

博士（栄養学）学位論文

論文題目

Zuckerラットにおける高脂肪食の腎臓に及ぼす影響

Effects on Glomerular and Tubulointerstitial Lesions with
a High-Fat Diet in Zucker Rats

2000年

紹介教員 若林孝雄教授

氏名 松田早苗

Sanae MATSUDA

女子栄養大学

博士（栄養学）学位論文

論文題目

Zuckerラットにおける高脂肪食の腎臓に及ぼす影響

Effects on Glomerular and Tubulointerstitial Lesions with
a High-Fat Diet in Zucker Rats

2000年

紹介教員 若林孝雄教授

氏名 松田早苗

Sanae MATSUDA

女子栄養大学

目次

	頁
Summary	1
緒言	2
実験方法	3
実験動物	
飼育条件及び飼育期間	
飼料及び飲料水	
実験群	
生化学検査項目及び測定方法	
腎機能	
形態学的検討	
免疫組織学的検討	
統計処理	
実験結果	6
発育	
栄養素摂取量	
血液生化学	
尿中成分	
腎過酸化脂質	
腎機能	
形態学的検討	
免疫組織学的検討	
考察	9
結語	15

謝辞	16
文献	17
図表	26

List of Tables

Table 1	Composition of diets
Table 2	Kidney weight
Table 3	Daily food intake
Table 4	Plasma lipids concentration

List of Figures

Fig. 1	Body weight
Fig. 2	Urinary albumin excretion
Fig. 3	Urinary protein excretion
Fig. 4	Urinary creatinine excretion
Fig. 5	Renal lipid peroxide
Fig. 6	Creatinine clearance
Fig. 7	Glomerular sclerosis index
Fig. 8	Glomerular volume
Fig. 9	Tubulointerstitial index
Fig. 10	Macrophage infiltration of glomerulus
Fig. 11	Macrophage infiltration of tubulointerstitial field
Fig. 12	Light microscopic findings of glomerulus
Fig. 13	Light microscopic findings of tubulointerstitial field
Fig. 14	Immunohistochemistry for monocyte / macrophage of glomerulus
Fig. 15	Immunohistochemistry for monocyte / macrophage of tubulointerstitial field

Summary

Although many studies have evaluated the effects of dietary fat on glomerular lesions, limited information is available regarding its effects on tubulointerstitial lesions. Obese Zucker rats reportedly develop renal injury characterized by focal segmental glomerular sclerosis with tubulointerstitial lesions. The underlying mechanism, at least in part, is mediated by abnormal lipid metabolism. The author sought to elucidate the effects of dietary fat on glomerular and tubulointerstitial lesions in obese Zucker rats versus lean Zucker rats and to assess the involvement of macrophages in the development of these lesions. Either a low-fat (1%) or high-fat (20%) diet was administered to five-week-old male lean and obese rats for 30 weeks. Plasma concentration of low-density lipoprotein was higher in high-fat obese rats than in low-fat obese rats. Daily urinary protein excretion and albumin excretion did not differ between the two groups. The treatment of lean rats with the high-fat diet aggravated glomerular sclerosis index and creatinine clearance compared with low-fat lean rats, but such effects of the high-fat diet were not in obese rats. Obese rats fed high-fat diet had a higher tubulointerstitial index than did low-fat obese rats, whereas this index was similar between low- and high-fat lean rats. The renal content of thiobarbituric acid-reactive substances was similar among the four groups. Tubulointerstitial macrophage infiltration was most prominent in high-fat obese rats, followed in order of low-fat obese and both lean groups. Glomerular macrophages were similar in number among the four groups. The manipulation of dietary fat has diverse effects on the kidney. A high-fat diet aggravated macrophage-mediated tubulointerstitial lesions in the obese, whereas in the lean, the diet induced glomerulosclerosis.

緒 言

1982年、Moorheadら¹⁾は、高脂血症下における糸球体硬化症と尿細管間質病変を介した腎障害進行の機序を lipid nephrotoxicity 仮説として発表した。脂質代謝異常が腎疾患進行の危険因子となり得ることが示唆されて以来、動物実験^{2, 3)}、臨床研究^{4, 5)}、及び培養細胞^{6, 7)}を用いた実験成績が数多く報告されている。Frenchら⁸⁾は、1%コレステロール食をモルモットに投与し、糸球体にズダン陽性の脂質沈着を伴う巣状糸球体硬化性病変を高率に認め、Al-Shebebら⁹⁾は、2%コレステロール食をモルモットに投与し、蛋白尿の増加、メサンギウム基質の増加を報告した。Diamondら¹⁰⁾は、ピューロマイシン投与によるネフローゼラットに4%コレステロール食を投与し、蛋白尿増加、糸球体硬化症、腎機能低下、及び糸球体中への多数の泡沫細胞の形成を認めた。これらの報告は食事由来のコレステロールが糸球体硬化の進展に寄与することを示唆している。一方、Wheelerら¹¹⁾は、obese Zuckerラットに14%魚油含有食、及び14%牛脂含有食を投与し、14%魚油含有食の血漿コレステロール低下、蛋白尿減少、及び糸球体硬化症の軽減を観察し、血清脂質の低下が腎障害の進行を抑制しうることを示唆した。我々は、既に果糖誘導性高脂血症ラットにおいて、腎機能低下、及びメサンギウム基質増殖を認め、内因性高脂血症の腎障害発症の可能性を報告した¹²⁾。遺伝性肥満ラット (obese Zuckerラット) は、遺伝子変異としてはレプチンレセプターの269番目のアミノ酸変異であり¹³⁾、過食¹⁴⁾、高脂血症^{15, 16)}、高インスリン血症¹⁷⁾、腎臓については蛋白尿¹⁸⁾、メサンギウム基質増大、及び糸球体硬化症¹⁹⁾を特徴とする。一方、ヒトにおいても肥満が原因で発症するネフローゼ、巣状糸球体硬化症の症例が報告されている。本研究では obese Zuckerラット、及び

非肥満ラット (lean Zucker ラット) に 20% 高脂肪食、1% 低脂肪食を 30 週間給与し、コレステロール無添加による食餌中の脂肪が腎臓に及ぼす影響を明らかにする目的として、蛋白尿、腎機能、病理組織学的検討、及び免疫組織学的検討を行った。

実験方法

実験動物

5 週齢、雄の obese (fa/fa) Zucker ラット、及び lean (Fa/fa) Zucker ラットをチャールスリバー社 (キングストン、ニューヨーク) より購入し用いた。

飼育条件及び飼育期間

ラットは、温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、明暗サイクルが 12 時間ごとに保たれた動物室にて個別ケージを用い 30 週間飼育した。

飼料及び飲料水

飼料 (粉食) は、1% 低脂肪食 (2% エネルギー比)、20% 高脂肪食 (38% エネルギー比) を自由摂取させた。両飼料の組成を Table 1 に示した。

飲料水は、水道水を用い自由飲水とした。

実験群

1 週間予備飼育の後、lean、obese 各々について実験群の初体重の平均が同じになるように分け (lean: 120 g、obese: 173 g) 1% 低脂肪食、及び 20% 高脂肪食を給与し、以下の 4 群とした。

LL群：lean Zucker ラットに1%低脂肪食給与

HL群：lean Zucker ラットに20%高脂肪食給与

LO群：obese Zucker ラットに1%低脂肪食給与

HO群：obese Zucker ラットに20%高脂肪食給与

生化学検査項目及び測定方法

体重は週1回、飼料摂取量は週2回ほぼ同時刻に測定した。1日飼料摂取量は残量を投与量より差し引いて算出した。1日当りの尿中蛋白質、アルブミン、クレアチニン排泄量測定のため採尿は3週に1回代謝ケージにて24時間尿を採取し尿量を測定した。血漿中の総コレステロール、HDL-コレステロール (High-density lipoprotein)、LDL (Low-density lipoprotein)、中性脂肪、クレアチニン測定のため採血は6週に1回24時間絶食後、無麻酔下にて尾静脈より行った。

血漿成分について、総コレステロールは酵素法 (協和発酵株式会社)²⁰⁾、HDL-コレステロールはヘパリンマンガン結合沈殿法を用いた酵素法 (和光純薬株式会社)²¹⁾、LDL はヘパリンカルシウム沈殿法を用いた酵素法 (和光純薬株式会社)²²⁾、中性脂肪はグリセロール3リン酸オキシダーゼを用いた酵素法 (和光純薬株式会社)²³⁾、クレアチニンは Jaffe 法²⁴⁾ を用いた。

尿中成分について、総蛋白質は Biuret 法²⁵⁾、アルブミンはラットアルブミン抗体を用いた一元免疫拡散法²⁶⁾、クレアチニンは Jaffe 法²⁴⁾ にて測定した。

腎過酸化脂質について、屠殺時、皮質部位より500 mgを切取り、1.15% KCL に加えホモジネートを作製し、内山、三原の方法²⁷⁾ にしたがって、MDA (Malondialdehyde) をチオバルビツール酸反応により測定

した。

腎機能

血漿及び尿中クレアチニン値より24時間クレアチンクリアランス (Ccr) として下記の式にて算出した。

$$\text{Ccr (ml/min)} = \frac{\text{尿中クレアチニン (mg/24hrs)}}{\text{血漿中クレアチニン (mg/100ml)} \times 1440}$$

形態学的検討

屠殺時、ネンブタール麻酔下 (100mg/kg) にて開腹、腎臓はリン酸緩衝液にて灌流後、すみやかに摘出し重量を測定した。光顕組織標本作成のため4%パラホルムアルデヒド (pH 7.4) にて固定、パラフィン包埋後薄切 (3 μ m) し過ヨウ素酸メセナミン銀染色 (PAM)²⁸⁾、及び過ヨウ素酸シッフ染色 (PAS)²⁹⁾ を行った。

PAM染色標本を400倍にて顕微鏡観察し、ラット1匹につき任意の30個の糸球体、任意の20視野の間質について5mm \times 5mmのポイントカウンティングシートを用い糸球体硬化指数 (GSI: glomerular sclerosis index)、尿細管間質指数 (TII: tubulointerstitial index) を Tappら³⁰⁾ のポイントカウンティング法にて、糸球体体積 (GV: glomerular volume) は Weibelらの方法³¹⁾ により算出した。

$$\text{GSI} = \frac{\text{points on PAM positive mesangial area}}{\text{points on glomerular tuft area}}$$

$$\text{TII} = \frac{\text{points on interstitium}}{\text{points on interstitium} + \text{points on tubular epithelial cells}}$$

$$GV = \beta / K \times (AG)^{3/2}$$

AGは糸球体面積の平均、 $\beta (=1.38)$ は球の補正係数、 $K (=1.1)$ はサイズの補正係数

免疫組織学的検討

腎組織は液体窒素下にて凍結包埋後、切片 ($2.5 \mu m$) を作製した。monocyte / macrophage を ED1 モノクローナル抗体 (ケミコン社) を用い、免疫酵素抗体法 (ABC 法 : Avidin-biotin complex procedure)³²⁾ にて染色した。

ラット 1 匹につき任意の 30 個の糸球体、及び任意の 20 視野の間質について ED1 陽性細胞数をカウントした。

統計処理

測定値はすべて mean \pm SD で示した。群間差の検定は ANOVA を用い、2 群間の比較は Fisher を用いて検定し、危険率 5 % 以下を有意とした。

実験結果

発育

ラットの体重変化を Fig. 1、屠殺時の腎重量、及び体重に対する腎重量の割合を Table 2 に示す。

体重、腎重量については obese 群は lean 群に対し有意に高値を示したが、体重に対する腎重量の割合については両群間に差はなかった。体重は、HO 群は LO 群に対し 3 週以降 18 週において、HL 群は LL 群に対し 3 週以降 30 週において有意に高値を示した。腎重量は、HO 群と LO 群間、HL 群と LL 群間に差はなかった。

栄養素摂取量

1日当りのエネルギー、蛋白質、脂質、糖質摂取量、及び飼料効率を Table 3 に示す。

各成分の摂取量、及び飼料効率については obese 群は lean 群に対し有意に高値を示した。エネルギー、及び脂質摂取量は、HO 群は LO 群に対し、HL 群は LL 群に対し有意に高値を示したが、糖質摂取量は、有意に低値を示した。蛋白質摂取量は、HO 群と LO 群間、HL 群と LL 群間に差はなかった。飼料効率は、HO 群と LO 群間に差はなかったが、HL 群は LL 群に対し有意に高値を示した。

血液生化学

Table 4 に示す。

血漿中性脂肪、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL については、obese 群は lean 群に対し有意に高値を示した。中性脂肪は、HO 群と LO 群間、HL 群と LL 群間に差はなかった。総コレステロールは、HO 群は LO 群に対し 6、12、18、24 週において有意に低値を示したが、30 週では両群間に差はなかった。HL 群と LL 群間に差は認められなかった。HDL-コレステロールは、HO 群は LO 群に対し 6 週では有意に高値を示したが、18、24、30 週において有意に低値を示した。HL 群と LL 群間に差はなかった。総コレステロールに対する HDL-コレステロールの割合は、30 週において HO 群 ($27 \pm 7\%$) は LO 群 ($39 \pm 2\%$) に対し有意に低値を示したが、HL 群 ($42 \pm 5\%$) と LL 群 ($45 \pm 6\%$) 間に差はなかった。LDL は、各週において HO 群は LO 群に対し有意に高値を示したが、HL 群と LL 群間に差はなかった。

尿中成分

1日当りアルブミン、蛋白質、クレアチニン排泄量を各々Fig. 2、3、4に示す。

アルブミン、蛋白質排泄量については obese 群が lean 群に対し有意に高値を示したが、クレアチニン排泄量については obese 群が lean 群に対し有意に低値を示した。又 HO 群は LO 群に対しアルブミン排泄量は 6 週以降 21 週において、蛋白質排泄量は 6 週以降 18 週において有意に低値を示したが、HL 群と LL 群間に差は認められなかった。クレアチニン排泄量は HO 群と LO 群間に差はなかったが、HL 群は LL 群に対し 30 週においてのみ有意に低値を示した。

腎過酸化脂質

Fig. 5 に示す。

obese 群と lean 群間に差はなかった。

腎機能

クレアチニークリアランス (Ccr) を Fig. 6 に示す。

obese 群が lean 群に対し有意に低値を示した。又 HO 群と LO 群間に差はなかったが、HL 群は LL 群に対し有意に低値を示した。

形態学的検討

糸球体硬化指数 (GSI)、糸球体体積 (VG)、尿細管間質指数 (TII) を各々Fig. 7、8、9に示す。

GSI、TII については obese 群が lean 群に対し有意に高値を示したが、VG については obese 群と lean 群間に差はなかった。GSI は HO 群と LO

群間に差はなかったが、HL群はLL群に対し有意に高値を示した。

TIIはHO群はLO群に対し有意に高値を示したが、HL群とLL群間に差はなかった。

免疫組織学的検討

糸球体におけるED1陽性細胞数、及び間質におけるED1陽性細胞数を各々Fig. 10、11に示す。

ED1陽性細胞数は糸球体、及び間質においていずれもobese群がlean群に対し有意に高値を示した。糸球体においてはHO群とLO群間に差はなかったが、HL群はLL群に対し高値の傾向を示した($p=0.052$)。間質においてはHO群はLO群に対し有意に高値を示したが、HL群とLL群間に差はなかった。

考 察

本研究では、高脂血症を示す系であると同時に巣状糸球体硬化症を呈することで知られているobese Zuckerラット、及びその対照としてlean Zuckerラットに20%高脂肪食、1%低脂肪食を給与し、腎臓への影響について検討を行った。

Obese Zuckerラットの腎障害に関する報告の多くは糸球体障害に関する報告である。血漿蛋白質成分が尿中に排泄される過程において、腎糸球体の透過性と尿細管の再吸収が関与している。糸球体障害では基底膜のcharge selectivity、あるいはsize selectivity障害により多量の高分子蛋白(アルブミン)が糸球体を通過し、尿細管での再吸収を免れたアルブミンが尿中に排泄される。糸球体障害の進行、進展に影響を及ぼす栄養因子の報告としては、糖尿病モデルであるWBN/Kobラットに高蛋

白質食を給与し高アルブミン尿、糸球体濾過率の低下、糸球体硬化の増悪が観察されている³³⁾。原因としては糸球体血圧の増加が腎肥大、糸球体障害、腎機能不全を引き起こし、又この過程において蛋白尿増加が認められると考えられている³⁴⁾。一方、蛋白質制限による蛋白尿抑制、糸球体濾過率改善が実験腎炎モデルラットを用いた検討にて報告されている³⁵⁾。この一因として糸球体血圧抑制が考えられている。今回の実験ではHO群とLO群間、HL群とLL群間に蛋白質摂取量に差はなく、obese群、lean群において腎糸球体障害への蛋白質摂取量の影響はなかったものと考えられる。一方、5/6腎摘出ラットにエネルギー制限食を給与しアルブミン尿抑制、糸球体濾過率改善、糸球体硬化病変、及び尿細管間質病変の軽減が認められており^{36,37)}。エネルギー制限によっても糸球体高血圧低下、過濾過が減少し、糸球体硬化症進展を抑制するともいわれている³⁸⁾。更にエネルギー制限は蛋白質制限に比較し尿中アルブミン排泄量抑制効果があるとの報告もある³⁹⁾。HO群はLO群に対し、HL群はLL群に対しエネルギー摂取量は有意に高値を示した。Obese群ではHO群において糸球体障害が増悪し、腎機能低下、蛋白尿、特にアルブミン尿は高値を示すものと推測されたが、LO群に対し蛋白尿、アルブミン尿は低値を示し、糸球体硬化指数、クレアチニンクリアランスに差は認められず、糸球体障害へのエネルギー摂取量の影響はなかったといえよう。しかし、Lean群ではHL群がLL群に対し糸球体硬化指数は高値を、クレアチニンクリアランスは低値を示し、糸球体障害にエネルギー摂取量が関与しているかもしれない。Kasiskeら⁴⁰⁾は、6週齢(young群)、及び33週齢(old群)のobeseラットに糖質制限食を給与し、young群では糸球体障害の軽減を介さず糸球体血行動態を改善し蛋白尿を抑制するが、糸球体障害がすでに進行したold群では糸球体障害軽減、

及び蛋白尿抑制は観察されなかったと述べている。同モデルラットへの高糖質食給与は肝臓での脂肪合成酵素を活性化し血漿脂質を上昇させるが、高脂肪食では酵素活性抑制により血漿脂質上昇を抑制するとの報告がある⁴¹⁾。Obeseラットにおいて血漿コレステロール値と尿中蛋白質排泄量との正の相関⁴²⁾、血清コレステロール値と糸球体硬化病変との正の相関が認められている⁴³⁾。HO群はLO群に対し糖質摂取量は有意に低値を示したことが、血漿コレステロール値、蛋白尿、糸球体硬化指数上昇を抑制した可能性も考えられる。5/6腎摘出ラットに高脂肪食(20%牛脂含有)、及び無脂肪食を各々給与し、高脂肪食群が無脂肪食群に対し尿中蛋白質排泄量の有意な上昇を認めた報告がある⁴⁴⁾。又obeseラットに高脂肪食(20%多価不飽和脂肪酸含有)を給与し、蛋白尿、糸球体硬化の抑制、糸球体濾過率の改善を認め、腎機能が糸球体硬化に関与すると述べている⁴⁵⁾。飼料中の脂肪酸組成が糸球体障害に影響を及ぼすことは、臨床面においても食事の脂肪酸が血清脂質、特に血清リポ蛋白質に及ぼす影響が大きいこと、リポ蛋白質の酸化修飾に及ぼす影響が大きいことから、高脂血症を合併した腎疾患の食事療法において摂取する脂肪酸割合の重要性がいわれるようになった⁴⁶⁾。本研究において20%高脂肪食は、コーン油とラードを10%ずつ用いており、多価不飽和脂肪酸対飽和脂肪酸の含有割合は計算上1対1であることもobeseラットの脂質代謝の増悪抑制を介し、蛋白尿、糸球体硬化、腎機能低下を抑制したものとも考えられる。高インスリン血症における糸球体での選択的アルブミンの透過性亢進と近位尿細管での再吸収障害が指摘されている⁴⁷⁾。Obeseラットはインスリン抵抗性を呈するが、高脂肪食投与によるインスリン抵抗性への影響を認めなかったとの報告があり⁴⁸⁾、obeseラットにおいて高脂肪食が蛋白尿を抑制した可能性もありう

る。

近年、糸球体のメサンギウム細胞は、動脈壁の平滑筋細胞とその発生源⁴⁹⁾、微細構造、組織化学的性質⁵⁰⁾、収縮能⁵¹⁾、さらに糸球体と動脈壁の構造上の類似性が指摘されている。巣状糸球体硬化症の進展には過濾過による糸球体内圧上昇^{52, 53)}、単球浸潤^{54, 55)}、高脂血症、糸球体内脂質沈着^{56, 57)}、血液凝固系異常⁵⁸⁾などの因子が複雑に関与しており動脈硬化病変発症と同様の機序であることから、脂質を介するマクロファージ浸潤と糸球体硬化症との密接な病的因果関係が強く示唆される。マクロファージ浸潤による糸球体硬化病変形成機序について、マクロファージが産生、放出するサイトカイン、血小板活性化因子、ライソゾーム酵素、アラキドン酸代謝産物、活性酸素等のメディエーターが関係している⁵⁹⁾。PDGF (platelet derived growth factor)、TGF- β (transforming growth factor) 等サイトカインはメサンギウム細胞の増殖、またはメサンギウム細胞によるコラーゲン、ファイブロネクチン、プロテオグリカン等の産生を増加させメサンギウム基質を増生する⁶⁰⁾。一方、アラキドン酸代謝産物であるトロンボキサンは糸球体血管の収縮、糸球体濾過率の低下により蛋白尿を誘発し、ロイコトリエンはメサンギウム細胞の収縮を促すことにより糸球体血流量を減少させ虚血が生じ、糸球体病変は進行する⁶¹⁾。一方、腎間質は支持組織としてとらえられ、そのため糸球体疾患により浸潤したマクロファージ、あるいは形質転換した糸球体構成細胞が産生するサイトカインや細胞成長因子が尿細管上皮細胞、間質細胞に影響を及ぼすことから、間質病変は糸球体疾患に伴って二次的に惹起されると従来は考えられていた⁶²⁾。しかし、腎間質は尿細管と尿細管周囲毛細血管の相互の物質交換、制御物質の生成部位から作用部位への輸送⁶³⁾、細胞外基質の生産、内分泌機能⁶⁴⁾、免疫⁶⁵⁾

な機能を担っていることが近年明らかにされた。又尿細管間質病変は、炎症胞浸潤による間質領域の増大をきたし、さらに間質の繊維化、尿細管の萎縮、変性を伴うことが指摘されている。

尿細管障害因子として虚血、尿蛋白⁶⁶⁾、活性酸素、補体⁶⁷⁾、脂肪酸、リポ蛋白質⁶⁸⁾、成長因子、サイトカイン等のメディエーターが尿細管上皮細胞を活性化し、間質へのマクロファージ浸潤が惹起される。

Obese ラットにおいて糸球体へのマクロファージ浸潤が、糸球体硬化症への進展因子であること⁶⁹⁾、又尿細管間質へのマクロファージ浸潤による尿細管間質障害が報告されている⁷⁰⁾。ピューロマイシンアミノヌクレオシド腎症ラットへの脂肪制限食投与による検討において、蛋白尿の減少、糸球体硬化の軽減、糸球体へのマクロファージ浸潤の減少が認められている⁷¹⁾。Lean 群では低脂肪食による糸球体硬化指数、糸球体へのマクロファージ浸潤が低値を示し同様の結果を得ている。高脂血症下においてマクロファージが産生する活性酸素は LDL を酸化変性させ、スカベンジャーレセプターを介してマクロファージに取り込まれ泡沫化し、粥状硬化症を形成する主病因とされている⁷²⁾。動脈硬化症と腎糸球体硬化症の発症機序は類似性を有することから、糸球体硬化症における酸化 LDL の関与が報告されている⁷³⁾。酸化 LDL を処理するスカベンジャーレセプターの存在はマクロファージ、メサングウム細胞には証明されているが、尿細管細胞での確認はされていない⁷⁴⁾。しかし片腎摘出ラットに高コレステロール食を給与し、尿細管への酸化 LDL の沈着、及び腎過酸化脂質量の有意な増加を認めており⁷⁵⁾、酸化 LDL が尿細管細胞によって吸収され糸球体障害のみならず尿細管間質障害にも寄与する可能性はある^{76, 77)}。HL 群と LL 群間、HO 群と LO 群間の腎過酸化脂質量に差はなく腎糸球体、及び尿細管間質障害の進展に酸化 LDL は関与

しなかった。

マクロファージの糸球体内浸潤、泡沫細胞形成に MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1) が関与することが食餌性高コレステロール血症易発性ラットを用いた検討にて指摘されている⁷⁸⁾。更に尿細管での MCP-1 産生も明らかにされている。In vitro において、LDL がヒト培養メサンギウム細胞からの MCP-1 産生を促進することが報告されている⁷⁹⁾。本研究においても糸球体、尿細管間質へのマクロファージの浸潤に MCP-1 が関与すると考えられる。Obese ラットの LDL は、ラット培養メサンギウム細胞に対し toxic に作用する⁸⁰⁾。In vivo での根拠はないが、obese ラットにおいて LDL の影響により HO 群、LO 群共に糸球体内へのマクロファージ浸潤を介さず、糸球体硬化病変を進展させるが、尿細管間質では LDL が MCP-1 の活性化を介しマクロファージ浸潤を誘導し間質障害を増悪させるものと考えられる。Lean 群では HL 群において上昇した LDL が、糸球体へのマクロファージ浸潤を誘導し、糸球体硬化病変を進展させた可能性が示唆された。Thomas ら⁸¹⁾ は、アルブミン結合脂肪酸が近位尿細管にて再吸収されて尿細管は chemoattractant を遊離し尿細管間質へのマクロファージ浸潤を惹起し、間質病変を発症させることを示唆した。HO 群において高脂肪食による過剰の脂肪酸が chemoattractant を介して、マクロファージ浸潤を誘導し、尿細管間質障害を進展させていることも考えられる。浸潤マクロファージは、TGF- β などのサイトカインを放出し間質繊維化を誘導する。TGF- β は、生理的条件下では遠位尿細管細胞に発現が認められ組織の構築維持として、腎組織障害時にはマクロファージのみならず、尿細管上皮細胞より分泌し間質の繊維化に最も関与する⁸²⁾。又間質病変そのものが腎不全への進展因子となることが指摘されている。即ち、間質の繊維化が進行していく過程にお

いて間質の毛細血管の閉塞による糸球体高血圧、血管収縮因子、アンジオテンシンⅡ、PDGFによる間質への酸素供給減少により虚血を促進し、再び尿細管細胞障害をきたし悪循環が間質病変を増悪させ、腎機能が低下すると考えられ⁸³⁾、尿細管萎縮の程度と腎機能低下との強い相関も報告されている⁸⁴⁾。本研究においてHO群は尿細管間質指数が高値であるにもかかわらず、クレアチニンクリアランスは低値を示さなかった。これについては詳細な機序については明らかではないが、間質病変増悪により糸球体病変増悪への悪循環によりさらなる腎機能低下の可能性が考えられる。

高脂肪食がマクロファージ浸潤を介して obese 群においては尿細管間質障害進展因子になりうること、lean 群においては糸球体硬化症進展因子になりうるということが、本研究で明らかにされた。腎病変の進行には各種サイトカイン、ケモカイン等が関与していると考えられ今後検討するとともに、摂取する脂肪の質についても腎臓に及ぼす影響も考慮すべきと考える。

従来、腎臓疾患の食事療法としては腎疾患の症状への対症療法として蛋白質を主体に考えられてきたが、腎障害進行を抑制するという直接治療に結びついた効果を示すことが明らかにされつつある現在、脂質の量、質についても検討されなければならないと考える。

結 語

Obese、lean Zucker ラットに20%高脂肪食、1%低脂肪食を給与し、腎臓への影響を観察した。

- 1) HO群はLO群に対し有意に血漿コレステロール、HDL-コレステロールは低値を、LDLは高値を示した。

- 2) HO群はLO群に対し有意に尿中蛋白質排泄量、アルブミン排泄量は低値を示した。
- 3) HO群はLO群に対し有意に尿細管間質病変（尿細管間質指数）は高度であった。
- 4) HO群はLO群に対し有意に尿細管へのED1陽性マクロファージは高値を示し、尿細管間質障害への寄与が示唆された。
- 5) HL群はLL群に対し有意に糸球体硬化病変（糸球体硬化指数）は高値を示した。
- 6) HL群はLL群に対し有意にクレアチニンクリアランスは低値を示した。
- 7) 高脂肪食は、obese群に対しては尿細管間質障害を、lean群に対しては糸球体硬化障害を惹起した。

謝 辞

本稿を終えるにあたり御校閲賜りました女子栄養大学 内科学研究室 若林 孝雄教授に謹んで感謝の意を表します。

腎臓病理学の御助言を賜りました帝京大学医学部内科腎臓研究室 長瀬 光昌教授に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり御指導賜りました女子栄養短期大学栄養学研究室 岩田 多子教授に厚く御礼申し上げます。

常に御協力いただきました帝京大学医学部内科腎臓研究室 岡 めぐみ氏、女子栄養短期大学栄養学研究室 野沢 純子氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Moorhead J.F., Chan M.K. and El-Nahas M., et al : Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulointerstitial disease. *Lancet*, 2, 1309 (1982)
- 2) Pavlovic N.M., Malic S. and Chan M.K., et al : The influence of high fat diet on the proteinuria in puromycin induced nephrotic syndrome in rats. *Clin. Sci.*, 66, 26 (1984)
- 3) Kasiske B.L., Cleary M.P. and O' Donnell M.P., et al : Effect of reduced renal mass on tissue lipids and renal injury in hyperlipidemia rats. *Kidney Int.*, 35, 40 (1989)
- 4) Tojo K., Sakai S. and Miyahara T. : Possible therapeutic application of low density lipoprotein apheresis in conjunction with double filtration plasma pheresis in drug-resistant nephrotic syndrome due to focal glomerular sclerosis. *Jap. J. Nephrol.*, 30, 1153 (1988)
- 5) 大谷晴久, 的場克巳, 雑賀保至 : 糸球体疾患における apolipoprotein B の糸球体沈着についての検討. *日腎誌*, 32, 1145 (1990)
- 6) Rayner H.C., Horsburgh T. and Brown S.L., et al : Receptor mediated endocytosis of low-density lipoprotein by cultured human glomerular cells. *Nephron*, 55, 292 (1990)
- 7) Ohtani H., Matoba K. and Yamada Y., et al : Low-density lipoprotein affects the platelet-derived growth factor (β)-receptor mRNA expression in rat mesangial cells. *Proceeding of the XIII th International Congress of Nephrology*, 501 (1993)
- 8) French S.W. and Yamanaka W. : Dietary induced glomerulosclerosis in the guinea pig. *Arch. Pathol.*, 83, 204 (1967)

- 9) Al-Shebeb T., Flohlidh J. and Magil A. : Glomerular disease in hypercholesterolemic guinea pigs a pathogenic study. *Kidney Int.*, 33, 498 (1988)
- 10) Diamond J.R. and Karnovsky M.J. : Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol supplementation. *Kidney Int.*, 32, 671 (1987)
- 11) Wheeler D.C., Nair D.R. and Persaud J.W., et al : Effects of dietary fatty acids in an animal model of focal glomerulosclerosis. *Kidney Int.*, 39, 930 (1991)
- 12) 松田早苗, 野沢純子, 岩田多子, 岡めぐみ, 長瀬光昌, 若林孝雄 : 果糖誘導性高脂血症ラットにおける腎臓への影響. *女子栄養大学紀要*, 26, 35 (1995)
- 13) 高屋和彦, 小川佳宏, 中尾一和 : レプチン受容体. *日本臨床*, 56, 279 (1998)
- 14) Cleary M.P., Vasselli J.R. and Greenwood M.R.C. : Development of obesity in Zucker obese (fa/fa) rat in absence of hyperphagia. *Am. J. Physiol.*, 238, 284 (1980)
- 15) Zucker L.M. : Hereditary obesity in the rat associated with hyperlipidemia. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 131, 447 (1965)
- 16) Barry W.S. and Bray G.A. : Plasma triglycerides in genetically obese rats. *Metabolism*, 18, 833 (1969)
- 17) York D.A., Steinke J. and Bray G.A. : Hyperinsulinemia and insulin resistance in genetically obese Zucker rat. *Metabolism*, 21, 277 (1972)
- 18) Kasiske B.L., Cleary M.P., O'Donnell M.P. and Keane W.F. : Effects of genetic obesity on renal structure and function in the Zucker rat. *J. Lab.*

- Clin. Med., 106, 598 (1985)
- 19) O'Donnell M.P., Kasiske B.L., Cleary M.P. and Keane W.F. : Effects of genetic obesity on renal structure and function in the Zucker rat. .
Micropuncture studies. J. Lab. Clin. Med., 106, 605 (1985)
- 20) Allain C.C., Poon L.S. and Chan C.S.G., et al : Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin. Chem., 20, 470(1974)
- 21) Ash K.O. and Hentschel W.M. : High-density lipoproteins estimated by an enzymatic cholesterol procedure, with a centrifugal analyzer. Clin. Chem., 24, 2180 (1978)
- 22) Richmond.W. : Preparation and properties of a cholesterol oxidase from nocardia sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. Clin. Chem., 19, 1350 (1973)
- 23) Spayd R.W. and Bruschi B., et al: Multilayer film elements for clinical analysis :applications to representative chemical determinations.
Clin.Chem., 24, 1343 (1978)
- 24) 金井泉, 金井正光 : 臨床検査法提要第 29 版, 428 金原出版 (1983)
- 25) 水野映二, 仁科甫啓, 北村元仕 : 血清総蛋白定量法の改良.
臨床病理, 19, 427 (1971)
- 26) 右田俊介 : 一元放射状免疫拡散法の実施. 臨床検査, 20, 258 (1976)
- 27) Uchiyama M. and Mihara M.: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem., 86, 271 (1978)
- 28) 矢島権八 : 糸球体の過ヨウ素酸メセナミン銀染色法. 臨床検査, 20, 14 (1976)
- 29) 日本病理学会編 : 病理技術マニュアル病理組織標本作製技術

～染色法～. 122, 医歯薬出版 (1982)

- 30) Tapp D.C., Wortham W.G. and Addison J.F., et al : Food restriction retards body growth and prevents end-stage renal pathology in remnant kidneys of rats regardless of protein intake. *Lab. Invest.*, 60, 184 (1989)
- 31) Weibel E.R. : *Stereological methods. Practical methods for biological morphometry.* London, Academic Press. (1979)
- 32) Hsu S.M., Raine L. and Fanger H. : Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques : A comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.*, 29, 577 (1981)
- 33) 森 豊, 加藤秀一, 根本昌実 : WBN/Kob ラットにおける摂取蛋白質の尿中アルブミン排泄に及ぼす影響. *Diabetes Frontier*, 4, 613 (1993)
- 34) Brenner B.M., Meyer T.W. and Hostetter T.H. : Dietary protein intake and progressive nature of kidney disease : the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N. Engl. J. Med.*, 307, 652 (1982)
- 35) Daniela M., Win L., Simona P. and Cristina B. : Selective dietary restriction of protein and calorie intakes prevents spontaneous proteinuria in male MWF rats. *Exp. Nephrol.*, 5, 404 (1997)
- 36) Tapp D.C., Kobayashi S. and Fernandes G. : Protein restriction or calorie restriction? A critical assessment of the influence of selective calorie restriction on the progression of experimental renal disease. *Seminars in Nephrology*, 9, 343 (1989)
- 37) Kobayashi S. and Venkatachalam M.A. : Differential effects of calorie

- restriction on glomeruli and tubules of remnant kidney. *Kidney Int.*, 42, 710 (1992)
- 38) Hostetter T.H., Olson J.L. and Rennke H.G. : Hyperfiltration in remnant nephrons : A potentially adverse response to renal ablation. *Am. J. Physiol.*, 241, 85 (1981)
- 39) Maeda H., Gleiser C.A. and Masoro E.J. : Nutritional influences on aging of Fischer 344 rats. *J. Gerontol.*, 40, 671 (1985)
- 40) Kasiske B.L., Cleary M.P. and O'Donnell M.P. : Effects of carbohydrate restriction on renal injury in the obese Zucker rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, 44, 56 (1986)
- 41) Berke B.M. and Kaplan M.L. : Effects of high fat and high carbohydrate diet on development of hepatic and adipose lipogenesis in fa/fa and non-fa/fa rats. *J. Nutr.*, 113, 820 (1983)
- 42) Kasiske B.L., O'Donnell M.P., Cleary M.P. and Keane W.F. : Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. *Kidney Int.*, 33, 667 (1988)
- 43) Kasiske B.L., O'Donnell M.P. and Keane W. : Impact of dietary fatty acid supplementation on renal injury in obese Zucker rats. *Kidney Int.*, 39, 1125 (1991)
- 44) 酒井総一, 大井景子, 加藤尚彦, 中村宏二 : Lipid glomerulopathy. *腎と透析*, 42, 167 (1997)
- 45) Alavi F.K., Zawada E.T. and Simmons J.L. : Renal hemodynamic and histological consequences of diets high in unsaturated fat protein or sucrose in obese Zucker rats. *Clinical Nephrology*, 43, 122 (1995)
- 46) 石川俊次 : 脂肪酸から見た食事療法. *腎と透析*, 42, 215 (1997)

- 47) Catalona, C. : Effect of insulin on systemic and renal handling of albumin in nondiabetic and NIDDM subjects. *Diabetes*, 46, 868 (1997)
- 48) Maher M.A., Banz W.J. and Zemel M.B. : Variations of blood pressures in lean Zucker rats fed low or high fat diets. *J. Nutr.*, 125, 2618 (1995)
- 49) Scheinman J.U., Fish A.J., Brown D.M. and Michael A.F. : Human glomerular smooth muscle (mesangial) cells in culture. *Lab. Invest.*, 34, 150 (1976)
- 50) Latta H. and Maunsbach A.B. : Relation of the centrilobular region of the glomerulus to the juxtaglomerular apparatus. *J. Ultrastruc. Res.*, 6, 562 (1986)
- 51) Ausiello D.A., Kreisberg J.I. and Karnovsky M.J. : Contraction of cultured rat glomerular mesangial cells after stimulation with angiotensin II and arginine vasopressin. *J. Clin. Invest.*, 63, 754 (1980)
- 52) Rennke H.G. : Structural alteration with glomerular hyperfiltration. *Contemp Issues Nephrol.*, 14, 111 (1986)
- 53) Hostetter T.H., Olson J.L., Rennke H.G. and Brenner B.M. : Hyperfiltration in remnant nephrons. *Am. J. Physiol.*, 241, F85 (1981)
- 54) Magil A.B. and Cohen A.H. : Monocytes and focal glomerulosclerosis. *Lab. Invest.*, 61, 404 (1989)
- 55) Matsumoto K. and Atkins R.C. : Glomerular cells and macrophages in the progression of experimental focal and segmental glomerulosclerosis. *Am. J. Pathol.*, 134, 933 (1989)
- 56) Kasiske B.L., O'Donnell M.P., Schmitz P.G. and Keane W.F. : Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int.*, 37, 880 (1990)
- 57) Van G.H., Fidler V., Weening J.J. and Grond J. : Determinants of focal and

- segmental glomerulosclerosis in the rat after renal ablation : Evidence for involvement of macrophages and lipids. *Lab. Invest.*, 64, 754 (1991)
- 58) Futrakul P., Poshyachinda C. and Mitrakul C.: Focal sclerosing glomerulonephritis: A kinetic evaluation of hemostasis and the effect of anticoagulant therapy. *Clin. Nephrol.*, 10, 180 (1978)
- 59) Nathan C.F.: Secretory products of macrophages. *J. Clin. Invest.*, 79, 319 (1987)
- 60) Ding G. and Diamond J.R.: Cholesterol glomerular macrophages and the gene expression of TGF- β and fibronectin during experimental nephrosis: A novel pathobiologic injury. *Am. J. Physiol.*, 264, F577 (1993)
- 61) Kees-Folts D. and Diamond J.R.: Relationship between hyperlipidemia, lipid mediators, and progressive glomerulosclerosis in the nephrotic syndrome. *Am. J. Nephrol.*, 13, 365 (1993)
- 62) Bohle A.: Pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies, renal vasculopathies, and chronic interstitial nephritis. *Kidney Int.*, 49, S2 (1996)
- 63) Lemley K.V. and Kriz W. : Anatomy of the renal interstitium. *Kidney Int.*, 39, 370 (1991)
- 64) Vernance M.A. : Osmolar regulation of endothelin signaling in rat renal medullary interstitial cells. *J. Clin. Invest.*, 96, 183 (1995)
- 65) Kaissling B.: Morphology of interstitial cells in the healthy kidney. *Anat. Embryol.*, 193, 303 (1996)
- 66) Eddy A.: Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria. *Kidney Int.*, 47, 1546 (1995)

- 67) Nomura A.: Tubulointerstitial injury induced in rats by a monoclonal antibody that inhibits function of a membrane inhibitor of compliment. *J. Clin. Invest.*, 96, 2348 (1995)
- 68) Grone H.: Modulation of glomerular sclerosis and interstitial fibrosis by native and modified lipoprotein. *Kidney Int.*, 49, S18(1996)
- 69) Magil A.B. and Frohlich J.J.: Monocytes and macrophages in focal glomerulosclerosis in Zucker rats. *Nephron*, 59, 131 (1991)
- 70) Magil A.B.: Tubulointerstitial lesions in young Zucker rats. *Am.J. Kidney Disease.*, 25, 478 (1995)
- 71) Diamond J., Pesek I. and Ruggieri S.: Essential fatty acid deficiency during acute puromycin nephrosis ameliorates late renal injury. *Am. J. Physiol.*, 257, F798 (1989)
- 72) Steinberg D., Parthasarathy S. and Carew T.E.: Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Eng. J. Med.*, 320, 915 (1989)
- 73) Magil A.B., Frohlich J.J. and Innis S.M.: Oxidized low-density lipoprotein in experimental focal glomerulosclerosis. *Kidney Int.*, 43, 1243 (1993)
- 74) Coritsidis G., Rifici V. and Gupta S.: Preferential binding of oxidized LDL to rat glomeruli in vivo and cultured mesangial cells in vitro. *Kidney Int.*, 39, 853 (1991)
- 75) Eddy A.A.: Interstitial inflammation and fibrosis in rats with diet-induced hypercholesterolemia. *Kidney Int.*, 50, 1139 (1996)
- 76) Ong A.C.M. and Moorhead J.F.: Tubular lipidosis: epiphenomenon or pathogenetic lesion in human renal diseases ? *Kidney Int.*, 45, 753 (1994)
- 77) Agarwal A., Balla J., Croatt A. and Nath K.: Oxidized LDL injuries in

- renal tubular epithelial cells: implications for tubulointerstitial disease. J. Am. Soc. Nephrol., 5, 935 (1994)
- 78) 児玉直也, 大谷晴久, 木村圭吾: ExHC ラットの foam cell 形成における MCP-1, M-CSF の関与とプロブコールの影響. 第9回腎と脂質研究会 (抄録) (1996)
- 79) Rovin B.H. and Tan L.C.: LDL stimulates mesangial fibronectin production and chemoattractant expression. Kidney Int., 43, 218(1993)
- 80) Sakai S., Suzuki M., Tada N. and Yokoyama K.: Effect of hyperlipidemia serum on cultured mesangial cells. J. J.Nephrology., 34, 987 (1992)
- 81) Thomas M.E. and Schreiner G.F.: Contribution of proteinuria to progressive renal injury : consequences of tubular uptake of fatty acid bearing albumin. Am. J. Nephrol., 13, 385 (1993)
- 82) Ando T. : Localization of transforming growth factor β and latent transformining growth factor β binding protein in rat kidney. Kidney Int., 47, 733 (1995)
- 83) Strutz F. M. : On the progression of chronic renal disease. Nephron, 69, 371 (1995)
- 84) Seron D. : Number of interstitial capillary cross- sections assessed by monoclonal antibodies : Relation to interstitial damage. Nephron. Dial. Transplant., 5, 889 (1990)

Table 1. Composition of diets

Component	%	
	Low-fat	High-fat
Corn starch	60.0	41.0
Sugar	8.0	8.0
Casein	23.7	23.7
DL-Methionine	0.3	0.3
Corn oil	0.5	10.0
Lard	0.5	10.0
Mineral mixture	4.0	4.0
Vitamin mixture	1.0	1.0
Powdered cellulose	2.0	2.0
Choline chloride (mg/100g)	100.0	100.0
Total	100.0	100.0

Table 2. Kidney weight at 30 weeks of dietary treatment

Rats	Lean Zucker Rats		Obese Zucker Rats	
	LL	HL	LO	HO
n	9	7	6	8
Kidney weight (g)	3.24 ± 0.53	3.93 ± 0.61	6.11 ± 0.54 ^a	7.38 ± 3.18 ^a
Kidney weight / Body weight	0.71 ± 0.07	0.64 ± 0.09	0.79 ± 0.09	0.89 ± 0.43

Data are expressed as the mean ± SD.

Analysis of variance was performed, followed by Fishers' PLSD.

a, P < .05, vs. both lean Zucker rats

Table 3. Daily food intake and food efficiency during 30 weeks of dietary treatment

Rats	Lean Zucker Rats		Obese Zucker Rats	
	LL	HL	LO	HO
n	9	7	6	8
Calorie (kcal)	91 ± 6.7	99 ± 6.5 ^b	120 ± 8.0 ^a	131 ± 15.5 ^{a,c}
Protein (g)	5.8 ± 0.53	5.4 ± 0.36	7.7 ± 0.51 ^a	7.2 ± 0.59 ^a
Fat (g)	0.2 ± 0.04	4.3 ± 0.26 ^b	0.3 ± 0.01 ^a	5.6 ± 0.43 ^{a,c}
Carbohydrate (g)	18.2 ± 2.2	11.7 ± 1.4 ^b	23.0 ± 2.4 ^a	16.0 ± 1.8 ^{a,c}
Food efficiency	0.11 ± 0.02	0.17 ± 0.02 ^b	0.14 ± 0.02 ^a	0.17 ± 0.02 ^a

Data are expressed as the mean ± SD.

Analysis of variance was performed, followed by Fishers' PLSD.

a, P < .05, vs. both lean Zucker rats; b, P < .05, vs. LL; c, P < .05, vs. LO.

Table 4 Changes in plasma lipids concentration of dietary treatment.

Rats	Lean Zucker Rats			Obese Zucker Rats		
	LL	HL	HO	LO	HO	HO
n	9	7	8	6	8	8
Triglyceride(mg/dl)						
6w	59±16	72±20	212±58 ^a	260±111 ^a	212±58 ^a	212±58 ^a
12w	60±21	65±20	199±31 ^{a,c}	281±161 ^a	199±31 ^{a,c}	199±31 ^{a,c}
18w	82±30	107±32	275±86 ^a	301±123 ^a	275±86 ^a	275±86 ^a
24w	96±39	102±36	355±117 ^a	445±187 ^a	355±117 ^a	355±117 ^a
30w	99±34	121±57	505±290 ^a	458±167 ^a	505±290 ^a	505±290 ^a
Total cholesterol(mg/dl)						
6w	69±12	71±11	233±35 ^{a,c}	391±90 ^a	233±35 ^{a,c}	233±35 ^{a,c}
12w	69±13	81±12	284±64 ^{a,c}	372±64 ^a	284±64 ^{a,c}	284±64 ^{a,c}
18w	74±15	95±14	319±89 ^{a,c}	410±68 ^a	319±89 ^{a,c}	319±89 ^{a,c}
24w	98±19	127±20	374±109 ^{a,c}	492±99 ^a	374±109 ^{a,c}	374±109 ^{a,c}
30w	112±63	126±29	454±102 ^a	495±156 ^a	454±102 ^a	454±102 ^a
HDL-cholesterol(mg/dl)						
6w	49±10	51±6	133±25 ^{a,c}	115±16 ^a	133±25 ^{a,c}	133±25 ^{a,c}
12w	51±8	69±12	161±43 ^a	173±62 ^a	161±43 ^a	161±43 ^a
18w	46±9	60±7	137±33 ^{a,c}	183±20 ^a	137±33 ^{a,c}	137±33 ^{a,c}
24w	58±11	62±14	143±36 ^{a,c}	202±44 ^a	143±36 ^{a,c}	143±36 ^{a,c}
30w	49±24	54±15	137±31 ^{a,c}	180±48 ^a	137±31 ^{a,c}	137±31 ^{a,c}
Low-density lipoprotein(mg/dl)						
6w	49±7	34±6	588±124 ^{a,c}	495±83 ^a	588±124 ^{a,c}	588±124 ^{a,c}
12w	143±27	204±34	778±156 ^{a,c}	597±98 ^a	778±156 ^{a,c}	778±156 ^{a,c}
18w	150±33	252±54	846±279 ^{a,c}	704±120 ^a	846±279 ^{a,c}	846±279 ^{a,c}
24w	201±51	289±67	937±293 ^{a,c}	824±173 ^a	937±293 ^{a,c}	937±293 ^{a,c}
30w	219±33	340±78	1306±419 ^{a,c}	956±148 ^a	1306±419 ^{a,c}	1306±419 ^{a,c}

Data are expressed as the mean ± SD.

Analysis of variance was performed, followed by Fishers' PLSD.

a, P<.05, vs. both lean Zucker rats; c, P<.05, vs. LO.

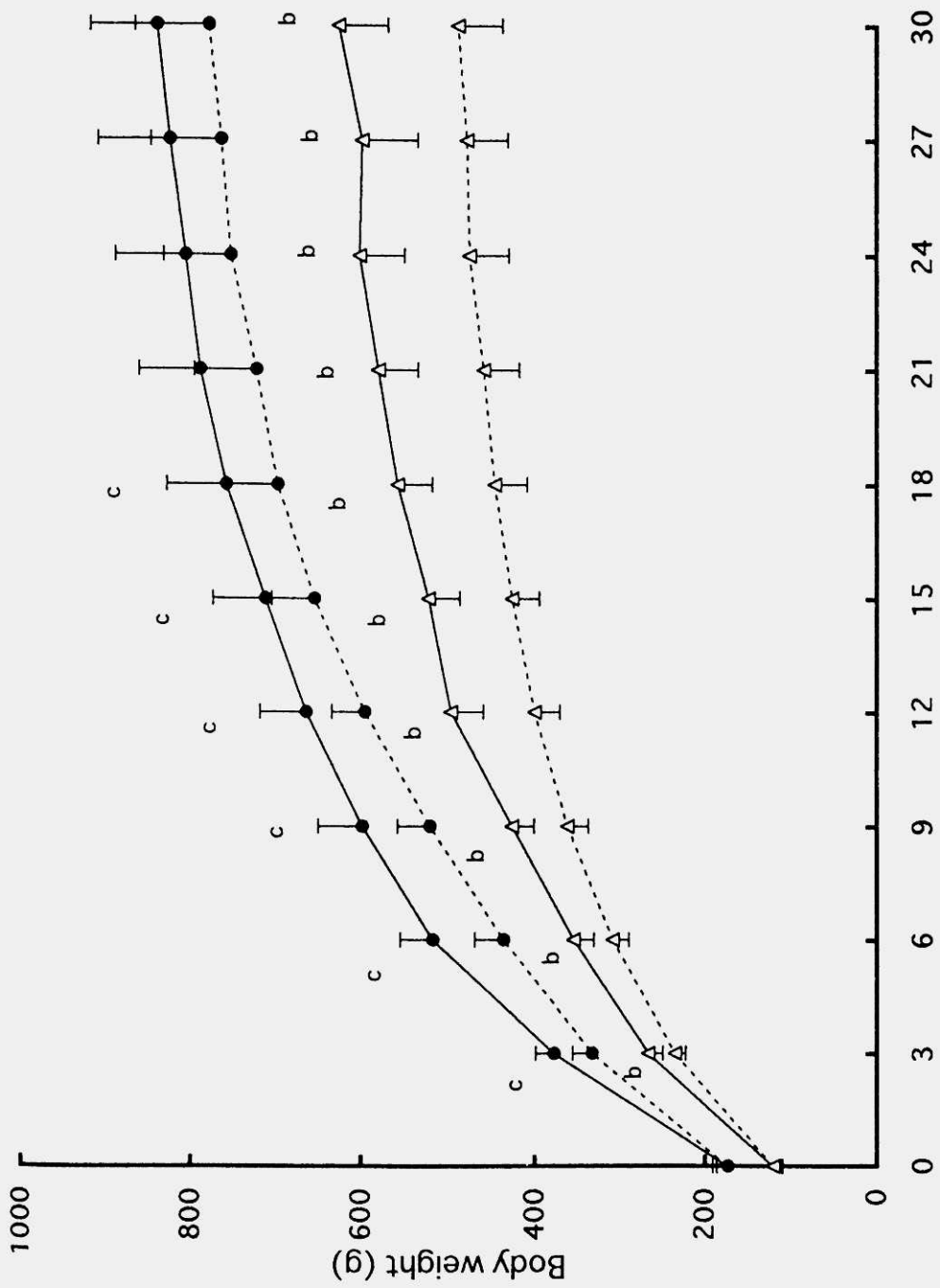


Fig.1 Changes in body weight in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diets for 30 weeks of dietary treatment. Data are expressed as the mean \pm SD.

b, P < .05, vs. LL; c, P < .05, vs. LO
 ● : LO (n=6) △ : LL (n=9)
 ● : HO (n=8) △ : HL (n=7)

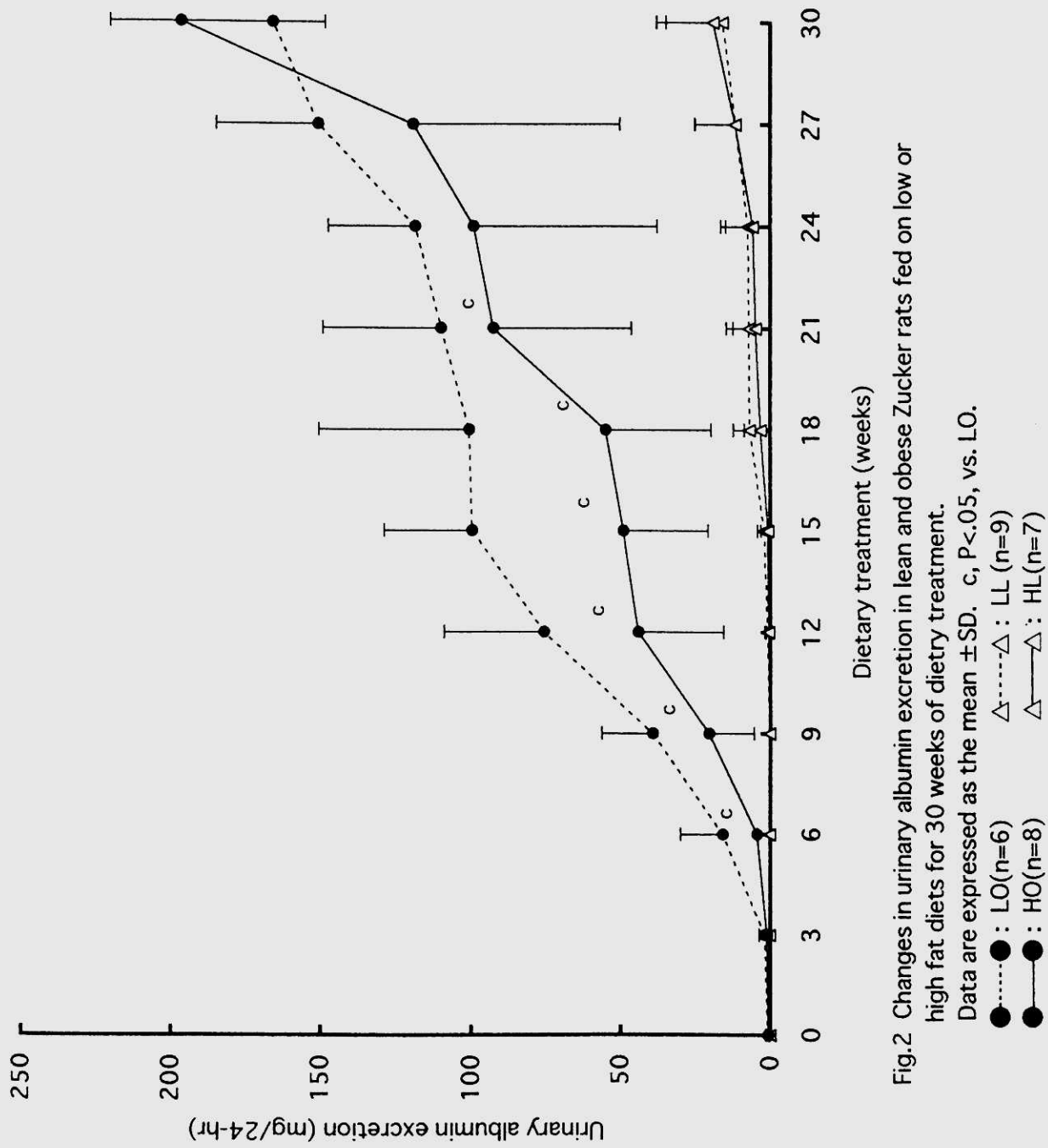


Fig.2 Changes in urinary albumin excretion in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diets for 30 weeks of dietary treatment.

Data are expressed as the mean \pm SD. c, $P < .05$, vs. LO.

● : LO (n=6) △ : LL (n=9)
 ○ : HO (n=8) △ : HL (n=7)

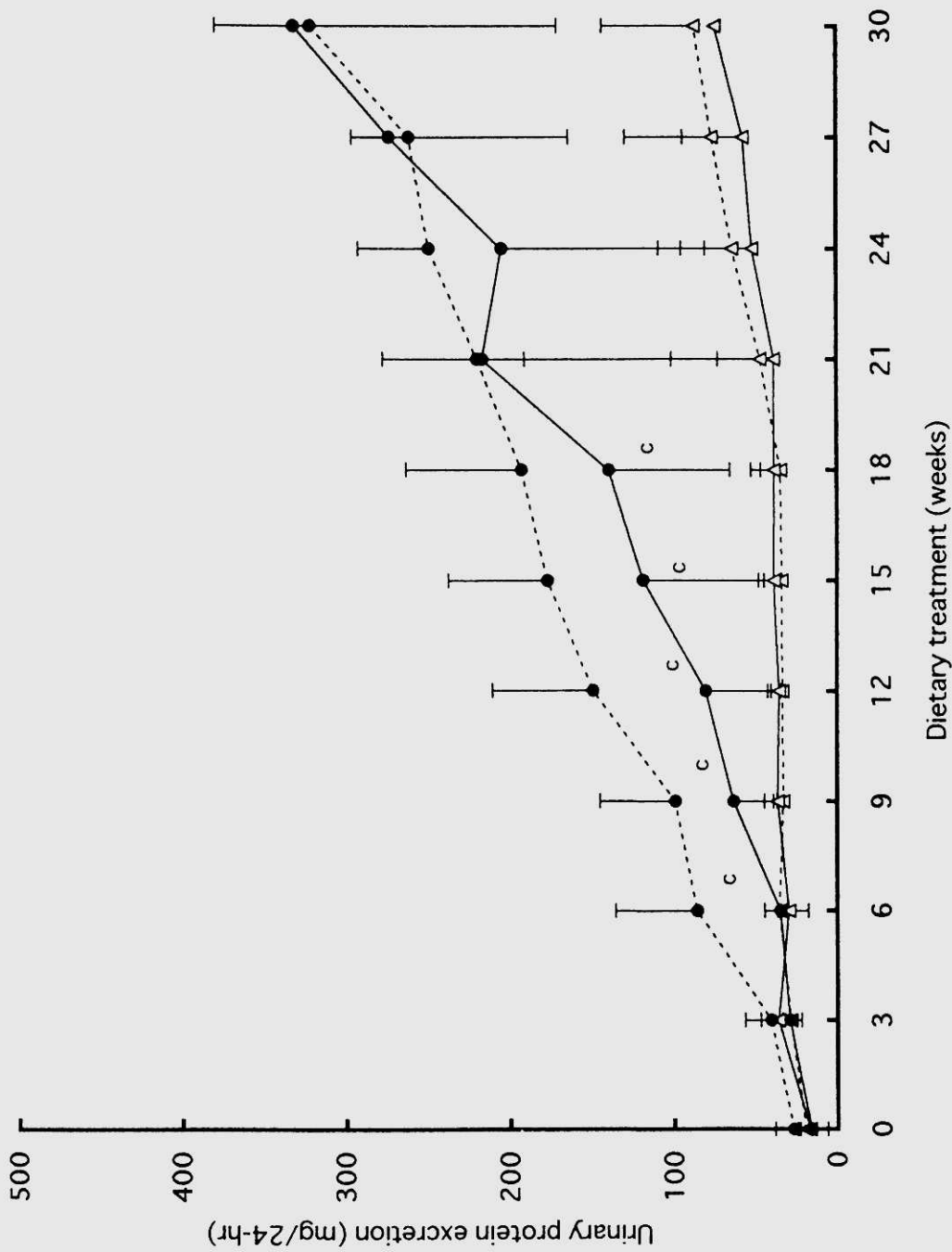


Fig.3 Changes in urinary protein excretion in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diets for 30 weeks of dietary treatment.

Data are expressed as the mean \pm SD. c, $P < 0.05$, vs. LO.

- : LO (n=6) △ : LL (n=9)
- : HO (n=8) △ : HL (n=7)

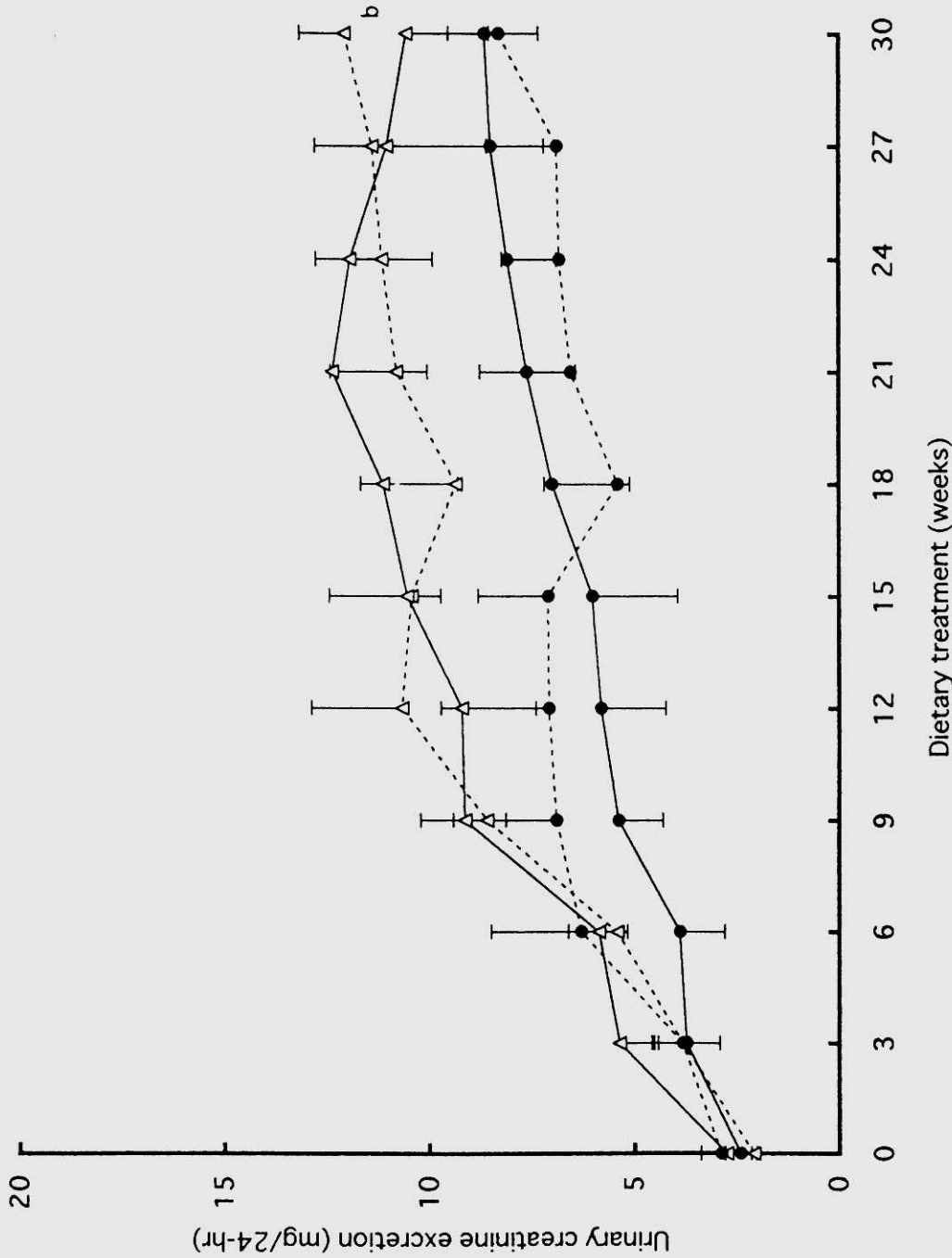


Fig.4 Changes in urinary creatinine excretion in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diets for 30 weeks of dietary treatment.

Data are expressed as the mean \pm SD. b, $P < .05$, vs. LL.

● : LO (n=6) △ : LL (n=9)
 ● : HO (n=8) △ : HL (n=7)

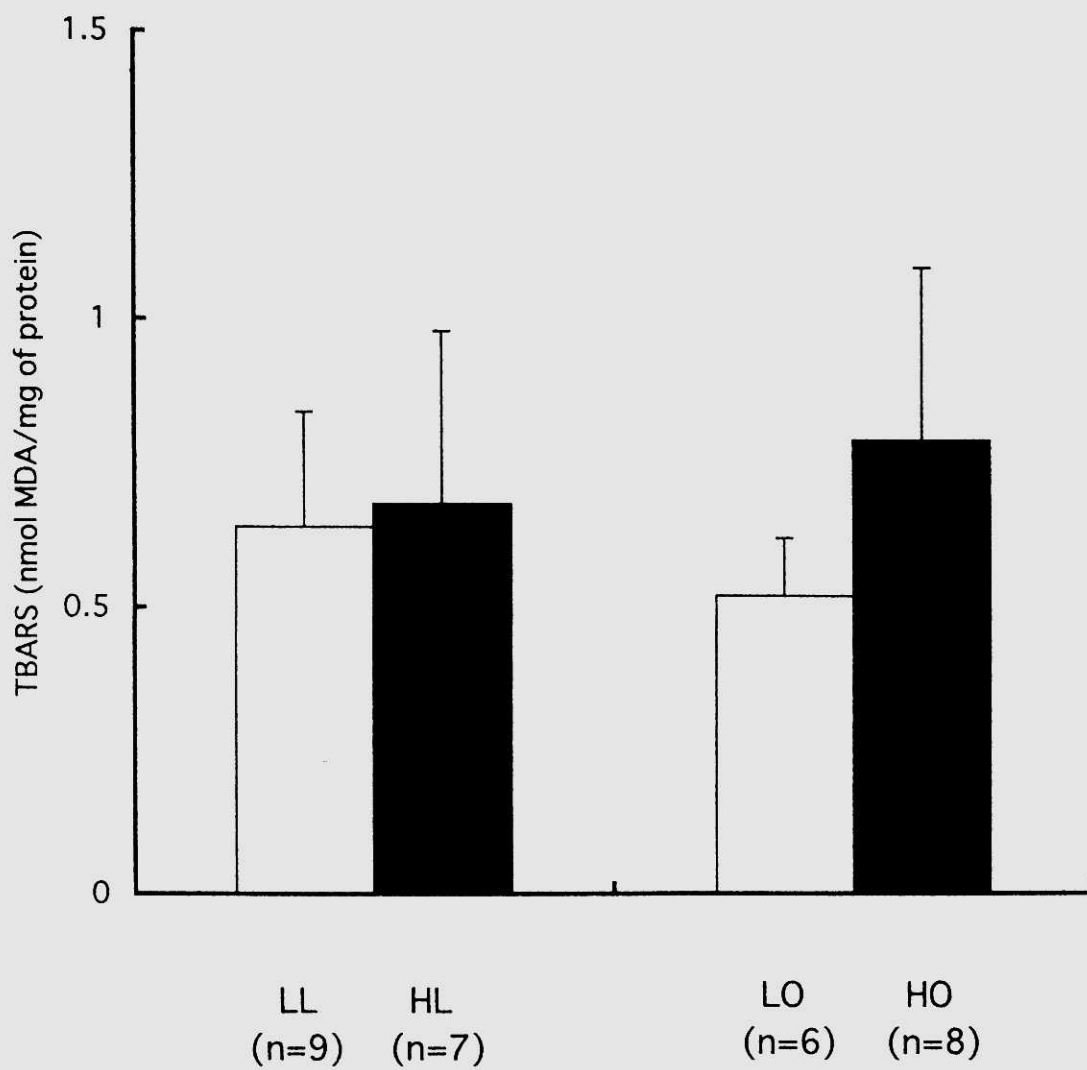


Fig. 5 Renal lipid peroxide in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.

TBARS : thiobarbituric acid-reactive substances.

MDA : malondialdehyde.

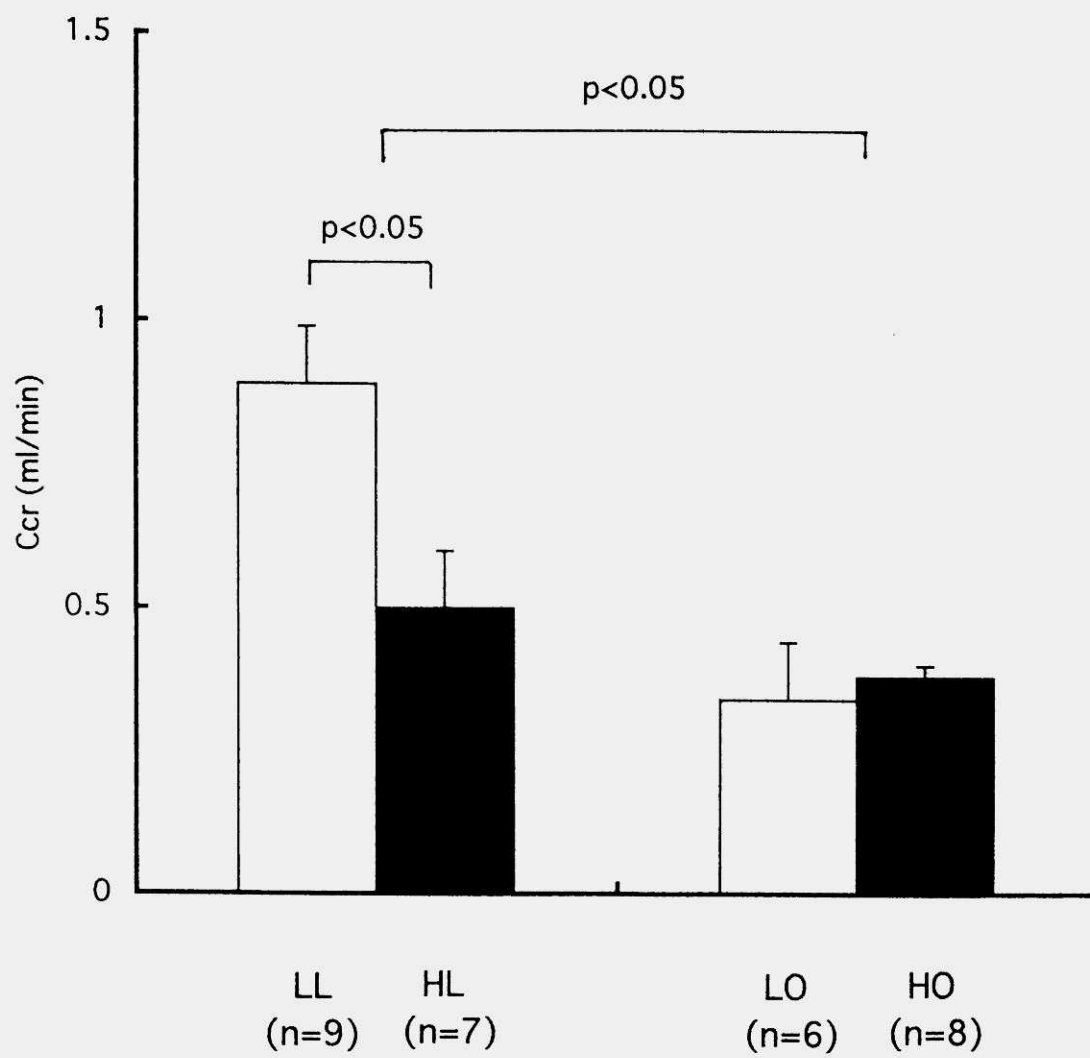


Fig. 6 Creatinine clearance in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.
Ccr : creatinine clearance

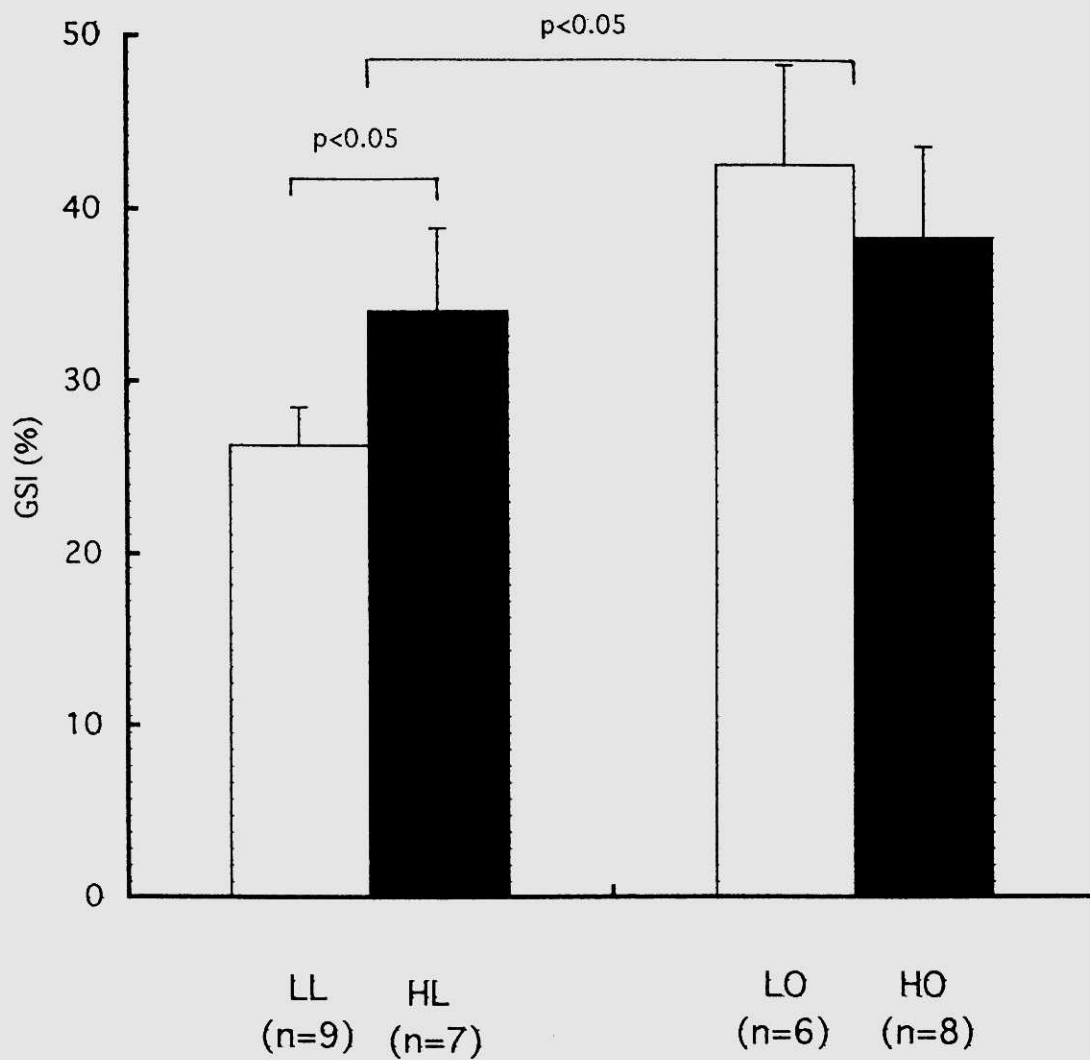


Fig. 7 Glomerular sclerosis index in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.
 GSI : Glomerular sclerosis index

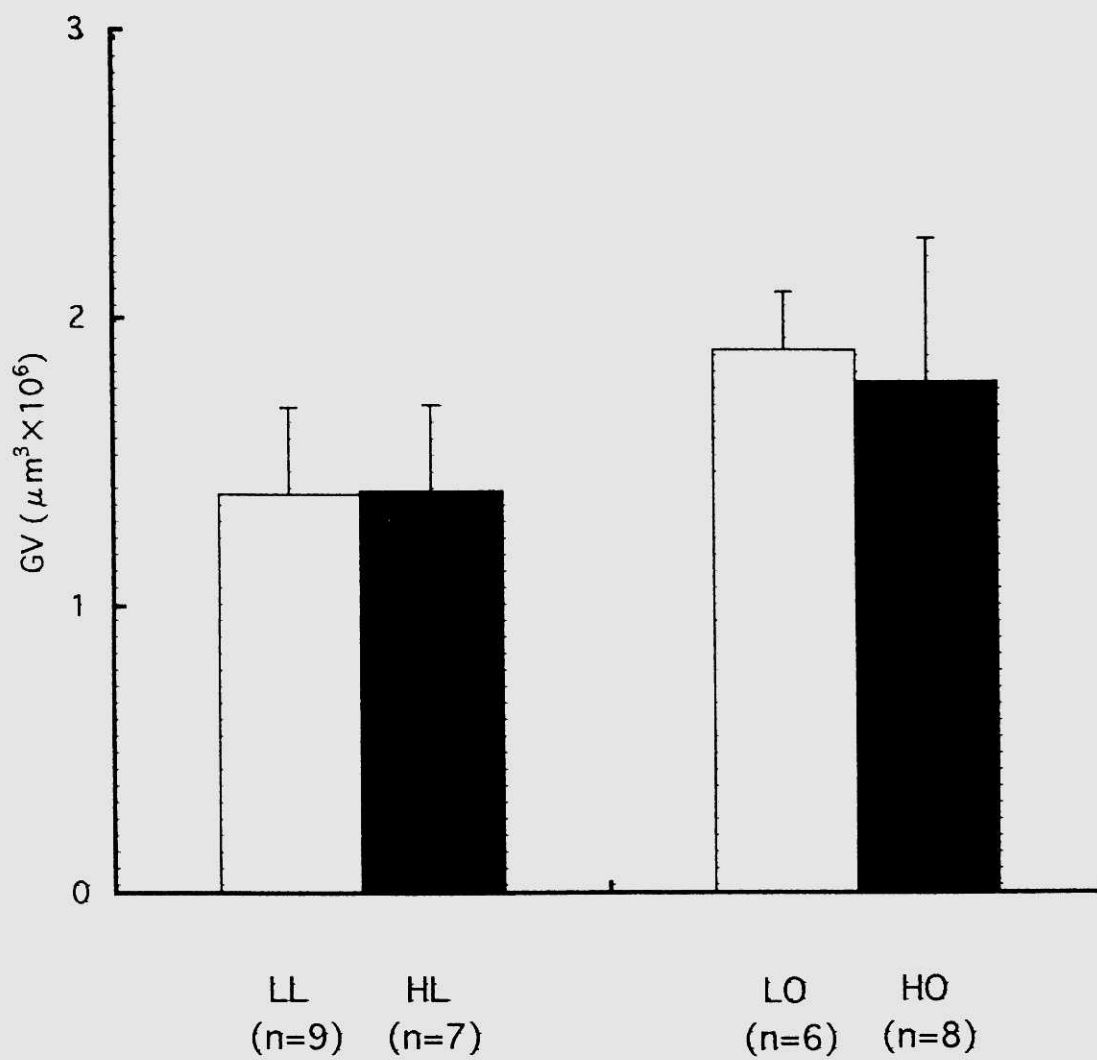


Fig. 8 Glomerular volume in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.
 GV : Glomerular volume

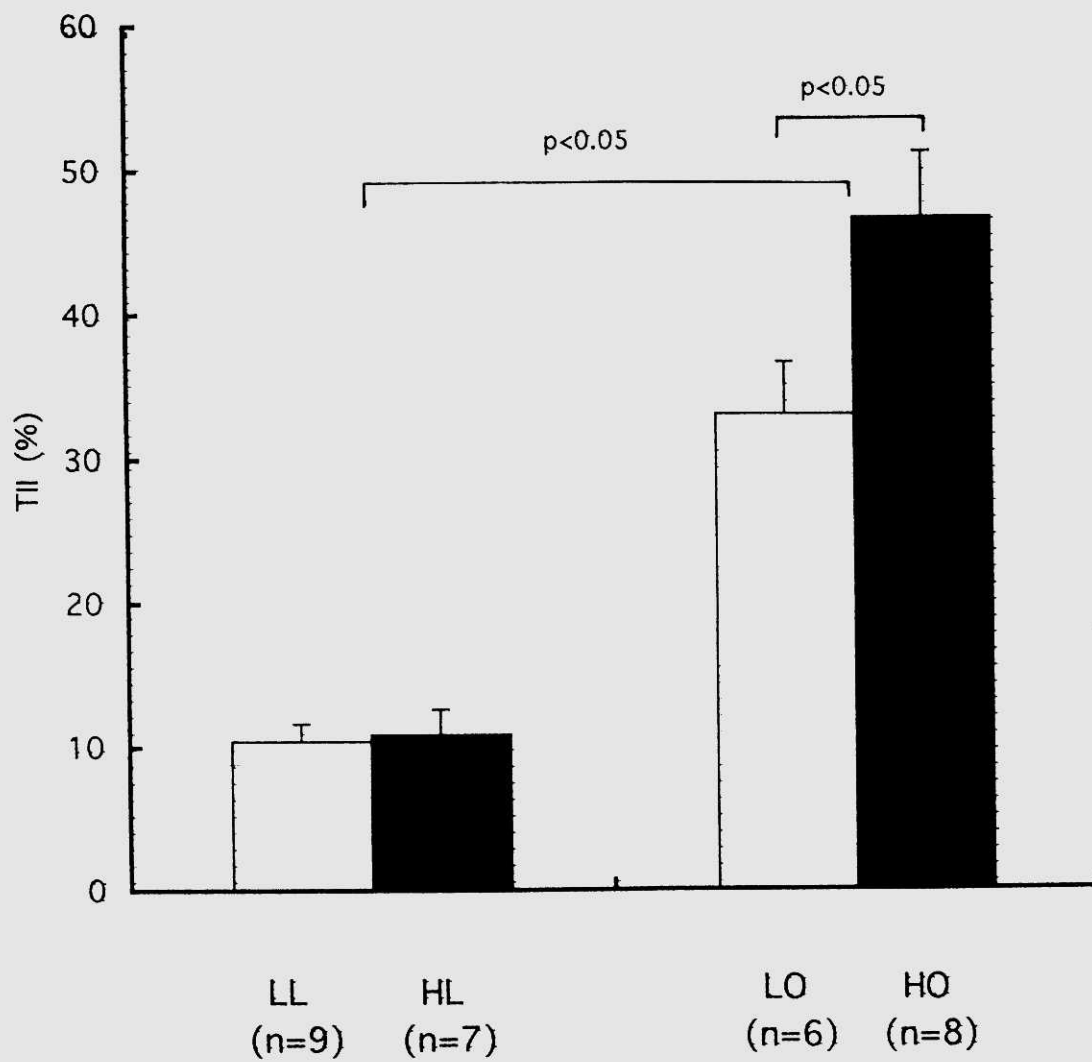


Fig. 9 Tubulointerstitial index in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.

TII : Tubulointerstitial index

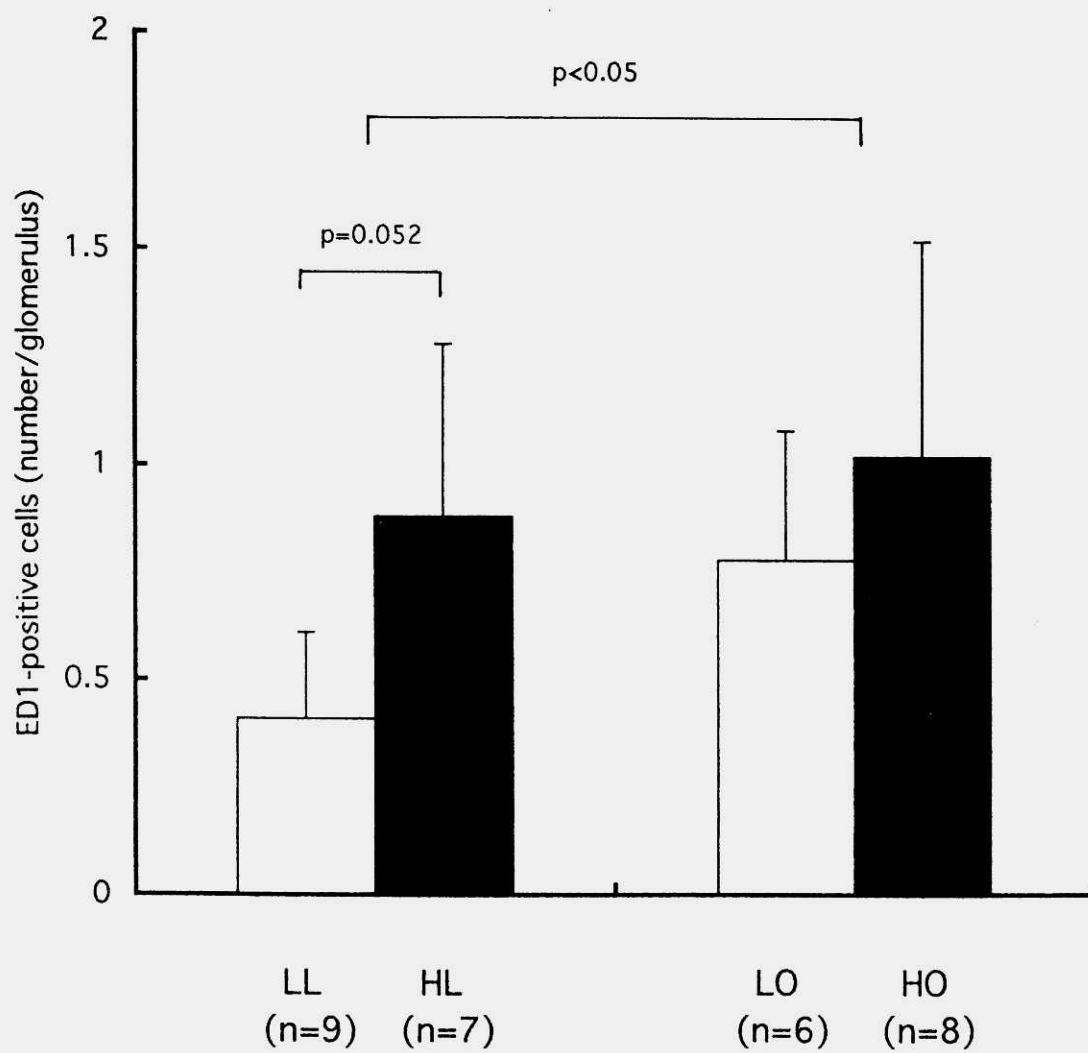


Fig. 10 Macrophage infiltration of glomerulus in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.

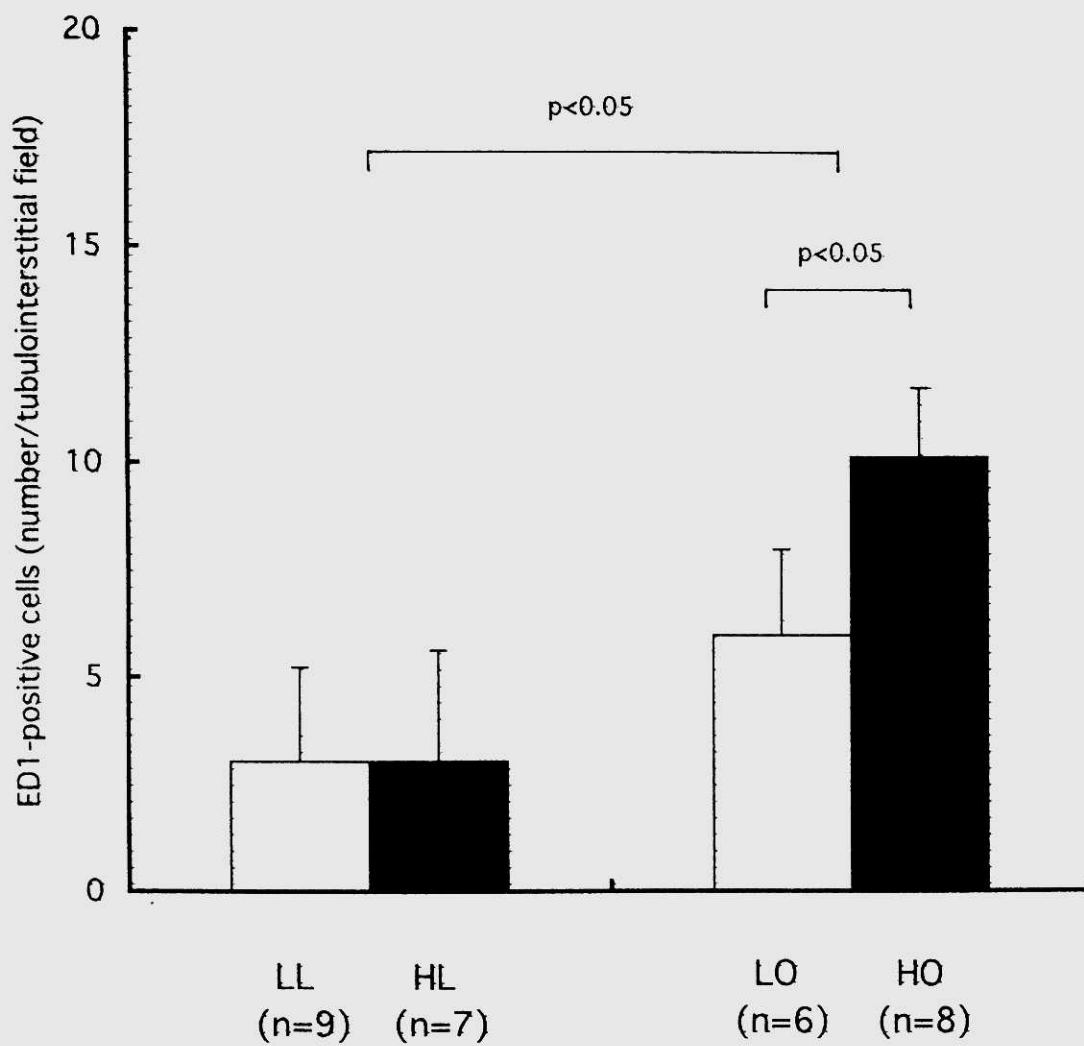
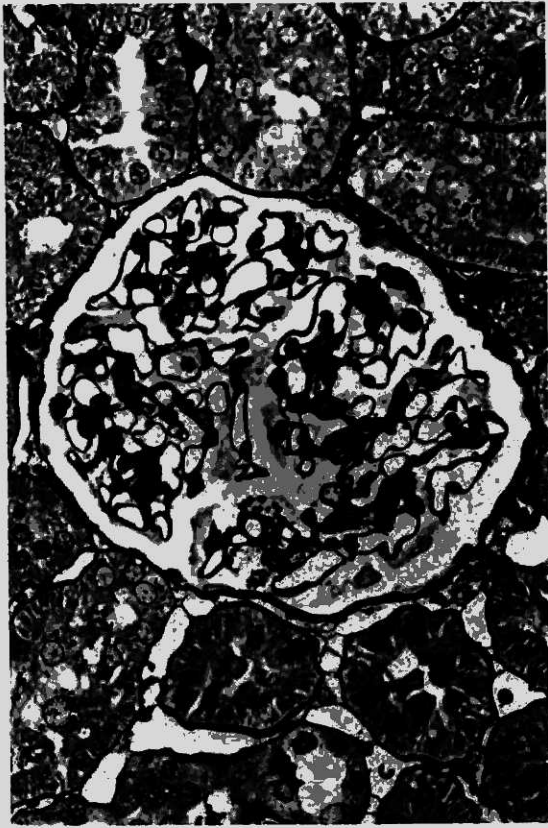
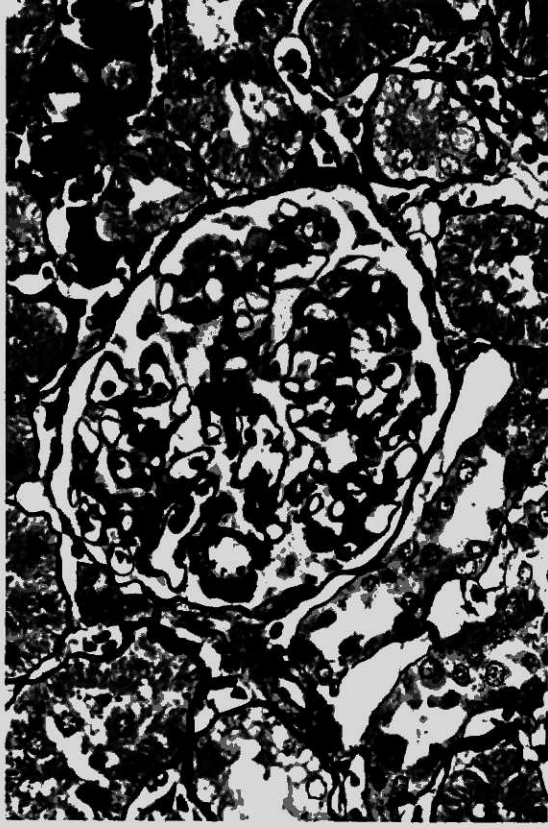


Fig. 11 Macrophage infiltration of tubulointerstitial field in lean and obese Zucker rats fed on low or high fat diet at 30 weeks.



a)



b)

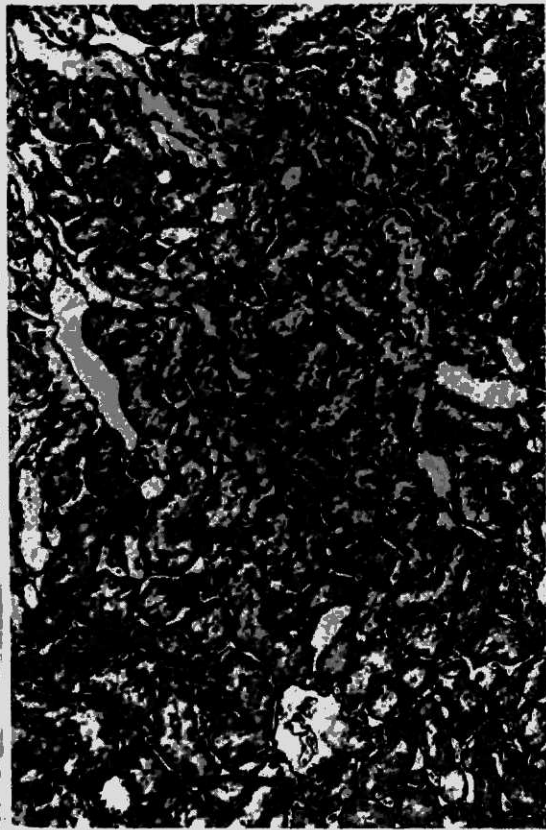


c)



d)

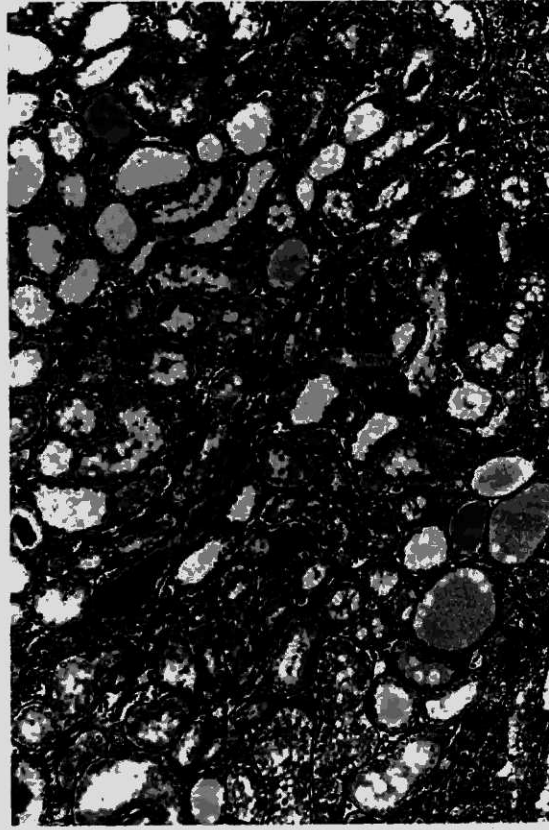
Fig. 12 Light microscopic findings of glomerulus at 30 weeks
a) : LL, b) : HL, c) : LO, d) : HO
(PAM X 400)



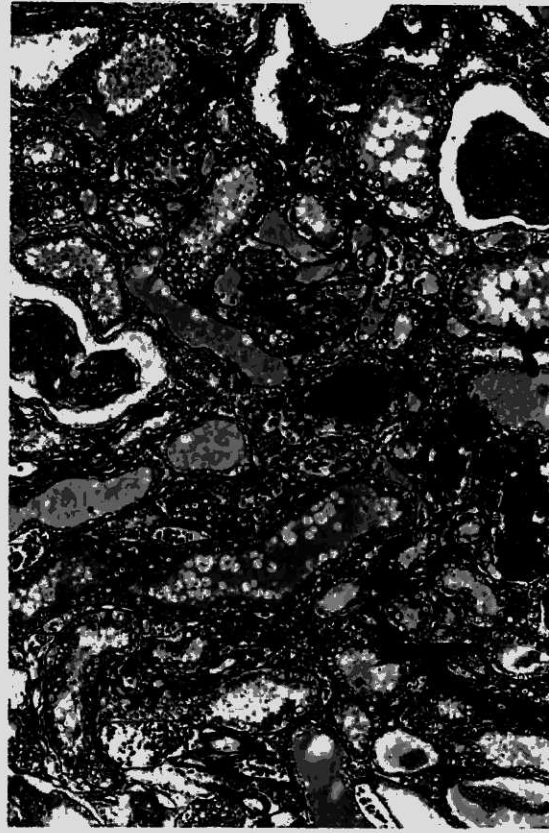
a)



b)

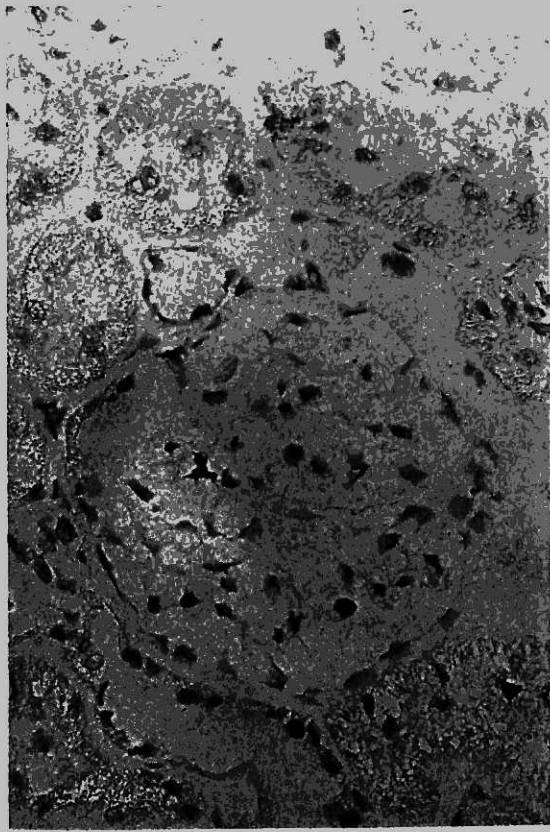


c)

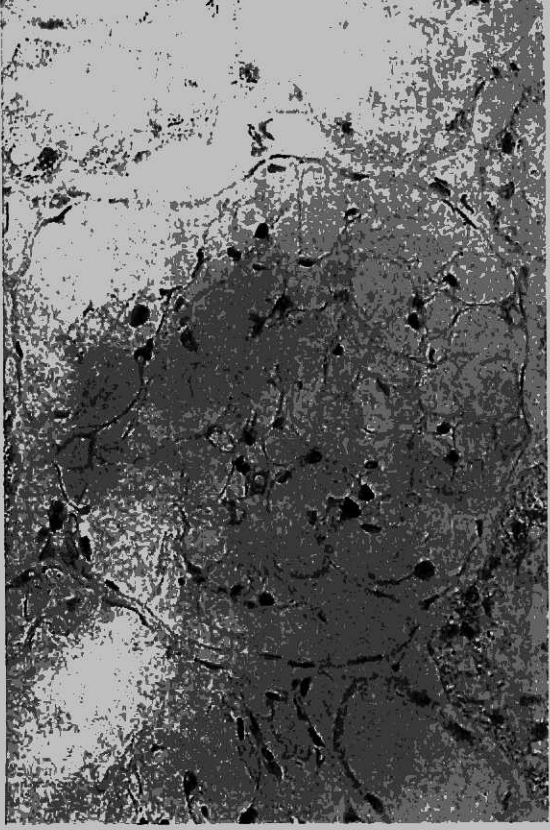


d)

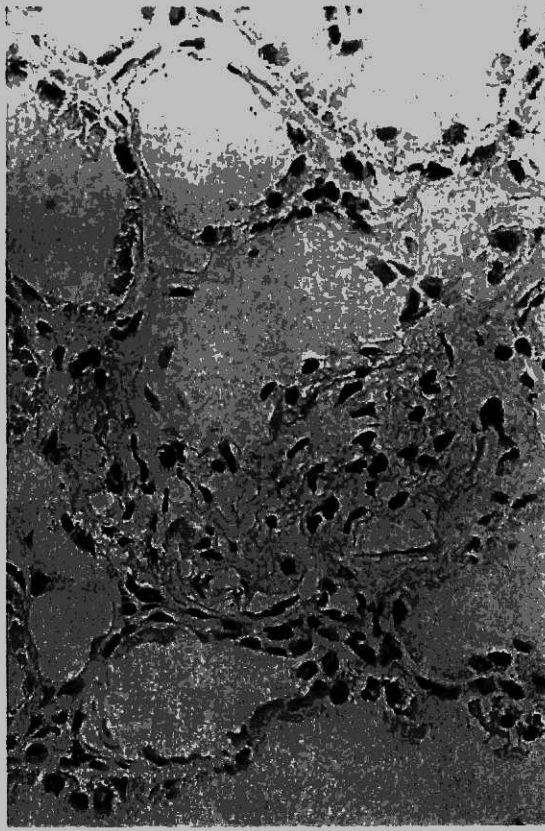
Fig. 13 Light microscopic findings of tubulointerstitial field at 30 weeks
a) : LL, b) : HL, c) : LO, d) : HO (PAMX400)



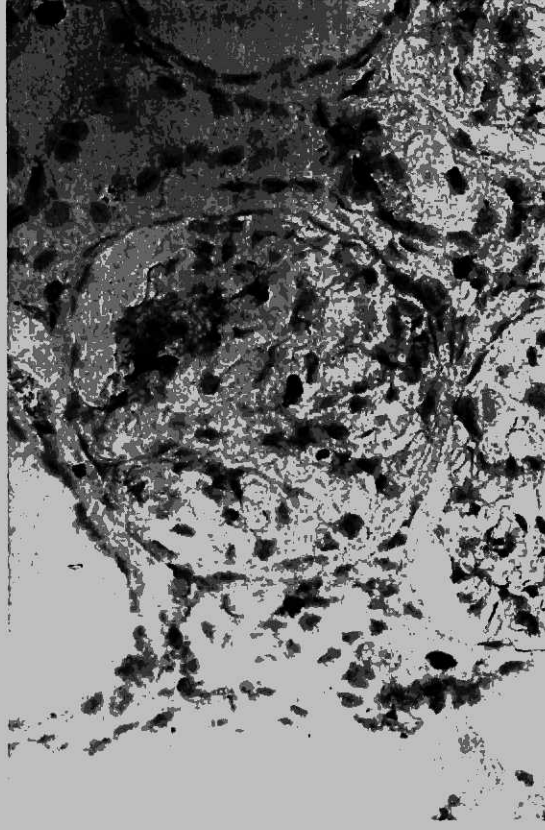
a)



b)

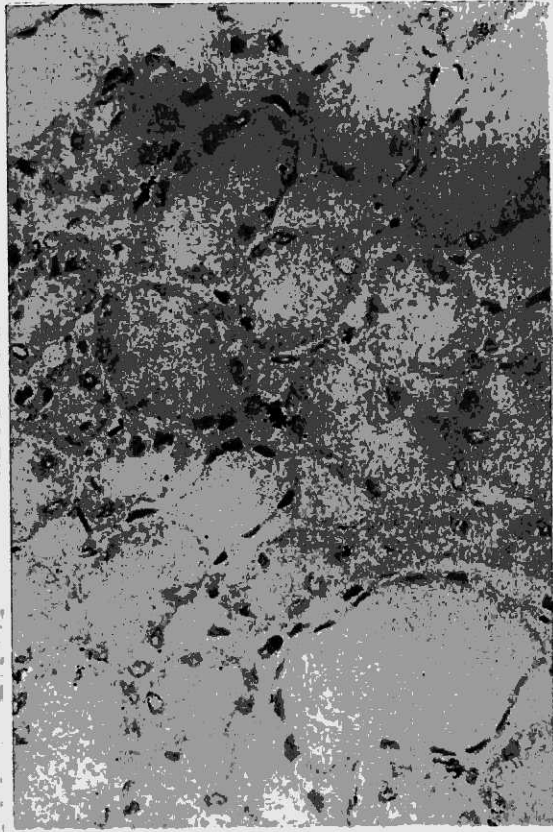


c)

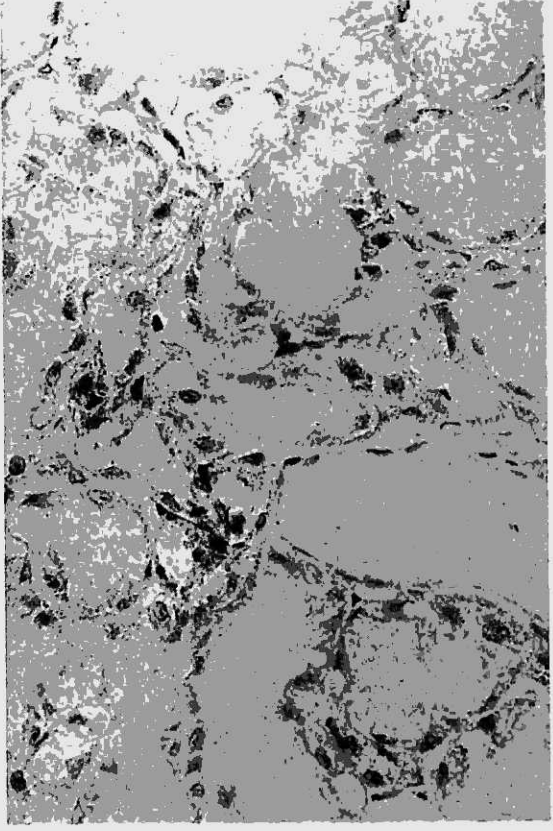


d)

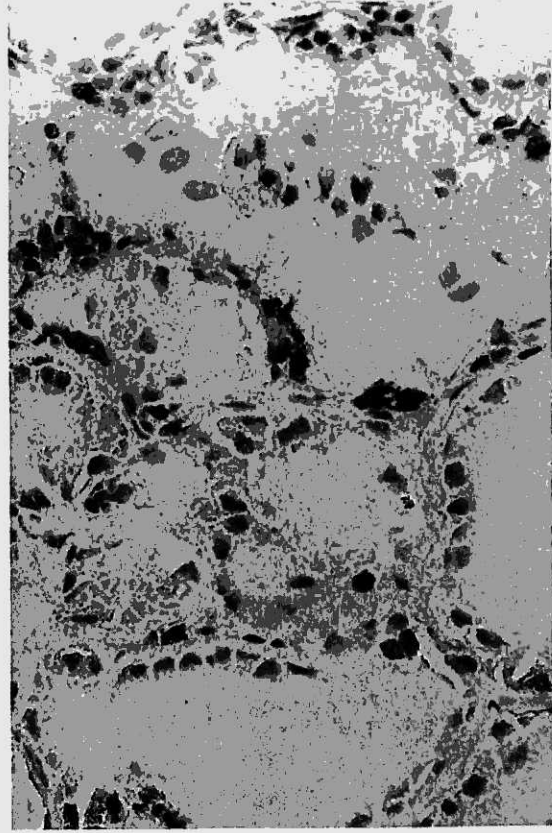
Fig. 14 Immunohistochemistry for monocyte / macrophage of glomerulus at 30 weeks
a) : LL, b) : HL, c) : LO, d) : HO
(ABC X 400)



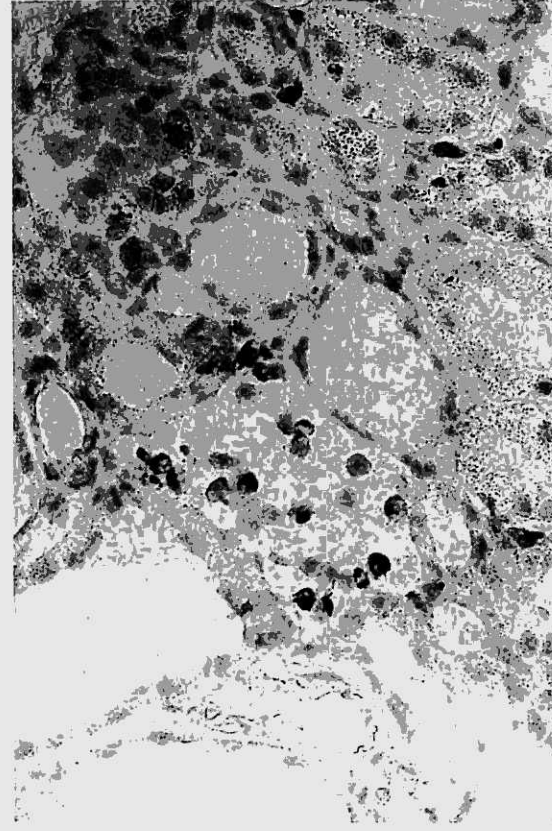
a)



b)



c)



d)

Fig. 15 Immunohistochemistry for monocyte / macrophage of tubulointerstitial field at 30 weeks
a) : LL, b) : HL, c) : LO, d) : HO
(ABCX400)

