

## 要 約

犬や猫においても肥満は多くの健康障害の誘発要因となることが明らかにされている。過体重動物のエネルギー代謝異常の初期の留意すべき徴候として、インスリンやアディポネクチンシグナル伝達因子の変化が顕在化し、これらは有用な早期診断マーカーとなりうる。さらにこの遺伝子発現の変化メカニズムを解析することは肥満動物において糖尿病をはじめとする重篤な代謝障害の発症予防に有効となる可能性が高い。

### 1. 過体重犬の評価法としての体脂肪率とボディコンディションスコア

現在、日本では犬の肥満の判定には通常5段階評価のボディコンディションスコア (body condition score, BCS) が使用されている。しかしながら BCS の評価は判定者 (多くの場合獣医師) の主観を伴うこともあり、多くの獣医師は整数で表示することがほとんどで 0.5 ポイントという中間スコアは付けないため、犬の肥満状態を正確に判定できているとは言い難い。今回の研究では、簡単な体尺測定値から算出される体脂肪率 (%) と BCS をマーカーとして、血漿代謝産物濃度による評価と併せて総合的に評価することにより過体重の小型犬で脂肪蓄積の増加が検出できるかどうか検討した。痩せた (非肥満) 未去勢雄犬の体脂肪率は 15~20%、雌犬および去勢雄では 15~25% であった。BCS のみで過体重と判定された犬は有意に高い血漿遊離脂肪酸 (NEFA) 濃度を示した。これに対して BCS と体脂肪率の組合せで過体重と判定した犬では NEFA に加えて総コレステロール (T-Cho)、トリグリセリド (TG) 濃度が非肥満犬に比べ有意に高かった。体脂肪率を用いた肥満判定の正確度は血漿代謝産物濃度との相関に反映され、インスリン、NEFA、T-Cho、TG、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン、総タンパク質濃度と正に相関し、総じてこれらの値は脂肪蓄積の増加に伴い上昇する傾向を示した。結論として、BCS と体脂肪率の組合せによる評価法は小型犬においては、脂肪蓄積の増加による脂質代謝の変化 (代謝産物量の変化) を判定するのに BCS 単独での判定法に比べ優れていると考えられる。

### 2. 高脂血症犬の血漿リポプロテイン分画とマロンジアルデヒド濃度の変化

脂質過酸化マーカーであるマロンジアルデヒド (MDA) と脂質代謝変化のマーカーであるリポプロテインプロファイル (電気泳動分画) を健常犬、高脂血症犬で調べ、これら 2 つのマーカーが高脂血症の初期段階で有用な診断マーカーとなるか検討した。開業獣医師から健常犬、軽度および重度高脂血症犬の 3 群の血液サンプルを提供してもらった。軽度高脂血症犬では血漿 TG 値が健常犬に比べ有意に上昇、重度高脂血症犬では、人で一

一般的に脂肪肝マーカーとして用いられるアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性が有意に高かった。血漿 VLDL、LDL および TG 値が軽度高脂血症犬で最も高かった。HDL<sub>1</sub> 分画は重度高脂血症犬で健常犬、軽度高脂血症犬に比べ有意に高かった。血漿 MDA 濃度は軽度高脂血症犬で最も高かった。このことから軽度高脂血症犬でも血液生化学検査の上では明らかな脂質代謝異常を示すことが分かった。重度高脂血症犬に抗高脂血症薬としてスタチンなどを処置した場合、血漿 MDA 濃度は有意に低下した。抗高脂血症薬の効果は、組織内の亢進した脂質過酸化を正常な状態に戻すことが推察された。犬において血漿リポプロテインプロファイルおよび MDA 濃度は軽度高脂血症を呈する肥満初期を判定するのに有効なマーカーであることが明らかとなった。

### 3. 肥満したミニチュアダックスフンドの末梢血リンパ球のインスリン及びアディポネクチン遺伝子発現量

末梢血リンパ球 (PBL) の動態は体の器官、組織の状態と密接な関係を持つ。末梢血単核球と他組織の遺伝子発現状態には明らかな相関関係 (80%程度) があることがこれまで人で報告されている。こうしたことから循環血液中の PBL 遺伝子発現状態は代謝性疾患の早期診断マーカーとなりうる可能性がある。肥満に関連して起こる体重変動が PBL の遺伝子発現、特にインスリンやアディポネクチンのシグナル伝達に関与する遺伝子発現、と関連することを報告してきた。PBL のインスリンおよびアディポネクチンシグナル伝達因子 (アディポネクチン受容体 ADIPOR1, 2; インスリン受容体基質 IRS-1, 2; ホスファチジルイノシトールキナーゼ PI3-K)、脂肪酸新生 (脂肪酸合成酵素 FAS)、エネルギーホメオスタシス関連酵素 (グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ G6PDH; リンゴ酸デヒドロゲナーゼ MDH) の mRNA 発現を非肥満および過体重のミニチュアダックスフンドで測定し、これらの mRNA 発現が犬の肥満判定のマーカーとなるか否か検討した。過体重犬では血漿 NEFA、T-Cho、TG 濃度および ALT 活性が上昇、非肥満ミニチュアダックスフンドでは血漿アディポネクチン濃度の有意な減少を示した。過体重犬の PBL では IRS-1, 2、PI3-K、ADIPOR1 および FAS mRNA 発現の低下が明らかとなった。これらの知見は過体重犬の肥満に伴うエネルギー代謝異常は PBL のインスリンシグナル伝達や脂質代謝に関連する遺伝子発現に影響を及ぼすことを示唆し、PBL 遺伝子発現状態 (プロファイル) は犬の肥満を判定するマーカーのひとつとして有用であるといえる。

### 4. 高脂肪給与猫の末梢血リンパ球およびインスリン感受性組織の遺伝子発現

インスリン感受性組織での遺伝子発現、特に転写因子発現量の変化は、生体で起こる

代謝変化のマーカーとなる。本章の目的は、PBL が猫での肥満およびそれに伴って起こる疾病を診断するのに適切な細胞か否かを判定することである。

インスリンシグナル伝達活性に関して、高脂肪食給与猫（肥満猫）では腹部脂肪組織と末梢血白血球の IRS-1 mRNA 発現が有意に低下し、肝の IRS-1 mRNA 発現は対照動物に比べ増加を示した。さらに肥満猫では、皮下および内臓脂肪組織の IRS-2 mRNA 発現は著しく低下した。一方、PI3-K p85  $\alpha$  mRNA は肝、骨格筋では有意に増加したが、PBL では逆に有意に低下していた。脂肪合成やアディポネクチンシグナル伝達に関しては、肥満猫の腹部脂肪組織では ADIPOR1 mRNA 発現は増加するが、肝、PBL では ADIPOR1 mRNA 発現は減少した。さらに皮下および内臓脂肪組織では ADIPOR2 mRNA 発現の有意な増加、PBL 以外の組織での FAS mRNA 発現の増加が認められた。肥満猫では肝、骨格筋における G6PHD mRNA 発現増加、PBL における FAS mRNA 発現が低下した。また、腹部および皮下脂肪組織では MDH mRNA 発現の増加、肝、PBL における MDH mRNA 発現の低下が認められた。

結論として、PBL はインスリン感受性組織の代替組織として診断への応用は可能であるが、その為にはいくつかの条件が付く。PBL の遺伝子発現を診断に利用する場合は、1) 対象とする遺伝子、2) インスリン感受性組織の病態、3) 疾病の程度（軽度、重度）を十分に考慮する必要があることが示唆された。前述の遺伝子発現パターンは画一的ではないが、PBL と多くの組織の間には様々な相関関係も認められた。肥満に対する反応性は、初期肥満の原因となる代謝性変化を限定してみれば対応する活性化経路とともに多くの場合、それぞれの組織において組織特異性を示した。

## 5. 急性および慢性肥満猫の末梢血リンパ球におけるインスリンおよびアディポネクチン遺伝子発現

自然発生する（長期に及ぶ）肥満は短期間で食事性に誘発された実験的肥満に比べより典型的な臨床徴候を示す。本章の目的は短期間で高脂肪食給与により誘発した肥満（急性肥満）と自然発症し長期間に亘って肥満している（慢性肥満）猫の PBL のエネルギー恒常性に関わる遺伝子およびインスリン、アディポネクチンシグナル伝達に関わる遺伝子発現と血液代謝産物濃度との関連を明らかにすることである。

血漿代謝産物濃度は肥満の型や期間により固有の変化を示した（急性肥満と慢性肥満では異なる変化を示した）。PBL の mRNA 発現プロファイルは、本研究で使用した PBL の遺伝子と非常に密接に関連し、急性および慢性肥満の影響を受け、PBL 遺伝子発現は肥満の状態を敏感に反映して変動することを明らかにした。

以上のことから、本研究では、第1にBCSと体脂肪率の組み合わせた評価基準は犬の過体重～肥満を正確に判定できること、第2に犬において血漿リポプロテインプロファイルとMDAは軽度肥満の初期段階における最も有用な脂質代謝異常の診断マーカーであることを明らかにした。第3に循環血液中のPBLのインスリンおよびアディポネクチンシグナル伝達に関わるmRNA発現の変化は犬、猫の肥満時の種々の代謝異常の初期の警告となるサインとなり得る。最後に犬と猫は人の肥満を研究するための良い動物モデルとなり得ること、特に自然発症した肥満では、その傾向が強いことが明らかとなった。