博士（獣医学）　石　岡　克　己

学 位 論 文 題 名

イヌ肥満の定量的診断法の確立と新しい治療法の試み

学位論文内容の要旨

肥満はイヌやネコで見られる最も一般的な栄養障害であり、臨床現場で大きな問題となっている。ヒト医学においては遺伝子や細胞レベルでの研究が進展し、肥満そのものや合併症に対する理解が飛躍的に深まりつつあるが、小動物臨床領域においては他の疾患と比べて遅れている。本研究では、ヒトや齧歯類での最新の研究成果に基づいて、イヌにおける肥満の新しい診断、治療法の確立を試み、以下の知見を得た。

1）レプチンは脂肪細胞から分泌されるサイトカインであり、摂食量やエネルギー消費量を調節するシグナル分子として知られている。最近開発されたイヌレプチンの酵素免疫抗体法（Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）を改良して、各種条件でイヌ血中レプチンを測定した。血中レプチン濃度はイヌにおいてもインスリンやデキサメサゾンの投与、食餌摂取によって上昇し、絶食によって低下することが確かめられた。また、血中レプチン濃度は実験的に作成した肥満ビーグル犬において体脂肪率と高い正の相関を示し、様々な犬種、性別、年令の個体から成る臨症例においても肥満犬で有意に高値を示した。従って、レプチンはイヌにおいて肥満の定量的な指標として利用可能であると考えられた。

2）イヌの体脂肪・肥満の評価、特に体脂肪の部位別評価にコンピューター断層撮影法（Computed tomography, CT）を利用するための基礎的検討を、ビーグル犬を用いて行なった。CT撮影条件を電圧200 kV、X線量200 mAs、スライス厚5 mmとし、検出範囲を-105～-135 HUに設定してレベルデテクションを実施した。得られた脂肪面積値と重水希釈法で実測した体脂肪量との相関は、第3腰椎レベルの断面像を使用した場合に最も良好であった（n=11, r=0.98）。また、画像上で腹腔内を関心領域に設定することによって内臓脂肪のみの評価、また、それを総脂肪面積

から差し引くことによって皮下脂肪のみの評価もそれぞれ可能であった。ビーグル犬を実験的に肥満させると、胸～腰部にかけて脂肪面積はほぼ同様の割合で増加したが、皮下脂肪の方がより多く沈着し、内臓脂肪と皮下脂肪の比率は低下していく傾向を示した。

3）脱共役蛋白質（Uncoupling protein, UCP）は、ミトコンドリアでの酸化的リン酸化を脱共役させ、エネルギーを熱に変えることから、肥満治療のターゲット分子として注目されている。ビーグル犬の3種のUCPアイソフォームについて、逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応（Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR）およびcDNA末端の高速増幅法（Rapid amplification of cDNA ends, RACE）法によってcDNAクローニングを行なった。塩基配列および推定されるアミノ酸配列は、いずれも他動物種のものと高い相同性を示し、mRNAの臓器発現分布も他種とほぼ同様であった。また、交感神経性の刺激によって、脂肪組織のUCP1が特異的に増加することが確かめられた。

4）以上の結果を踏まえて、あらかじめ肥満させたビーグル犬を魚油添加食で制限給餌してみたところ、牛脂添加対照食よりも減量効果が大きく、CT上では皮下脂肪の減少量が大きい傾向が見られた。また、魚油給餌群の骨格筋でUCP3のmRNAが有意に増加しているのが確認された。これらの結果から、魚油はUCPによるエネルギー消費量を増加させ、体脂肪の減少効果を発揮したものと考えられた。

以上のように、イヌの肥満について体脂肪率の血中指標としてのレプチンの有用性およびCTによる体脂肪量の部位別評価法が確立された。これらにより、イヌ肥満の定量的かつ型別診断が進み、病態解明や予防・治療に寄与することが期待される。その一環として、魚油を添加した食餌の処方食としての有効性を検証した。

学位論文審査の要旨

主　査　　教　授　　斉　藤　昌　之

副　査　　教　授　　橋　本　　晃

副　査　　教　授　　藤　永　　徹

副　査　　助教授　　木　村　和　弘

学 位 論 文 題 名

イヌ肥満の定量的診断法の確立と新しい治療法の試み

肥満は、イヌやネコで見られる最も一般的な栄養障害である。本研究では、ヒトや齧歯類での最新の研究成果に基づいて、イヌにおける肥満の新しい診断、治療法の確立を試み、以下の知見を得た。

1. レプチンは脂肪細胞から分泌されるサイトカインであり、満腹因子として知られている。ビーグル犬の血中レプチン濃度を酵素免疫抗体法で調べたところ、インスリンやデキサメサゾンの投与、食餌摂取によって上昇し、絶食によって低下した。また、血中レプチン濃度は実験的に作成した肥満ビーグル犬において体脂肪率と高い正の相関を示し、様々な犬種、性別、年齢の個体から成る臨床例においても肥満犬で有意に高値を示した。従って、レプチンはイヌにおいて肥満の定量的な指標として利用可能であると考えられた。

2. イヌの体脂肪・肥満の評価、特に体脂肪の部位別評価にComputed tomography (CT)を利用するための基礎的検討を、ビーグル犬を用いて行なった。CT撮影条件を電圧200 kV、X線量200 mAs、スライス厚5 mmとし、検出範囲を-105～-135 HUに設定してレベルデテクションを実施した。得られた脂肪面積値と実際の体脂肪量との相関は、第3腰椎レベルの断面像で最も良好であった。ビーグル犬を実験的に肥満させると、皮下脂肪の方がより多く蓄積し、内臓脂肪と皮下脂肪の比率は低下していく傾向を示した。

3. Uncoupling protein (UCP)は、ミトコンドリアでの酸化的リン酸化を脱共役させ、エネルギーを熱に変えることから、肥満治療のターゲット分子として注目されている。ビーグル犬の3種のUCPアイソフォームのcDNAクローニングを行なったところ、塩基配列および推定されるアミノ酸配列は、いずれも他の動物種のものと高い相同性を示し、mRNAの臓器発現分布も他種とほぼ同様であった。また、交感神経性の刺激によって、脂肪組織のUCP1が特異的に増加することが確かめられた。

4. あらかじめ肥満させたビーグル犬を魚油添加食で制限給餌したところ、対照の牛脂添加食よりも減量効果が大きく、血中レプチン濃度も低下した。CT上では、皮下脂肪の減少量が大きい傾向が見られた。また、魚油

添加食群の骨格筋でUCP3のmRNAが有意に増加したことから、魚油はUCPによるエネルギー消費量を増加させ、体脂肪の減少効果を発揮したものと考えられた。

以上のように、本論文は、イヌの肥満に関する研究に初めて分子レベルの知見を導入したものであり、小動物臨床領域における肥満の診断、治療法の進歩に大きく貢献するものである。よって審査員一同は石岡克己氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格が充分あると認めた。