タンパク質制限給餌により血液成分に 改善がみられた牛クロードイン-16欠損症の一例

安中篤史 池田浩希 飯塚優介 長縄直樹 安藤貴朗
大塚浩通 朴 天鎬 星 史雄 小山田敏文 渡辺大作

北里大学獣医学部獣医学科

Restriction of protein intake improved blood component levels in a bovine with *Claudin-16* deficiency

A. Annaka, H. Ikeda, Y. Iizuka, N. Naganawa, T. Ando,
C-H. Park, H. Ohtsuka, F. Hoshi, T. Oyamada, D. Watanabe

School of Veterinary Medicine, Kitasato University

要 約 クロードイン-16 (CL-16) 欠損症の9ヶ月齢の黒毛和雌牛に対して、腎臓への負担を軽減する目的で粗飼料のみによるタンパク質制限給餌をおこなった。初診時には軽度の貧血と跛行、血漿尿素窒素 (UN)、クレアチニン (Crea)、総コレステロール (T-chol) およびビタミンA (VA) 濃度が高値を示したが、第40病日では血漿UNとT-cholは著しく減少し、血漿CreaとVA濃度は低下したものの依然高値を示した。貧血および跛行は改善した。本症例ではタンパク質摂取量を制限することで、血液成分を改善することができたと考えられた。

——キーワード：牛、クロードイン-16欠損症、過長蹄、低タンパク質飼料、腎不全

.....家畜臨床誌 30(1):10-15, 2007

ABSTRACT A 9-month-old Japanese black bovine with *Claudin-16* (CL-16) deficiency was maintained on a low-protein diet to reduce the load on the kidneys. At the time of the first examination, the animal had slight anemia and lameness, and high plasma levels of urea nitrogen (UN), creatinine (Crea), total cholesterol (T-chol) and vitamin A (VA). After 40 days on the low protein diet, the clinical symptoms improved, and the values of plasma biochemical variables decreased. But Crea and VA levels remained high, although showing some decrease. These results suggest that a low protein diet might improve blood component levels in cattle with CL-16 deficiency.

——Key Words : cattle, *Claudin-16* deficiency, long hooves, low-protein diet, renal failure

.....Jpn. J. Vet. Clinics 30(1):10-15, 2007

Received 19 September 2006/Accepted 5 December 2006

*Correspondence to : D. Watanabe, School of Veterinary Medicine, Kitasato University, Towada, 034- 8628, Japan
(〒034-8628 青森県十和田市東二十三番町35-1)

E-mail : dwatanab@vmas.kitasato-u.ac.jp

緒 言

牛クローデイン-16 (CL-16) 欠損症は、発育不良や過長蹄を伴う常染色体劣性の遺伝性腎疾患であり、ほとんどが最終的には尿毒症となり死の転帰をとることから経済的損失が大きい疾病である [7, 8, 11, 12, 19, 20]。CL-16タンパク質は牛では腎臓のヘンレの上行脚における太いワナのタイトジャンクションにのみ存在が確認されており [13]、その欠損により尿細管の低形成や間質性腎炎がみられる [8, 14, 17, 20]。

CL-16欠損症では腎機能が障害される結果、血液中の尿素窒素 (UN) およびクレアチニン (Crea) 濃度が上昇し、最終的に尿毒症を起こす [7, 8, 11, 14, 17, 20]。臨床徴候の発現時期は一定ではなく、1ヶ月齢から3回出産した牛まで様々な報告があるが、多くの症例は出生時に異常がみられず、加齢に伴って発育不良や過長蹄など症状が発現している [7, 8, 11, 14, 19, 20]。症状発現の時期がばらつく要因について検討した報告はなく、また栄養状態と症状の関連を調査した報告もみられない。

ヒト [10, 16]、犬 [2, 3, 5, 15, 18] および猫 [1] の慢性腎疾患においては、タンパク質やリンを制限する食事または食餌療法が推奨されている。タンパク質およびリン制限の有用性としては、尿毒症症状の改善、腎機能低下の抑制、高リン血症と高カリウム血症の是正があげられる [1, 10, 16, 18]。ヒトおよび犬では、タンパク質およびリンの摂取制限が尿毒症の進行を抑制するという報告が多いが [2, 3, 5, 10, 15, 16]、延命効果や腎機能の改善効果については一定の見解は得られていない [3, 10]。また、牛の遺伝性腎疾患に対して食餌療法を行った報告はみられない。このため、CL-16欠損牛の一症例に対する低タンパク質飼料給餌の影響を調査したのでその概要を報告する。

図 1. 来院時の症例

症 例

症例は、臨床症状と血統からCL-16欠損症が疑われ、遺伝子検査によりType 1のCL-16欠損症と診断され本学付属動物病院に提供された9ヶ月齢の黒毛和種雌牛で (図1)、来院時の体重は253kgとほぼ正常発育であった。

タンパク質の摂取制限：本症例では事前に腎機能障害があることが判明していたことから、入院当初より腎臓の負担を軽減させるために粗飼料のみによる低タンパク質飼料で飼育 (以下、タンパク質制限給餌) した。飼料計算は、来院前の飼料は来院直前の給与飼料を聞き取り調査し、来院前および来院後の給与飼料、給与量、飼料成分量および充足率について表1に示した。なお、飼料

表 1. 症例の来院前後の給与飼料と飼料設定

給与飼料と給与量		
給与飼料	来院前 (kg)	来院後 (kg)
稲ワラ	1.0	0
ルーサン乾草	0.8	0.8
オーツヘイ	0	1.0
自家乾草	0	2.0
チモシー乾草	0	1.0
子牛配合	3.3	0
フスマ	1.5	0

飼料成分と給与量、充足率		
	来院前**	来院後
体重(kg)*	253	253
DG***	0.90	0.10
TDN給与量(kg)	3.96	2.04
TDN充足率	1.01	0.98
DCP給与量(g)	676	255
DCP充足率	1.73	1.46
乾物給与量(kg)	5.79	5.56
乾物充足率	1.04	1.31
VA給与量(IU)	20,800	18,000
VA充足率	1.94	1.68
Ca給与量(g)	22	23
Ca充足率	0.78	2.33
P給与量(g)	29	9
P充足率	1.94	0.96
Mg給与量(g)	18	9
乾物中NDF(%)	37	56

* 来院前の給与飼料は直前の給与量で計算した。

** 来院前体重は来院時の体重とし、充足率を求めた。

*** DG; dairy gainは飼料計算から発育可能な数値を設定した。充足率は体重、DGをもとに日本飼養標準 肉用牛 (2000年版) により求めた。

表 2. 症例の血液検査所見

項 目	第 1 病日	第 2 病日
RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	707	987
Hb (g/dl)	9.1	13.0
Ht (%)	26.2	36.8
MCV (fl)	37.1	37.3
MCH (pg)	12.9	13.2
MCHC (g/dl)	34.7	35.3
PLT ($10^4/\mu\text{l}$)	44.6	63.2
WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	77	69
Band ($/\mu\text{l}$)	154	0
Seg ($/\mu\text{l}$)	1,925	2,277
Lymp ($/\mu\text{l}$)	5,198	4,278
Mono ($/\mu\text{l}$)	231	311
Eosin ($/\mu\text{l}$)	154	35
Baso ($/\mu\text{l}$)	39	35

図 2. 腎臓の病理解剖所見

A: 左腎; 腎表面は粗造で褐色を呈している
B: 右腎横断面の拡大像; 卑湿に線状白色斑が慢性に認められる

表 3. 症例の血液生化学検査値の推移

検査項目	第 1 病日	第10病日	第18病日	第26病日	第30病日	第40病日
TP (g/dl)	6.2	6.6	6.9	6.6	6.7	6.4
ALB (g/dl)	3.7	3.8	3.7	3.6	3.6	3.5
A/G	1.48	1.36	1.16	1.20	1.16	1.21
Glu (mg/dl)	92	82	75	72	92	71
T-chol (mg/dl)	201	150	98	61	62	66
UN (mg/dl)	79.6	58.4	42.3	32.7	26.8	15.7
Crea (mg/dl)	3.6	3.3	3.3	3.1	2.8	2.9
VA (IU/dl)	483	418	322	330	333	283
AST (IU/l)	110	83	98	78	82	88
γ -GT (IU/l)	11	15	16	5	16	12
TB (mg/dl)	0.34	0.25	0.26	0.21	0.24	0.26
DB (mg/dl)	0.06	0.05	0.04	0.03	0.03	0.05
LDH (IU/l)	3576	1055	1064	1037	3308	1055
CPK (IU/l)	608	171	231	229	234	292
iP (mg/dl)	7.0	8.6	6.7	7.2	7.5	6.9
Ca (mg/dl)	9.9	12.0	11.6	11.6	11.9	10.6
Mg (mg/dl)	2.9	2.3	2.2	2.1	1.9	1.4

TP; 総タンパク質、ALB; アルブミン、Glu; 血糖、T-chol; 総コレステロール、UN; 尿素窒素、Crea; クレアチニン、VA; ビタミンA、AST; アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 γ -GT; γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、TB; 総ビリルビン、DB; 直接ビリルビン、LDH; 乳酸脱水素酵素、CPK; クレアチンホスホキナーゼ、iP; 無機リン、Ca; カルシウム、Mg; マグネシウム

計算は日本飼養標準 肉用牛（2000年版; 中央畜産会、東京）に基づいておこない、来院前体重は来院時体重と同じとして充足率を求めた。来院前と来院後で一日当たりの可消化粗タンパク質量（DCP）は676gから255gに、可消化養分総量（TDN）は3.9kgから2.0kgに、VA供給量は20,800IUから18,000IUとなった。また、リンは29g

から9gに大きく減少し、結果的にリン制限給餌となった。このタンパク質制限給餌により、dairy gain（DG）の設定は来院前の0.9kgから来院後は0.1kgとなったが、増体を低く設定したため、可消化養分総量、可消化タンパク質およびミネラルなどの各栄養成分は体重を維持するには十分な充足率であった。

臨床症状：初診時は体温39.4℃、心拍数80回/分、呼吸数30回/分で、軽度の跛行および軽度の過長蹄がみられた。タンパク質制限給餌をおこなったところ、跛行は次第に軽減し、第14病日以降では消失した。来院時に低下していた食欲および活力も次第に旺盛になり、第4病日以降は与えた飼料を完食した。入院期間中の体重変動はなく、第49病日に安楽殺した。

血液検査所見：初診時にヘモグロビン、ヘマトクリット値は軽度の低値を示し、白血球百分比には顕著な異常を認めなかった。第30病日には貧血が改善した（表2）。血液生化学所見では、初診時に血漿UN、Creaおよび総コレステロール（T-chol）濃度の中等度の増加とビタミンA（VA）濃度の著しい高値を認めた。タンパク質制限給餌により、血漿UN濃度は初診時と第40病日で79.6 mg/dlから15.7mg/dlに、血漿T-chol濃度は201mg/dlから66mg/dlにそれぞれ著しく減少した。血漿Crea濃度は3.6 mg/dlから2.8mg/dlに、血漿VA濃度は483IU/dlから283 IU/dlにとそれぞれ減少したものの、依然高値を示した。また、血漿カルシウム（Ca）および無機リン（iP）濃度は基準値の範囲にあり、経過中に大きな変化はみられなかった。一方、血漿マグネシウム（Mg）濃度は経過に伴い減少した（表3）。また、初診時の血漿Na、K、およびCl濃度はそれぞれ146、4.2、および98mEq/lであり、血漿Cl濃度がやや低値を示した以外は基準値の範囲であった。

血清エリスロポエチン（Epo）濃度の測定：腎性貧血を疑い、初診時における血清Epo濃度を抗ヒトエリスロポエチン抗体を用いた2抗体RIA法（リコンビンジョンEPOキット、（株）三菱化学ヤトロン）により測定した。対照として月齢の近い臨床症状に異常のない黒毛和種牛4頭（8～9ヶ月齢）を用いて比較した。症例の血清Epo濃度は7.6mU/mlであったのに対し、対照牛は9.0±1.8mU/mlで、症例と対照牛との間に大きな差は認められなかった。

尿検査所見：第29病日の尿検査所見では、タンパク質±、pH7.5、尿比重1.020で、潜血、ケトン体および糖は陰性であった。

病理所見：病理解剖所見では、腎臓は左右共に表面が粗造で褐色を呈し、皮質には線状白色斑がび慢性に認められた（図2）。左腎は長径14.2cm、重量220gで、右腎は長径13.6cm、重量215gであった。その他の臓器に顕著な異常は認められなかった。腎臓の病理組織所見では、糸球体の辺縁不整と基底膜の肥厚、腎尿細管の低形成と嚢胞性拡張、尿細管上皮細胞の脱落などが認められた（図3）。

図3. 腎臓の病理組織所見（HE染色）
黒矢印：糸球体辺縁不整と基底膜の肥厚
白矢印：尿細管の嚢胞性拡張
黒矢頭：尿細管の上皮細胞の脱落
白矢頭：尿細管の低形成

考 察

牛CL-16欠損症は発生頻度が高く、経済的な影響も大きいことから多くの研究がおこなわれ、その臨床症状、発病原因および予防法が明らかにされている[7, 8, 11-14, 17, 19-21]。しかし病態はいまだ不明な点が多く、しばしばみられる過長蹄や貧血の原因に関する報告はほとんどみられない[21]。本症例でも軽度の貧血を認めたため、腎臓で生成される血清Epo値を測定した結果、対照牛との間に差はみられず、この症例の貧血は腎機能障害によるEpo分泌障害に起因したものではないことが示唆されたが、貧血の原因究明には至らなかった。

CL-16欠損症は発症時期が広範囲で、なかには3産までした繁殖牛の報告もある[19, 20]。こうした症状の発現時期と病状の差異に関しては、いわゆる「個体差」として説明されることが多いが、CL-16欠損症の多くが濃厚飼料を多給するようになってから臨床徴候を発現することから、著者らはタンパク質摂取量の増加が発症時期や病状に影響を与えているのではないかと仮説に基づきタンパク質制限給餌を行った。

その結果、病初にみられた跛行は消失し、血漿UN、Crea、VAおよびT-chol濃度は低下した。跛行の原因および跛行が消失した理由は不明であった。血漿UN濃度の低下はタンパク質の摂取量が減少し、その代謝産物であるUNの産生量が減少したことが大きな要因と考えられた。血漿T-chol濃度の減少も同様に、タンパク質摂取量および可消化養分総量の減少によると考えられた。

クレアチニンは窒素化合物のうちで最も排泄が容易な成分で、糸球体基底膜を自由に通過し尿細管からの再吸

収も分泌もなく、このため血清Crea濃度の増加は腎障害と糸球体濾過量の低下を反映する [6]。また、Creaは筋肉中でクレアチンから生成され、その生成量は肝臓で合成されるクレアチンの量と比例することが知られており、肝障害、代謝障害および体重の変動がなければ基礎生成量は大きく変わらない [6]。本症例では、肝障害もみられず、タンパク質摂取制限をしたものの体重を維持するには十分な栄養量を給与しており、体重の変化はなかった。このことから、血漿Crea濃度の低下は糸球体濾過率が改善した結果であることが示唆された。

また血清Mg濃度は、給与量が来院前の18gから9gに減ったことで経過中次第に低下したが、同じ飼料給与量にも関わらず第30病日以降に血漿UNおよびCreaとともにさらに低下したことは糸球体濾過率の改善を示唆する成績かもしれない。CL-16欠損症の末期には低Ca血症がしばしばみられる [11, 19, 20] が、本症例ではCaが必要量給与され、かつ末期腎でなかったために血漿Ca濃度は基準値の範囲であったと考えられた。血漿iP濃度はCL-16欠損牛では高値を示す [11, 20] が、本症例では当初より基準値の範囲にあり、さらにリン摂取制限により増加が抑制された可能性が考えられた。

生体内において、VAの運搬に深く関与するレチノール結合蛋白 (RBP) はhoro-RBPとしてレチノールを運搬後、apo-RBPとなり腎糸球体から濾過され、そのほとんどは尿細管から再吸収されて尿細管上皮細胞で異化除去される [9] が、ヒトの慢性腎疾患では糸球体濾過率の低下や異化除去が減少することで血中VAおよびRBP濃度が高値を示すことが報告されている [4]。CL-16欠損症牛でも同様の報告があり [21]、本症例においても血漿VA濃度の著しい高値が認められた。本症例のタンパク質制限給餌中のVA給与量は計算上で日本飼養標準の充足率を大きく上回っていたにも関わらず、経過中に血漿VA濃度は大きく低下した。血漿VAおよびRBP濃度に正の相関がみられること [21] から、前述のように糸球体濾過率が改善したことで血漿RBP濃度が低下し、血漿VA濃度も低下したものと考えられた。しかし、第40病日での血漿VA濃度が283IU/dlと依然として正常子牛の上限値 [14] を超えていたことは、血漿Cre濃度の高値と併せて腎機能が正常でないことを示唆するものであった。このことは病理組織学的な所見で、尿細管の低形成、尿細管上皮細胞の変性と剥離、および糸球体の辺縁不整と基底膜の肥厚など、腎組織の異常がみられたことから裏付けられた。

本研究から、CL-16欠損症を発症しても症状が軽度な

症例ではタンパク質制限給餌を行うことで腎機能の低下を抑制することが示唆された。また今回の症例では、タンパク質を制限したことで結果的にはリン摂取も制限することになり、また体重を維持するには十分な栄養を与えたことと併せて、良好な経過をたどったと考えられた。今回の成績は、粗飼料中心で飼育されたCL-16欠損症の繁殖牛において、初産や3産目まで臨床徴候を発現しなかった症例 [19, 20] が存在した理由の一部を示唆しているかもしれない。

本症例でも体重増加がなかったように、増体が求められる育成牛や肥育牛においてタンパク質制限給餌は現実的ではなく推奨されない。また、CL-16欠損症は最終的に尿毒症により致死経過をとることから、保因牛同士の交配を避けて本症の発生を未然に防止することが最も重要であると考えられる。

稿を終えるにあたり、症例の提供に尽力いただいた福島県農業共済組合連合会 山野辺浩先生に感謝する。本研究の一部は、(株)畜産技術協会DNA育種技術開発実用化事業委託研究費により実施した。

文 献

1. Bartola, S. P. and Rutgers, H. C. (1993). 慢性間質性腎炎：猫の内科学 (Ⅱ) (加藤 元, 大島 慧監訳), pp.1336-1340, 文永堂出版, 東京.
2. Finco, D. R., Crowell, W. A. and Barsanti, J. A. (1985). Effects of three diets on dogs with induced chronic renal failure. *Am. J. Vet. Res.* 46 : 646-653.
3. Finco, D. R., Brown, S. A., Crowell, W. A., Dunkan, R. J., Barsanti, J. A. and Bennet, S. E. (1992). Effects of dietary phosphorus and protein in dogs with chronic renal failure. *Am. J. Vet. Res.* 53 : 1163-1170.
4. Goodman, D. S. 小林 正 訳 (1974). レチノール結合タンパク質及びビタミンA代謝の栄養学的展望. *ビタミン* 48 : 495-501.
5. Jacob, F., Polzin, J. D., Osborne, A. C., Allen, T. A., Kirk, C. A., Neaton, J. D. and Lekcharoensuk, C. (2002). Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic renal failure in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220 : 1163-1170.
6. 河合 忠 (1996). クレアチン・クレアチニン：異常値の出るメカニズム (第3版) (河合 忠, 屋形稔編), pp.106-109, 医学書院, 東京.
7. 北川 均, 鬼頭克也, 大場恵典, 佐々木榮英 (2005).

- 尿細管形成不全:獣医内科学 大動物編 (川村清市, 内藤善久, 前出吉光編), pp.290-292, 文永堂出版, 東京.
8. 北川 均 (2006). 尿細管形成不全 (パラセリン 1 / クローディン16欠損症): 牛の先天異常 (浜名克己編), pp.16-18, 学窓社, 東京.
 9. 武藤泰敏 (1980). レチノール-RBP輸送系の調節とその病態: ビタミン学 I (日本ビタミン学会編), pp. 57-62, 東京化学同人, 東京.
 10. 成瀬友彦, 渡邊有三 (2002). 慢性腎不全における蛋白制限の効果. 現代医学 50: 155-158.
 11. Ohba, Y., Kitagawa, H., Okura, Y., Kitoh, K. and Sasaki, Y. (2001). Clinical features of renal tubular dysplasia, a new hereditary disease in Japanese Black cattle. Vet. Rec. 149: 115-118.
 12. Ohba, Y., Kitagawa, H., Kitoh, K., Oikawa, T. and Sasaki, Y. (2001). Inheritance of renal tubular dysplasia in Japanese Black cattle. Vet. Rec. 149: 153-154.
 13. Ohta, H., Adachi, H., Takiguchi, M. and Inaba, M. (2006). Restricted localization of Claudin-16 at the tight Junction in the thick ascending limb of Henle's loop together with Claudins 3, 4 and 10 in bovine nephrons. J. Vet. Med. Sci. 68: 453-463.
 14. Okada, K., Ishikawa, N., Fujimori, K., Gogyo, M., Ikeda, M., Sasaki, J., Watanabe, D., Takasuga, A., Hirano, T. and Sugimoto, Y. (2005). Abnormal development of nephrons in Claudin-16-defective Japanese black cattle. J. Vet. Med. Sci. 67: 171-178.
 15. Polzin, D. J., Osborne, A. C., Hayden, D. W. and Stevens, J. B. (1983). Effects of modified protein diets in dogs with chronic renal failure. J. Am. Vet. Med. Assoc. 183: 980-986.
 16. 佐中 孜 (2000). 腎不全の食事療法の実践と問題点. Medical Practice 17: 1911-1917.
 17. Sasaki, Y., Kitagawa, H., Kitoh, H., Okura, Y., Suzuki, K., Mizukoshi, M., Ohba, Y. and Masegi, T. (2002). Pathological changes of renal tubular dysplasia in Japanese Black cattle. Vet. Rec. 150: 628-632.
 18. 佐藤れえ子 (2005) 慢性腎不全: 獣医内科学 小動物編 (岩崎利郎, 辻本 元, 長谷川篤彦編), pp. 266-270, 文永堂出版, 東京.
 19. 高橋雅博, 草薙 純, 瀬田川 清, 斉藤一秋, 太田和広, 藤島信賢, 金田郁雄, 小松 茂, 斎藤幸夫, 小玉 肇, 與齊和博, 佐藤 司, 鈴木敏規 (2001). 秋田県内における黒毛和種牛クローディン16欠損症の発生状況について. 家畜診療 46: 379-383.
 20. 渡辺大作, 伴 顕, 高橋雅博, 石川 弘, 渡辺昭夫, 山野辺 浩, 角金俊一, 藤森康一郎, 三宅陽一, 岡田幸助, 大塚浩通, 小黒雅史, 川村清市, 平野 貢, 杉本喜憲, 阿部省吾, 齋藤博水 (2002). 東北地方における牛クローディン-16欠損症の遺伝学的調査と臨床病理学的特徴. 家畜臨床誌 25: 1-10.
 21. 渡辺大作, 阿部省吾, 植松正巳, 阿部 榮, 遠藤祥子, 後藤浩人, 小林隆之, 藤倉尚士, 小形芳美, 伴 顕, 平野 貴, 杉本喜憲, 齋藤博水 (2004). 腎不全牛における過長蹄の発現と血清ビタミンAおよびレチノール結合蛋白の動態. 家畜臨床誌 27: 41-45.