

CKD のイヌおよびネコにおける  
血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度の  
臨床的意義に関する研究

(Studies on the clinical significance of serum  
fibroblast growth factor-23 concentration in dogs  
and cats with chronic kidney disease)

宮川 寛済

CKD のイヌおよびネコにおける  
血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度の  
臨床的意義に関する研究

(Studies on the clinical significance of serum fibroblast  
growth factor-23 concentration in dogs and cats with  
chronic kidney disease)

宮川 寛済

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：竹村 直行)

令和 4 年 3 月

## 目次

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 第1章 | 序論  | 1  |
| 第2章 | 慢性腎臓病のイヌにおけるミネラル代謝異常の早期マーカーとしての血清線維芽細胞増殖因子-23濃度の臨床的意義に関する検討 | 7  |
| 1.  | 緒言  | 8  |
| 2.  | 材料および方法   | 9  |
| 3.  | 結果  | 12 |
| 4.  | 考察  | 28 |
| 5.  | 小括  | 31 |
| 第3章 | 高リン血症を伴わない慢性腎臓病のイヌにおける血清線維芽細胞増殖因子-23濃度の臨床的意義に関する検討          | 33 |
| 1.  | 緒言  | 34 |
| 2.  | 材料および方法   | 35 |
| 3.  | 結果  | 37 |
| 4.  | 考察  | 52 |
| 5.  | 小括  | 56 |
| 第4章 | 若齢および中年齢のネコにおける慢性腎臓病のステージ間での血清線維芽細胞増殖因子-23濃度の比較に関する検討       | 57 |
| 1.  | 緒言  | 58 |
| 2.  | 材料および方法   | 58 |
| 3.  | 結果  | 61 |
| 4.  | 考察  | 69 |
| 5.  | 小括  | 73 |
| 第5章 | 上部尿路結石を伴う慢性腎臓病のネコでの血清線維芽細胞増殖因子-23濃度と血中カルシウム濃度の関連に関する検討      | 74 |
| 1.  | 緒言  | 75 |
| 2.  | 材料および方法   | 76 |
| 3.  | 結果  | 78 |
| 4.  | 考察  | 86 |
| 5.  | 小括  | 89 |
| 第6章 | 総括  | 91 |

|      |     |
|------|-----|
| 参考文献 | 99  |
| 謝辭   | 112 |

# 第 1 章

## 序論

慢性腎臓病 (CKD)はイヌおよびネコの死亡原因となる一般的な疾患である [80,81]。CKD は3か月以上持続する糸球体ろ過量 (GFR)の低下および/または腎障害と定義される [89]。CKD は糸球体疾患、尿細管間質性腎炎、腎異形成、閉塞性腎症、アミロイドーシスおよび腎盂腎炎などを原因とする慢性的な腎臓病の総称である [89]。CKD は不可逆的で進行性の疾患であり、CKD のイヌおよびネコは最終的に末期腎不全となり死亡する [90]。したがって、CKD の治療目標は末期腎不全までの進行を抑制することにある。CKD では、GFR の低下および腎臓の組織学的異常によって蛋白尿、全身性高血圧、ミネラル代謝異常、電解質異常、貧血および代謝性アシドーシスといった様々な合併症を生じ [89,90,93]、これらはCKD の進行を早め、生存期間を短縮させる [8,13,54,56,57,63,65,71,72,86,100,110]。したがって、CKD ではこれらの合併症に対する治療が重要となる。

CKD で生じるミネラル代謝異常は高リン血症、上皮小体ホルモン (PTH)の過剰分泌およびカルシトリオール合成能の低下を特徴とする [30,46]。CKD で生じるGFR の低下は尿中へのリンの排泄不全を生じ、最終的に高リン血症を引き起こす [30,36]。この高リン血症に対して血中PTH濃度が代償的に上昇し、リンの恒常性を保つ [30,36,103]。しかし、尿中リン排泄不全に対する上皮小体への刺激は上皮小体の過形成を生じ、そして腎性二次性上皮小体機能亢進症を引き起こす [84,109]。腎性二次性上皮小体機能亢進症は、CKD での高カルシウム血症の原因となる [30]。また、CKD で生じる腎実質の減少によって、カルシジオールからカルシトリオールへの合成能が低下する。血中カルシトリオール濃度の低下によって生じる血中カルシウム濃度の低下はPTHの分泌を促進し、そしてこれも腎性二次性上皮小体機能亢進症の一因となる [30]。CKD で生じるこれらのミネラル代謝異常は、血管および軟部組織の石灰化を介してCKDを悪化させ、そして生命予後の短縮を導く [7,30,109]。したがって、ミネラル代謝異常はCKDの重要な合併症の一つである。CKDのイヌおよびネコでは、特に高リン血症および血中カルシウムとリン濃度の積の上昇は、負の予後因子として認識されて

いる [8,10,13,28,30,63,71,72,86,100]。

食事療法は、CKD のイヌおよびネコに対して広く行われている治療の一つである。様々な研究によって、CKD のイヌおよびネコに対する腎臓病用療法食の有益性が報告されている [5,10,19,27,28,33,55,88,89,98,99,116]。イヌおよびネコの腎臓病用療法食は蛋白質、リンおよび塩分の制限、そしてビタミン B および  $\omega$ -3 脂肪酸の添加を特徴とする。さらにネコの腎臓病用療法食ではカリウムが添加されている [89]。このうち、食事時のリンの制限は、CKD で生じる体内におけるリンの蓄積の軽減、つまりミネラル代謝異常に対する治療を目的としている [30,36]。前述したように腎臓病用療法食には様々な栄養学的特徴があるが、CKD のイヌおよびネコでは有益性が証明されているのは食事時のリン制限のみである [10,98]。したがって、ミネラル代謝異常は CKD の食事療法の作用点としても重要な合併症である。

線維芽細胞増殖因子 (FGF)は胚発生、血管新生および創傷治癒などの様々な生体内作用に関与する蛋白ファミリーである。FGF ファミリーは  $\beta$ -trefoil という三つ葉状構造を示す相同領域を持ち、22 種類の蛋白が存在する [64]。FGF ファミリーの多くがパラクリン作用を示すのに対して、FGF-19、FGF-21 および FGF-23 はエンドクリン作用を示す。このうち FGF-23 は、2000 年にその存在が報じられたリン利尿ホルモンである [1]。FGF-23 は分子量 32000 の糖蛋白であり、FGF-23 遺伝子は 251 個のアミノ酸をコードしている。このうち N 端の 24 個のアミノ酸はシグナルペプチドであり、分泌された FGF-23 は 227 個のアミノ酸配列から構成される [115]。FGF-23 は血中リンおよびカルシトリオール濃度の上昇に反応して主に骨細胞から分泌される [32]。FGF-23 は腎臓の近位尿細管細胞のナトリウム-リン共輸送体の発現を低下させることによって、尿中リン排泄を直接促進する。さらに FGF-23 はカルシトリオールの合成を阻害し、消化管でのリンの吸収を低下させることによって血中リン濃度を間接的に低下させる [12,64]。また、FGF-23 のこれらの作用には、FGF 受容体-klotho 蛋白複合体との結合が必要となる [64,94]。ヒトでははじめに、FGF-23 が常染色体優性低リン血

症性くる病および腫瘍誘発性骨軟化症の病態に関与していることが報告された [1,107,113]。さらにその後、CKD では血中 FGF-23 濃度が GFR の低下に伴い上昇することが報告され [105]、FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常と密接に関連していることが明らかとなった。CKD で血中 FGF-23 濃度が上昇する機序として、GFR の低下による FGF-23 の腎クリアランスの低下、体内でのリンの蓄積に対する代償反応、そして klotho 蛋白の減少によって生じる FGF-23 作用の抵抗性に対する代償反応が考えられている [24,41,92,94,97]。CKD のヒトでは、この血中 FGF-23 濃度の上昇は、血中 PTH およびリン濃度の上昇よりも早期に生じることが報告されている [52]。つまり、CKD での血中 FGF-23 濃度の上昇は、腎性二次性上皮小体機能亢進症および高リン血症に先行して生じる。さらにヒトでは、血中 FGF-23 濃度の上昇は血液透析を受けているような末期腎不全での死亡率の上昇だけでなく [42,53]、早期から中期のステージの CKD でも CKD の進行および生存期間の短縮と関連することが明らかになっている [29]。また、ヒトではリン制限食およびリン吸着剤といったリン制限療法によって、血中 FGF-23 濃度が低下することが報告されている [11,39,82]。つまり、ヒトでは血中 FGF-23 濃度を低下させることによって、CKD の予後を改善させる可能性がある。したがって、ヒトでは FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーおよび治療対象として注目されている。

近年、CKD のイヌおよびネコでも FGF-23 に関する研究が報告されている。イヌでは、血漿 FGF-23 濃度は健康な個体と比較して、国際獣医腎臓病研究グループ (IRIS) の CKD ガイドラインにおけるステージ 3 以降で有意に上昇したことが報告されている [44]。しかし、この研究では、血清 PTH 濃度も同様に健康な個体と比較してステージ 3 以降で有意に上昇していた。さらに組み込まれた CKD のイヌは 32 頭と、サンプルサイズが小さい [44]。したがって、イヌの FGF-23 が PTH およびリンよりも早期ステージで上昇するか否かを結論付けるには、さらなる調査が必要と考えられる。また、CKD のイヌにおける血中 FGF-23 濃度の上昇と予後との関連を調査した研究は一報のみであるため [100]、CKD



のイヌにおける血中 FGF-23 濃度の上昇に関する臨床的意義は十分には明らかにされていない。

いっぽう、CKD のネコでは、血漿 FGF-23 濃度の上昇は血漿 PTH およびリン濃度の上昇よりも早期に生じ [35]、そして CKD の進行および生存期間の短縮を予測する独立因子であることが明らかとなっている [34]。また、CKD のネコでは腎臓病用療法食は血漿 FGF-23 濃度を有意に低下させることが報告されている [33]。したがって、ネコではヒトと同様に、FGF-23 は CKD の予後予測マーカーおよび治療対象として有用であると考えられる。ネコでは、CKD の有病率は特に高齢で高い [9,58,74,80]。このため、CKD のネコでの FGF-23 を調査した研究は高齢ネコを対象としている [25,33–35,101]。しかし、CKD の一部の原因疾患は比較的若齢のネコでも認められる。例えば、尿管結石による閉塞性腎症は CKD の代表的な原因の一つであり [9,14]、尿管結石のネコの年齢は CKD で報告されているそれよりも低い [67]。ヒトでは、血中 FGF-23 濃度は成人のみでなく、CKD の小児でも上昇することが報告されている [4,31,87,114]。前述のとおり、現在まで CKD のネコで FGF-23 を調査した研究は高齢ネコを対象としているため [25,33–35,101]、より若齢の CKD のネコでも血中 FGF-23 濃度がステージの進行に伴い上昇するか否かは不明である。

ヒトでは、リンは血中 FGF-23 濃度を決める重要な要因の一つと考えられ [12,32,64]、ネコでも FGF-23 とリンとの関連性は調査されている [15,33,70]。CKD のネコではリン制限食は血漿 FGF-23 濃度を有意に低下させることが報告されており [33]、リンの蓄積は CKD のネコでの血中 FGF-23 濃度を上昇させる原因として重要と考えられる。いっぽう、最近の研究では、腎臓病用療法食開始後に血漿カルシウム濃度が上昇した CKD のネコにおいて、血漿 FGF-23 濃度が有意に上昇したと報告されている [111]。他の研究では、血漿総カルシウム濃度がネコの血漿 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数の 1 つとして選ばれている [35]。これらの研究は、リンだけでなく血中カルシウム濃度も血中 FGF-23 濃度に関与することを示す。しかし、FGF-23 に対する GFR およびリンの影響を除外して、

CKD のネコでの FGF-23 と血中カルシウム濃度との関連を調査した研究はない。上部尿路結石は CKD の原因および悪化要因の一つである [9,14]。ネコでは上部尿路結石の有病率は近年増加しており [67]、ネコの CKD の合併症としての重要性が高まっている。ネコの上部尿路結石の原因成分のほとんどがカルシウム結石と報告されている [67]。一部の高カルシウム血症は高カルシウム尿症を引き起こし、カルシウム尿石症の悪化要因となる [83]。したがって、CKD のネコのうち特に上部尿路結石を伴うネコでのカルシウム代謝の解析は重要である。

以上の状況を鑑みて、本研究の第 2 章では、イヌの CKD のステージと血清 FGF-23 濃度との関連を再調査し、CKD のステージごとに血清 FGF-23 濃度が上昇していたイヌの割合を他のリン代謝マーカーと比較した。さらにイヌの血清 FGF-23 濃度と関連する因子について、相関分析および重回帰分析を用いて調査した。第 3 章では、第 2 章の結果に基づき、高リン血症を伴っていない CKD に罹患したイヌでの血清 FGF-23 濃度の上昇がその後の高リン血症の発生を予測するか、そして CKD の進行と関連するかを調査した。第 4 章では、若齢および中年齢の CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度を健康な個体および CKD のステージ間で比較した。さらに若齢および中年齢のネコでの血清 FGF-23 濃度と関連する因子について、相関分析および重回帰分析を用いて調査した。第 5 章では、上部尿路結石を伴う CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度と血清総カルシウムおよび血中イオン化カルシウム濃度との関連を調査した。

## 第2章

# 慢性腎臓病のイヌにおける ミネラル代謝異常の早期マーカーとしての 血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度の臨床的 意義に関する検討

## 1. 緒言

慢性腎臓病 (CKD)はイヌの一般的な疾患である [89]。CKD では高リン血症、上皮小体ホルモン (PTH)の過剰分泌およびカルシトリオールの合成低下といったミネラル代謝異常が腎機能の低下に伴って生じる [30,46]。これらの異常は腎性二次性上皮小体機能亢進症、腎性骨異常栄養症、そして血管および組織の石灰化を引き起こす。ミネラル代謝異常は CKD の予後不良と関連するため、CKD の重要な合併症と考えられている [30,47]。

線維芽細胞増殖因子 (FGF)-23 は、CKD で生じるミネラル代謝異常に関与するリン利尿ホルモンである [32]。ヒトおよびネコでは、血中 FGF-23 濃度は CKD のステージの進行に伴って上昇し [23,35,52,70,105]、この血中 FGF-23 濃度の上昇は PTH およびリンの上昇よりも早期のステージで生じることが報告されている [35,52]。さらに血中 FGF-23 濃度の上昇は、CKD のヒトおよびネコでの CKD の進行および生存期間の短縮と関連する [29,34,42,53]。したがって、FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーとして注目されている。CKD のイヌでも血漿 FGF-23 濃度が上昇することが報告されている [22,44]。ある研究は、血漿 FGF-23 濃度は健康なイヌと比較して、CKD の国際獣医腎臓病研究グループ (IRIS)分類のステージ 3 以降で有意に上昇したことを報告している [44]。しかし、この研究では、血清 PTH 濃度も血漿 FGF-23 濃度と同様に、健康なイヌと比較してステージ 3 以降で有意に上昇していた。このことは、ヒトおよびネコの報告とは異なり、CKD のイヌでは血中 FGF-23 濃度の上昇は腎性二次性上皮小体機能亢進症と同じステージで生じる可能性があることを示している。しかし、以前の報告では、組み込まれた CKD のイヌはそれぞれ 32 頭 [44]および 14 頭 [22]であり、サンプルサイズが小さい。したがって、イヌの血中 FGF-23 濃度が血中 PTH およびリン濃度よりも CKD の早期のステージで上昇するか否かを結論付けるには、さらなる調査が必要と考えられる。

そこで本検討では、イヌの CKD のステージと血清 FGF-23 濃度との関連を調査し、CKD の各ステージで血清 FGF-23 濃度が上昇していたイヌの割合を血清

intact PTH およびリン濃度、そして血清総カルシウムおよびリン濃度の積 (Ca×P) といった他のリン代謝マーカーと比較すること、そしてイヌの血清 FGF-23 濃度と関連する変数を調査することを目的とした。

## 2. 材料および方法

### 症例選択

2014 年 10 月から 2019 年 9 月までに、日本獣医生命科学大学附属動物医療センター腎臓科を受診した飼い主が所有する CKD のイヌ、そして臨床的に健康なイヌから得られた血清検体および医療記録を回顧的に調査した。市販のソフトウェア(Microsoft Excel 2016, Microsoft Japan Co., Ltd., Japan)を用いて本学獣医内科学研究室第二で作成しているデータベースから、“CKD”および“イヌ”の単語を用いて CKD のイヌを抽出した。抽出後、これらのイヌの血清検体の有無および医療記録を調査した。CKD の診断は 3 ヶ月以上持続する腎性高窒素血症、腎性蛋白尿および/または腹部超音波検査での腎構造異常に基づいた。腎性高窒素血症は血清クレアチニン濃度  $>1.45$  mg/dL (本学附属動物医療センター検査室の参考範囲上限)および尿比重 (USG)  $<1.030$  と定義した。腎性蛋白尿は、明らかな腎前性および/または腎後性の原因が認められず、かつ尿蛋白：クレアチニン比 (UPC)  $\geq 0.5$  とした。腹部超音波検査での腎構造異常は、サイズの小さい腎臓、皮髄境界の不明瞭および/または腎辺縁の不整とした。腫瘍、副腎皮質機能亢進症、副腎皮質機能低下症または急性腎障害と診断された、あるいはこれらが疑われたイヌを除外した。

2019 年の IRIS の CKD ガイドラインに従い、CKD のイヌを血清クレアチニン濃度に基づいてステージ 1 ( $<1.40$  mg/dL)、ステージ 2 (1.40–2.80 mg/dL)、ステージ 3 (2.90–5.00 mg/dL)およびステージ 4 ( $>5.00$  mg/dL)に分類した [50]。ステージ 1 のすべてのイヌは、腎性蛋白尿および/または腹部超音波検査での腎構造異常に基づいて CKD と診断された。

本学獣医内科学研究室第二、本学の学生または本学附属動物医療センターを受診した飼い主が所有する臨床的に健康なイヌを対照群として組み込んだ。病

歴、身体診察、血清化学検査および尿検査の所見に基づいて臨床的に健康と判断した。対照群のすべてのイヌが血清クレアチニン濃度  $<1.45$  mg/dL、USG  $>1.030$  および UPC  $<0.5$  であることを確認した。当研究室および本学の学生が所有するイヌの血清検体は、2019年3月から2019年12月に収集した。本学付属動物医療センターを受診した飼い主が所有する臨床的に健康なイヌは、前述のデータベースから検索した。

#### 医療記録の調査、データ収集および検体

年齢、性別、中性化の有無、体重、品種、血清化学検査、血液ガス検査、尿検査、血圧検査および治療内容に関する情報を医療記録から収集した。血液検体はすべて静脈穿刺で採取した。血清および尿化学検査には、本学付属動物医療センター検査室の自動化学分析器 (7180 Biochemistry Automatic Analyzer, Hitachi High-Technologies Corp., Japan)を用いた。血中イオン化カルシウムおよび重炭酸濃度の測定には、血液ガス分析器 (GEM PREMIER 3500, Instruments Laboratory Co, Ltd., Japan)を用いた。血液ガス検査のための血液検体はヘパリンチューブ (FUJI HEPARIN TUBE, FUJIFILM Corp., Japan)に収集した。尿検体は自然排尿、尿道カテーテル法または膀胱穿刺で採取した。腎後性蛋白尿が認められたイヌの UPC のデータは、統計解析には含めなかった。血圧検査では、アメリカ獣医内科学会の推奨に従ってオシロメトリック法 (BP100D hemomanometer, Fukuda M-E Kogyo Co., Ltd., Japan)またはドプラ法 (vet-dop2, vmed technology, USA)を用いて収縮期血圧を測定した [2]。回顧的研究のため、対照群のイヌの血液ガス検査および収縮期血圧のデータは得られなかった。

#### FGF-23、intact PTH および尿中リン排泄分画

血清分離剤入りチューブ内の血液検体を 3000 rpm で 5 分間遠心し、そして分離した血清を FGF-23 および intact PTH の測定のために外部の検査施設 (FUJIFILM VET Systems Co., Ltd., Japan)に提出するまで $-30^{\circ}\text{C}$ で保存した。血清 FGF-23 濃度の測定には、ヒト intact FGF-23 マウスモノクローナル抗体によるサ

ンドイッチ ELISA (MedFrontier Intact FGF23 Assay, Minaris Medical Co., Ltd., Japan)を用いた [77]。血清 intact PTH 濃度の測定には、化学発光酵素免疫測定法 (Siemens Healthineers intact PTH III, Siemens Healthineers Diagnostics Co., Ltd., Japan)を用いた。

尿検体を 1500 rpm で 5 分間遠心し、そして上清を分離した。その後、尿上清を尿中リンおよびクレアチニン濃度の測定のために外部施設 (FUJIFILM VET Systems)に提出するまで-30°Cで保存した。糸球体でろ過されるリンの量に対して、何割が尿中へ排泄されたかを示す指標である尿中リン排泄分画 (uFEP)は以下の式で計算した：

$$\text{uFEP (\%)} = \frac{\text{尿中リン濃度/血清リン濃度}}{\text{尿中クレアチニン濃度/血清クレアチニン濃度}} \times 100$$

イヌにおける血清 FGF-23 濃度の分析法の精度

Intra-assay の精度は、連続した 12 回の血清 FGF-23 濃度の測定によって評価した。Inter-assay の精度は 1 日 1 回 10 日間、血清 FGF-23 濃度を測定することで評価した。Intra-assay および inter-assay の精度の評価には、血清 FGF-23 濃度が低、中および高濃度のイヌの血清検体を用いた (それぞれ血清 FGF-23 濃度の平均は 68 pg/mL、461 pg/mL および 4068 pg/mL)。平均値を標準偏差で除して求めた変動係数 (CV)によって、intra-assay および inter-assay の精度を示した。希釈直線性は、血清 FGF-23 濃度が 4008 pg/mL のイヌの検体を 10 段階希釈することで評価した。血清 FGF-23 濃度の保存安定性の評価には室温、4°Cおよび-20°Cで保存した検体を用いた。室温保存した検体は 3 日後まで、4°Cで保存した検体は 7 日後まで、そして-20°Cで保存した検体は 28 日後まで保存し、これらをベースラインの血清 FGF-23 濃度と比較した。ベースラインと比較した測定値を回収率として示した。

統計解析

統計解析には、市販のソフトウェア (SPSS 24 for Windows, IBM Japan Ltd.,

Japan)またはフリーソフトウェア (EZR 1.54 for Windows, Jichi Medical University Saitama Medical Center, Japan)を用いた [61]。  $P < 0.05$  を統計学的に有意とした。

データの正規性の検定には Shapiro–Wilk 検定を用いた。Steel–Dwass 検定によって群間の多重比較を行った。CKD のステージ 2 および 3 のイヌは、本学付属動物医療センター検査室における血清リン濃度の参考範囲上限に基づいて細分類した (血清リン濃度  $\leq 5.0$  mg/dL : ステージ 2a および 3a、そして血清リン濃度  $> 5.0$  mg/dL : ステージ 2b およびステージ 3b)。高リン血症の有無での血清 FGF-23 濃度の比較には、Mann–Whitney  $U$  検定を用いた。本検討での血清 FGF-23 および intact PTH 濃度の参考範囲上限をフリーソフトウェア (Reference Value Advisor 2.1, Biostatistiques)を用いて、ロバスト法によって対照群から算出した [38]。  $\text{Ca} \times \text{P}$  の参考範囲上限は、以前の報告に基づいて設定した ( $\text{Ca} \times \text{P} > 70$   $\text{mg}^2/\text{mg}^2$ ) [71]。相関分析では非正規分布の変数を対数変換し、Pearson の相関係数を用いて、血清 FGF-23 濃度と他の変数との相関性を解析した。単変量解析で血清 FGF-23 濃度と有意に相関した変数を、変数増加法を用いた重回帰分析の独立変数として組み込んだ。自由度調整済み決定係数 (調整済み  $R^2$ )を算出し、回帰モデルの適合度を評価した。独立変数間の多重共線性の有無を分散拡大係数によって評価した。さらに、残差分析には正規 Q-Q プロットおよび Durbin–Watson 比を用いた。

### 3. 結果

#### イヌにおける血清 FGF-23 濃度の分析法の精度

FGF-23 が低、中および高濃度の血清検体の intra-assay CV はそれぞれ 6.3、9.0 および 5.0 であり、inter-assay CV はそれぞれ 9.6、9.4 および 12.6 だった。希釈直線性の評価では、血清 FGF-23 濃度の測定値/予測値の平均 (標準偏差)は 96.5% (6.6%)であり、測定値と予測値間の相関係数は 0.99 だった ( $P < 0.001$ )。保存安定性の評価では、室温保存した血清検体での回収率は 1 日後で 71%、そして 3 日後で 49%だった。4°Cで保存した検体の回収率は 1 日後で 90%、3 日後で 77%、そして 7 日後で 70%だった。-20°Cで保存した検体では、回収率の範囲は 28 日



後まで 99–107%だった。

### 組み込まれたイヌの特徴

本学獣医内科学研究室第二または本学の学生が所有する 17 頭の臨床的に健康なイヌの血清検体が得られた。このうち、4 頭のイヌでは尿検査の情報が得られなかったため除外した。本学付属動物医療センターを受診した飼い主が所有するイヌのうち、6 頭が正常腎であることをデータベースから特定した。この 6 頭のうち、4 頭では血清検体が保存されていなかったため除外した。残りの 2 頭では、対照群の基準を満たすことを医療記録から確認した。したがって、本検討では 15 頭の臨床的に健康なイヌを対照群として組み込んだ。対照群では、腹部超音波検査が行われていない 1 頭を除いて、14 頭のイヌでは腹部超音波検査での腎構造が正常であることを確認した。対照群の品種の分布はトイ・プードル (n = 4)、ビーグル (n = 2)、チワワ (n = 2)、雑種 (n = 2)、ポメラニアン (n = 2)、パピヨン (n = 1)、シェットランド・シープドッグ (n = 1) およびキャバリア・キング・チャールズ・スパニエル (n = 1) だった。

116 頭の CKD のイヌがデータベースから特定された。このうち、12 頭のイヌが腫瘍、副腎皮質機能亢進症または副腎皮質機能低下症を合併しており、そして 29 頭のイヌでは血清検体が保存されていなかったため除外した。このため、本検討は 75 頭の CKD のイヌを組み込んだ。これらの CKD のイヌをステージ 1 (n = 25)、ステージ 2 (n = 26)、ステージ 3 (n = 16) およびステージ 4 (n = 8) に分類した。品種の分布はヨークシャ・テリア (n = 12)、トイ・プードル (n = 6)、ミニチュア・ダックスフンド (n = 5)、パピヨン (n = 5)、柴犬 (n = 5)、ラブラドル・レトリバー (n = 4)、シー・ズー (n = 4)、チワワ (n = 3)、ジャック・ラッセル・テリア (n = 3)、マルチーズ (n = 3)、シェットランド・シープドッグ (n = 3)、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル (n = 2)、ゴールデン・レトリバー (n = 2)、ミニチュア・シュнауザー (n = 2)、ポメラニアン (n = 2) および以下の各品種 1 頭ずつだった；アメリカン・コッカー・スパニエル、エアデール・テリア、バセンジー、バーニーズ・マウンテン・ドッグ、ボストン・テリア、

ボーダー・コリー、ボクサー、ブルドッグ、ジャーマン・シェパード・ドッグ、ペキニーズ、ウェルシュ・コーギー、ウエスト・ハイランド・ホワイト・テリアおよびホワイト・スイス・シェパード・ドッグおよび雑種。41頭 (54.7%)のイヌが腎臓病用療法食で治療されていた。7頭 (9.3%)のイヌがリン吸着剤で治療されていた (塩化第二鉄; n=2、水酸化アルミニウム; n=2、炭酸カルシウム; n=2 および炭酸ランタン; n=1) (表 1)。ステージ 1 の 15 頭、ステージ 2 の 13 頭、ステージ 3 の 3 頭およびステージ 4 の 2 頭のイヌが、蛋白尿および/または全身性高血圧のため、アンジオテンシン変換酵素阻害薬またはアンジオテンシン II 受容体拮抗薬を投与されていた。

対照群および CKD 群の特徴を表 2-1 および 2-2 に示す。対照群の年齢は、ステージ 1 および 2 の CKD のイヌと比較して有意に低かった (それぞれ  $P = 0.04$  および  $P = 0.01$ )。有意差は認められなかったが、ステージ 4 のイヌの年齢は他の CKD ステージよりも低い傾向にあった。各群の体重に有意差はなかった。UPC のデータはステージ 1 の 23 頭、ステージ 2 の 22 頭およびステージ 3 の 15 頭のイヌから得られた。このうち、ステージ 1 では 15 頭、ステージ 2 では 12 頭およびステージ 3 では 5 頭のイヌにおいて  $UPC \geq 0.5$  だった。

表 2-1 組み込まれたイヌの特徴

|                      | 対照群<br>(n = 15) | CKD 群 (n = 75)     |                    |                    |                   |
|----------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|                      |                 | ステージ 1<br>(n = 25) | ステージ 2<br>(n = 26) | ステージ 3<br>(n = 16) | ステージ 4<br>(n = 8) |
| 性別 (n)               |                 |                    |                    |                    |                   |
| 未去勢オス                | 3               | 4                  | 3                  | 1                  | 3                 |
| 去勢オス                 | 5               | 8                  | 9                  | 3                  | 1                 |
| 未避妊メス                | 2               | 1                  | 1                  | 5                  | 4                 |
| 避妊メス                 | 5               | 12                 | 13                 | 7                  | 0                 |
| 年齢 (歳) <sup>*</sup>  | 4.0 (0.8–14.2)  | 10.3 (1.3–15.8)    | 11.5 (2.2–15.9)    | 9.3 (0.7–14.6)     | 1.5(0.8–15.2)     |
| 体重 (kg) <sup>*</sup> | 4.0 (1.4–14.1)  | 4.9 (1.4–29.6)     | 5.2 (1.0–26.7)     | 5.7 (2.4–24.8)     | 20.4 (1.6–43.8)   |
| 腎臓病用療法食 (n [%])      | -               | 9 [36%]            | 14 [53.8%]         | 11 [68.8%]         | 7 [87.5%]         |
| リン吸着剤 (n [%])        | -               | 0 [0%]             | 1 [3.8%]           | 3 [18.8%]          | 3 [37.5%]         |

<sup>\*</sup>中央値 (範囲)

表 2-2 組み込まれたイヌの臨床病理学的変数

| 変数   | 対照群 (n = 15)                     |    | CKD 群 (n = 75)                   |    |                                  |    |                                  |    |                                  |   |
|--|----------------------------------|----|----------------------------------|----|----------------------------------|----|----------------------------------|----|----------------------------------|---|
|  |                                  |    | ステージ 1 (n = 25)                  |    | ステージ 2 (n = 26)                  |    | ステージ 3 (n = 16)                  |    | ステージ 4 (n = 8)                   |   |
|  | 中央値 (範囲)                         | n  | 中央値 (範囲)                         | n  | 中央値 (範囲)                         | n  | 中央値 (範囲)                         | n  | 中央値 (範囲)                         | n |
| FGF-23 (pg/mL)                             | 257 (164–563)                    | 15 | 332 (142–992)                    | 25 | 757 (281–9930) <sup>a</sup>      | 26 | 2174 (505–21700) <sup>b</sup>    | 16 | 9068 (1359–150335) <sup>b</sup>  | 8 |
| Intact PTH (pg/mL)                         | 6.3 (5.6–9.0) <sup>a</sup>       | 15 | 6.8 (5.6–51.8) <sup>a,b</sup>    | 25 | 7.7 (6.0–43.1) <sup>b,c</sup>    | 26 | 12.7 (6.3–242.0) <sup>c,d</sup>  | 16 | 21.5 (13.6–41.2) <sup>d</sup>    | 8 |
| 尿素窒素 (mg/dL)                               | 18.9 (13.2–85.5) <sup>a</sup>    | 15 | 29.9 (4.8–63.6) <sup>a,b</sup>   | 25 | 41.4 (17.1–133.2) <sup>b,c</sup> | 26 | 58.8 (42.3–177.2) <sup>c,d</sup> | 16 | 117.8 (63.7–168.1) <sup>d</sup>  | 8 |
| クレアチニン (mg/dL)                             | 0.71 (0.52–1.09)                 | 15 | 0.81 (0.44–1.37)                 | 25 | 1.87 (1.40–2.60) <sup>a</sup>    | 26 | 3.40 (2.99–4.89) <sup>b</sup>    | 16 | 5.60 (5.09–7.09) <sup>c</sup>    | 8 |
| 総蛋白 (g/dL)                                 | 6.1 (5.5–7.0)                    | 15 | 5.9 (3.8–7.1)                    | 25 | 6.0 (4.1–7.3)                    | 24 | 5.8 (5.4–6.9)                    | 14 | 5.3 (5.3–6.1)                    | 7 |
| アルブミン (g/dL)                               | 3.8 (2.8–4.2)                    | 15 | 2.4 (1.5–3.3)                    | 25 | 2.6 (1.5–3.0)                    | 24 | 2.6 (1.9–3.3)                    | 15 | 2.4 (2.1–3.0)                    | 8 |
| 総カルシウム (mg/dL)                             | 10.6 (9.9–11.9) <sup>a,b,c</sup> | 15 | 9.4 (8.0–11.4) <sup>a</sup>      | 25 | 10.2 (8.6–12.1) <sup>a,b</sup>   | 26 | 10.8 (9.7–13.6) <sup>b,c</sup>   | 16 | 12.2 (9.2–15.9) <sup>c</sup>     | 8 |
| リン (mg/dL)                                 | 4.0 (2.5–4.8) <sup>a</sup>       | 15 | 3.6 (1.6–4.9) <sup>a</sup>       | 25 | 3.4 (2.2–6.9) <sup>a,b</sup>     | 26 | 5.1 (2.7–10.8) <sup>b,c</sup>    | 16 | 7.1 (5.2–17.7) <sup>c</sup>      | 8 |
| Ca × P (mg <sup>2</sup> /dL <sup>2</sup> ) | 44 (25–52) <sup>a,d</sup>        | 15 | 37 (16–52) <sup>b,c</sup>        | 25 | 34 (24–84) <sup>a,c</sup>        | 26 | 57 (34–121) <sup>d,e</sup>       | 16 | 89 (55–258) <sup>e</sup>         | 8 |
| イオン化カルシウム (mmol/L)                         | -                                | 0  | 1.17 (1.07–1.38)                 | 24 | 1.21 (1.05–1.35)                 | 24 | 1.23 (1.14–1.58)                 | 16 | 1.27 (0.80–1.52)                 | 8 |
| 重炭酸 (mmol/L)                               | -                                | 0  | 22.4 (16.0–33.2)                 | 23 | 22.9 (13.7–29.7)                 | 20 | 19.5 (14.9–32.0)                 | 15 | 19.7 (12.0–28.9)                 | 7 |
| USG  | 1.043 (1.031–1.052)              | 15 | 1.021 (1.006–1.050) <sup>a</sup> | 25 | 1.016 (1.009–1.029) <sup>a</sup> | 22 | 1.010 (1.006–1.018) <sup>b</sup> | 15 | 1.008 (1.006–1.013) <sup>b</sup> | 7 |
| uFEP (%)                                   | 7 (3–26) <sup>a</sup>            | 15 | 21 (1–39) <sup>a,b</sup>         | 21 | 32 (2–72) <sup>b,c</sup>         | 22 | 48 (3–77) <sup>c</sup>           | 16 | 53 (29–76) <sup>c</sup>          | 6 |
| UPC  | 0.1 (0.0–0.2)                    | 15 | 1.4 (0.0–8.9) <sup>a</sup>       | 23 | 0.7 (0.0–8.7) <sup>a</sup>       | 22 | 0.4 (0.0–9.2) <sup>a</sup>       | 15 | 0.8 (0.5–2.0) <sup>a</sup>       | 7 |
| 収縮期血圧 (mmHg)                               | -                                | 0  | 148 (91–191)                     | 18 | 146 (121–191)                    | 19 | 142 (119–201)                    | 9  | 137 (119–148)                    | 5 |

異なる上付き文字は対照群および各ステージ間での有意差を示す。

### 血清 FGF-23 濃度およびリン代謝マーカーの群間比較

血清 FGF-23 濃度は、対照群 ( $P < 0.01$ ) およびステージ 1 ( $P < 0.01$ ) と比較してステージ 2、3 および 4 で有意に高かった (表 2-2、図 2-1)。さらに、ステージ 3 および 4 の血清 FGF-23 濃度はステージ 2 と比較して有意に上昇していた (それぞれ  $P = 0.04$  および  $P = 0.003$ )。

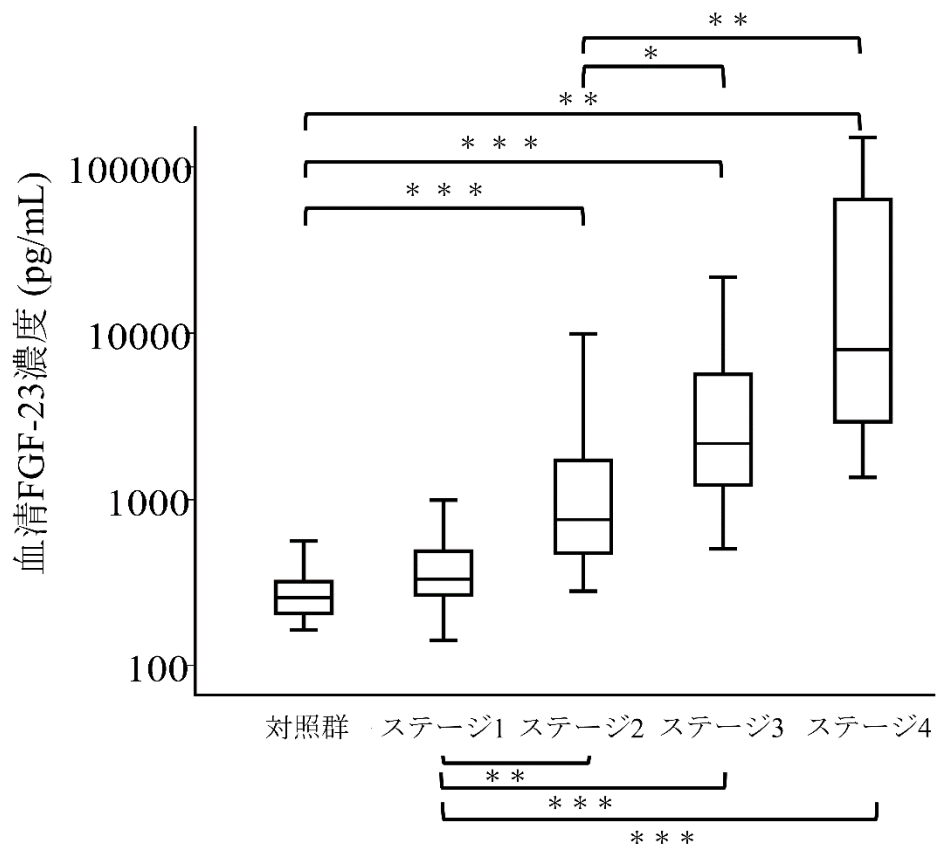


図 2-1 対照群および CKD のイヌの血清 FGF-23 濃度の箱ひげ図。箱内の中心線は中央値、箱の上端および下端は 25 および 75 パーセントイル、ひげは範囲を示す。\* ;  $P < 0.05$ 、\*\* ;  $P < 0.01$ 、\*\*\* ;  $P < 0.001$ 。

血清 intact PTH 濃度は、対照群と比較してステージ 2、ステージ 3 およびステージ 4 で有意に高かった ( $P < 0.05$ ; 図 2-2a)。ステージ 1 の血清 intact PTH 濃度はステージ 3 および 4 との間には有意差を示したが (それぞれ  $P = 0.03$  および  $P = 0.001$ )、ステージ 2 との間には示さなかった ( $P = 0.8$ )。さらにステージ 2 と 4 の血清 intact PTH 濃度の間には有意差が認められた ( $P = 0.01$ )。

血清リン濃度は対照群、ステージ 1 およびステージ 2 と比較してステージ 4 で有意に高かった ( $P < 0.01$ ; 図 2-2b)。さらに、ステージ 1 とステージ 3 の血清リン濃度の間には有意差が認められた ( $P < 0.05$ )。

CaxP は対照群、ステージ 1 およびステージ 2 と比較してステージ 4 で有意に高かった ( $P < 0.05$ ; 図 2-2c)。さらにステージ 3 の CaxP は、ステージ 1 および 2 と比較して有意に高かった ( $P < 0.05$ )。いっぽう、ステージ 1 の CaxP は対照群よりも有意に低かった ( $P = 0.02$ )。

uFEP は対照群と比較してステージ 2、ステージ 3 およびステージ 4 で有意に高かった ( $P < 0.01$ ; 図 2-2d)。さらにステージ 1 と比較して、uFEP はステージ 3 および 4 で有意に上昇していた ( $P < 0.05$ )。

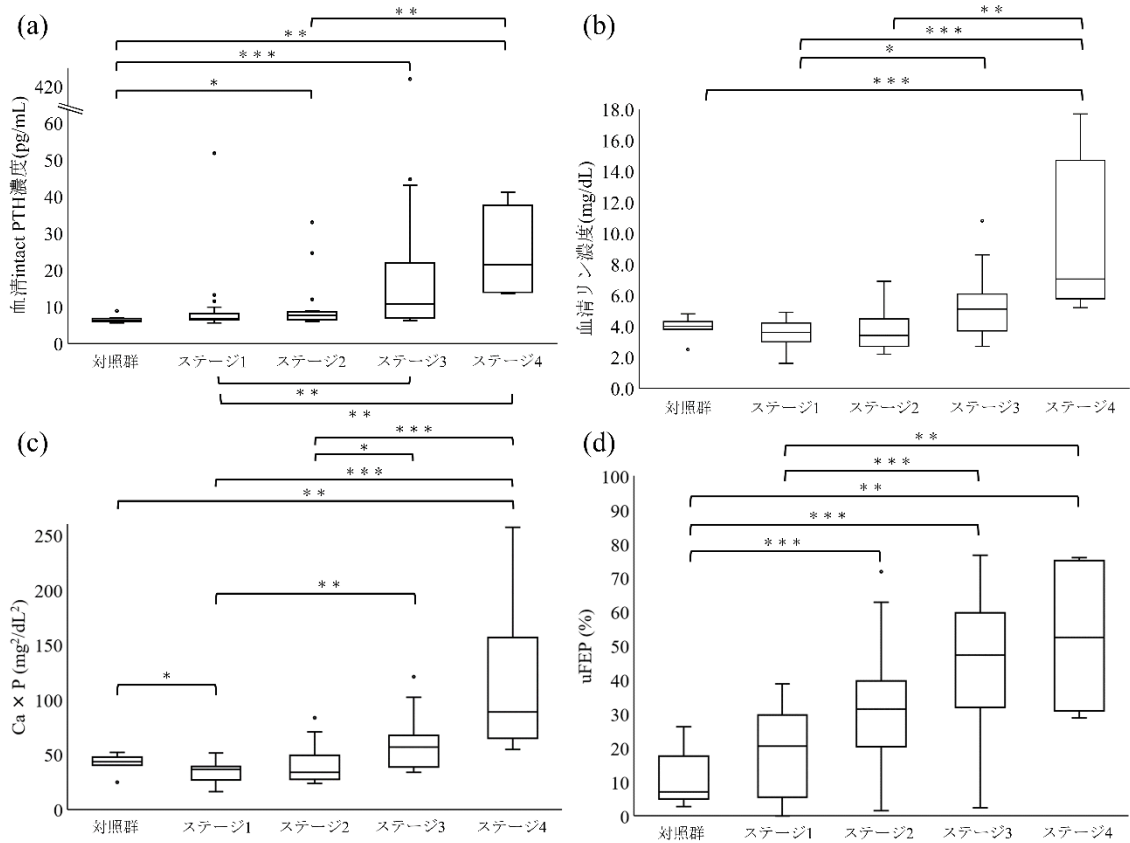


図 2-2 対照群およびCKDのイヌの血清 intact PTH (a)およびリン濃度 (b)、Ca×P (c)、そして uFEP (d)の箱ひげ図。箱内の中心線は中央値、箱の上端および下端は 25 および 75 パーセントイル、ひげは範囲を示す。点は外れ値を示す。\*;  $P < 0.05$ 、\*\* ;  $P < 0.01$ 、\*\*\* ;  $P < 0.001$ 。



高リン血症 (血清リン濃度  $>5.0$  mg/dL)の有無に基づくと、ステージ2 および3のイヌのうち、ステージ2bには5頭、そしてステージ3bには8頭のイヌがそれぞれ分類された。血清 FGF-23 濃度 (中央値、範囲)はステージ2a (616 pg/mL、281–3254 pg/mL)と比較してステージ2b (2795 pg/mL、1217–9930 pg/mL)で有意に上昇していたが ( $P = 0.002$ )、ステージ3a (616 pg/mL、281–3254 pg/mL)と3b (4579 pg/mL、505–9681 pg/mL)間では有意差を示さなかった ( $P = 0.1$ ) (図 2-3)。

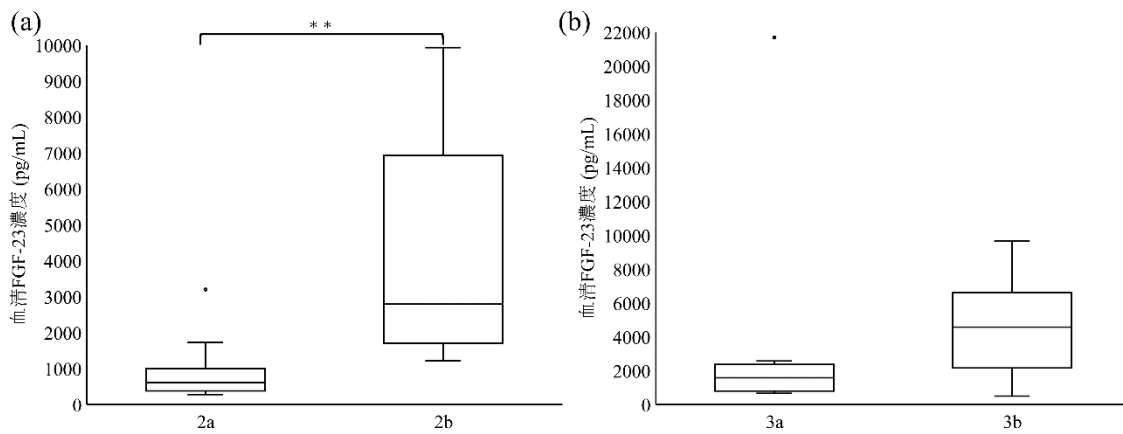


図 2-3 CKD ステージ 2 (図 2-3a)および 3 (図 2-3b)のイヌを高リン血症の有無によって分類し、比較した血清 FGF-23 濃度の箱ひげ図。箱内の中心線は中央値、箱の上端および下端は 25 および 75 パーセンタイル、ひげは範囲を示す。点は外れ値を示す。ステージ 2 では、血清リン濃度が正常な CKD のイヌ(2a)と比較して、高リン血症を伴うイヌ (2b)で血清 FGF-23 濃度は有意に高かった。ステージ 3 では血清リン濃度が正常なイヌ (3a)と高リン血症を伴うイヌ (3b)との間で血清 FGF-23 濃度に有意差はなかった。\*\* ;  $P < 0.01$ 。

各 CKD ステージでの FGF-23 および他のリン代謝マーカーの上昇を示したイヌの割合

対照群から算出された血清 FGF-23 および intact PTH 濃度の参考範囲上限は、それぞれ 528 および 8.5 pg/mL だった。血清 FGF-23、intact PTH およびリン濃度、そして CaxP が上昇していたイヌの割合を図 2-4 に示した。

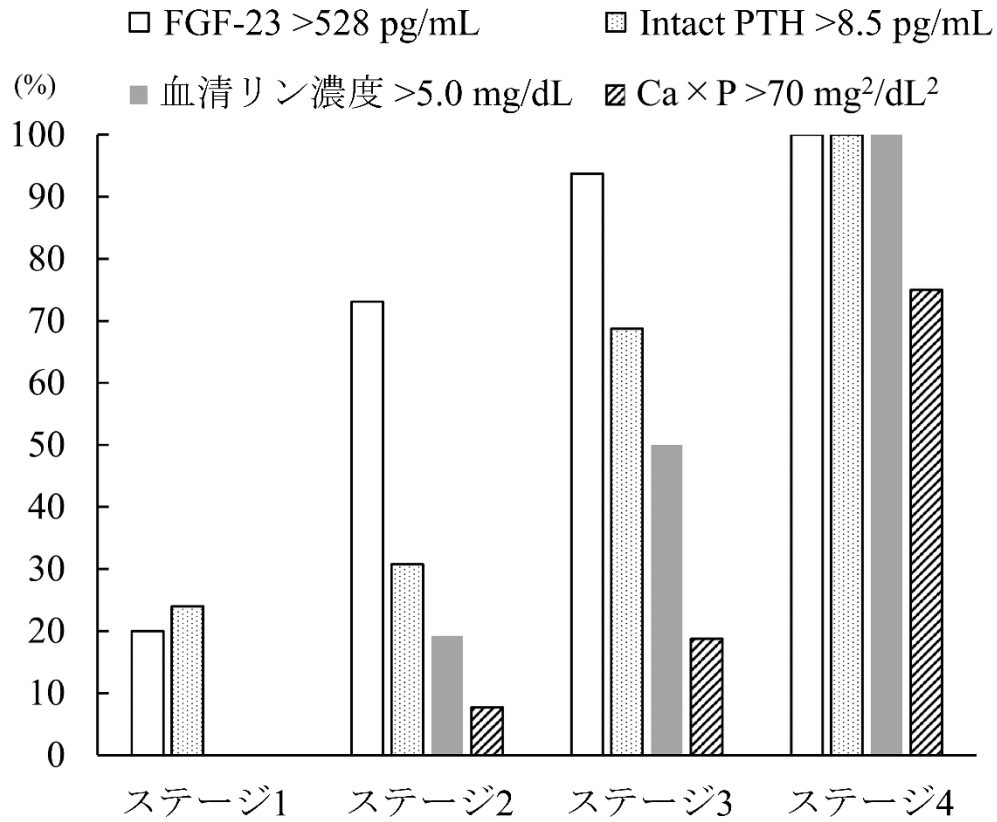


図 2-4 各 CKD ステージでの血清 FGF-23、intact PTH およびリン濃度、そして Ca×P が上昇していたイヌの割合。

### 血清 FGF-23 濃度と他の変数との間の相関分析

Log 血清 FGF-23 濃度は log 血清 intact PTH 濃度 ( $r = 0.622$ ;  $P < 0.001$ )、log 血清尿素窒素濃度 ( $r = 0.723$ ;  $P < 0.001$ )、log 血清クレアチニン濃度 ( $r = 0.799$ ;  $P < 0.001$ )、log 血清総カルシウム濃度 ( $r = 0.526$ ;  $P < 0.001$ )、log 血清リン濃度 ( $r = 0.702$ ;  $P < 0.001$ )、log Ca $\times$ P ( $r = 0.752$ ;  $P < 0.001$ )、log USG ( $r = -0.578$ ;  $P < 0.001$ )および log uFEP ( $r = 0.599$ ;  $P < 0.001$ )と有意に相関した (表 2-3)。

重回帰分析では、log 血清 intact PTH 濃度、log 血清クレアチニン濃度および log Ca $\times$ P が log 血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だった (表 2-4)。

表 2-3 Log 血清 FGF-23 濃度と他の変数との相関分析

| 変数             | 相関係数   | <i>P</i> |
|----------------|--------|----------|
| Log 年齢         | -0.048 | 0.7      |
| Log 体重         | 0.129  | 0.2      |
| Log intact PTH | 0.622  | <0.001   |
| Log 尿素窒素       | 0.723  | <0.001   |
| Log クレアチニン     | 0.799  | <0.001   |
| Log 総カルシウム     | 0.526  | <0.001   |
| Log リン         | 0.702  | <0.001   |
| Log Ca × P     | 0.752  | <0.001   |
| Log 総蛋白        | 0.070  | 0.5      |
| Log アルブミン      | -0.182 | 0.09     |
| Log イオン化カルシウム  | 0.180  | 0.1      |
| 重炭酸            | -0.077 | 0.5      |
| Log USG        | -0.578 | <0.001   |
| Log UPC        | 0.202  | 0.07     |
| Log uFEP       | 0.599  | <0.001   |

表 2-4 Log 血清 FGF-23 濃度を予測する重回帰分析の結果

| 独立変数   | 非標準化係数 |       | 標準化係数 | <i>P</i> |
|--|--------|-------|-------|----------|
|  | 係数     | 標準誤差  |       |          |
| 定数   | 0.372  | 0.298 |       | 0.2      |
| Log 血清 intact PTH 濃度 (pg/mL)                   | 0.380  | 0.130 | 0.179 | 0.005    |
| Log 血清クレアチニン濃度 (mg/dL)                         | 0.915  | 0.133 | 0.464 | <0.001   |
| Log Ca × P (mg <sup>2</sup> /dL <sup>2</sup> ) | 1.229  | 0.189 | 0.404 | <0.001   |

調整済み R<sup>2</sup> = 0.778。Durbin-Watson 比 = 2.154。

#### 4. 考察

本検討では、イヌの血清 FGF-23 濃度は血清クレアチニン濃度と独立して関連し、そして CKD のステージの悪化とともに上昇した。CKD のヒトでは、血中 FGF-23 濃度は GFR の低下に伴い上昇することが明らかになっている [52,68,105]。本検討の結果は、ヒトの報告と一致した。FGF-23 は腎臓の近位尿細管細胞でのナトリウム-リン共輸送体の発現をダウンレギュレーションさせることによって尿中のリン排泄を増加させる [78]。CKD では機能ネフロン数の減少によって、ネフロン 1 個あたりのリン負荷が増加する [30]。血中 FGF-23 濃度は CKD で生じるリンの蓄積に対して代償的に上昇し、リンの恒常性を維持しようとする [79,92,94]。本検討では、血清 FGF-23 濃度は血清リン濃度、Ca×P および uFEP と有意に正相関し、そしてステージ 2 では血清リン濃度が正常なイヌと比較して高リン血症のイヌで有意に高かった。したがって、本検討では血清 FGF-23 濃度は他のリン代謝マーカーと関連していたため、CKD のイヌでの血清 FGF-23 濃度の上昇には、GFR の低下によるリン代謝異常が関与すると考えられる。

本検討では、CKD のイヌの血清 FGF-23 濃度は、対照群と比較して IRIS ステージ 2 以降で有意に上昇した。CKD のイヌにおける以前の研究では、血漿 FGF-23 濃度は対照群と比較してステージ 3 で有意に上昇したが、対照群とステージ 2 の間には有意差は認められなかった [44]。本検討で用いた血清 FGF-23 濃度の分析系はこの報告と違うため、異なる結果が得れた可能性がある。過去の研究も本検討と同様に、ヒト用の FGF-23 の ELISA キットを用いている。現状では、イヌとヒトとの FGF-23 の交差反応性は明らかになっていない。本検討で用いた FGF-23 の分析系の精度は以前の報告と同様であり [22,44]、本検討で測定した血清 FGF-23 濃度は、理論通りに CKD ステージの悪化に伴い上昇した。したがっ



て、本検討で用いた分析系は、イヌの血清 FGF-23 濃度を測定できていたと思われる。さらに本検討のサンプルサイズは過去の報告よりも大きかったため [44]、対照群と CKD のステージ 2 との間の差を検出できたと考えられる。

CKD のヒトおよびネコでは、血中 FGF-23 濃度の上昇は、血中 PTH およびリン濃度の上昇よりも早期のステージで認められる [35,52]。このため、FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーと考えられている。本検討では、血清 intact PTH 濃度は対照群と比較してステージ 2 以降で有意に上昇しており、この結果は血清 FGF-23 濃度と同様だった。しかし、参考範囲を基準にすると、ステージ 2 の CKD のイヌでは血清 FGF-23 濃度の上昇 (>528 pg/mL)は 73.1 %で認められたのに対して、血清 intact PTH 濃度が上昇していたのは 30.8 %のみだった。また、血清リン濃度は対照群と比較してステージ 4 でのみ有意に上昇していた。本検討の結果はヒトおよびネコでの報告と一致しており [35,52]、CKD のイヌでも血清 FGF-23 濃度の上昇は腎性二次性上皮小体機能亢進症および高リン血症よりも先行して生じることを示した。したがって、FGF-23 はイヌでも CKD のミネラル代謝異常に対する早期マーカーであると考えられる。

筆者の知る限り、本検討はイヌでの FGF-23 と uFEP の関連を調査した初めての報告である。FGF-23 による尿中へのリン排泄促進作用は、げっ歯類の研究では明らかにされている [78]。本検討では、uFEP は FGF-23 と有意に正相関しており、これは FGF-23 がイヌでも尿中リン排泄を促進していることを示している。いっぽう、重回帰分析では uFEP は FGF-23 を有意に予測する独立変数としては残らなかった。過去の研究では、CKD のイヌでの uFEP はステージ 3 と 4 との間では有意差は認められていない [75]。本検討でも uFEP にステージ 2-4 のイヌの間で有意差は認められなかった。いっぽう、血清 FGF-23 濃度は CKD のステージの悪化に従って、より後期のステージでさえ進行性に上昇していた。これ

らの所見は、FGF-23 のリン利尿作用が CKD の後期ステージのイヌでは障害されていることを示す。

高リン血症および Ca $\times$ P の上昇は、CKD のイヌにおける生存期間の短縮と関連する [10,27,28,71,100]。このため、リン負荷の軽減は CKD のイヌでの重要な治療と考えられている。しかし、現状では高リン血症を伴っていない CKD のイヌのみを対象として、リン制限食の有効性を調査した研究はない。FGF-23 は CKD のヒトおよびネコでの予後因子であり [29,34,42,53]、これは早期の CKD のミネラル代謝異常でさえ予後不良と関連することを示す。このため、血中 FGF-23 濃度の上昇は治療対象となり、そして高リン血症を伴っていない CKD に対する食事療法の適用となる可能性がある。さらに、FGF-23 は高リン血症を伴っていない CKD のイヌにおけるリン制限療法の介入タイミングを決める指標として有用な可能性がある。本検討では、血清 FGF-23 濃度は早期のステージの CKD のイヌで上昇した。現状では、CKD のイヌでの FGF-23 と予後との関連を調査した研究は 1 報のみである [100]。したがって、高リン血症を伴っていない CKD のイヌでの血中 FGF-23 濃度の上昇に関する臨床的意義を調査する必要がある。

本検討には様々な制限がある。はじめに、対照群のサンプルサイズが小さく、より多くの健康なイヌを用いて血清 FGF-23 濃度の参考範囲を確立する必要がある。第 2 に、本検討は腎臓病用療法食またはリン吸着剤によって治療されていたイヌを含んでいた。リン制限食はヒトおよびネコでの血中 FGF-23 濃度を低下させることが知られている [11,33,39]。さらに、血中 FGF 濃度を低下させるのにリン吸着剤が有効であることが CKD のヒトでは明らかになっている [82]。第 3 に、本検討は血清および尿検体の保存期間を考慮していなかった。保存期間は血清 FGF-23 濃度をはじめとする各値に影響した可能性がある。第 4 に、本検討はビタミン D 代謝物を評価していなかった。過去の研究は CKD のイヌでの

FGF-23 とビタミン D 代謝物との関連性を報告しており [85]、本検討はイヌの CKD のミネラル代謝異常における FGF-23 の役割を十分に評価できていなかった可能性がある。第 5 に本検討では群間の年齢に差があり、CKD の原因を考慮していなかった。本検討では、ステージ 4 の CKD のイヌは他のステージと比較して若齢だった。さらに、ステージ 4 では CKD のほとんどの原因が腎異形成を含む先天性腎疾患の可能性が高かった。健康な成長期のイヌでは、血中リン濃度は成犬と比較して高い [3]。したがって、先天性腎疾患のイヌでのミネラル代謝は、後天的に発症した CKD のイヌとは異なる可能性がある。さらに蛋白尿の有無は本研究の結果に影響した可能性がある。例えば、重度の蛋白尿によって生じる低アルブミン血症は、血清総カルシウム濃度を低下させ、Ca×P を過小評価した可能性がある [21]。また、ヒトでは FGF-23 と蛋白尿との関連性が報告されている [60]。しかし、本検討では CKD のイヌでの FGF-23 と蛋白尿との関連を明らかにできなかったため、蛋白尿の有無が血清 FGF-23 濃度に影響したかは不明だった。

## 5. 小括

本検討では、CKD のイヌでの血清 FGF-23 濃度と CKD のステージおよび他のリン代謝マーカーとの関連を調査した。

その結果、イヌの血清 FGF-23 濃度は CKD のステージの悪化に伴い上昇し、臨床的に健康な個体と比較してステージ 2 以降で有意な上昇が認められた。また、本研究の臨床的に健康な個体から得られた参考範囲に基づくと、IRIS ステージ 2 のイヌの 73.1 % で血清 FGF-23 濃度の上昇が認められた。いっぽう、血清 intact PTH 濃度が上昇していたステージ 2 のイヌは 30.8 % だった。重回帰分析では血清 intact PTH 濃度、血清クレアチニン濃度および Ca×P がイヌの血清 FGF-23

濃度を有意に予測する独立変数だった。以上の所見から、CKD のイヌでの血清 FGF-23 濃度は、腎性二次性上皮小体機能亢進症および高リン血症よりも先行して上昇するため、CKD のミネラル代謝異常を早期に検出できると考えられる。

## 第3章

高リン血症を伴わない慢性腎臓病のイヌに  
おける血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度の  
臨床的意義に関する検討

## 1. 緒言

慢性腎臓病 (CKD)はイヌの一般的な死亡原因となる疾患である [89]。CKD では、高リン血症および腎性二次性上皮小体機能亢進症などのミネラル代謝異常が糸球体ろ過量 (GFR)の低下に伴って生じる [30,46]。ミネラル代謝異常は血管および組織の石灰化を介して CKD を進行させ、生命予後を悪化させるため、CKD の重要な合併症である [30,47]。CKD のイヌでは、特に高リン血症が生存期間を短縮させる [10,27,28,86,100]。このため、高リン血症を予防することは CKD に罹患したイヌの予後の改善に有益だと思われる。

線維芽細胞増殖因子 (FGF)-23 は、CKD のミネラル代謝異常に関与するリン利尿ホルモンである [32]。FGF-23 は血中リンおよびカルシトリオール濃度の上昇に反応して骨細胞から分泌され、尿中リン排泄の促進およびカルシトリオールの合成阻害によって血中リン濃度を低下させる [12,64]。また、FGF-23 は FGF 受容体-klotho 蛋白複合体と結合することによってこれらの作用を発現する [64,94]。CKD では、血中 FGF-23 濃度は GFR の低下によって生じるリンの蓄積に対して代償的に上昇し、そしてリンの恒常性を維持する [79,92,94]。CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇は高リン血症よりも先行して生じることを第 2 章で明らかにした [77]。したがって、血清 FGF-23 濃度の上昇は、高リン血症を示していない CKD のイヌにおけるリンの蓄積を反映している可能性がある。しかし、この点に関するイヌでの研究は行われていない。そこで、CKD のイヌでの FGF-23 は、その後の高リン血症の発生を予測するマーカーであるという仮説を立てた。国際獣医腎臓病研究グループ (IRIS)は CKD のイヌでのリン制限食をステージ 2 から開始することを推奨しているが、リン制限食の適切な開始タイミングを明確にした研究は報告されていない。前述した仮説が正しい場合、高リン血症を予防するために FGF-23 をリン制限療法の開始タイミングを決める

指標として利用できる可能性がある。

そこで本章では、高リン血症を伴っていないCKDのイヌにおける血清FGF-23濃度の上昇に関する臨床的意義を明らかにするため、血清FGF-23濃度とその後的高リン血症の発生およびCKDの進行との関連を調査した。

## 2. 材料および方法

### 症例選択

2014年10月から2020年10月までに、日本獣医生命科学大学附属動物医療センター腎臓科でCKDと診断されたイヌの血清検体および医療記録を回顧的に調査した。第2章で述べた市販のソフトウェア(Microsoft Excel 2016, Microsoft Japan Co., Ltd., Japan)で作成したデータベースから“CKD”および“イヌ”の単語を用いてCKDのイヌを抽出した。抽出後、これらのイヌの血清検体の有無および医療記録を調査した。CKDの診断基準およびステージ分類 [50]は第2章と同様とした。

腫瘍、副腎皮質機能亢進症、副腎皮質機能低下症または急性腎障害と診断された、あるいはこれらが疑われたイヌ、そして高リン血症の既往があるイヌを除外した。高リン血症は、本学附属動物医療センター検査室の参考範囲に基づいて血清リン濃度 $> 5.0 \text{ mg/dL}$ とした。さらに、血清FGF-23濃度の測定日以降の経過を追跡できなかつたイヌも除外した。

### 医療記録の調査、データ収集および検体

年齢、性別、中性化の有無、体重、品種、血清化学検査、血液ガス検査、尿検査、血圧検査および治療内容に関する情報を医療記録から収集した。血清および尿化学検査、血液ガス検査、尿検査、そして血圧検査 [2]に用いた機器およ

び方法は第 2 章と同様である。

## FGF-23 および intact 上皮小体ホルモン (PTH) の分析

血清 FGF-23 および intact PTH 濃度の測定法は第 2 章と同様とした [77]。

### 統計解析

統計解析に用いたソフトウェアは第 2 章と同様とした [61]。  $P < 0.05$  を統計学的に有意とした。各イヌの高リン血症の発生および CKD の進行をエンドポイントとし、エンドポイントまでの日数を医療記録から調査した。再診間隔 (つまり、血清クレアチニンおよびリン濃度の再評価の頻度) は、各イヌの主治医が決定した。高リン血症の発生は血清リン濃度  $> 5.0$  mg/dL と定義した。CKD の進行は、血清 FGF-23 濃度が測定された日の血清クレアチニン濃度から 1.5 倍以上の上昇とした。追跡終了を 2021 年 1 月とした。追跡終了までに高リン血症が発生しなかった、または CKD が進行しなかったイヌ、あるいは途中で追跡不能となったイヌは打ち切りとした。

前述したエンドポイントに達するまでの期間に関する Kaplan-Meier 曲線を作成した。血清 FGF-23 および intact PTH 濃度のカットオフ値には、第 2 章で算出した参考範囲上限 (それぞれ 528 pg/mL および 8.5 pg/mL) を用いた。血清リン濃度以外の血清化学検査パラメータのカットオフには、本学付属動物医療センター検査室の参考範囲を用いた。血清リン濃度のカットオフ値 (4.6 mg/dL) は、IRIS の CKD 治療ガイドラインの治療目標値とした [49]。血中重炭酸およびイオン化カルシウム濃度のカットオフ値は以前の報告に基づき、それぞれ 18.8 mmol/L および 1.15 mmol/L とした [21,59]。また、尿比重および尿蛋白 : クレアチニン比 (UPC) のカットオフ値はそれぞれ 1.030 および 1.0 とした [56,112]。全身性高血



圧は収縮期血圧 (SBP)  $\geq 160$  mmHg と定義した [2,54]。群間のエンドポイントまでの日数の比較には log-rank 検定を用いた。エンドポイントに対する血清 FGF-23 濃度および他の変数のハザード比 (HR)を単変量 Cox 回帰分析によって算出した。比例ハザード性の推定には Schoenfeld 残差を用いた。単変量 Cox 回帰分析でエンドポイントと有意に関連した変数は、変数減少法による多変量 Cox 回帰分析の独立変数に用いた。モデルの残差分析には Martingale 残差を用いた。

### 3. 結果

#### 組み込まれたイヌの特徴

148 頭の CKD のイヌがデータベースから特定された。このうち、11 頭のイヌが腫瘍、副腎皮質機能亢進症または急性腎障害を合併しており、45 頭のイヌでは血清検体が保存されておらず、そして 24 頭のイヌが高リン血症を伴っていた、あるいはその既往があったため除外した。さらに、26 頭のイヌでは追跡不能だったため除外した。このため、本検討には 42 頭の高リン血症を伴っていない CKD のイヌを組み込んだ。CKD のイヌ全体では、年齢の中央値 (範囲)は 9.3 歳 (1.4-15.8 歳)であり、そして体重の中央値 (範囲)は 4.5 kg (1.4-31.2 kg)だった。性別の分布に関しては、未去勢オスが 3 頭、去勢オスが 16 頭、未避妊メスが 4 頭、そして避妊メスが 19 頭だった。品種はヨークシャ・テリア (n = 11)、パピヨン (n = 5)、チワワ (n = 3)、柴犬 (n = 3)、シー・ズー (n = 3)、トイ・プードル (n = 3)、ジャック・ラッセル・テリア (n = 2)、ミニチュア・シュナウザー (n = 2) および以下の各品種 1 頭ずつだった；イタリアン・グレイハウンド、ボーダー・コリー、ブルドッグ、フレンチ・ブルドッグ、ラブラドル・レトリバー、マルチーズ、ミニチュア・ダックスフンド、スタッフォードシャー・ブル・テリア、ウェルシュ・コーギーおよび雑種。IRIS の CKD ガイドラインに従い、イヌ

をステージ 1 (n = 23)、ステージ 2 (n = 13)、ステージ 3 (n = 5)およびステージ 4 (n = 1)に分類した。ステージ 4 のイヌは 1 頭のみだったため、統計解析にはこのイヌをステージ 3 に含めた (表 3-1)。23 頭のイヌでは追跡中に高リン血症が発生し、そして 18 頭のイヌでは CKD が進行した。

高リン血症が発生した 23 頭中 9 頭、そして高リン血症が発生しなかった 19 頭中 6 頭では、追跡中に腎臓病用療法食で治療されていた。また、CKD が進行した 18 頭中 9 頭、そして CKD が進行しなかった 24 頭中 6 頭では追跡中に腎臓病用療法食による治療が開始されていた。腎臓病用療法食による治療の有無によりイヌを 2 群に分け、高リン血症の発生および CKD の進行までの期間を比較したが、両群に有意差は認められなかった (それぞれ  $P = 0.77$  および  $P = 0.57$ )。追跡中にリン吸着剤で治療されたイヌはいなかった。25 頭のイヌでは、蛋白尿および/または全身性高血圧の治療のためにレニン・アンジオテンシン系阻害薬を投与されていた。その内訳はテルミサルタン (n = 18)、塩酸ベナゼプリル (n = 2)、マレイン酸エナラプリル (n = 1)、塩酸テモカプリル (n = 1)、そしてテルミサルタンおよび塩酸ベナゼプリルの併用 (n = 3)だった。尿沈渣で細菌尿または膿尿を示したイヌはいなかった。高リン血症が発生したイヌの再診間隔の中央値 (範囲)は 56 日 (13–99 日)であり、高リン血症が発生しなかったイヌでは 91 日 (34–882 日)だった。CKD が進行したイヌの再診間隔の中央値 (範囲)は 294 日 (15–259 日)であり、CKD が進行しなかったイヌでは 82 日 (13–882 日)だった。

表 3-1 組み込まれたイヌのステージ別の特徴

| 変数                    | ステージ 1 (n = 23)     |    | ステージ 2 (n = 13)     |    | ステージ 3-4 (n = 6)    |   |
|-----------------------|---------------------|----|---------------------|----|---------------------|---|
|                       | 中央値 (範囲)            | n  | 中央値 (範囲)            | n  | 中央値 (範囲)            | n |
| 年齢 (歳)                | 9.4 (3.0-15.8)      | 23 | 9.2 (2.2-13.5)      | 13 | 11.3 (1.4-14.8)     | 6 |
| 体重 (kg)               | 4.0 (1.4-21.2)      | 22 | 6.2 (1.7-31.2)      | 13 | 4.9 (2.4-14.3)      | 6 |
| FGF-23 (pg/mL)        | 442 (172-1545)      | 23 | 843 (281-1314)      | 13 | 1378 (605-1754)     | 6 |
| Intact PTH (pg/mL)    | 6.5 (5.9-16.5)      | 23 | 6.6 (6.1-34.6)      | 13 | 13.4 (6.1-24.4)     | 5 |
| 尿素窒素 (mg/dL)          | 38.8 (7.1-66.7)     | 23 | 32.3 (17.1-79.3)    | 13 | 72.2 (44.7-95.6)    | 6 |
| クレアチニン (mg/dL)        | 0.90 (0.60-1.39)    | 23 | 1.85 (1.45-2.36)    | 13 | 4.01 (3.22-5.82)    | 6 |
| 総蛋白 (g/dL)            | 5.9 (4.8-7.3)       | 23 | 6.0 (4.1-7.6)       | 13 | 6.0 (5.6-6.8)       | 6 |
| アルブミン (g/dL)          | 2.4 (1.8-3.4)       | 23 | 2.6 (1.6-3.5)       | 13 | 2.7 (2.4-3.3)       | 6 |
| 総カルシウム (mg/dL)        | 10.0 (8.0-12.0)     | 23 | 10.2 (8.8-11.8)     | 13 | 11.1 (9.8-12.6)     | 6 |
| リン (mg/dL)            | 3.6 (1.6-4.9)       | 23 | 3.6 (2.2-4.6)       | 13 | 3.5 (2.7-4.0)       | 6 |
| カリウム (mEq/L)          | 4.6 (3.6-5.6)       | 23 | 4.8 (4.1-5.9)       | 12 | 4.8 (3.7-5.5)       | 6 |
| イオン化カルシウム<br>(mmol/L) | 1.22 (0.92-1.34)    | 18 | 1.22 (1.14-1.28)    | 12 | 1.21 (1.14-1.26)    | 6 |
| 重炭酸 (mmol/L)          | 22.3 (17.1-29.1)    | 18 | 23.6 (11.6-26.6)    | 12 | 21.4 (18.3-24.3)    | 6 |
| 尿比重                   | 1.021 (1.004-1.050) | 21 | 1.019 (1.004-1.023) | 13 | 1.011 (1.009-1.014) | 6 |
| UPC                   | 2.5 (0.1-9.3)       | 22 | 2.2 (0.0-12.1)      | 11 | 0.1 (0.0-0.6)       | 6 |
| SBP (mmHg)            | 152 (104-191)       | 17 | 148 (123-235)       | 9  | 145 (119-172)       | 4 |

### 血清 FGF-23 濃度と高リン血症発生との関連

血清 FGF-23 濃度 >528 pg/mL のイヌにおける高リン血症発生までの期間 (中央値、175 日 ; 95%信頼区間 [CI]、0–395 日)は、血清 FGF-23 濃度 ≤528 pg/mL のイヌ (中央値、算出不可)よりも有意に短かった ( $P < 0.001$  ; 図 3-1)。

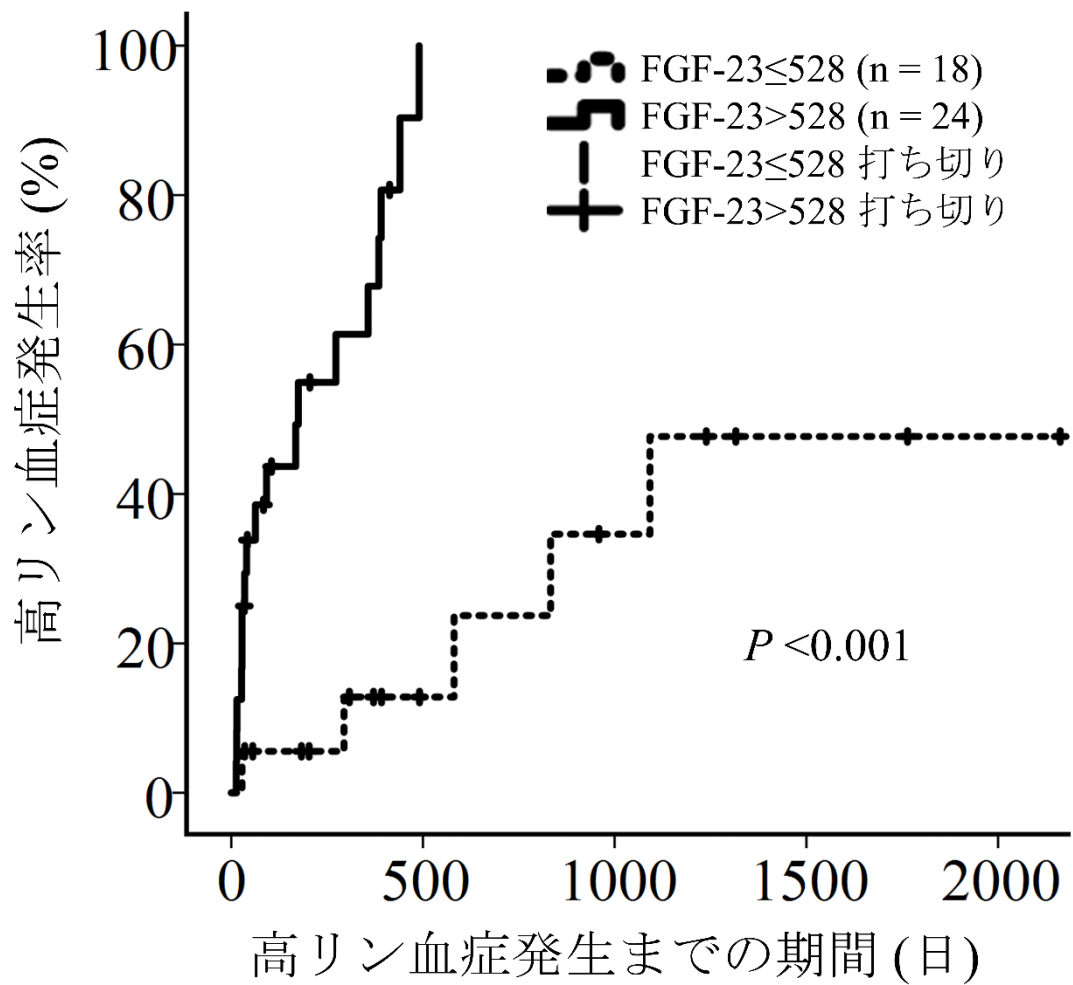


図 3-1 血清 FGF-23 濃度 >528 pg/mL (実線) および ≤528 pg/mL (破線) の CKD のイヌにおける高リン血症発生までの期間に関する Kaplan-Meier 曲線。

血清尿素窒素 (UN)濃度>29.2 mg/dL のイヌにおける高リン血症発生までの期間 (中央値、273 日 ; 95%CI、93–453 日)は、血清 UN 濃度≤29.2 mg/dL のイヌ (中央値、算出不可)よりも有意に短かった ( $P < 0.001$  ; 図 3-2a)。さらに IRIS ステージの上昇は、高リン血症発生までの期間と有意に関連した ( $P = 0.018$ )。ステージ 1、2 および 3–4 までの高リン血症発生までの期間の中央値 (95%CI)はそれぞれ 581 日 (185–977 日)、385 日 (0–871 日)および 35 日 (0–240 日)だった (図 3-2b)。

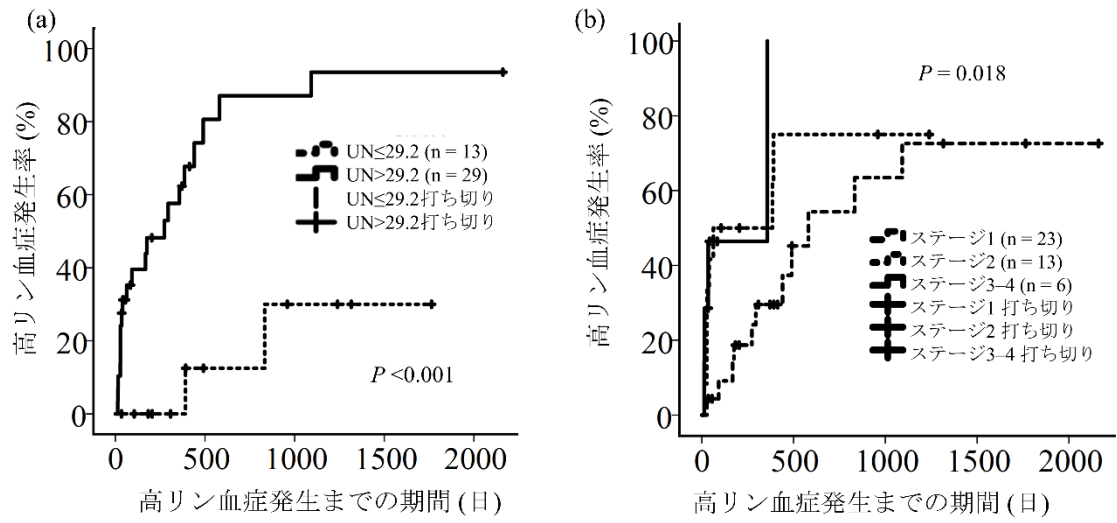


図 3-2 血清 UN 濃度 >29.2 mg/dL (実線) および ≤29.2 mg/dL (破線) (a) ; そしてステージ 1 (一点鎖線)、ステージ 2 (破線) およびステージ 3-4 (実線) (b) の CKD のイヌにおける高リン血症発生までの期間に関する Kaplan-Meier 曲線。

単変量 Cox 回帰分析では、血清 FGF-23 濃度>528 pg/mL、血清 UN 濃度>29.2 mg/dL および IRIS ステージ 3-4 が高リン血症の発生リスクと有意に関連した (それぞれ  $P < 0.001$ 、 $P = 0.003$  および  $P = 0.011$  ; 表 3-2)。また、再診間隔 (日) も高リン血症発生と有意に関連した (HR、0.92 ; 95%CI、0.89-0.96 ;  $P < 0.001$ )。これらの変数を多変量 Cox 回帰分析に組み込むと、血清 FGF-23 濃度>528 pg/mL、血清 UN 濃度>29.2 mg/dL および再診間隔は、高リン血症発生のリスクと有意に関連したままだった (表 3-3)。

#### 血清 FGF-23 濃度と CKD の進行との関連

血清 FGF-23 濃度>528 pg/mL のイヌでの CKD の進行までの期間 (中央値、391 日 ; 95%CI、67-522 日)は、血清 FGF-23 濃度≤528 pg/mL のイヌでの期間 (中央値、算出不可)よりも有意に短かった ( $P < 0.001$  ; 図 3-3)。



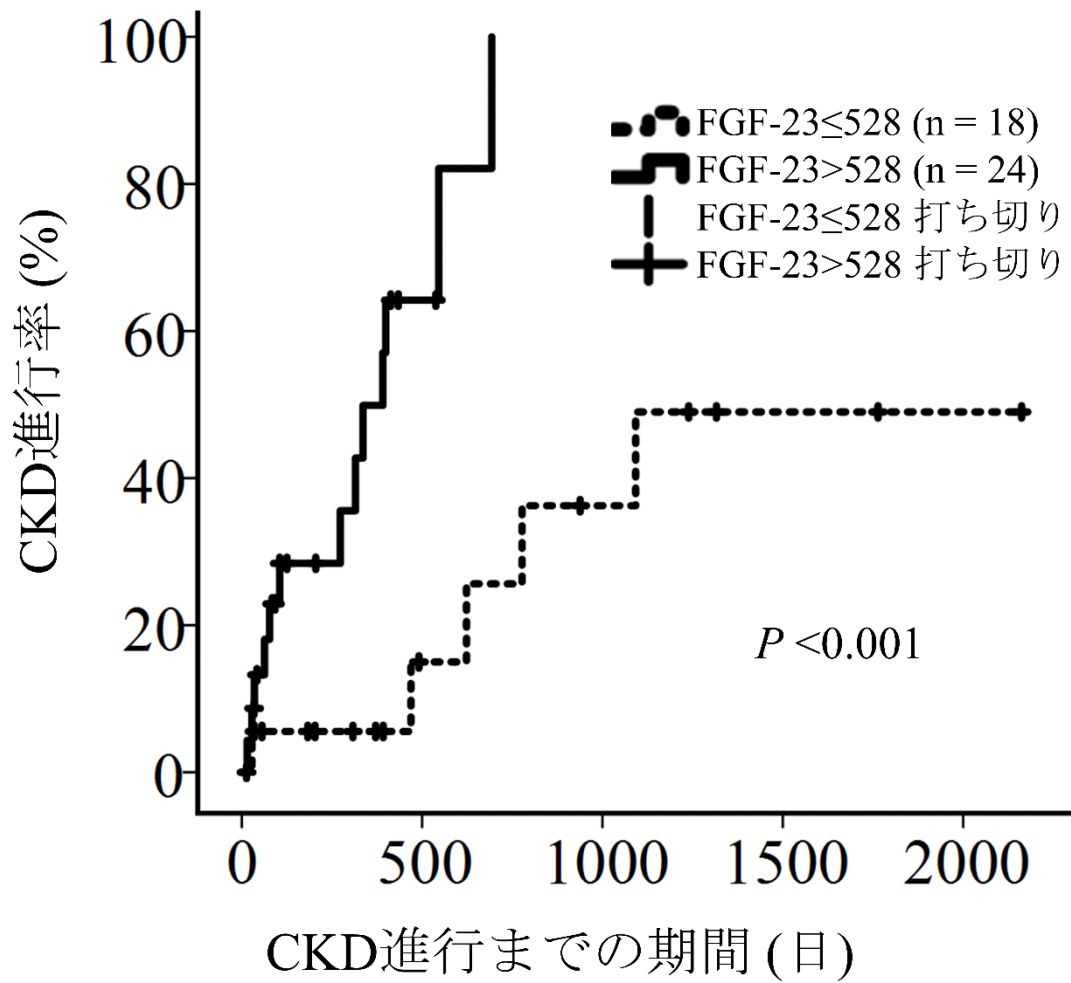


図 3-3 血清 FGF-23 濃度 >528 pg/mL (実線) および ≤528 pg/mL (破線) の CKD のイヌにおける CKD 進行までの期間に関する Kaplan-Meier 曲線。

さらに血清 UN 濃度 $>29.2$  mg/dL、血清カリウム濃度 $>5.1$  mEq/L および IRIS ステージは CKD の進行までの期間と有意に関連した (それぞれ  $P = 0.025$ 、 $P = 0.021$  および  $P = 0.001$  ; 図 3-4)。血清 UN 濃度 $>29.2$  mg/dL のイヌでは CKD の進行までの期間の中央値 (95% CI)は 469 日(118–700 日)だったが、血清 UN 濃度 $\leq 29.2$  mg/dL のイヌでは調査期間中に CKD が進行した個体が少なく、中央値を算出できなかった。血清カリウム濃度 $>5.1$ mEq/L および $\leq 5.1$  mEq/L のイヌでは CKD の進行までの期間の中央値 (95% CI)は、それぞれ 28 日 (7–49 日)および 623 日 (363–833 日)だった。IRIS ステージ 1、2 および 3–4 では CKD の進行までの期間の中央値 (95%CI)はそれぞれ 693 日 (460–926 日)、777 日 (328–1227 日)および 77 日 (12–143 日)だった。

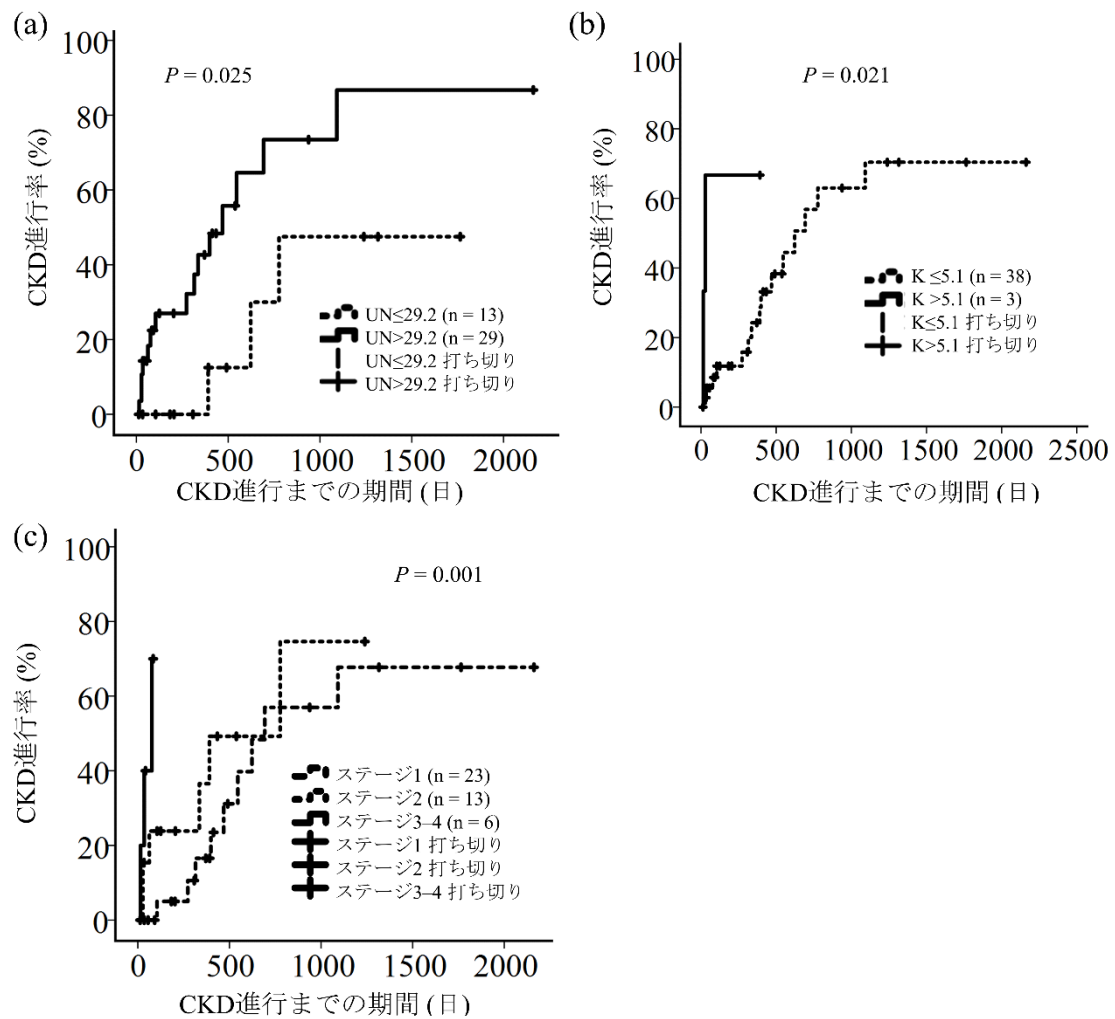


図 3-4 血清 UN 濃度 $>$ 29.2 mg/dL (実線)および $\leq$ 29.2 mg/dL (破線) (a) ; 血清カリウム(K)濃度 $>$ 5.1 mEq/L(実線)および $\leq$ 5.1 mEq/L(破線) (b) ; そしてステージ 1 (一点鎖線)、ステージ 2 (破線)およびステージ 3-4 (実線) (c)の CKD のイヌにおける CKD 進行までの期間に関する Kaplan-Meier 曲線。

単変量 Cox 回帰分析では、血清 FGF-23 濃度>528 pg/mL、血清 UN 濃度>29.2 mg/dL、血清カリウム濃度 >5.1 mEq/L および IRIS ステージ 3-4 は CKD の進行リスクと有意に関連した (それぞれ  $P = 0.001$ 、 $P = 0.03$ 、 $P = 0.04$  および  $P = 0.002$ ; 表 3-2)。さらに再診間隔も CKD の進行と有意に関連した (HR、0.97; 95%CI、0.95-0.99 ;  $P = 0.01$ )。これらの変数を多変量 Cox 回帰分析に組み込むと、血清 FGF-23 濃度>528 pg/mL および血清カリウム濃度>5.1 mEq/L は CKD の進行リスクと有意に関連したままだった (表 3-3)。

表 3-2 高リン血症を伴わない CKD のイヌでの高リン血症発生および CKD の進行の HR に関する単変量 Cox 回帰分析 (続く)

| 変数                 | カットオフ | n  | 高リン血症の発生 |            |        | CKD の進行 |            |       |
|--------------------|-------|----|----------|------------|--------|---------|------------|-------|
|                    |       |    | HR       | 95% CI     | P      | HR      | 95%CI      | P     |
| FGF-23 (pg/mL)     | ≤528  | 18 |          |            |        |         |            |       |
|                    | >528  | 24 | 15.39    | 3.41–69.57 | <0.001 | 8.98    | 2.38–33.89 | 0.001 |
| Intact PTH (pg/mL) | ≤ 8.5 | 30 |          |            |        |         |            |       |
|                    | >8.5  | 11 | 2.02     | 0.80–5.12  | 0.1    | 2.21    | 0.78–6.24  | 0.1   |
| UN (mg/dL)         | ≤29.2 | 13 |          |            |        |         |            |       |
|                    | >29.2 | 29 | 9.44     | 2.18–40.89 | 0.003  | 3.97    | 1.14–13.87 | 0.03  |
| クレアチニン (mg/dL)     | ≤1.45 | 24 |          |            |        |         |            |       |
|                    | >1.45 | 18 | 2.23     | 0.97–5.12  | 0.06   | 2.14    | 0.83–5.49  | 0.1   |
| 総蛋白 (g/dL)         | ≥4.9  | 39 |          |            |        |         |            |       |
|                    | <4.9  | 3  | 1.41     | 0.42–4.80  | 0.6    | 1.92    | 0.55–6.71  | 0.3   |
| アルブミン (g/dL)       | ≥2.0  | 34 |          |            |        |         |            |       |
|                    | <2.0  | 8  | 2.06     | 0.84–5.03  | 0.1    | 1.8     | 0.67–4.88  | 0.3   |
| 総カルシウム (mg/dL)     | ≥9.1  | 38 |          |            |        |         |            |       |
|                    | <9.1  | 4  | 1.11     | 0.33–3.79  | 0.9    | 0.79    | 0.18–3.51  | 0.8   |
| リン (mg/dL)         | ≤4.5  | 38 |          |            |        |         |            |       |
|                    | >4.5  | 4  | 1.94     | 0.65–5.80  | 0.2    | 1.04    | 0.24–4.58  | 0.96  |
| カリウム (mEq/L)       | ≤5.1  | 38 |          |            |        |         |            |       |
|                    | >5.1  | 3  | 2.34     | 0.53–10.30 | 0.3    | 5.02    | 1.06–23.87 | 0.04  |

表 3-2 高リン血症を伴わない CKD のイヌでの高リン血症発生および CKD の進行の HR に関する単変量 Cox 回帰分析 (続き)

| 変数                   | カットオフ    | n  | 高リン血症の発生 |           |      | CKD の進行 |            |       |
|----------------------|----------|----|----------|-----------|------|---------|------------|-------|
|                      |          |    | HR       | 95% CI    | P    | HR      | 95% CI     | P     |
| 重炭酸 (mmol/L)         | >18.8    | 31 |          |           |      |         |            |       |
|                      | ≤18.8    | 5  | 1.49     | 0.53–4.19 | 0.5  | 1.88    | 0.64–5.48  | 0.3   |
| イオン化カルシウム (mmol/L)   | >1.15    | 27 |          |           |      |         |            |       |
|                      | ≤1.15    | 9  | 0.96     | 0.37–2.48 | 0.9  | 0.74    | 0.24–2.32  | 0.6   |
| 尿比重                  | ≥1.030   | 5  |          |           |      |         |            |       |
|                      | <1.030   | 35 | 2.22     | 0.52–9.56 | 0.3  | 1.52    | 0.35–6.64  | 0.6   |
| UPC                  | <1.0     | 14 |          |           |      |         |            |       |
|                      | ≥1.0     | 25 | 1.18     | 0.46–3.04 | 0.7  | 1.19    | 0.38–3.71  | 0.8   |
| SBP (mmHg)           | <160     | 19 |          |           |      |         |            |       |
|                      | ≥160     | 11 | 1.28     | 0.43–3.84 | 0.7  | 0.86    | 0.23–3.20  | 0.8   |
| 追跡期間中の<br>腎臓病用療法食の有無 | なし       | 27 |          |           |      |         |            |       |
|                      | あり       | 15 | 0.88     | 0.38–2.05 | 0.8  | 1.31    | 0.52–3.34  | 0.6   |
| CKD のステージ            | ステージ 1   | 23 |          |           |      |         |            |       |
|                      | ステージ 2   | 13 | 2.10     | 0.84–5.27 | 0.1  | 2.02    | 0.71–5.1   | 0.2   |
|                      | ステージ 3–4 | 6  | 4.87     | 1.43–16.6 | 0.01 | 12.41   | 2.47–72.97 | 0.002 |

表 3-3 多変量 Cox 回帰分析での高リン血症の発生および CKD の進行に対する HR

| 変数                       | HR    | 95%CI      | <i>P</i> |
|--------------------------|-------|------------|----------|
| 高リン血症の発生                 |       |            |          |
| 血清 FGF-23 濃度 > 528 pg/mL | 5.66  | 1.24–25.81 | 0.03     |
| 血清 UN 濃度 > 29.2 mg/dL    | 6.31  | 1.20–33.10 | 0.03     |
| 再診間隔 (日)                 | 0.91  | 0.87–0.95  | < 0.001  |
| CKD の進行                  |       |            |          |
| 血清 FGF-23 濃度 > 528 pg/mL | 11.33 | 2.85–44.98 | <0.001   |
| 血清カリウム濃度 > 5.1 mEq/L     | 12.74 | 2.12–76.73 | 0.005    |

#### 4. 考察

本検討では、高リン血症を伴わない CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇は、その後の高リン血症の発生および CKD の進行と有意に関連した。

CKD で血中 FGF-23 濃度が上昇する理由に関して、様々な機序が提案されている [24,92,94,97]。ヒトでは血中 FGF-23 濃度を決定する因子としてリンの蓄積が重要と考えられているため [79,92,94]、本検討は FGF-23 とリンとの関連性に焦点を当てた。CKD で生じる GFR の低下は尿中へのリン排泄を障害し、体内でのリンの蓄積を引き起こす [30]。血中 FGF-23 濃度の上昇はこの病態を代償するために生じ、尿中へのリン排泄を促進してリンの恒常性を維持しようとする [79,92,94]。GFR がより低下すると、さらなるリンの排泄不全によって FGF-23 の代償不全が生じ、高リン血症が発生する [23,30,64]。実際に CKD のヒト、ネコおよびイヌでは血中 FGF-23 濃度の上昇は、高リン血症よりも早期に生じることが示されている [35,52,77]。そこで本検討では、高リン血症を伴っていない CKD のイヌでの血清 FGF-23 濃度の上昇は、すでに生じているリンの蓄積を反映しており、その後の高リン血症発生を予測するマーカーであるという仮説を立てた。本検討では、血清 FGF-23 濃度の上昇はその後の高リン血症発生と有意に関連した。この結果は、血清 FGF-23 濃度が上昇している CKD のイヌでは、高リン血症を伴っていなくてもリンの蓄積がすでに生じており、高リン血症が発生するまでの期間が短いことを示す。血中 FGF-23 濃度が上昇する他の機序として、GFR 低下による FGF-23 の腎クリアランスの低下が挙げられている [94]。ヒトでは、GFR の低下は早期ステージの CKD における血中 FGF-23 濃度の上昇に関与する最も重要な要因であるという報告がある [24]。しかし、本検討では、血清 FGF-23 濃度の上昇による高リン血症の発生リスクは、多変量 Cox 回帰分析を用いて CKD のステージ (つまり、GFR の低下程度)によってそのリスクを調



節した後も有意なままだった。したがって、GFR とは無関係に、CKD のイヌでも体内でのリンの蓄積は血清 FGF-23 濃度の上昇に関与する重要な因子であると考えられる。

本検討では、血清 FGF-23 濃度の上昇は CKD の進行の有意なリスクだった。CKD のヒトでは、血中 FGF-23 濃度の上昇は生存期間の短縮と関連することが明らかとなっている [53,104]。この理由の一つとして、ヒトでは血中 FGF-23 濃度の上昇が心筋梗塞および心不全などの心血管系合併症の発生リスクの上昇に関与することが挙げられる [62,66,104]。CKD のイヌおよびネコでも、血漿 FGF-23 濃度は生存期間の短縮と関連することが報告されている [34,100]。しかし、イヌおよびネコでは心筋梗塞はまれな疾患であり、CKD に罹患したこれらの動物種では、FGF-23 と心不全との関係性は不明である。このため、CKD のイヌおよびネコでは、FGF-23 と生存期間の短縮との関連性を心血管系合併症では説明できない。FGF-23 と生存期間の短縮との関係性に関する他の説明として、ヒトでは血中 FGF-23 濃度の上昇が CKD の進行に関与することが挙げられる [29,66,91]。CKD のネコでも、ヒトと同様のことが報告されている [34,69]。本検討の結果は、これらのヒトおよびネコでの報告と一致した。しかし、FGF-23 の上昇が CKD を直接進行させるか否かは不明である。ラットおよびビーグル犬での研究では、リンの負荷は腎臓の石灰化を介して腎毒性を引き起こすことが報告されている [45,73,102]。これらの研究結果を踏まえると、体内でのリンの蓄積は、腎臓の石灰化を介して CKD を進行させると考えられる。このため、血中 FGF-23 濃度の上昇はリンの蓄積を反映しており、イヌおよびネコでの CKD の進行および生存期間の短縮に間接的に関与した可能性がある。以前の研究では、CKD のイヌでの高リン血症の有病率はステージ 1 で 0-18%、ステージ 2 で 19-50%、ステージ 3 で 50-90%およびステージ 4 で 100%と報告されている

[17,18,77]。このように、高リン血症の有病率はCKDのステージ(つまり、GFRの低下程度)の悪化に伴って増加する。このため、本検討で認められたCKDのイヌにおける血清FGF-23濃度の上昇と高リン血症の発生リスクとの関連には、CKDの進行が関与した可能性がある。

高リン血症およびCa $\times$ PはCKDのイヌでの予後不良因子として認識されているため[10,27,28,71,86,100]、リン制限療法は重要な治療である。イヌの腎臓病用療法食は蛋白質、リンおよび塩分の制限、そしてビタミンBおよび $\omega$ -3脂肪酸の添加を特徴とする[89]。様々な研究がCKDのイヌでの腎臓病用療法食の有益性を明らかにしているため[10,19,27,28,55,116]、食事療法はCKDのイヌに対して一般的に行われる治療となっている。腎臓病用療法食では、リンはCKDのミネラル代謝異常の管理のために制限されている[30,89]。実験的に腎実質を15/16減少させた腎臓病モデルのイヌでは、食事中的リンおよびカルシウムの制限によって、蛋白質制限とは独立して生存期間が延長したことが報告されている[10]。このため、リンの制限は、CKDのイヌにおけるリンの蓄積に対する治療の要であると考えられる。自然発症したCKDのイヌに対する腎臓病用療法食の有益性を報告した以前の研究は、血清クレアチニン濃度 $>2.0$  mg/dLのイヌを対象としており[55]、そしてIRISのCKDガイドラインはステージ2からリン制限食を開始することを推奨している[49]。しかし、高リン血症を伴わないCKDのイヌのみを対象に腎臓病用療法食の有益性を調査した研究はない。さらに、ステージ2のCKDのイヌでは必ずしも高リン血症が発生しているわけではない[17,18,77]。ある研究では、ステージ1のCKDのイヌに対する食事療法の有益性を報告している[43]。しかし、現状では、蛋白尿を伴わないステージ1および2といった早期ステージのCKDのイヌに対する腎臓病用療法食の必要性は確立されていない[19,48]。CKDのヒトおよびネコでは、血中FGF-23濃度の上昇は生

存期間の短縮と関連し [34,53,104]、そしてリン制限食によって血中 FGF-23 濃度が低下することが報告されている [33,39]。したがって、ヒトおよびネコでは FGF-23 は CKD での治療対象として注目されている。本検討では、血清 FGF-23 濃度の上昇はその後の高リン血症の発生リスクと有意に関係し、CKD のステージによってこのリスクを調節した後も有意なままだった。この結果は、FGF-23 はイヌでは CKD のステージに関わらず、リン代謝異常を反映することを示している。リン代謝異常を伴った CKD のイヌに対するリン制限療法は、有益であることが予想される。このため、CKD のイヌでの FGF-23 は、特に早期ステージでの食事療法の開始タイミングを決める指標になると思われる。さらに本検討の結果から、血清 FGF-23 濃度を低下させることは高リン血症発生の予防に貢献する可能性がある。

本研究には様々な制限がある。はじめに回顧的な調査であり、選択バイアスが存在した可能性がある。また、一部に欠損値が存在し、食事療法およびレニン・アンジオテンシン系阻害薬などの治療内容を標準化できなかった。特に、本検討では食事療法による治療の有無は、高リン血症発生および CKD の進行リスクと関連しなかった。しかし、CKD のイヌでのミネラル代謝に対する腎臓病用療法食の影響は明らかであり [10,28]、本検討ではサンプルサイズが小さく、これらの差を検出できなかった可能性がある。このため、血清 FGF-23 濃度に対するリン制限療法の影響、そして高リン血症を伴っていないが血清 FGF-23 濃度が上昇している CKD のイヌに対するリン制限療法によって、高リン血症を予防できるか否かを調査する前向き介入研究が必要である。第 2 にサンプルサイズが小さかった。第 3 に CKD の原因疾患を考慮していなかった。本検討は蛋白漏出性腎症、腎異形成および他の尿細管間質性疾患などの様々な原因疾患のイヌを対象としていた。CKD の原因疾患によってその進行速度および治療内容は異なる

るため、原因疾患別に血清 FGF-23 濃度の上昇の臨床的意義に関して調査する必要があると思われる。第 4 に本検討で用いた血清 FGF-23 濃度のカットオフ値は、サンプルサイズの小さい健康なイヌから得られた参考範囲上限を用いていた [77]。このため、CKD のイヌでの高リン血症発生および CKD の進行と関連する血清 FGF-23 濃度のより正確なカットオフ値を調査する必要がある。最後に、本検討は血清 FGF-23 濃度の測定に用いた血清検体の保存期間を考慮していなかった。第 2 章においてイヌの血清 FGF-23 濃度の保存安定性について 28 日まで調査しているが [77]、本検討では 3 ヶ月から 5 年間保存された血清検体を用いた。

## 5. 小括

本検討は、高リン血症を伴っていない CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇がその後の高リン血症発生および CKD の進行と関連するか否かを調査した。

その結果、高リン血症を伴っていない CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇は、その後の高リン血症発生および CKD の進行の有意なリスクだった。さらにこのリスクは、多変量 Cox 回帰分析を用いて CKD のステージによって調節した後も有意なままだった。このため、CKD のイヌにおいて血清 FGF-23 濃度を低下させることは、CKD のステージに関わらず、高リン血症および CKD の進行を予防するため、リン制限療法の介入タイミングの指標となる可能性がある。

## 第4章

若齢および中年齢のネコにおける  
慢性腎臓病のステージ間での血清線維芽細胞  
増殖因子-23 濃度の比較に関する検討

## 1. 緒言

慢性腎臓病 (CKD)のネコでは、血漿線維芽細胞増殖因子 (FGF)-23 濃度はリンおよび上皮小体ホルモンよりも早期のステージから上昇し [35]、そして生存期間の短縮および CKD の進行と関連することが報告されている [34]。CKD はネコの死亡原因として一般的な疾患であり、その有病率は特に高齢ネコで高い [9,58,74,80]。このため、ネコでの FGF-23 を調査した研究は、9 歳齢以上の高齢ネコを対象としている [25,33–35,101]。いっぽう、イギリスの一次診療施設を受診したネコでは、9 歳齢未満の CKD の有病率は 0.1%と報告されており [16]、高齢ネコと比較して少ない。ネコでは、CKD の原因疾患として特発性慢性間質性腎炎、糸球体腎炎、閉塞性腎症、アミロイドーシス、リンパ腫および腎盂腎炎などが挙げられる [9,89]。これらのうち、一部は比較的若齢のネコでも認められる。例えば、尿管結石による閉塞性腎症は CKD の原因の一つであり [9,14]、尿管結石のネコの年齢は他の原因による CKD 罹患ネコのそれよりも低い [67]。

ヒトでは、血中 FGF-23 濃度は成人のみでなく [23,52,105]、小児の CKD でも上昇することが報告されている [4,31,87,114]。前述のとおり、ネコでは FGF-23 を調査した研究は高齢ネコを対象としているため [25,33–35,101]、より若齢の CKD のネコでも血中 FGF-23 濃度が上昇するか否かは不明である。

したがって、本検討の目的は、以前の研究が対象にしていなかった 1–8 歳齢の CKD のネコでも、血清 FGF-23 濃度が CKD のステージの悪化とともに上昇するか否かを明らかにすること、そして FGF-23 と関連する因子を調査することとした。

## 2. 材料および方法

症例選択

2015年8月から2020年12月までに、日本獣医生命科学大学附属動物医療センター腎臓科を受診した飼い主が所有するCKDのネコ、そして臨床的に健康なネコから得られた血清検体および医療記録を回顧的に調査した。第2および3章で述べた市販のソフトウェア(Microsoft Excel 2016, Microsoft Japan Co., Ltd., Japan)で作成したデータベースから“CKD”および“ネコ”の単語を用いてCKDのネコを抽出した。抽出後、これらのネコの血清検体の有無および医療記録を調査した。CKDの診断は第2および3章で述べたイヌの基準を採用した。ただし、腎性高窒素血症は血清クレアチニン濃度  $>1.80$  mg/dL (本学附属動物医療センター検査室の参考範囲上限)および尿比重 (USG)  $<1.035$ 、そして腎性蛋白尿は尿蛋白：クレアチニン比 (UPC)  $\geq 0.4$  とした。腫瘍、甲状腺機能亢進症または急性腎障害と診断された、あるいはこれらが疑われたネコを除外した。さらに1歳未満および9歳以上のネコも除外した。

国際獣医腎臓病研究グループ (IRIS)の2019年のガイドラインに従い、CKDのネコを血清クレアチニン濃度に基づいてステージ1 ( $<1.60$  mg/dL)、ステージ2 ( $1.60$ – $2.80$  mg/dL)、ステージ3 ( $2.90$ – $5.00$  mg/dL)およびステージ4 ( $>5.00$  mg/dL)に分類した [50]。ステージ1のすべてのネコは、腹部超音波検査での腎構造異常に基づいて診断した。

対照群には、本学獣医内科学研究室第二および本学の学生が所有する臨床的に健康なネコを組み込んだ。病歴、身体診察、完全血球計算、血清化学検査および腹部超音波検査の所見に基づいて臨床的に健康と判断した。対照群のすべてのネコに関して、血清クレアチニン濃度  $<1.80$  mg/dL、USG  $>1.035$ 、UPC  $<0.4$  および腹部超音波検査にて腎構造が正常であることを確認した。対照群のネコの血清検体は、2019年9月から2020年12月に収集した。対照群でも、1歳未満および9歳以上のネコを除外した。

## 医療記録の調査、データ収集および検体

年齢、性別、中性化の有無、品種、体重、血清化学検査、血液ガス検査、尿検査、血圧検査および治療内容に関する情報を医療記録から収集した。血清および尿化学検査、血液ガス検査、そして尿検査に用いた機器および方法は第 2 および 3 章と同様とした。血圧検査では、アメリカ獣医内科学会のガイドラインに従ってオシロメトリック法 (BP100D hemomanometer, Fukuda M-E Kogyo Co., Ltd., Japan) で収縮期血圧を測定した [2]。回顧的研究のため、対照群のネコの血液ガス検査および収縮期血圧のデータは得られなかった。

## 血清 FGF-23 濃度の分析

血清 FGF-23 濃度の分析法は、第 2 および 3 章と同様とした [76]。

## ネコにおける血清 FGF-23 濃度の分析法の精度

Intra-assay および intra-assay の精度、希釈直線性、そして保存安定性は第 2 章と同様の方法で評価した。Intra-assay の精度の評価には、血清 FGF-23 濃度が低、中および高濃度のネコの血清検体を用いた (血清 FGF-23 濃度の平均はそれぞれ 67 pg/mL、616 pg/mL および 8802 pg/mL)。Inter-assay の精度の評価には、血清 FGF-23 濃度が 127 pg/mL (低濃度)、523 pg/mL (中濃度) および 10275 pg/mL (高濃度) のネコの血清検体を用いた。希釈直線性には、血清 FGF-23 濃度が 9024 pg/mL のネコの血清検体を用いた。

## 統計解析

統計解析に用いたソフトウェアは第 2 および 3 章と同様とした [61]。  $P < 0.05$



を統計学的に有意とした。

データの正規性の検定には Shapiro–Wilk 検定を用いた。Steel–Dwass 検定によって群間の多重比較を行った。相関分析には Pearson の相関係数を用いて、血清 FGF-23 濃度と他の変数との相関性を解析した。相関分析では非正規分布の変数は対数変換した。単変量相関分析で血清 FGF-23 濃度と有意に相関した変数は、変数増加法を用いた重回帰分析の独立変数として組み込んだ。回帰モデルの適合度、独立変数間の多重共線性および残差分析には第 2 章と同様の方法を用いた。

### 3. 結果

#### ネコにおける血清 FGF-23 濃度の分析法の精度

血清 FGF23 が低、中および高濃度の検体に関する intra-assay の CV はそれぞれ 7.5、8.4 および 6.7 で、そして inter-assay はそれぞれ 9.8、12.4 および 7.2 だった。希釈直線性の評価では、血清 FGF-23 濃度の測定値/予測値の平均 (標準偏差) は 102.4% (7.2%) であり、測定値と予測値間の相関係数は 0.99 だった ( $P < 0.001$ )。保存安定性の評価では、室温保存した血清検体での回収率は 1 日後で 104%、そして 3 日後で 95% だった。4°C で保存した検体の回収率は 1 日後で 102%、3 日後で 96%、そして 7 日後で 95% だった。-20°C で保存した検体では、回収率は 1 日後で 104%、3 日後で 95%、7 日後で 93%、そして 28 日後で 107% だった。

#### 組み込まれたネコの特徴

臨床的に健康なネコの血清検体は 12 頭から得られた。このうち、9 歳以上の 5 頭のネコを除外した。したがって、対照群には 7 頭の臨床的に健康なネコを組み込んだ。対照群の品種の分布は在来短毛種 ( $n = 5$ )、メイン・クーン ( $n = 1$ ) および

よびセルカーク・レックス (n=1)だった。

176頭のCKDのネコがデータベースから特定された。このうち、97頭のネコでは血清検体が保存されていなかった。さらに9歳以上の22頭のネコ、そして甲状腺機能亢進症または急性腎障害を伴っていた3頭のネコを除外した。このため、本検討は54頭のCKDのネコを組み込んだ。IRISのCKDガイドラインに従って、CKDのネコをステージ1 (n=7)、ステージ2 (n=32)、ステージ3 (n=13) およびステージ4 (n=2)に分類した。ステージ4のネコの頭数が少なかったため、統計解析にはこれらのネコをステージ3に含めた。CKDの品種の分布は在来短毛種 (n=21)、アメリカン・ショートヘア (n=8)、マンチカン (n=8)、スコティッシュ・フォールド (n=8)、ロシアン・ブルー (n=4)、アビシニアン (n=1)、ブリティッシュ・ショートヘア (n=1)、メイン・クーン (n=1)、ペルシャ (n=1) およびソマリ (n=1)だった。CKDのネコの25頭 (46%)が腎臓病用療法食で治療されていた。CKDのネコの8頭が腎結石を、そして24頭が尿管結石を伴っていた。4頭ではCKDの原因は多発性嚢胞腎であり、このうち2頭は尿管結石を併発していた。2頭のネコでは急性腎障害の既往があった。4頭では、CKDの原因として慢性腎盂腎炎が疑われた。その他の11頭ではCKDの原因は不明だった。CKDのネコの54頭のうち5頭では、尿沈渣で細菌尿および膿尿が確認された。本学付属動物医療センター検査室の血清リン濃度の参考範囲 (2.6–6.0 mg/dL)に基づくと、高リン血症はステージ3 および4のそれぞれ1頭でのみ認められた。

各群の各変数を表4-1に示した。CKDのステージ1、2 および3-4のネコの血清FGF-23濃度は対照群と比較して有意に高かった (それぞれ $P=0.02$ 、 $P<0.001$  および $P<0.001$ ) (図4-1)。さらにステージ3-4の血清FGF-23濃度は、ステージ1 および2よりも有意に高かった (それぞれ $P=0.04$  および $P=0.02$ )。ステージ

1 と 2 の血清 FGF-23 濃度間には有意差はなかった ( $P=0.97$ )。血清総カルシウム濃度は対照群と比較してステージ 3-4 で有意に高かった ( $P=0.04$ )。血清リン濃度および血中イオン化カルシウム濃度には群間に有意差はなかった。

表 4-1 組み込まれたネコの各変数

| 変数                    | 対照群 (n = 7)                      |     | CKD 群 (n = 54)                     |     |                                  |      |                                  |     |
|-----------------------|----------------------------------|-----|------------------------------------|-----|----------------------------------|------|----------------------------------|-----|
|                       |                                  |     | ステージ 1 (n = 7)                     |     | ステージ 2 (n = 32)                  |      | ステージ 3-4 (n = 15)                |     |
|                       | 中央値 (範囲)                         | n   | 中央値 (範囲)                           | n   | 中央値 (範囲)                         | n    | 中央値 (範囲)                         | n   |
| 性別 (n)                |                                  |     |                                    |     |                                  |      |                                  |     |
| 未去勢オス/去勢オス            | -                                | 0/3 | -                                  | 0/4 | -                                | 1/21 | -                                | 0/8 |
| 未避妊メス/避妊メス            | -                                | 4/0 | -                                  | 0/3 | -                                | 2/8  | -                                | 0/7 |
| 年齢 (歳)                | 3.8 (2.0-8.3)                    | 7   | 4.2 (1.9-8.2)                      | 7   | 5.8 (1.3-8.9)                    | 32   | 6.0 (2.0-8.2)                    | 15  |
| 体重 (kg)               | 3.9 (2.5-5.3)                    | 7   | 3.7 (2.5-6.1)                      | 7   | 4.3 (1.9-7.9)                    | 32   | 4.0 (2.4-6.1)                    | 15  |
| FGF-23 (pg/mL)        | 115 (88-194) <sup>a</sup>        | 7   | 284 (119-746) <sup>b</sup>         | 7   | 365 (94-8720) <sup>b</sup>       | 32   | 1378 (182-14978) <sup>c</sup>    | 15  |
| 尿素窒素 (mg/dL)          | 23.0 (20.4-27.5) <sup>a</sup>    | 7   | 23.7 (17.5-32.8) <sup>a</sup>      | 7   | 36.7 (24.2-68.4) <sup>b</sup>    | 32   | 53.8 (32.0-204.3) <sup>c</sup>   | 15  |
| クレアチニン (mg/dL)        | 0.79 (0.63-1.17) <sup>a</sup>    | 7   | 1.43 (1.26-1.56) <sup>b</sup>      | 7   | 2.16 (1.62-2.76) <sup>c</sup>    | 32   | 3.71 (2.81-12.43) <sup>d</sup>   | 15  |
| 総カルシウム(mg/dL)         | 9.7 (9.2-10.3) <sup>a</sup>      | 7   | 10.7 (9.3-13.1) <sup>a,b</sup>     | 7   | 10.7 (9.3-14.9) <sup>a,b</sup>   | 32   | 12.1 (9.5-13.3) <sup>b</sup>     | 15  |
| リン (mg/dL)            | 4.1 (3.4-4.5)                    | 7   | 3.7 (3.0-4.5)                      | 7   | 3.4 (2.4-5.8)                    | 32   | 4.1 (1.6-17.2)                   | 15  |
| イオン化カルシウム<br>(mmol/L) | -                                | 0   | 1.28 (1.24-1.46)                   | 6   | 1.31 (1.15-1.82)                 | 28   | 1.33 (1.19-1.67)                 | 15  |
| 重炭酸 (mmol/L)          | -                                | 0   | 17.6 (17.2-23.2)                   | 6   | 18.1 (13.0-23.7)                 | 28   | 17.3 (12.7-24.2)                 | 15  |
| USG                   | 1.046 (1.040-1.063) <sup>a</sup> | 7   | 1.023 (1.017-1.032) <sup>b,c</sup> | 6   | 1.025 (1.010-1.052) <sup>b</sup> | 25   | 1.015 (1.009-1.024) <sup>c</sup> | 12  |
| UPC                   | 0.13 (0.06-0.18)                 | 7   | 0.27 (0.10-0.64)                   | 4   | 0.09 (0.01-4.44)                 | 19   | 0.04 (0.02-4.12)                 | 6   |
| 収縮期血圧 (mmHg)          | 127 (116-142) <sup>a</sup>       | 6   | 130 (110-142) <sup>a</sup>         | 6   | 138 (84-161) <sup>a</sup>        | 18   | 150 (133-221) <sup>b</sup>       | 12  |
| 腎臓病用療法食               | -                                | 0   | -                                  | 3   | -                                | 13   | -                                | 9   |

異なる上付き文字は群間での有意差を示す。

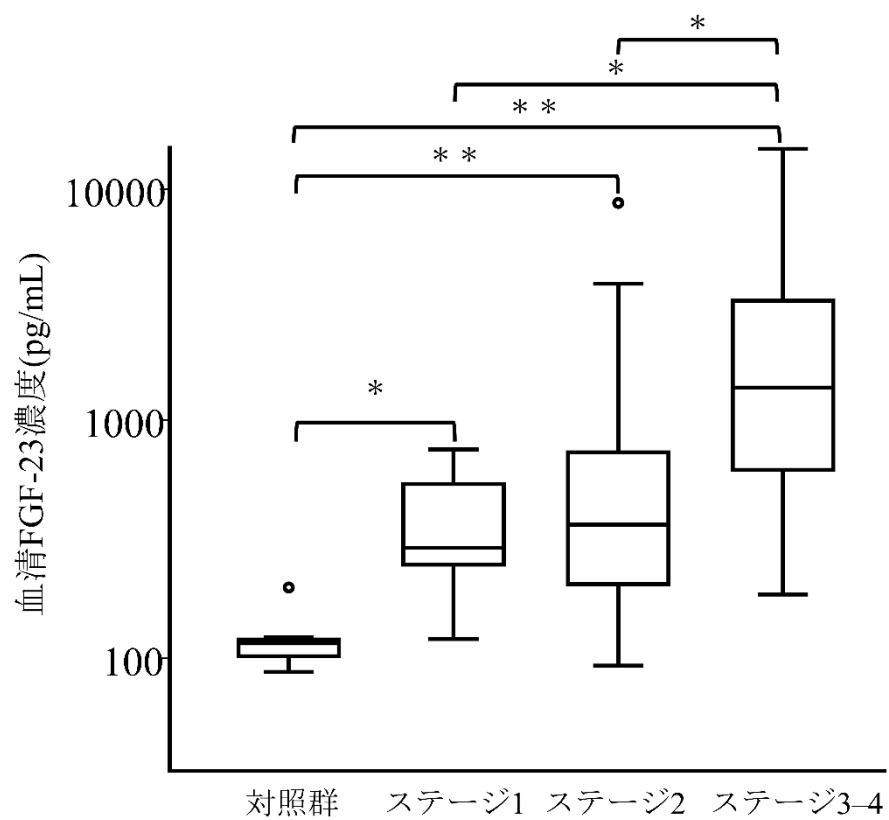


図 4-1 対照群および CKD のネコの血清 FGF-23 濃度の箱ひげ図。箱内の中心線は中央値、箱の上端および下端は 25 および 75 パーセントイル、ひげは範囲を示す。サークルは外れ値を示す。\* ;  $P < 0.05$ 、\*\* ;  $P < 0.01$ 。

相関分析では、log 血清 FGF-23 濃度は log 血清尿素窒素濃度 ( $r = 0.670$ 、 $P < 0.001$ )、log 血清クレアチニン濃度 ( $r = 0.648$ 、 $P < 0.001$ )、log 血清総カルシウム濃度 ( $r = 0.479$ 、 $P < 0.001$ )、log 血清リン濃度 ( $r = 0.502$ 、 $P < 0.001$ )、log 血中イオン化カルシウム濃度 ( $r = 0.448$ 、 $P = 0.001$ )、logUSG ( $r = -0.586$ 、 $P < 0.001$ )および log 収縮期血圧 ( $r = 0.415$ 、 $P = 0.008$ )と有意に相関した (表 4-2)。

これらを重回帰分析の独立変数として組み込むと、log 血清尿素窒素濃度、log 血清リン濃度および log 血中イオン化カルシウム濃度が log 血清 FGF-23 濃度を独立して予測する変数だった (表 4-3)。

表 4-2 log 血清 FGF-23 濃度と他の変数との相関分析の結果

| 変数            | 相関係数   | <i>P</i> |
|---------------|--------|----------|
| 年齢            | 0.09   | 0.5      |
| Log 体重        | -0.240 | 0.06     |
| Log 尿素窒素      | 0.670  | <0.001   |
| Log クレアチニン    | 0.648  | <0.001   |
| Log 総カルシウム    | 0.479  | <0.001   |
| Log リン        | 0.502  | <0.001   |
| Log イオン化カルシウム | 0.448  | 0.001    |
| 重炭酸           | 0.242  | 0.09     |
| Log USG       | -0.586 | <0.001   |
| Log UPC       | 0.317  | 0.06     |
| Log 収縮期血圧     | 0.415  | 0.008    |

表 4-3 重回帰分析での Log 血清 FGF-23 濃度を予測する独立変数

| 独立変数                       | 非標準化係数 |       | 標準化係数 | P      |
|----------------------------|--------|-------|-------|--------|
|                            | 係数     | 標準偏差  |       |        |
| 定数                         | -1.157 | 0.552 |       | 0.05   |
| Log 血清尿素窒素濃度 (mg/dL)       | 1.433  | 0.334 | 0.411 | <0.001 |
| Log 血清リン濃度 (mg/dL)         | 1.656  | 0.520 | 0.328 | 0.004  |
| Log 血中イオン化カルシウム濃度 (mmol/L) | 6.121  | 1.155 | 0.544 | <0.001 |

自由度調整済み決定係数= 0.786。Durbin-Watson 比 = 1.986。



#### 4. 考察

本検討では、1-8 歳齢の CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度は対照群と比較して有意に高かった。さらに、重回帰分析では log 血清尿素窒素濃度、log 血清リン濃度および log 血中イオン化カルシウム濃度が血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だった。

CKD のヒトでは、血中 FGF-23 濃度は血中上皮小体ホルモンおよびリン濃度よりも早期のステージで上昇し [52]、さらに CKD を進行させ、生存期間を短縮させることが明らかになっている [29,42,53]。したがって、ヒトでは FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーとして注目されている。ヒトでは中年期および高齢期の CKD のみでなく [23,52,105]、小児および若齢期の CKD でも血中 FGF-23 濃度は糸球体ろ過量 (GFR) の低下とともに上昇することが報告されている [4,31,87,114]。さらに小児の CKD では、血漿 FGF-23 濃度の上昇は CKD の進行のリスクと関連することも報じられている [91]。したがって、年齢に関わらず、ヒトでは FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常の重要なマーカーであることが明らかにされている。9 歳以上の CKD のネコを対象とした以前の研究では、CKD のステージの悪化とともに血漿 FGF-23 濃度が上昇している [35]。また、様々な年齢の CKD のネコを含んだ研究でも同様の結果を示している [69,70]。しかし、9 歳未満のネコのみを対象として、FGF-23 と CKD のステージとの関連を調査した研究はない。本検討では、1-8 歳齢の CKD ネコの血清 FGF-23 濃度は対照群と比較して有意に高く、そしてステージ 1 および 2 よりもステージ 3-4 で有意に上昇していた。したがって、本検討は、若齢および中年齢のネコでも血清 FGF-23 濃度は CKD のステージの悪化とともに上昇することを示した。

本検討では、血清 FGF-23 濃度は対照群と比較してステージ 1 で有意に高かった。過去の研究は、高窒素血症を伴っていない CKD の高齢ネコでは、血漿 FGF-23

濃度が12か月後の高窒素血症の発生を予測したと報告している [25]。その研究では、12か月後に高窒素血症が発生したネコを早期非高窒素血症性CKDとしており、血漿FGF-23濃度は健康な高齢ネコと比較して非高窒素血症性CKDのネコでは高窒素血症が発生する前に上昇していたと結論づけている[25]。この報告が定義している非高窒素血症性CKDはIRISのCKDガイドラインのステージ1に相当する。本検討のステージ1のすべてのネコは、腹部超音波検査での腎構造異常に基づいてCKDと診断した。過去の研究は腹部超音波検査を実施していないため [25]、本検討に組み込まれたステージ1のCKDネコの特徴がこの過去の研究と同様か否かは不明である。しかし、本検討の結果は、非高窒素血症性CKDのネコ（つまり、ステージ1のネコ）でも血漿FGF-23濃度の上昇が認められるという過去の研究結果を支持した [25]。また、本検討ではステージ1のすべてのネコで血清クレアチニン濃度は参考範囲内だったが、対照群と比較して有意に高かった。血清クレアチニン濃度によるGFR低下の検出感度は高くないとされている [95]。このため、血清クレアチニン濃度では検出できなかったが、本研究のステージ1のネコでは対照群と比較してGFRが低下していた可能性がある。ヒトでは、早期ステージのCKDにおける血清FGF-23濃度の上昇機序として、GFR低下によるFGF-23の腎クリアランスの低下が最も重要な要因であると報告している研究がある [24]。したがって、本検討での対照群とステージ1との間で認められた血清FGF-23濃度の有意差は、GFRの低下によるFGF-23の腎クリアランスの低下に起因していた可能性がある。

FGF-23は血中リン濃度の上昇に反応して分泌されるリン利尿ホルモンである [32]。CKDで生じるGFRの低下は、尿中へのリン排泄を障害する [30]。FGF-23はこのリンの蓄積に対して代償的に上昇し、リンの恒常性を維持する [79,92,94]。ヒトおよびネコでの多くの研究が血中FGF-23とリン濃度との関連性を報告して

いるため [12,15,32,33,64,70]、CKD でのリン代謝異常は FGF-23 の血中濃度を決める重要な因子と考えられる。過去の報告は、CKD の同じステージであっても、高リン血症を伴う CKD の血漿 FGF-23 濃度は血漿リン濃度が正常な CKD ネコと比較して有意に高いことを示している [35]。本検討では、高リン血症を伴った CKD のネコが少なかったため、この過去の研究と同様か否かを解析できなかった。しかし、本検討の相関分析では log 血清 FGF-23 濃度と log 血清リン濃度との間に有意な正相関が認められた。さらに重回帰分析では、log 血清リン濃度は log 血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数の一つだった。したがって、若齢および中年齢のネコでも、血清 FGF-23 濃度は CKD のリン代謝異常と関連すると考えられる。さらに本検討では、血清リン濃度には群間で有意差は認められなかったが、血清 FGF-23 濃度は対照群と比較してステージ 1 から有意に上昇していた。このため、若齢および中年齢の CKD のネコでも血清 FGF-23 濃度は血清リン濃度よりも先行して上昇し、FGF-23 は早期の CKD のミネラル代謝異常を反映すると考えられる。

本検討では、血中イオン化カルシウム濃度は血清 FGF-23 濃度と有意に正相関し、そして重回帰分析では血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だった。この結果は、CKD のネコにおける血漿総カルシウム濃度が血漿 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だったという過去の報告と一致した [35]。血清中カルシウムの分画はイオン化カルシウム、蛋白結合カルシウムおよび複合カルシウムに分類される。このうち、イオン化カルシウムはネコの血清中総カルシウムの 52%を占め、生理活性を示す [26]。いっぽう、総カルシウムの血中濃度はアルブミンといった血清中の蛋白質濃度の影響を受け、カルシウム代謝を正確に評価できないことがある [21]。このため、カルシウム代謝異常の評価にはイオン化カルシウムを用いる必要がある。前述の過去の研究はイオン化カルシウム

を評価しておらず、このことを制限の一つに挙げている [35]。本検討はイオン化カルシウムを評価することによって、CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度が実際のカルシウム代謝と関連することを証明した。しかし、現段階では、血中 FGF-23 濃度と血中カルシウム濃度が互いにどう調節し合っているかは明らかになっていない。ラットおよびマウスでの研究は、食事または静脈内持続点滴によるカルシウムの負荷がビタミンD受容体非依存性に血中 FGF-23 濃度の上昇を引き起こすことを報告している [106,108]。これは、血中カルシウム濃度の上昇が血中 FGF-23 濃度を直接上昇させることを示す。さらに最近の研究では、腎臓病用療法食開始後に血漿カルシウム濃度が上昇した CKD のネコの血漿 FGF-23 濃度は有意に上昇していたと報告されている [111]。したがって、CKD のネコでも血中カルシウム濃度の上昇は直接血中 FGF-23 濃度を上昇させる可能性がある。CKD のネコでの血中 FGF-23 濃度の上昇に対するカルシウム代謝の役割を調査するさらなる研究が必要と考えられる。

本検討に組み込まれた対照群のネコでは、血清 FGF-23 濃度の中央値 (範囲) は 115 (88–194) pg/mL だった。これは以前に報告された健康な高齢ネコでの血漿 FGF-23 濃度の参考範囲上限 (700 pg/mL) よりも低い [35]。この理由として、年齢および FGF-23 の分析法の違いが挙げられる。しかし、最近の研究は、健康なネコでの年齢およびライフステージによる血清 FGF-23 濃度への影響は認められないと報告している [70]。したがって、以前の報告との血清 FGF-23 濃度の参考範囲の違いは年齢およびライフステージではなく、分析法の違いに起因している可能性が高く、分析法ごとにネコの FGF-23 の参考範囲を設定する必要があると考えられる。

本検討には様々な制限がある。はじめにサンプルサイズが小さく、特にステージ 1 と 2 の間での血清 FGF-23 濃度の統計学的な差を検出できなかった可能性

がある。さらに本検討にはステージ4 および高リン血症の CKD のネコが非常に少なかった。第2に回顧的研究であり、一部のパラメータに欠損値が存在した。対照群のネコでは血中イオン化カルシウム濃度のデータが得られず、このことは重回帰分析の結果に影響した可能性がある。第3に、血清上皮小体ホルモン濃度を測定していなかった。CKD のネコでは、血漿 FGF-23 濃度の上昇は血漿上皮小体ホルモン濃度の上昇よりも早期のステージで生じることが報告されている [35]。本検討では、1-8 歳齢の CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度の上昇が上皮小体ホルモンの上昇よりも早期に生じるのか否かは明らかにできなかった。しかし、この点は本検討の目的ではなかった。

## 5. 小括

本検討では、以前の研究が対象としていなかった若齢および中年齢の CKD のネコにおける血清 FGF-23 濃度を調査した。

その結果、若齢および中年齢の CKD のネコにおける血清 FGF-23 濃度は、CKD のステージの悪化に伴い有意に上昇した。また、血清リン濃度には群間で有意差はなかったが、血清 FGF-23 濃度は対照群と比較してステージ1以降で有意に上昇した。重回帰分析では、血清尿素窒素濃度、血清リン濃度および血中イオン化カルシウム濃度が、若齢および中年齢のネコの血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だった。以上の結果より、血清 FGF-23 濃度は、高齢ネコと同様に若齢および中年齢のネコでも CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーになり得ると考えられる。

## 第5章

上部尿路結石を伴う慢性腎臓病のネコでの  
血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度と  
血中カルシウム濃度の関連に関する検討

## 1. 緒言

慢性腎臓病 (CKD)は様々な原因を含む慢性的な腎臓病の総称で [89]、ネコの一般的な死亡原因である [80]。上部尿路結石は CKD の原因の一つであり [9,14]、近年ネコではその有病率は増加している [67]。ネコの上部尿路結石の原因成分として、シュウ酸カルシウムおよびリン酸カルシウムといったカルシウム結石がほとんどを占める [67]。したがって、一部の高カルシウム血症は高カルシウム尿症を引き起こし、ネコの上部尿路結石の原因および悪化要因となる [83]。

線維芽細胞増殖因子 (FGF)-23 は CKD のミネラル代謝異常に関与するリン利尿ホルモンである [32]。CKD の病態で血中 FGF-23 濃度が上昇する理由として、様々な機序が考えられており [24,92,94,97]、特にリンの蓄積は血中 FGF-23 濃度を上昇させる要因として重要とされる [12,15,32,33,64,70]。いっぽう、以前のネコでの研究は、血漿総カルシウム濃度が血漿 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数であることを報告している [35]。この研究と同様に、第 4 章では、若齢および中年齢のネコでの血中イオン化カルシウム濃度が、血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だったことを示した。さらに最近の研究は、腎臓病用療法食の開始後に血漿総カルシウム濃度が上昇したネコでは、血漿 FGF-23 濃度が有意に上昇したことを報告している [111]。しかし、ヒトでも FGF-23 とカルシウムが互いにどう調節し合っているかは明らかになっていない [12]。以前の報告を踏まえると [35,76,111]、ネコではリン代謝とは別に、血中カルシウム濃度も血中 FGF-23 濃度の調節に関与している可能性がある。特にネコの上部尿路結石ではカルシウム結石がほとんどを占めるため、上部尿路結石を伴う CKD のネコでのカルシウム代謝の評価は重要と考えられる [9,14,67]。

そこで本検討の目的は、上部尿路結石を伴う CKD のネコでの血中カルシウム

濃度が血清 FGF-23 濃度と関連するか否かを調査することとした。

## 2. 材料および方法

### 症例選択

2015年8月から2020年12月に日本獣医生命科学大学附属動物医療センター腎臓科でCKDと診断され、腎および/または尿管結石を伴っているネコの血清検体および医療記録を回顧的に調査した。第2、3および4章と同様の市販のソフトウェア(Microsoft Excel 2016, Microsoft Japan Co., Ltd., Japan)で作成したデータベースから、“CKD”および“ネコ”の単語を用いてCKDのネコを抽出した。その後、これらのネコの血清検体の有無および医療記録を調査した。CKDの診断は第4章の基準と同様とした。腎結石および尿管結石は腹部超音波検査で診断し、そして医療記録の記述からその有無に関する情報を収集した。腎結石および尿管結石はそれぞれ腎盂または腎憩室内、そして尿管内に存在する音響陰影を伴う高エコー源性の構造物とした [40]。本検討は、血清 FGF-23 濃度に対する糸球体ろ過量 (GFR) およびリンの影響を最小にするため、国際獣医腎臓病研究グループ (IRIS) のステージ 1 および 2、そして血清リン濃度 < 4.5 mg/dL のネコのみを対象とした。ステージ 1 およびステージ 2 の分類は、第 4 章と同様に IRIS の CKD ガイドラインに基づいた [50]。血清リン濃度のカットオフ値は IRIS の CKD ガイドラインで推奨されている血清リン濃度の治療目標に基づいた [51]。腫瘍、甲状腺機能亢進症または急性腎障害と診断された、あるいはこれらが疑われたネコは除外した。さらに血液ガス検査が実施されていなかったネコも除外した。

### 医療記録の評価、データ収集および検体

年齢、性別、中性化の有無、品種、体重、血清化学検査、血液ガス検査、血



清 intact 上皮小体ホルモン (PTH)濃度、腹部超音波検査、尿検査、血圧検査および治療内容に関する情報を医療記録から収集した。血清および尿化学検査、血液ガス検査、尿検査および血圧検査 [2]に用いた機器および方法は第 2、3 および 4 章と同様とした。血清 intact PTH 濃度は、高イオン化カルシウム血症のネコでその原因を特定するために測定されていた場合のみ、医療記録からそのデータを収集した。血清 intact PTH 濃度の測定法は、第 2 および 3 章のイヌで用いたものと同様とした。腹部超音波検査には、3.4–10.8 MHz のリニアプローブ (GE 11L Linear Probe, GE Health Japan, Japan)を装備した超音波検査装置 (LOGIC S7 Epert, GE Health Japan, Japan)を用いた。

#### 血清 FGF-23 濃度の分析

血清 FGF-23 濃度の分析法は、第 4 章と同様とした [76]。

#### 統計解析

統計解析には、市販のソフトウェア (SPSS 24 for Windows, IBM Japan Ltd., Japan)を用いた。 $P < 0.05$  を統計学的に有意と判断した。

データの正規性の検定には Shapiro–Wilk 検定を用いた。群間比較には 2 標本  $t$  検定または Mann–Whitney U 検定を用いた。以前の報告に基づき、血清総カルシウム濃度の上昇は  $>11.5$  mg/dL とし、血中イオン化カルシウム濃度の上昇は  $>1.40$  mmol/L とした [20,26]。これらのカットオフ値に従って、ネコを高総カルシウム血症群 (H-tCa)および正常総カルシウム群 (N-tCa)、そして高イオン化カルシウム血症群 (H-iCa)および正常イオン化カルシウム群 (N-iCa)に分類した。相関分析には Spearman の順位相関係数を用いた。

### 3. 結果

176頭のCKDのネコがデータベースから特定された。このうち、97頭のネコでは血清検体が保存されていなかった。さらにIRISステージ3および4の29頭、腎結石および尿管結石を伴っていない10頭をそれぞれ除外した。さらに血液ガス検査が行われていなかった3頭、そして血清リン濃度 $\geq 4.5$  mg/dLの5頭のネコもそれぞれ除外した。最終的に、本検討には32頭の上部尿路結石を伴うIRISステージ1および2のCKDのネコを組み込んだ。このうち、腎結石のみを伴うネコは6頭、尿管結石のみのネコは8頭、そして腎および尿管結石の両者を伴うネコは18頭だった。また、IRISステージ1のネコは6頭であり、そしてステージ2は26頭だった。全体の年齢の中央値(範囲)は6.7歳(1.3–11.8歳)であり、そして体重の中央値(範囲)は4.3 kg(1.9–7.9 kg)だった。品種の分布は在来短毛種(n=15)、アメリカン・ショートヘア(n=7)、スコティッシュ・フォールド(n=4)、マンチカン(n=3)、ロシアン・ブルー(n=1)、メイン・クーン(n=1)およびエジプシャン・マウ(n=1)だった。

血清総カルシウム濃度に基づくと、H-tCa群には12頭のネコが、そしてN-tCa群に20頭が分類された。H-tCa群のネコでは8頭(67%)で腎臓病用療法食が給与されており、N-tCa群では5頭(25%)だった。血清FGF-23濃度は、N-tCa群(中央値、範囲; 245 pg/mL、94–627 pg/mL)と比較してH-tCa群(中央値、範囲; 573 pg/mL、125–3888 pg/mL)で有意に高かった( $P = 0.02$ ) (表 5-1、図 5-1a)。血清クレアチニンおよびリン濃度にはN-tCaとH-tCa群の間で有意差はなかった(それぞれ $P = 0.3$  および  $P = 0.8$ )。

表 5-1 N-tCa および H-tCa 群の特徴

| 変数                    | N-tCa (n = 20)      |    | H-tCa (n = 12)      |    | P      |
|-----------------------|---------------------|----|---------------------|----|--------|
|                       | 中央値 (範囲)            | n  | 中央値 (範囲)            | n  |        |
| 年齢 (歳)                | 6.2 (1.3–11.8)      | 20 | 7.4 (1.7–9.5)       | 12 | 0.7    |
| 体重 (kg)               | 4.5 (2.2–7.1)       | 20 | 4.2 (1.9–7.9)       | 12 | 0.4    |
| FGF-23 (pg/mL)        | 245 (94–627)        | 20 | 573 (125–3888)      | 12 | 0.02   |
| 尿素窒素 (mg/dL)          | 31.0 (22.2–45.2)    | 20 | 32.3 (23.9–63.6)    | 12 | 0.5    |
| クレアチニン (mg/dL)        | 1.9 (1.3–2.8)       | 20 | 2.1 (1.4–2.7)       | 12 | 0.3    |
| 総カルシウム (mg/dL)        | 10.0 (8.6–10.8)     | 20 | 11.9 (11.0–14.9)    | 12 | <0.001 |
| イオン化カルシウム<br>(mmol/L) | 1.27 (1.15–1.34)    | 20 | 1.42 (1.24–1.82)    | 12 | 0.002  |
| リン (mg/dL)            | 3.4 (2.3–4.4)       | 20 | 3.3 (1.6–4.4)       | 12 | 0.8    |
| 重炭酸 (mmol/L)          | 17.5 (13.5–22.1)    | 20 | 19.7 (13.0–23.7)    | 12 | 0.3    |
| 尿比重                   | 1.026 (1.010–1.040) | 15 | 1.020 (1.011–1.052) | 9  | 0.96   |
| 尿蛋白 : クレアチニン比         | 0.11 (0.02–0.64)    | 12 | 0.05 (0.02–0.27)    | 9  | 0.1    |
| 収縮期血圧 (mmHg)          | 137 (110–155)       | 16 | 148 (128–161)       | 6  | 0.2    |

血中イオン化カルシウム濃度に基づくと、H-iCa 群には 6 頭のネコが、そして N-iCa 群には 26 頭が分類された。H-iCa 群では 5 頭 (83%) で腎臓病用療法食が給与されており、そして N-iCa 群では 8 頭 (31%) だった。H-iCa 群の 5 頭では血清 intact PTH 濃度が測定されており、すべてのネコで参考範囲 (8–25 pg/mL) の下限を下回っていた (中央値、5.8 pg/mL; 範囲、5.6–6.1 pg/mL)。血清 FGF-23 濃度は、N-iCa 群 (中央値、範囲; 245pg/mL、94–637 pg/mL) と比較して H-iCa 群 (中央値、範囲; 1479 pg/mL、509–3888 pg/mL) で有意に高かった ( $P < 0.001$ ) (表 5-2、図 5-1b)。血清クレアチニンおよびリン濃度には、N-iCa と H-iCa 群間で有意差はなかった (それぞれ  $P = 0.4$  および  $P = 0.6$ )。

表 5-2 N-iCa および H-iCa 群の特徴

| 変数                    | N-iCa (n = 26)      |    | H-iCa (n = 6)       |   | P      |
|-----------------------|---------------------|----|---------------------|---|--------|
|                       | 中央値 (範囲)            | n  | 中央値 (範囲)            | n |        |
| 年齢 (歳)                | 6.7 (1.3–11.8)      | 26 | 7.0 (2.5–8.9)       | 6 | 0.7    |
| 体重 (kg)               | 4.5 (2.2–7.9)       | 26 | 3.4 (1.9–4.3)       | 6 | 0.03   |
| FGF-23 (pg/mL)        | 245 (94–637)        | 26 | 1479 (509–3888)     | 6 | <0.001 |
| 尿素窒素 (mg/dL)          | 32.4 (22.2–63.6)    | 26 | 31.6 (29.6–38.8)    | 6 | 0.7    |
| クレアチニン (mg/dL)        | 2.0 (1.3–2.8)       | 26 | 2.2 (1.6–2.7)       | 6 | 0.4    |
| 総カルシウム (mg/dL)        | 10.5 (8.6–12.0)     | 26 | 13.4 (11.1–14.9)    | 6 | <0.001 |
| イオン化カルシウム<br>(mmol/L) | 1.28 (1.15–1.40)    | 26 | 1.53 (1.43–1.82)    | 6 | 0.002  |
| リン (mg/dL)            | 3.4 (1.6–4.4)       | 26 | 3.3 (3.0–4.2)       | 6 | 0.6    |
| 重炭酸 (mmol/L)          | 17.7 (13.5–22.1)    | 26 | 20.1 (13.0–23.7)    | 6 | 0.1    |
| 尿比重                   | 1.026 (1.010–1.052) | 19 | 1.014 (1.012–1.034) | 4 | 0.1    |
| 尿蛋白：クレアチニン比           | 0.11 (0.02–0.64)    | 9  | 0.07 (0.02–0.23)    | 4 | 0.6    |
| 収縮期血圧 (mmHg)          | 138 (110–161)       | 16 | 141 (128–149)       | 4 | 0.8    |

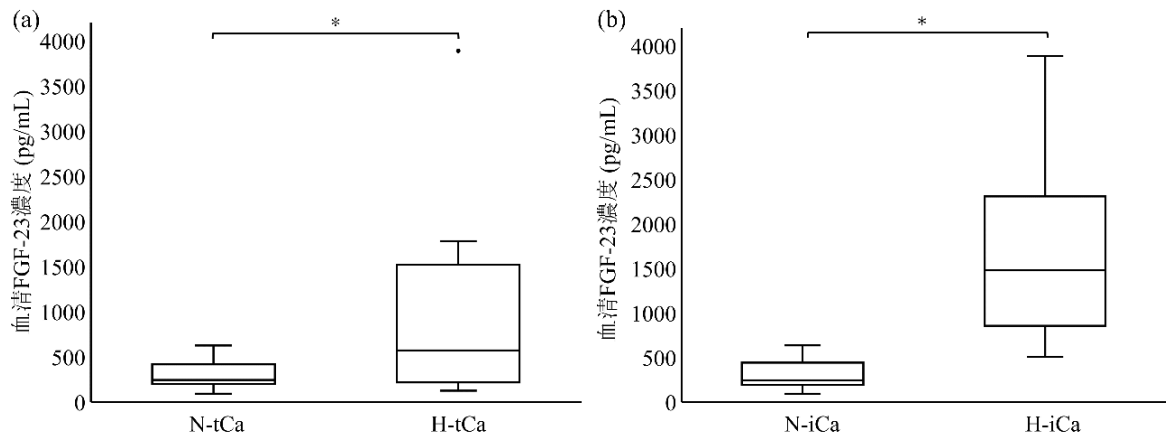


図 5-1 N-tCa および H-tCa 群(a)、そして N-iCa および H-iCa 群 (b)の血清 FGF-23 濃度の箱ひげ図。箱内の中心線は中央値、箱の上端および下端は 25 および 75 パーセントイル、ひげは範囲を示す。点は外れ値を示す。\* ;  $P < 0.05$ 、

相関分析では、血清 FGF-23 濃度は血清総カルシウム濃度 ( $r = 0.511$ 、 $P = 0.003$ ) および血中イオン化カルシウム濃度 ( $r = 0.425$ 、 $P = 0.02$ )と有意な正相関を示した (表 5-3、図 5-2a および b)。その他に、血清 FGF-23 濃度は体重 ( $r = -0.349$ 、 $P = 0.03$ )および尿比重 ( $r = -0.561$ 、 $P = 0.005$ )とも有意に相関した。いっぽう、血清 FGF-23 濃度は血清クレアチニンおよびリン濃度とは有意な相関性を示さなかった (それぞれ  $P = 0.1$  および  $P = 0.3$ ) (図 5-2c および d)。

表 5-3 血清 FGF-23 濃度との相関分析

| 変数          | n  | 相関係数   | <i>P</i> |
|-------------|----|--------|----------|
| 年齢          | 32 | -0.053 | 0.4      |
| 体重          | 32 | -0.349 | 0.03     |
| 尿素窒素        | 32 | 0.250  | 0.2      |
| クレアチニン      | 32 | 0.279  | 0.1      |
| 総カルシウム      | 32 | 0.511  | 0.003    |
| イオン化カルシウム   | 32 | 0.425  | 0.02     |
| リン          | 32 | 0.208  | 0.3      |
| 重炭酸         | 32 | 0.286  | 0.1      |
| 尿比重         | 23 | -0.561 | 0.005    |
| 尿蛋白：クレアチニン比 | 20 | 0.287  | 0.2      |
| 収縮期血圧       | 20 | 0.024  | 0.9      |



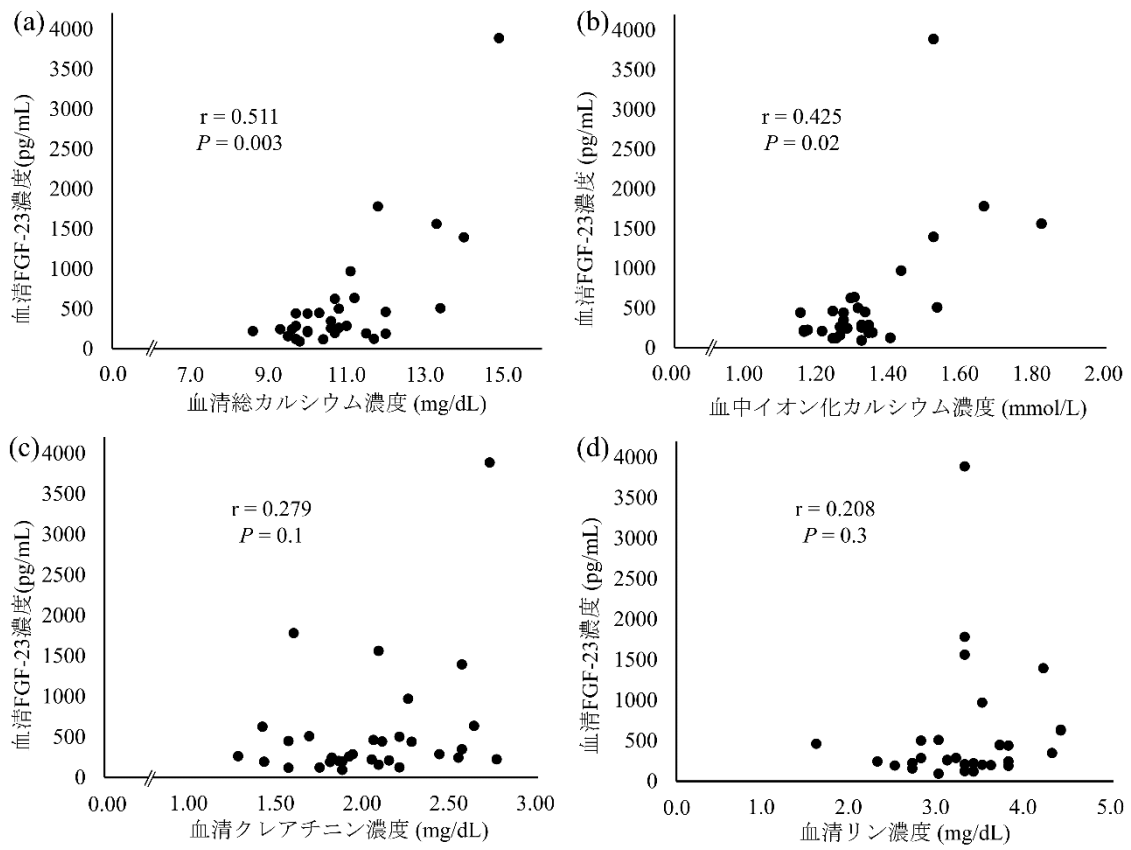


図 5-2 血清 FGF-23 濃度と血清総カルシウム濃度 (a)、血中イオン化カルシウム濃度 (b)、血清クレアチニン濃度 (c)および血清リン濃度 (d)の散布図。r ; 相関係数。

#### 4. 考察

本検討では、上部尿路結石を伴う CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度は、高総およびイオン化カルシウム血症を伴うネコで有意に高く、そして血清総カルシウムおよび血中イオン化カルシウム濃度と有意に正相関した。なお、本検討は血清 FGF-23 濃度に対する GFR およびリンの影響を最小にするため、IRIS ステージ 1 および 2、そして血清リン濃度 <4.5 mg/dL のネコのみを対象とした。したがって、集団内での血清クレアチニンおよびリン濃度の差を制限したため、本検討では血清 FGF-23 濃度は血清クレアチニンおよびリン濃度とは関連しなかった。

ヒトでも、FGF-23 およびカルシウムの相互作用は明らかにされていない [12]。FGF-23 の分泌促進因子としてカルシトリオールが挙げられ、CKD のヒトではビタミン D 製剤による治療は血中 FGF-23 濃度を上昇させる原因の一つである [6,12]。しかし、本検討ではビタミン D 製剤による治療を受けていたネコはいなかった。FGF-23 の分泌を促進する他の因子として、PTH が挙げられる [6,30]。CKD で生じるリンの蓄積およびカルシトリオールの合成能低下は腎性二次性上皮小体機能亢進症を引き起こし、これは高カルシウム血症の原因となる [30]。このため、FGF-23 とカルシウムが関連した理由の一つとして、腎性二次性上皮小体機能亢進症を介した間接的な関与が考えられる。しかし、本検討で高イオン化カルシウム血症を示したネコのうち、血清 intact PTH 濃度が測定されていなかった 1 頭を除いて、他の 5 頭の血清 intact PTH 濃度は参考範囲の下限を下回っていた。つまり、本検討で認められた血清 FGF-23 濃度の上昇と高カルシウム血症との関連性は、腎性二次性上皮小体機能亢進症では説明できない。さらに本検討では腫瘍が疑われたネコを除外していたため、PTH 関連蛋白を介した高カ

ルシウム血症が発生したネコはいなかったと判断される。このため、本検討に組み込まれたネコの高イオン化カルシウム血症は特発性だった可能性が高い。

いっぽう、マウスでの研究は、食事によるカルシウムの供給がビタミンD受容体非依存性に血中 FGF-23 濃度の上昇、そして骨での FGF-23 の mRNA 発現の増強を引き起こしたことを報告している [108]。さらにラットでの研究では、カルシウム製剤の静脈内持続点滴によって同様の現象が認められている [106]。以上のげっ歯類での研究は、血中カルシウム濃度の上昇は血中 FGF-23 濃度を直接上昇させることを示す。また、CKD ネコでの最近の研究では、腎臓病用療法食の開始後に血漿総カルシウム濃度が上昇した個体では、血漿 FGF-23 濃度が有意に上昇した [111]。本検討の結果は、CKD のネコでの高カルシウム血症は GFR の低下およびリンの蓄積の有無とは独立して、血清 FGF-23 濃度の上昇と関連することを示した。したがって、FGF-23 の上昇が高カルシウム血症を引き起こすというよりも、げっ歯類の研究で報告されているように、ネコでも血中カルシウム濃度の上昇が血清 FGF-23 濃度を直接上昇させる可能性がある。

ネコでの上部尿路結石の有病率は近年増加しており [67]、ネコの CKD の原因および悪化要因としての重要性が高まっている。ネコの上部尿路結石の構成成分のほとんどがカルシウム結石である [67]。一部の高カルシウム血症は高カルシウム尿症を引き起こし、カルシウム尿石症の原因および悪化要因となる可能性がある [83]。さらに本検討の結果は、高カルシウム血症が血清 FGF-23 濃度を上昇させる可能性があることを示した。ネコの尿管結石の原因としてシュウ酸カルシウム結石が最も多く、次にシュウ酸カルシウムおよびリン酸カルシウム結石の混合結石が続く [67]。FGF-23 はリン利尿ホルモンであるため、血中 FGF-23 濃度の上昇は尿中リン排泄量を上昇させ [30,32,46]、リン酸カルシウム結石の形成を促進させる可能性がある。実際にカルシウム腎結石に加え尿中リン排泄量

が高いヒトでは、腎結石を伴っていないヒトおよびリン排泄量が正常な腎結石を伴ったヒトと比較して、血清 FGF23-濃度が有意に高いことが示されている [96]。したがって、ヒトと同様にネコでも、高カルシウム血症のために血中 FGF-23 濃度が上昇すると、尿中リンおよびカルシウム排泄量が増加し、リン酸カルシウム結石のリスクとなる可能性がある。

CKD で血中 FGF-23 濃度が上昇する重要な要因は、主に GFR の低下で生じるリンの蓄積だと考えられている [79,92,94]。そこで、本検討は血清 FGF-23 濃度に対するリンの影響を最小にするため、血清リン濃度 <4.5mg/dL の CKD のネコのみを対象とした。本検討の結果から、血清 FGF-23 濃度の上昇の原因として、リンの蓄積とは別に高カルシウム血症も関与することが示された。これは、CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度の上昇に関する病態を解釈する上で重要と考えられる。腎臓病用療法食は一部の CKD ネコで生じる高カルシウム血症の原因となることが知られている [5]。また、Geddes らは、腎臓病用療法食と関連した高カルシウム血症を示すネコでは、食事中リン摂取量の制限緩和は、高カルシウム血症を改善させることを報告している [37]。同じグループの他の報告は、血漿リンおよびカリウム濃度が低い CKD のネコでは、腎臓病用療法食開始後に血漿カルシウム濃度が上昇するリスクが高いことを明らかにしている [111]。さらにこの研究では、腎臓病用療法食の開始後に血漿総カルシウム濃度が上昇したネコでは、血漿 FGF-23 濃度が有意に上昇した。CKD のネコに対する腎臓病用療法食の有益性は様々な研究で報告されており [5,33,88,89,98,99]、食事療法はネコの CKD の治療として広く行われている。しかし、以前の研究を考慮すると [5,111]、一部の CKD のネコでは腎臓病用療法食は高カルシウム血症および血中 FGF-23 濃度の上昇といった有害な影響をもたらす可能性がある。血漿 FGF-23 濃度の上昇は CKD のネコの生存期間の短縮および CKD の進行と関連するため [34]、

FGF-23 は CKD のネコの予後指標として注目されている。このことは、血中 FGF-23 濃度を低下させることが CKD のネコの予後を改善させることを示す。CKD のネコにリン制限食を給与すると、血漿 FGF-23 濃度が低下することが報告されている [33]。このため、CKD ネコでのリン制限療法の開始時期を決定する指標として FGF-23 は有用と考えられる。しかし、本検討の結果および過去の報告を考慮すると [5,111]、腎臓病用療法食により高カルシウム血症が発生したネコでは、FGF-23 を食事療法の開始時期の指標にはできない可能性がある。特に上部尿路結石を伴う CKD のネコが高カルシウム血症および血中 FGF-23 濃度の上昇を示し、そして腎臓病用療法食を給与されている場合、このようなネコではむしろリン摂取量の制限の緩和が必要になると考えられる。

本検討には様々な制限がある。第 1 にサンプルサイズが小さく、特に高イオン化カルシウム血症を伴うネコが非常に少なかった。第 2 に回顧的研究であり、一部のパラメータに欠損値が存在した。第 3 にビタミン D 代謝物を測定していなかった。高カルシウム血症が血清 FGF-23 濃度と関連するメカニズムを明らかにするためには、ビタミン D 代謝物の評価が必要と考えられる。また、一部の高イオン化カルシウム血症のネコでは、血清 intact PTH 濃度が測定されていなかった。第 4 に上部尿路結石の成分特定を行っていない。本検討は上部尿路結石の原因成分をカルシウム結石と仮定して考察したが、ストルバイトまたは尿酸結石のネコが含まれていた可能性がある。最後に、H-iCa 群の体重が N-iCa 群と比較して有意に低かった。これは、血清クレアチニン濃度では H-iCa 群の GFR を過大評価することを示す。したがって、H-iCa 群の血清 FGF-23 濃度の上昇には、GFR の低下が関与していた可能性がある。

## 5. 小括

本検討は、上部尿路結石を伴う CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度と血中カルシウム濃度との関連を調査した。

その結果、血清 FGF-23 濃度は高カルシウム血症を伴うネコで有意に高く、そして血清総カルシウムおよび血中イオン化カルシウム濃度と有意に正相関した。したがって、上部尿路結石を伴う CKD のネコにおける血清 FGF-23 濃度の上昇には、GFR およびリンとは別に高カルシウム血症が関与すると考えられた。

# 第 6 章

## 総括

本研究では、血清線維芽細胞増殖因子 (FGF)-23 濃度がイヌの慢性腎臓病 (CKD)におけるミネラル代謝異常の早期マーカーであるか否かを再調査した (第 2 章)。さらに高リン血症を伴っていない CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇に関する臨床的意義を明らかにするため、血清 FGF-23 濃度とその後的高リン血症発生および CKD の進行との関連を評価した (第 3 章)。いっぽうネコでは、以前の研究が対象としていない若齢および中年齢のネコでの血清 FGF-23 濃度と CKD の関連を調査した (第 4 章)。さらに上部尿路結石を伴う CKD のネコでの血清 FGF-23 濃度と高カルシウム血症との関連を調査した (第 5 章)。以下に各章の内容を総括した。

## 第 1 章 序論

イヌおよびネコでの CKD の定義、原因および病態の概要に加え、CKD の代表的な合併症であるミネラル代謝異常の重要性を述べた。次に、ヒトでは CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーとして注目されている FGF-23 に関して概述した。最後に、CKD のイヌおよびネコでの FGF-23 に関して、これまでの報告では明らかとなっていない点を指摘した。

## 第 2 章 慢性腎臓病のイヌにおけるミネラル代謝異常の早期マーカーとしての血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度の臨床的意義に関する検討

イヌでは、血漿 FGF-23 濃度は健康な個体と比較して CKD の国際獣医腎臓病研究グループ (IRIS)分類のステージ 3 以降で有意に上昇すると同時に、血清上皮小体ホルモン (PTH)濃度もステージ 3 以降で有意に上昇することが報告されている。さらにこの研究に組み込まれた CKD のイヌは 32 頭であり、サンプルサイズが小さい [44]。そこで本章では、15 頭の臨床的な健康なイヌ (対照群)お



よび 75 頭の CKD のイヌを組み込み、対照群と CKD の IRIS ステージ間で血清 FGF-23 濃度を比較した。ステージ 2 および 3 の CKD のイヌに関しては、高リン血症（血清リン濃度  $>5.0$  mg/dL）の有無に基づいてイヌを再分類し、血清 FGF-23 濃度を比較した。さらに、血清 FGF-23 濃度の参考範囲を対照群から算出し、CKD のステージ別に求めた参考範囲上限よりも血清 FGF-23 濃度が上昇していたイヌの割合を調査した。そして、これらを血清 PTH およびリン濃度と比較した。最後に、イヌの血清 FGF-23 濃度を予測する独立変数について重回帰分析を用いて調査した。

その結果、血清 FGF-23 濃度は対照群と比較して、CKD のステージ 2 以降で有意に上昇していた。ステージ 2 では、高リン血症を伴うイヌの血清 FGF-23 濃度は、血清リン濃度が正常なイヌと比較して有意に上昇していたが、ステージ 3 では高リン血症が認められた個体と認められなかった個体で血清 FGF-23 濃度を比較したが有意差はなかった。参考範囲に基づくと、CKD のステージ 2 では 73.1% のイヌで血清 FGF-23 濃度 ( $>528$  pg/mL) が上昇していたのに対して、血清 intact PTH 濃度が上昇していたイヌは 30.8% のみだった。血清リン濃度は対照群と比較して CKD のステージ 4 でのみ有意に上昇していた。重回帰分析では、log 血清 PTH 濃度、log 血清クレアチニン濃度および log 血清カルシウムとリン濃度の積が log 血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数として選ばれた。

以上の結果から、CKD のイヌでの血清 FGF-23 濃度は、血清 intact PTH 濃度および血清リン濃度よりも早期のステージで上昇することが解った。これは CKD のヒトおよびネコでの報告と一致する。したがって、イヌでも FGF-23 は CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーであることが示された。

第 3 章 高リン血症を伴わない慢性腎臓病のイヌでの血清線維芽細胞増殖因子

### -23 濃度の臨床的意義に関する検討

高リン血症は CKD のイヌでは負の予後因子であり [10,27,28,100]、その予防は重要と考えられる。第 2 章で明らかにしたように、CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇は高リン血症に先行して生じるため、この上昇は早期のリン蓄積を反映している可能性がある。したがって、高リン血症を伴っていない CKD のイヌにおける血清 FGF-23 濃度の上昇は、その後の高リン血症発生の予測因子であるという仮説を立てた。さらに、血清 FGF-23 濃度は CKD の早期のステージで上昇することが解っているが、その臨床的意義は不明である。したがって本章では、42 頭の高リン血症を伴っていない CKD のイヌを対象に、血清 FGF-23 濃度とその後の高リン血症発生および CKD の進行との関連を回顧的に調査した。高リン血症は血清リン濃度  $>5.0\text{mg/dL}$  と定義し、そして CKD の進行は血清 FGF-23 濃度が測定された日の血清クレアチニン濃度から 1.5 倍以上の上昇と定義した。血清 FGF-23 濃度  $>528\text{ pg/mL}$  をカットオフ値としてイヌを 2 群に分類した。Kaplan-Meier 曲線を作製し、log-rank 検定を用いて群間の高リン血症発生および CKD の進行までの期間を比較した。高リン血症発生および CKD の進行に対するハザード比を単変量 Cox 回帰分析によって算出した。さらに単変量 Cox 回帰分析で高リン血症発生および CKD の進行の有意なリスクだった変数を多変量 Cox 回帰分析に用いた。

その結果、血清 FGF-23 濃度  $>528\text{ pg/mL}$  の CKD のイヌでは、その後の高リン血症発生および CKD の進行までの期間が有意に短縮した。単変量 Cox 回帰分析でも、血清 FGF-23 濃度の上昇は高リン血症発生および CKD の進行の有意なリスク因子だった。多変量 Cox 回帰分析では、血清 FGF-23 濃度の上昇は高リン血症発生および CKD の進行に対する有意なリスク因子として残った。

以上の結果から、高リン血症を伴っていない CKD のイヌにおける血清 FGF-23

濃度の上昇は、その後の高リン血症発生の有意なリスク因子であることが解った。この結果から、血清 FGF-23 濃度の上昇は、高リン血症を伴っていない CKD のイヌでもリン代謝異常を反映すると考えられる。また、本章では血清 FGF-23 濃度の上昇は CKD の進行リスクとも有意に関連した。これは CKD のヒトおよびネコでの報告と一致し [29,34,66,69,91]、CKD のイヌで血漿 FGF-23 濃度の上昇が生存期間の短縮と関連すると報告した以前の研究結果を支持する [100]。さらに、血清 FGF-23 濃度の上昇の高リン血症および CKD の進行に対するリスクは、多変量 Cox 回帰分析を用いて CKD のステージで調節した後でも有意なままだった。このことは、血清 FGF-23 濃度を低下させることは、CKD のステージに関わらず、高リン血症の発生を抑制し、そして CKD の進行の予防に貢献する可能性があることを示す。

#### 第 4 章 若齢および中年齢のネコにおける慢性腎臓病のステージ間での血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度の比較に関する検討

CKD のネコでは、血漿 FGF-23 濃度は PTH およびリンよりも早期ステージで上昇し [35]、CKD の進行および生存期間の短縮と関連することが報告されている [34]。CKD は特に高齢ネコでの有病率が高いため [9,58,74,80]、以前の研究は 9 歳齢以上の高齢ネコを対象に FGF-23 を調査してきた [25,33-35,101]。しかしネコでは、尿管結石のような一部の CKD の原因疾患は若齢から中年齢でも発症し得る [9,14]。そこで、本章では以前の研究が対象としていなかった 1-8 歳齢のネコを対象として、血清 FGF-23 濃度と CKD のステージとの関連を調査した。1-8 歳齢の 7 頭の臨床的に健康なネコ (対照群) および 54 頭の CKD ネコの血清検体および医療記録を回顧的に調査した。CKD のネコを IRIS のガイドラインに従ってステージ分類し、対照群、ステージ 1、ステージ 2 およびステージ 3-4 の

群間で血清 FGF-23 濃度を比較した。さらに血清 FGF-23 濃度と各変数の相関分析および重回帰分析を行った。

その結果、血清 FGF-23 濃度は対照群と比較して、CKD のステージ 1、ステージ 2 およびステージ 3-4 で有意に上昇していた。さらにステージ 3 の血清 FGF-23 濃度は、ステージ 1 および 2 よりも有意に高かった。いっぽう、血清リン濃度には群間で有意差は認められなかった。重回帰分析では、log 血清尿素窒素濃度、log 血清リン濃度および log 血中イオン化カルシウム濃度が log 血清 FGF-23 濃度を有意に予測する独立変数だった。

以上の結果から、若齢および中年齢の CKD のネコでも血清 FGF-23 濃度は CKD のステージの悪化に伴い上昇することが解った。重回帰分析では、血清 FGF-23 濃度は血清リン濃度および血中イオン化カルシウム濃度と有意に関連した。これらの結果は高齢の CKD ネコでの報告と一致した [35]。さらに血清リン濃度に群間で有意差はなかったが、血清 FGF-23 濃度は対照群と比較してステージ 1 より有意な上昇が認められた。したがって、ネコでの血清 FGF-23 濃度は年齢に関わらず、CKD のミネラル代謝異常の早期マーカーであることが解った。

## 第 5 章 上部尿路結石を伴う慢性腎臓病のネコでの血清線維芽細胞増殖因子-23 濃度と血中カルシウム濃度の関連に関する検討

CKD において血中 FGF-23 濃度が上昇する要因として、糸球体ろ過量の低下およびリンの蓄積が重要と考えられている [12,32,64]。いっぽう、ネコでは FGF-23 とカルシウムとの関連を調査した報告は少ない。特に CKD の原因の一つである上部尿路結石の原因成分は、ネコではそのほとんどがカルシウム結石であり、上部尿路結石を伴う CKD のネコでのカルシウム代謝の評価は重要である [9,14,67]。そこで本章では、上部尿路結石を伴う CKD ネコでの血中カルシウ

ム濃度と血清 FGF-23 濃度の関連の有無を調査した。本章では、CKD と診断され、腎および/または尿管結石を伴っている 32 頭のネコの血清検体および医療記録を回顧的に調査した。血清 FGF-23 濃度に対する糸球体ろ過量およびリンの影響を最小にするため、血清クレアチニン濃度 $>2.8$  mg/dL および/または血清リン濃度 $>4.5$  mg/dL のネコは除外した。血清総カルシウム濃度 $>11.5$  mg/dL および血中イオン化カルシウム濃度 $>1.40$  mmol/L に基づき、ネコを高総カルシウム血症群 (H-tCa) および正常総カルシウム群 (N-tCa)、そして高イオン化カルシウム血症群 (H-iCa) および正常イオン化カルシウム群 (N-iCa) に分類し、血清 FGF-23 濃度を群間比較した。さらに血清 FGF-23 濃度と以上の変数との相関分析を行った。

その結果、血清 FGF-23 濃度は N-tCa および N-iCa と比較して、H-tCa および H-iCa でそれぞれ有意に高かった。相関分析では、血清 FGF-23 濃度は血清総カルシウム濃度および血中イオン化カルシウム濃度と有意に正相関した。いっぽう、血清 FGF-23 濃度は血清クレアチニンおよびリン濃度とは有意な相関性を示さなかった。

以上の結果から、上部尿路結石を伴う CKD のネコでの高カルシウム血症は、糸球体ろ過量およびリンとは別に血清 FGF-23 濃度の上昇と関連していることが解った。これは高カルシウム血症も血清 FGF-23 濃度の上昇の原因となることを示している。現在、血清 FGF-23 濃度の上昇はリンの蓄積と関連すると考えられているため、CKD のネコでは血清 FGF-23 濃度はリン制限療法の治療指標として注目されている。しかし、リン制限食は一部の CKD ネコでは高カルシウム血症を発生させ、そして血中 FGF-23 濃度を上昇させる原因となる [5,111]。一部の高カルシウム血症は高カルシウム尿症を生じ、上部尿路結石の悪化要因となる [83]。したがって、リン制限食により高カルシウム血症が誘発される CKD の

ネコでは、血清 FGF-23 濃度をリン制限療法の治療指標にはできず、このようなネコでは血清 FGF-23 濃度が上昇している場合でも、むしろリン摂取量の制限を緩和する必要があると考えられる。

## 本研究の結論

本研究では、CKD のイヌでの血清 FGF-23 濃度は血清 intact PTH およびリン濃度よりも早期のステージで上昇し、さらにこの血清 FGF-23 濃度の上昇は高リン血症の発生および CKD の進行リスクであることを確認した。したがって、高リン血症を伴わない早期ステージの CKD のイヌにおいて、血清 FGF-23 濃度の上昇に関する臨床的意義を明らかにした点は臨床に貢献しうると考えられる。CKD のイヌでの早期ステージにおけるリン制限食の有益性は確立されていないが、上述した結果はこのようなイヌにおける食事療法の開始タイミングを決定する一助になると思われる。

また本研究は、若齢および中年齢の CKD のネコでも高齢ネコと同様、FGF-23 はミネラル代謝異常の早期マーカーであることを見出した。したがって、以前に高齢ネコで得られた知見は、若齢および中年齢の CKD のネコにも外挿できると考えられる。

さらに本研究は、上部尿路結石 CKD のネコでの高カルシウム血症は、糸球体ろ過量およびリンとは独立して血清 FGF-23 濃度の上昇と関連することを明らかにした。この結果は、ネコで血清 FGF-23 濃度が上昇する原因を適切に解釈する上で重要と考えられる。一般に、血清 FGF-23 濃度は CKD のネコにおけるリン制限療法の治療対象と考えられているが、本研究の結果から高カルシウム血症を伴うネコでは、血清 FGF-23 濃度の上昇がリン代謝異常とは無関係に生じている可能性があることを見出した。

## 参考文献

- [1] ADHR Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet* 2000; 26: 345–348.
- [2] Acierno MJ, Brown S, Coleman AE, et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2018; 32: 1803–1822.
- [3] Allen-Durrance AE. A quick reference on phosphorus. *Vet Clin North Am Small Ani Pract* 2017; 47: 257–262.
- [4] Bacchetta J, Dubourg L, Harambat J, et al. The influence of glomerular filtration rate and age on fibroblast growth factor 23 serum levels in pediatric chronic kidney disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 1741–1748.
- [5] Barber PJ, Rawlings JM, Markwell PJ, et al. Effect of dietary phosphate restriction on renal secondary hyperparathyroidism in the cat. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 62–70.
- [6] Blau JE, Collins MT. The PTH-Vitamin D-FGF23 axis. *Rev Endocr Metab Disor* 2015; 16: 165–174.
- [7] Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, et al. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2208-2218.
- [8] Boyd LM, Langston C, Thompson K, et al. Survival in cats with naturally occurring chronic kidney disease (2000-2002). *J Vet Intern Med* 2008; 22: 1111–1117.
- [9] Brown CA, Elliot J, Schmiedt CW, et al. Chronic kidney disease in aged cats: Clinical features, morphology, and proposed pathogeneses. *Vet Pathol* 2016; 53: 309–326.
- [10] Brown SA, Crowell WA, Barsanti JA, et al. Beneficial effects of dietary mineral restriction in dogs with marked reduction of functional renal mass. *J Am Soc Nephrol*

1991; 1: 1169-1179.

[11] Burnett SM, Gunawardene SC, Bringhurst FR, et al. Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphorus in men and women. *J Bone Miner Res* 2006; 21: 1187–1196.

[12] Bär L, Stournaras C, Lang F, et al. Regulation of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in health and disease. *FEBS Letter* 2019; 593: 1879–1900.

[13] Chakrabarti S, Syme HM, Elliott J. Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2012; 26: 275–281.

[14] Clarke DL. Feline ureteral obstructions Part 1: Medical management. *J Small Anim Pract* 2018; 59: 324–333.

[15] Coltherd JC, Staunton R, Colyer A, et al. Not all forms of dietary phosphorus are equal: An evaluation of postprandial phosphorus concentrations in the plasma of the cat. *Br J Nutr* 2019; 121: 270–284.

[16] Conroy M, Brodbelt DC, O'Neill D, et al. Chronic kidney disease in cats attending primary care practice in the UK: A VetCompass™ study. *Vet Rec* 2019; 184: 526.

[17] Cortadellas O, Fernández del Palacio MJ, Talavera J, et al. Calcium and phosphorus homeostasis in dogs with spontaneous chronic kidney disease at different stages of severity. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 73-79.

[18] Cortadellas O, Fernández del Palacio MJ, Talavera J, et al. Serum phosphorus concentrations in dogs with leishmaniosis at different stages of chronic kidney disease. *Vet Rec* 2009; 164: 487–490.

[19] Cortadellas O, Talavera J, Fernández del Palacio MJ. Evaluation of the effects of a therapeutic renal diet to control proteinuria in proteinuric non-azotemic dogs treated



with benazepril. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 30–37.

[20] de Brito Galvão JF, Parker V, Schenck PA, et al. Update on Feline Ionized Hypercalcemia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017; 47: 273–292.

[21] de Brito Galvão JF, Schenck PA, Chew DJ. A quick reference on hypercalcemia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017; 47: 241–248.

[22] Dittmer KE, Perera KC, Elder PA. Serum fibroblast growth factor 23 concentrations in dogs with chronic kidney disease. *Res Vet Sci* 2017; 114: 348–350.

[23] Evenepoel P, Meijers B, Viaene L, et al. Fibroblast growth factor-23 in early chronic kidney disease: Additional support in favor of a phosphate-centric paradigm for the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1268–1276.

[24] Filler G, Liu D, Huang SH, et al. Impaired GFR is the most important determinant for FGF-23 increase in chronic kidney disease. *Clin Biochem* 2011; 44: 435–437.

[25] Finch NC, Geddes RF, Syme HM, et al. Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) concentrations in cats with early nonazotemic chronic kidney disease (CKD) and in healthy geriatric cats. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 227–233.

[26] Finch NC. Hypercalcaemia in cats: The complexities of calcium regulation and associated clinical challenges. *J Feline Med Surg* 2016; 18: 387–399.

[27] Finco DR, Brown SA, Crowell WA, et al. Effects of dietary phosphorus and protein in dogs with chronic renal failure. *Am J Vet Res* 1992; 53:2264-2271.

[28] Finco DR, Brown SA, Crowell WA, et al. Effects of phosphorus/calcium-restricted and phosphorus/calcium-replete 32% protein diets in dogs with chronic renal failure. *Am J Vet Res* 1992; 53:157–163.

[29] Fliser D, Kollerits B, Neyer U, et al. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts

progression of chronic kidney disease: The mild to moderate kidney disease (MMKD) study. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2600–2608.

[30] Foster JD. Update on mineral and bone disorders in chronic kidney disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2016; 46: 1131–1149.

[31] Freundlich M, Cuervo C, Abitbol CL. Fibroblast growth factor 23 and tubular sodium handling in young patients with incipient chronic kidney disease. *Clin Kidney J* 2019; 13: 389–396.

[32] Fukagawa M, Kazama JJ. With or without the kidney: The role of FGF23 in CKD. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1295–1298.

[33] Geddes RF, Elliott J, Syme HM. The Effect of feeding a renal diet on plasma fibroblast growth factor 23 concentrations in cats with stable azotemic chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 1354–1361.

[34] Geddes RF, Elliott J, Syme HM. Relationship between plasma fibroblast growth factor-23 concentration and survival time in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 1494–1501.

[35] Geddes RF, Finch NC, Elliott J, et al. Fibroblast growth factor 23 in feline chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 234–241.

[36] Geddes RF, Finch NC, Syme HM, et al. The role of phosphorus in the pathophysiology of chronic kidney disease. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2013; 23: 122–133.

[37] Geddes RF, van den Broek DHN, Chang YM, et al. The effect of attenuating dietary phosphate restriction on blood ionized calcium concentrations in cats with chronic kidney disease and ionized hypercalcemia. *J Vet Intern Med* 2021; 35: 997–1007.

- [38] Geffré A, Concordet D, Braun JP, et al. Reference Value Advisor: A new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Vet Clin Pathol* 2011; 40: 107–112.
- [39] Goto S, Nakai K, Kono K, et al. Dietary phosphorus restriction by a standard low-protein diet decreased serum fibroblast growth factor 23 levels in patients with early and advanced stage chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2014; 18: 925–931.
- [40] Griffin S. Feline abdominal ultrasonography: What's normal? What's abnormal? Renal pelvis, ureters and urinary bladder. *J Feline Med Surg* 2020; 22: 847–865.
- [41] Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, et al. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2205–2215.
- [42] Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008; 359: 584–592.
- [43] Hall JA, Fritsch DA, Yerramilli M, et al. A longitudinal study on the acceptance and effects of a therapeutic renal food in pet dogs with IRIS-Stage 1 chronic kidney disease. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2018; 102: 297–307.
- [44] Harjes LM, Parker VJ, Dembek K, et al. Fibroblast growth factor-23 concentration in dogs with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2017; 31: 784–790.
- [45] Haut LL, Alfrey AC, Guggenheim S, et al. Renal toxicity of phosphate in rats. *Kidney Int* 1980; 17: 722–731.
- [46] Hou YC, Lu CL, Lu KC. Mineral bone disorders in chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2018; 23: 88–94.
- [47] Hruska KA, Sugatani T, Agapova O, et al. The chronic kidney disease - mineral bone disorder (CKD-MBD): Advances in pathophysiology. *Bone* 2017; 100: 80–86.

- [48] IRIS Canine GN Study Group Standard Therapy Subgroup; Brown S, Elliott J, Francey T, et al. Consensus recommendations for standard therapy of glomerular disease in dogs. *J Vet Intern Med* 2013; 27: S27–43.
- [49] International Renal Interest Society. Treatment Recommendations for CKD. 2019. [http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS-DOG-Treatment\\_Recommendations\\_2019.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS-DOG-Treatment_Recommendations_2019.pdf). (Accessed September 17, 2021)
- [50] International Renal Interest Society. IRIS Staging of CKD. 2019. [http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS\\_Staging\\_of\\_CKD\\_modified\\_2019.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_Staging_of_CKD_modified_2019.pdf) (Accessed September 17, 2021).
- [51] International Renal Interest Society. IRIS Treatment Recommendations for CKD. 2019. [http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS-CAT-Treatment\\_Recommendations\\_2019.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS-CAT-Treatment_Recommendations_2019.pdf) (Accessed September 17, 2021).
- [52] Isakova T, Wahl P, Vargas GS, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2011; 79:1370–1378.
- [53] Isakova T, Xie H, Yang W, et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA* 2011; 305: 2432–2439.
- [54] Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA, et al. Association between initial systolic blood pressure and risk of developing a uremic crisis or of dying in dogs with chronic renal failure. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 222: 322–329.
- [55] Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA, et al. Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic renal failure in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002;

220: 1163–1170.

[56] Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA, et al. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 393–400.

[57] Jepson RE, Elliott J, Brodbelt D, et al. Effect of control of systolic blood pressure on survival in cats with systemic hypertension. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 402–409.

[58] Jepson RE. Current understanding of the pathogenesis of progressive chronic kidney disease in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2016; 46: 1015–1048.

[59] Johnson RA. A quick reference on respiratory acidosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017; 47: 185–189.

[60] Kanbay M, Vervloet M, Cozzolino M, et al. Novel faces of fibroblast growth factor 23 (FGF23): Iron deficiency, inflammation, insulin resistance, left ventricular hypertrophy, proteinuria and acute kidney injury. *Calcif Tissue Int* 2017; 100: 217–228.

[61] Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZ’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 452–458.

[62] Kendrick J, Cheung AK, Kaufman JS, et al. FGF-23 associates with death, cardiovascular events, and initiation of chronic dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1913–1922.

[63] King JN, Tasker S, Gunn-Moore DA, et al. Prognostic factors in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 906–916.

[64] Kovesdy CP, Quarles LD. Fibroblast growth factor-23: what we know, what we don't know, and what we need to know. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 2228–2236.

[65] Kraut JA, Madias NE. Metabolic Acidosis of CKD: An Update. *Am J Kidney Dis* 2016; 67: 307–317.

- [66] Kuczera P, Adamczak M, Wiecek A. Fibroblast growth factor-23-a potential uremic toxin. *Toxins (Basel)* 2016; 8: 369.
- [67] Kyles AE, Hardie EM, Wooden BG, et al. Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic abnormalities in cats with ureteral calculi: 163 cases (1984-2002). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 932–936.
- [68] Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren, O, et al. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphorus intake in healthy volunteers. *Kidney Int* 2003; 64: 2272–2279.
- [69] Liao Y, Chou C, Lee Y. The association of indoxyl sulfate with fibroblast growth factor-23 in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2019; 33: 686–693.
- [70] Lin J, Lin L, Chen S, et al. Serum fibroblast growth factor 23 (FGF-23): associations with hyperphosphatemia and clinical staging of feline chronic kidney disease. *J Vet Diagn Invest* 2021; 33: 288–293.
- [71] Lippi I, Guidi G, Marchetti V, et al. Prognostic role of the product of serum calcium and phosphorus concentrations in dogs with chronic kidney disease: 31 cases (2008-2010). *J Am Vet Med Assoc* 2014; 245: 1135–1140.
- [72] Lucero MC, Duque FJ, Gil M, et al. A plasma calcium-phosphorus product can be used to predict the lifespan of dogs with chronic kidney disease. *Can Vet J* 2019; 60: 1319–1325.
- [73] Mackay EM, Oliver J. Renal damage following the ingestion of a diet containing an excess of inorganic phosphate. *J Exp Med* 1935; 61: 319–334
- [74] Marino CL, Lascelles BD, Vaden SL, et al. Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for

- degenerative joint disease studies. *J Feline Med Surg* 2014; 16: 465–472.
- [75] Martorelli CR, Kogika MM, Chacar FC, et al. Urinary fractional excretion of phosphorus in dogs with spontaneous chronic kidney disease. *Vet Sci* 2017; 4: 67.
- [76] Miyakawa H, Hsu H, Ogawa M, et al. Serum fibroblast growth factor-23 concentrations in young and mature adult cats with chronic kidney disease. *J Feline Med Surg* Epub ahead of print 25 August 2021.
- [77] Miyakawa H, Nagatani Y, Ogawa M, et al. Fibroblast growth factor-23 as an early marker of CKD-mineral bone disorder in dogs: Preliminary investigation. *J Small Anim Pract* 2020; 61: 744-751.
- [78] Miyamoto K, Haito-Sugino S, Kuwahara S, et al. Sodium-dependent phosphorus cotransporters: lessons from gene knockout and mutation studies. *J Pharm Sci* 2011; 100: 3719–3730.
- [79] Nitta K, Nagano N, Tsuchiya K. Fibroblast growth factor 23/Klotho axis in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2014; 128: 1–10.
- [80] O'Neill DG, Church DB, McGreevy PD, et al. Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England. *J Feline Med Surg* 2015; 17: 125–133.
- [81] O'Neill DG, Elliott J, Church DB, et al. Chronic kidney disease in dogs in UK veterinary practices: Prevalence, risk factors, and survival. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 814–821.
- [82] Oliveira RB, Cancela AL, Graciolli FG, et al. Early control of PTH and FGF23 in normophosphorusmic CKD patients: A new target in CKD-MBD therapy? *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 286–291.
- [83] Palm C, Westropp J. Cats and calcium oxalate: Strategies for managing lower and

upper tract stone disease. *J Feline Med Surg* 2011; 13: 651–660.

[84] Parker VJ, Gilor C, Chew DJ. Feline hyperparathyroidism: Pathophysiology, diagnosis and treatment of primary and secondary disease. *J Feline Med Surg* 2015; 17: 427–439.

[85] Parker VJ, Harjes LM, Dembek K, et al. Association of vitamin D metabolites with parathyroid hormone, fibroblast growth factor-23, calcium, and phosphorus in dogs with various stages of chronic kidney disease. *J Vet Internl Med* 2017; 31: 791–798.

[86] Pedrinelli V, Lima DM, Duarte CN, et al. Nutritional and laboratory parameters affect the survival of dogs with chronic kidney disease. *PLoS One* 2020; 15: e0234712.

[87] Pereira RC, Juppner H, Azucena-Serrano CE, et al. Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease. *Bone* 2009; 45: 1161–1168.

[88] Plantinga EA, Everts H, Kastelein AMC, et al. Retrospective study of the survival of cats with acquired chronic renal insufficiency offered different commercial diets. *Vet Rec* 2005; 157: 185–187.

[89] Polzin DJ. Chronic Kidney Disease. In: Text of Veterinary Internal Medicine. 8th ed. Ettinger SJ, Feldman EC and Côté, E (eds). Elsevier, St. Louis, MO, USA, 2017, pp 1938–1959.

[90] Polzin DJ. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2013; 23: 205–215.

[91] Portale AA, Wolf MS, Messinger S, et al. Fibroblast Growth Factor 23 and risk of CKD progression in children. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016; 11:1989–1998.

[92] Prié D, Torres PU, Friedlander G. Latest findings in phosphate homeostasis. *Kidney Int* 2009; 75: 882–889.



- [93] Quimby JM. Update on medical management of clinical manifestations of chronic kidney disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2016; 46: 1163–1181.
- [94] Razzaque MS. FGF23-mediated regulation of systemic phosphate homeostasis: Is Klotho an essential player? *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: 470–476.
- [95] Relford R, Robertson J, Clements C. Symmetric dimethylarginine: Improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2016; 46: 941–960.
- [96] Rendina D, Mossetti G, De Filippo G, et al. Fibroblast growth factor 23 is increased in calcium nephrolithiasis with hypophosphatemia and renal phosphate leak. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 959–963.
- [97] Rodelo-Haad C, Santamaria R, Muñoz-Castañeda JR, et al. FGF23, Biomarker or Target? *Toxins (Basel)* 2019; 11: 175.
- [98] Ross LA, Finco DR, Crowell WA. Effect of dietary phosphorus restriction on the kidneys of cats with reduced renal mass. *Am J Vet Res* 1982; 43: 1023–1026.
- [99] Ross SJ, Osborne CA, Kirk CA, et al. Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 229: 949–957.
- [100] Rudinsky AJ, Harjes LM, Byron J, et al. Factors associated with survival in dogs with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2018; 32: 1977–1982.
- [101] Sargent HJ, Jepson RE, Chang YM, et al. Fibroblast growth factor 23 and symmetric dimethylarginine concentrations in geriatric cats. *J Vet Intern Med* 2019; 33: 2657–2664.
- [102] Schneider P, Pappritz G, Müller-Peddinghaus R. Potassium hydrogen phosphate induced nephropathy in the dog. I. Pathogenesis of tubular atrophy (author's transl). *Vet*

*Pathol* 1980; 17: 699–719.

[103] Schropp DM, Kovacic J. Phosphorus and phosphate metabolism in veterinary patients. *J Vet Emerg Crit Care* 2007; 17: 127–134.

[104] Seiler S, Reichart B, Roth D, et al. FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 3983–3989.

[105] Shigematsu T, Kazama JJ, Yamashita T, et al. Possible involvement of circulating fibroblast growth factor 23 in the development of secondary hyperparathyroidism associated with renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 250–256.

[106] Shikida Y, Mizobuchi M, Inoue T, et al. Effect of continuous intravenous calcium loading on fibroblast growth factor 23 in normal and uremic rats. *Calcif Tissue Int* 2018; 103: 455–464.

[107] Shimada T, Mizutani S, Muto T, et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6500–6505.

[108] Shimada T, Yamazaki Y, Takahashi M, et al. Vitamin D receptor-independent FGF23 actions in regulating phosphate and vitamin D metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: 1088–1095.

[109] Stillion JR, Ritt MG. Renal secondary hyperparathyroidism in dogs. *Compend Contin Educ Vet* 2009; 31: E8.

[110] Syme HM, Markwell PJ, Pfeiffer D, et al. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 528–535.

[111] Tang PK, Geddes RF, Chang YM, et al. Risk factors associated with disturbances

of calcium homeostasis after initiation of a phosphate-restricted diet in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2020; 35: 321–332.

[112] Wehner A, Hartmann K, Hirschberger J. Associations between proteinuria, systemic hypertension and glomerular filtration rate in dogs with renal and non-renal diseases. *Vet Rec* 2008; 162: 141–147.

[113] White KE, Jonsson KB, Carn G, et al. The autosomal dominant hypophosphatemic rickets (ADHR) gene is a secreted polypeptide overexpressed by tumors that cause phosphate wasting. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 497–500.

[114] Yasin A, Liu D, Chau L, et al. Fibroblast growth factor-23 and calcium phosphate product in young chronic kidney disease patients: A cross-sectional study. *BMC Nephrol* 2013; 14: 39.

[115] Yamashita T. Structural and biochemical properties of fibroblast growth factor 23. *Ther Apher Dial* 2005; 9: 313–318.

[116] Zatelli A, Roura X, D'Ippolito P, et al. The effect of renal diet in association with enalapril or benazepril on proteinuria in dogs with proteinuric chronic kidney disease. *Open Vet J* 2016; 6: 121–127.

## 謝辞

本論文を終えるにあたり、終始多大なるご指導・ご鞭撻を賜った本学獣医内科学研究室第二の竹村直行教授に甚大なる謝意を表します。終始多大なるご助言・ご指導を賜り、さらに入室時より獣医腎泌尿器学についてご鞭撻いただいた当研究室の宮川優一准教授に心から感謝いたします。

本論文の執筆に際して、多くのご助言をいただいた当研究室の卒業生である赤羽根僚太先生および酒谷篤先生に心より感謝申し上げます。

また、本研究の実施に際しご尽力いただいた当研究室大学院生の小川実月先生、許准助先生、ならびに当研究室の卒業生である河原咲先生、今田舞先生、進藤風沙先生、高谷渉先生、長川雅佳先生、中澤可奈先生、中村文香先生、中村理紗先生、鍋嶋健太郎先生、一箭紗和子先生、島野翔太郎先生、原田このみ先生、矢野健人先生、渡邊 陸先生、石坂美緒先生、加藤安美先生、川村彩乃先生、後藤智紗子先生、澤崎まゆり先生、塩住友哉先生、長谷由貴先生、上野詩音先生、大木 遥先生および後藤絵里先生、そして同研究室の室員である吉田将汰さん、大森美穂さん、嘉生紗蘭ファティムさん、小島有希さん、高澤歩美さん、片桐啓輔さん、重信あみさん、野原はづきさん、畠山真悠子さん、平田和樹さん、鈴木琴奈さん、田代康平さん、中野真唯さん、名倉愛紗香さん、柳井優里さん、山森百合香さん、吉村あかりさん、内田拓夢さん、小川亮さん、清水幸奈さん、山下美悠さんおよび横倉千恵さんに厚く御礼申し上げます。

また、本論文を執筆するにあたり、様々なご助言を賜り、かつ精神的に支えてくださった当研究室の大学院特別研究生である戸田典子先生、そして同研究室の研究生である徳力剛先生、坪松若奈先生および宮川明子先生に心から感謝いたします。

大学院進学を理解し、経済的かつ精神的に支えていただいた父・栄濟、母・

ゆかりに心から感謝いたします。

最後に、本研究に供試した動物たちに深く感謝するとともに、将来、こうした研究成果によって少しでも多くの動物たちの命が救われることを切に願います。