えている。その発生率は 30~40% で、世界的に増える傾向にある。今回の調査でも全体の 32.8% が過体重および肥満であることが分かった。しかし、一般の飼い主に比べ比較的健康に関心の高い健診受診動物を対象にしたので、実際の来院動物のその比率はより高値である事が予想される。肥満は多くの人々の死因に関与している非感染性疾患 NCDs のリスクファクターとなっている。これら NCDs の予防や重症化の抑制には根本的な治療は

難しいため、「肥満させないこと」が、最も効果的であると考えられる。一般に肥満症など非感染性疾患(NCDs)への対応は早ければ早いほど効果的で、そのためには適切な早期診断が必要となる。

3. 健常猫における血液中の代謝病診断マーカーの変動

一般の臨床施設において来院した健康な猫を対象に糖脂質代謝産物、ホルモン濃度や酵素活性の変化を調査した結果、血清中の GLU, TG, ALB, M/L 比, SAA, AMPK などの項目に加齢に伴った変動が認められた。血清 TG 濃度 (平均±SE) は、Young グループ が $40.7 \pm 7.1 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 、Old グループが $108.2 \pm 28.8 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ となり、統計学的に有意に高かった。血清 SAA 濃度は、Young グループが $22.5 \pm 10.9 \text{ ng mL}^{-1}$ 、Old グループが $84.7 \pm 38.4 \text{ ng mL}^{-1}$ となり、統計学的に有意差はないが増加した。アディポネクチン(ADN)濃度は、Young グループが $5.3 \pm 0.9 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ 、Old グループが $4.7 \pm 1.0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ となり統計学的に有意差はないが、低下した。これは健常な猫でも加齢に伴って脂質代謝を中心にエネルギー代謝が低下し、肥満傾向を示す前章の結果を反映していると考えられる。肥満～肥満症発生には遺伝、栄養、生活習慣など様々な要因が関与し、個体ごとに発生要因は異なる。人と同様高齢動物が増え、糖尿病や腎臓病や肥満などの非感染性疾患(NCD)が増えている獣医領域でもこれらに対する対策は急務と考える。今回の結果から、GLU, TG, ALB, M/L 比, AMPK, SAA, ADN は肥満を含めた代謝性疾患の初期の微小な変化を検出するための有用なマーカーであると考えられた。また、肥満は糖尿病や癌などの病気や様々な代謝異常のリスクを高めるため、定期的な身体検査を行い、こういったマーカーを駆使し、肥満の初期段階を見つけることが極めて重要となる。

4. 体重、BCS、代謝病診断マーカーの相関解析

加齢に伴ってエネルギー代謝は変化することから、その状態を判定するマーカーの基準値も変化させる必要がある。これまでのデータから脂質代謝に関連する TG、ADN、SAA、M/L 比の加齢に伴う基準値の策定を試みた。TG は Young グループで $45 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 、Middle グループ $70 \text{ mg } 100\text{mL}^{-1}$ 、Old グループ 120 mg

100mL⁻¹とそれぞれ上限値を設定し、この50%を超える値を高脂血症の判定基準とすると高脂血症の早期診断が可能になる。加齢に伴って増える脂質代謝異常の診断基準であるので、Oldグループのそれぞれのバイオマーカーの診断基準として低アディポネクチン血症を2.0 μg mL⁻¹、高SAA血症を200 ng mL⁻¹と定義すると肥満に伴うそれぞれの疾患を早期診断できる。これら以外に、加齢に伴い減少し、寿命の延伸に繋がる事が明らかとなっている AMPK 活性もまた今後注目すべきマーカーの一つと言える。

今後、これらのデータを積み重ねてより正確な基準値の作成をするとともに、免疫などの他のマーカーに広げることも必要となり、この取り組みは少子高齢化が進む人への応用も可能であるかもしれない。

英文要約 (Summary)

In our country, super-aging society is expanding at a speed that is so fast that we don't see it in the world. Non-communicable diseases (NCDs) such as obesity, diabetes and cancer have increased with progress of super-aging society. It is difficult to cure NCDs completely, so that preventive medicine is useful for these diseases. In recent years, the life span of dogs and cats has significantly extended, and the number of animals over 15 years old is increasing. The number of age-related diseases of animals as well as human is increasing, and it is necessary to respond from a different viewpoint from conventional veterinary medicine.

In this story, we investigated changes in body weight and body condition score (BCS) and blood biochemical diagnostic markers with aging in healthy cats visited for a medical examination. We attempted to create especially standard values for each age for diagnostic markers related to lipid metabolism. Preventive medicine, especially early diagnosis is necessary to establish the appropriate diagnostic markers, so that the standard values for each age is useful for early diagnosis of animal diseases.

In recent years, the average life span of cats has extended significantly. The development of veterinary medicine and changes in food environment and breeding environment are main factor of extended life span of cats. The average life span of cats is considered to be 14.2 years, so it has extended 0.5 years (6 months) during 10 years from 2008 to 2017. But the extended life span of cats has occurred new problems. It is increase of various diseases with aging. We think that the incidence of chronic kidney disease, tumors, motor organs disease and dementia may increase with aging, and the number of cases requiring care also may increase. Animals as well as owners are aging. A new problem that older people have provided care for older

pets occurs. In our country, the birthrate is decreasing and the population is aging rapidly, and the quality of medical care required by society is changing significantly. The incidence of NCDs such as obesity, diabetes, and cancer is increasing, so that it is a major social problem in countries around the world. In recent years, the number of dogs and cats over 15 years old at home has increased remarkably, which is equivalent to 75 years old of human, and the number of NCDs with aging also has increased because of the extension of life span due to the progress of veterinary medicine and changes in lifestyle. Early diagnosis and treatment are useful for these diseases. Therefore, the new animal medical systems that the preventive medical care for animals for individuals by early diagnosis and treatment is marked. Obesity is a model for this system. It is necessary to develop appropriate diagnostic markers for the early diagnosis with aging. It is necessary to investigate changes in diagnostic markers in healthy cats with aging because these markers change with aging.

In dogs and cats, there is no appropriate index like a human's body mass index (BMI: body weight kg \div height m²). Instead, the body condition score (BCS) is used. In this chapter, we examined changes in body weight and BCS of healthy cats with aging. The animals were divided into 5 groups with age: New born (≤ 1 years), Young (1 \sim ≤ 5 years), Middle (5 \sim ≤ 10 years), Old and Old-thin (10 years \sim). Comparing the average of Young group and Old group, age was 2.7 ± 0.2 years and 12.1 ± 0.4 years, weight was 4.1 ± 0.2 kg and 4.8 ± 0.3 kg, and BCS was 5.5 ± 0.2 and 6.6 ± 0.3 . It was clarified that the blood lipid concentration of the healthy cats increases with increase of the weight and BCS with aging. Cats are more likely to be obesity than dogs, and the rate of obesity has increased in various regions in recent years. The incidence is 30-40% and tends to increase all over the world. This survey found that 31.3% of the total were overweight

and obese. However, it is expected that the ratio of obesity in the actual visiting animals will be higher because the subjects are the animals taking medical examinations who are interested in health care. Obesity is a risk factor for NCDs involving in the causes of death in many people. It is difficult to cure NCDs completely, so that "not obesity" is most effective. In other words, appropriate early diagnosis is necessary to quickly respond to NCDs such as obesity.

We investigated changes in glycolipid metabolites, hormone concentrations and enzyme activities in healthy cats in general veterinary clinic. So, GLU, TG, ALB, M / L ratio, SAA, AMPK in serum changed with aging. TG concentrations (mean \pm SE) in serum of Old group (108.2 ± 28.8 mg 100 mL⁻¹) were statistically significantly higher than those of Young group (40.7 ± 7.1 mg 100 mL⁻¹). SAA concentrations in serum of Old group (84.7 ± 38.4 ng mL⁻¹) were higher than those of Young group (22.5 ± 10.9 ng mL⁻¹) but there was no statistically significant difference. AND concentrations in serum of Old group (4.7 ± 1.0 μ g mL⁻¹) were lower than those of Young group (5.3 ± 0.9 μ g mL⁻¹) but there was no statistically significant difference. It is suggested that healthy cats decrease energy metabolism on lipid metabolism with aging, which reflects the result of the previous chapter. Obesity and obesity diseases have involved in various factors by individual such as gene, nutrition, and lifestyle. In the veterinary field, the number of elderly animals is increasing as well as humans and NCD such as diabetes, kidney disease and obesity are increasing, it is necessary to respond them. From this result, GLU, TG, ALB, M / L, AMPK, SAA, and ADN were useful markers for detecting early small changes in metabolic diseases. In addition, it is important to find the early stage of obesity by doing regularly physical examinations and using of these

markers because obesity increases the risk of various metabolic diseases such as diabetes and cancer.

It is necessary to be changed standard value of the marker with aging because energy metabolism changes with aging. We attempted to establish standard value with aging for TG, ADN, SAA, and M / L ratio related to lipid metabolism by study so far. For TG concentrations, the upper limit is set to 45 mg / 100 mL for Young group, 70 mg / 100 mL for Middle group, and 120 mg / 100 mL for Old group, and it is possible to diagnose early for hyperlipidemia if the value exceeding 50% is used as the standard for hyperlipidemia. It is possible to diagnose early various diseases with obesity if the standard values of adiponectin and SAA respectively define $2.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ as low limit value and 200 ng mL^{-1} as upper limit value for Old group because it is a diagnostic standard for dyslipidemia that increases with aging. In addition, AMPK activity is also one of the markers to attend in the future that decreases with aging and lead to an extension of lifespan.

In the future, it will be necessary to set more accurate standard values by accumulating various data and to attend other markers such as immunity, so it is possible to apply this initiative to human with a declining birthrate and an aging population.

引用文献

Akbari M, Kirkwood TBL, Bohr VA. Mitochondria in the signaling pathway that control longevity and health span. *Aging Res Rev.* 2019; 54: 100940
doi:10.1016/j.arr.2019.100940

アニコム. 家庭どうぶつ白書 2017

https://www.anicom-page.com/hakusho/book/pdf/book_201712.pdf (2017)

アニコム. 家庭どうぶつ白書 2019

<https://www.anicom-page.com/hakusho/> (2019)

Antero S, Kai K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Research Reviews* 11 (2012) 230-241

Arner P, Kulyte A. MicororRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity. *Nat Rev Endocrinol.* (2015) 11:276-286.

Association for Pet Obesity Prevention. <https://petobesityprevention.org>
(2019)

Balsan-GA, Vieira JL, Oliveira AM, Portal VL. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. *Rev Assoc Med Bras.* (2015) 61(1):72-80. doi:10.1590/1806-9282.61.01.072

Bergmeyer HU, Bernet E. Maltate Dehydrogenase UV-Assay. In: Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, HU (Ed.). 2nd Edn., Vol.1, *Academic Press* (1974), New York, USA., ISBN:9783527253708, pp: 613-617.

Chandler M, Cunningham S, Lund EM, Khanna C, Naramore R, Patel A, et al. Obesity and associated comorbidities in people and companion animals: a one health perspective. *J Comp Pathol.* 2017;156: 296–309. doi:10.1016/j.jcpa.2017.03.006

DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. *Diabetologia*, 53: 1270–1287 (2010)

Edney AT, Smith PM. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Vet Rec.* 1986; 118:391–396. doi: 10.1136/vr.118.14.391

Fischer KE, Riddle NC. Sex differences in Aging: Genomic Instability. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2018; 73: 166–174. doi:10.1093/gerona/glx105.

Gehmann W, Esner M, Lenzen S. Role of metabolically generated reactive oxygen species for lipotoxicity in pancreatic β -cells. *Diabetes Obesity and Metabolism*, 12: 149–158 (2010)

Gonzalez-Muniesa P, Martinez-Gonzales MA, HU FB, Despres JP, Matsuzawa Y, Loos RJJ, Moreno LA, Bray GA, Martinez JA. Obesity. *Nat Rev Dis Prim.* (2017) 3:17034. doi: 10.1038/nrdp.2017.34

Greenberg AS, Obin Ms. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr.* (2006) 83: 461S–465S.

Gulcelik NE, Halil M, Ariogul S, Usman A. Adipokines and Aging: Adiponectin and Leptin. *Minerva Endocrinol.* 2013; 38: 203-210.

Hardie DG. AMP-activated protein kinase: an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes Dev.* (2011) 25(18), 1895-908.

Husby G, Marhaug G, Dowtor B, Sletten K, Sipe JD. Serum amyloid A (SAA): biochemistry, genetics and the pathogenesis of AA amyloidosis. *The Journal of Protein Folding Disorders* 1994; 1:119-137.
<https://doi.org/10.3109/13506129409148635>

井村裕夫. 先制医療とは何かーなぜ今それが必要か. *実験医学*, 33: 1018-1024 (2015)

一般社団法人ペットフード協会. 令和元年全国犬猫飼育実態調査結果.
<https://petfood.or.jp/data/chart2019/3.pdf> (2019)

Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy review gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* (2005) 1(1):15-25. doi:10.1016/j.cmet.2004.12.003

Kaloustain HD, Stolzenbach FE, Everse J, Kaplan NO. Lactate dehydrogenase of lobster (*Homarus americanus*) tail muscle I. Physical and chemical properties. *J Biol Chem.* 1969; 244:2891-2901.

慶應義塾大学病院 医療・健康情報サイト KOMPAS,
<http://kompas.hosp.keio.ac.jp/sp/contents/000070.html> (2019)

厚生労働省. 国民健康・栄養調査報告

https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/kekkgaiyou_7.pdf (2016)

厚生労働省. 統計調査結果

<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/life/life18/dl/life18-02.pdf> (2018)

Krotkiewski M, Bjorntorp P, Stostrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in man and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest.* 1983; 72:1150-1162.

Li G, Lee P, Mori N, Yamamoto I, Arai T. Long term intensive exercise training leads to a higher plasma malate/lactate dehydrogenase (M/L) ratio and increased level of lipid mobilization in horses. *Vet Res Commun.* 2012; 36: 149-155. doi 10.1007/s11259-012-9515-0

Lind L, Figarska S, Sundstrom J, Fall T, Arnlov J, Ingelsson E. Changes in proteomic profiles are related to changes in BMI and fat distribution during 10 years of aging. *Obesity* 2020; 28: doi:10.1002/oby.22660

Loftus JP, Wakshtag J. Canine and feline obesity: a review of pathophysiology, epidemiology, and clinical management. *Vet Med Res & Rep.* (2015) 6:49-60.

Lund E, Armstrong PJ, Kirk C, Klausner JS. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from US veterinary practices. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 4: 177-186 (2006)

McGreevy PD, Thompson PC, Pride C, Fawcett A, Grassi T, Jones B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Veterinary Record*, 156: 695-702 (2005)

Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat. Cell Biol.* (2011) 13(9), 1016-23.

Mori A, Lee P, Takemitsu H, Sako T, Arai T. Comparison of insulin signaling gene expression in insulin sensitive tissues between cats and dogs. *Vet Res Commun.* (2009) 33:211-226.

Mori N, Iwasaki E, Okada Y, Kawasumi K, Arai T. Overall prevalence of feline overweight/obesity in Japan as determined from a cross-sectional sample pool of healthy veterinary clinic-visiting cats in Japan. *Turk J Vet Anim Sci.* 2016; 40:304-312. doi: 10.3906/vet-1502-31

森伸子. 脂質代謝異常による疾病を防ぐー検査の治療と今. *J-Vet.* (2014) 6:8-22.

宮崎 滋. 日本肥満学会. 肥満研究 : 日本肥満学会誌 = Journal of Japan Society for the Study of Obesity 6(1), 4-17, 2000-04-25

日本肥満学会. 肥満の判定と肥満症の診断基準. 肥満症診断ガイドライン 2016(日本肥満学会編), ライフサイエンス出版, 東京, pp. 4-17. (2016)

小川益男, 林谷秀樹 : 小動物の平均寿命, *Provet*, 10:19-23, (1997)

Okada Y, Kawasumi K, Koide M, Hirakawa Y, Mori N, Yamamoto I, et al. Changes in energy metabolic indicators with aging in Thoroughbred riding horses. *AJAVA*. 2016;11:253-257 doi: 10.3923/ajava.2016.253.257

Okada Y, Kobayashi M, Sawamura M, Arai T: Comparison of visceral fat accumulation and metabolome markers among cats of varying BCS and novel classification of feline obesity and metabolic syndrome. *Frontiers in Veterinary Science*, 4: 17 (doi:10.3389/fvets.2017.00017) (2017)

岡田ゆう紀, 森伸子, 澤村昌樹, 川角浩, 小林元郎, 新井敏郎. 猫のメタボリックシンドローム. *獣医生命科学*, 2: 1-6 (2016)

Okada Y, Ueno H, Mizorogi T, Ohara K, Kawasumi K, and Arai T. Diagnostic criteria for obesity disease in cats. *Front Vet Sci*. 2019; 4:17. doi:10.3389/fvets.2019.00284

Park S-K, Seong R-K, Kim J-A, Son S-J, Kim Y, Yokozawa T, Shin OS. Oligonol promotes anti-aging pathways via modulation of SIRT1-AMPK-Autophagy pathway. *Nutr. Res. Pract.* (2016) doi:10.4162/nrp.2016.10.1.3

Peter M and Benjamin B. The Impact of Aging on Adipose Function and Adipokine Synthesis. *Front. Endocrinol.* 10:137. doi:10.3389/fendo.2019.00137

Russell K, Sabin R, Holt S et al. Influence of feeding regimen on body condition in the cat. *J. Small. Anim. Pract.* (2000) 41:12-17.

Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging via an integrated signaling network. *Aging Res. Rev.* (2012) 11: 230241.

Sandoe P, Palmer C, Corr S, Astrop A, Bjornvad CR. Canine and feline obesity: a one health perspective. *Vet Rec.* (2014) 27:610-616.

Siperstein, M.D., & Fagan, V.M., *Science* (1957) 126:1012.

Sloth C. Practical management of obesity in dogs and cats. *JSAP.* (1992) 33:178-182.

菅波孝祥, 小川佳宏. 肥満・メタボリックシンドローム. *実験医学* (2015) 33: 1064-1070.

Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in Health and Disease. *Physiol. Rev.* (2009) 89(3): 1025-78.

高木偉硯, 山内敏正, 門脇孝. 異所性脂肪とメタボリックシンドローム, 異所性脂肪—メタボリックシンドロームの新常識. 小川佳宏編, 日本医事新報社 (2010) 東京, pp. 3-22.

Tamamoto T, Ohno K, Ohmi A, Goto-Koshino Y, Tsujimoto H. Verification of measurement of the feline serum amyloid A (SAA) concentration by human SAA turbidimetric immunoassay and its clinical application. *J Vet Sci.* (2008) 70: 1247-1252. doi:10.1292/jvms.70.1247

Tanaka A, Inoue A, Takeguchi A, Washizu T, Bonkobara M, Arai T. Comparison of expression of glucokinase gene and activities of enzymes related to glucose metabolism in livers between dog and cat.

Vet. Res. Commun. (2005) 29: 477-485.

Tanaka A, Urabe S, Takeguchi A, Mizutani H, Sako T, Imai S, Yoshimura I, Kimura N, Arai T. Comparison of activities of enzymes related to energy metabolism in peripheral leukocytes and livers between Holstein dairy cows and ICR mice. *Vet. Res. Commun.* (2006) 30: 29-38.

Yuan L, Tang P, Li HJ, Hu N, Zhong XY, Lin M, Sun YQ, Lu M, Lu X. Serum from Jiao-Tai-Wan treated rats increases glucose consumption by 3T3-L1 adipocytes through AMPK pathway signaling. *Biosci. Rep.* (2019) 39 BSR20181286 <https://doi.org/10.1042/BSR20181286>

Washizu T, Azakami D, Bonkobara M, Washizu M, Arai T. Changes in activities of enzymes related to energy metabolism in canine lymphoma cells. *J. Vet. Med. Sci.* (2005) 67: 615-616.

World Health Organization. Obesity and Overweight
<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (2019)

山岡正弥, 下村伊一郎. 内臓脂肪は脂質異常症に關与する. そうだったんだ脂質異常症. 伊藤浩編, 文光堂(2016) 東京, pp. 73-76.

Zhu L, Chen L, Shi CM, Xu GF, Xu LL, Zhu LL, Guo XR, Ni Y, Cui Y, Ji C. MiR-335, an adipogenesis-related microRNA, is involved in adipose tissue inflammation. *Cell Biochem Biophys.* (2014) 68:283-290.

謝 辞

本研究を行うにあたり、懇篤なご指導とご高配を賜りました日本獣医生命科学大学、獣医生化学研究室、新井敏郎教授に厚くお礼申し上げます。

また、本研究に関わる各種実験およびその解析などにご尽力を賜りました日本獣医生命科学大学、獣医生化学研究教室、川角浩准教授、山本一郎准教授、ならびに在籍学生の皆さんに深くお礼申し上げます。

そして本研究に多大な時間を割くことを許してくれた成城こばやし動物病院のスタッフ一同、そして私の家族に心より感謝いたします。