

令和元年5月22日現在

機関番号：35408

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K16216

研究課題名(和文)血液透析患者に多発する造血障害及び血圧異常症の基礎研究-亜鉛と鉄栄養からの検討-

研究課題名(英文) Study of hematopoietic disorder and blood pressure abnormality which occur frequency in hemodialysis patients. -Approach from zinc and iron condition-

研究代表者

許斐 亜紀 (Konomi, Aki)

安田女子大学・家政学部・講師

研究者番号：40529658

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：亜鉛欠乏もしくは食餌制限により血中EPO濃度は低下するが、腎臓中EPO mRNA量は大きく異なり、mRNAレベルでは異なることを報告している。この原因を明らかにするために関連遺伝子への影響を検討した。危険率は5%未満を有意とした。腎臓髄質でのGATA1、Gatad1、2a、2b、HIF1a、1anのmRNA量は、対照群に比べ亜鉛欠乏と食餌制限の2群で有意に減少していたが、2群間には差がみられなかった。また、皮質ではすべての遺伝子で有意な差はみられなかった。以上の結果から、亜鉛欠乏及び食餌制限で生じる造血障害にこれらの遺伝子が影響しているが、造血障害の質的な差への関与は低いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、亜鉛が造血及び血圧調節にかかわる遺伝子に及ぼす作用を精査し、これら疾患の発生機序を明らかにすることを目的として実施した。亜鉛欠乏ないし食餌制限で生じる造血障害にGATA1、Gatad1、Gatad2a、Gatad2b、HIF1aおよびHIF1an遺伝子が影響していることを明らかにしたが、造血障害発生メカニズムの質的な差を説明するためにさらに検討が必要である。最終的には、血液透析患者に多発する「難治性造血障害」と「血圧異常症」の新規治療法の開発につながる。

研究成果の概要(英文)：We reported before that plasma erythropoietin concentration and kidney erythropoietin mRNA levels were significantly different between zinc deficiency and diet restriction. Therefore, we have examined whether zinc deficiency and diet restriction affect GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, Gatad1, Gatad2a, Gatad2b, HIF1a, HIF1an and HIF3a in kidney medulla and cortex. GATA1, Gatad1, Gatad2a, Gatad2b, HIF1a and HIF1an concentrations in the kidney medulla of ZD and PF were significantly decreased compared with Control. All genes were not significantly changed in kidney cortex. These results suggest that kidney erythropoietin expression is decreased by zinc deficiency and diet restriction, and both conditions affect expression of GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, Gatad1, Gatad2a, Gatad2b, HIF1a, HIF1an and HIF3a in kidney medulla.

研究分野：栄養学

キーワード：亜鉛 造血 エリスロポエチン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化の進行に伴い、わが国では糖尿病性腎症の最終ステージである血液透析患者が増加しており、それに併発する難治性の腎性貧血と血圧異常症が重要な医療問題となっている。亜鉛と鉄は同時に欠乏しやすく、これらの病態の背景に亜鉛・鉄代謝異常が存在していると推測され、臨床においても亜鉛・鉄投与が試みられるようになってきた。ヒトを用いた研究は倫理的に困難を伴ううえに限界もある。そこで、亜鉛・鉄同時欠乏動物モデルを用いた基礎研究が望まれるが、その作製が国際的に困難であり、実施されることはなかった。申請者は、この亜鉛・鉄同時欠乏の動物モデル作製に成功し、これら疾患の基礎研究を行ってきた。これまでに、亜鉛単独欠乏時は血中エリスロポエチン濃度の低下を招き、造血能が低下すること、ならびに、亜鉛・鉄同時欠乏では低血圧を招くことを、世界に先駆けて発見した。

### 2. 研究の目的

我が国の重要な医療問題に「難治性造血障害」と「血圧異常症」がある。これら疾患の発生原因の一つとして、亜鉛や鉄の代謝異常を提言してきた。

これまでに、亜鉛欠乏時に血中エリスロポエチン濃度が低下し、腎臓中エリスロポエチン発現量も低下していること、鉄単独欠乏時に発症すると考えられていた二次性低血圧が、鉄と亜鉛の同時欠乏下で発生することを世界で初めて明らかにした。

本研究では、亜鉛が造血及び血圧調節にかかわる遺伝子に及ぼす作用を精査し、これら疾患の発生機序を明らかにする。

研究の最終目的は、血液透析患者に多発する「難治性造血障害」と「血圧異常症」の新規治療法の開発を目指すことである。

### 3. 研究の方法

ラットは3週齢の Sprague-Dawley 系雄性ラットを使用し、各群 10 匹ずつになるように、AIN-93G 飼料を与えた対照群 (Control)、中等度亜鉛欠乏飼料 (4.5 mg Zn/kg) を与えた亜鉛欠乏群 (ZD)、AIN-93G 飼料を前日の ZD 群が摂取した量を与えた pair-fed 群 (PF) に群別し、4 週間飼育した。解剖時に採取した腎臓を皮質と髄質に分け測定サンプルとした。

分析はいずれも Bio-Rad 社製の Quantitative real time RT-PCR および Taq-Man probe を用いた。測定項目は GATA1-6、Gata1、Gata2a、Gata2b、HIF1a、HIF1an および HIF3a の 12 種類である。得られたデータは Grubbs test で棄却検定を行った後、データに正規性が認められない場合、Kruskal-Wallis 検定後、Conover-Iman 検定により群間比較を行なった。データに正規性があり、等分散性が認められる場合には ANOVA 後に、PLSD により群間比較を行い、等分散性が認められない場合には ANOVA 後に、Separate Variance PLSD により群間比較を行った。危険率は 5% 未満を有意とした。

### 4. 研究成果

これまでの研究により、亜鉛欠乏により Total RNA や Housekeeping-gene (ACTB および GAPDH) そのものが減少することが分かったので、組織重量当たりの発現量で示している。腎臓髄質中の GATA1 の組織重量当たりの mRNA 発現量は Control に比べ ZD と PF で有意に減少していた (それぞれ  $P=0.033$ 、 $0.045$ )。Gata1 の組織重量当たりの mRNA 発現量は ZD と PF が Control の約 50% まで減少していた (それぞれ  $P=0.047$ 、 $0.030$ )。Gata2a の組織重量当たりの mRNA 発現量は ZD と PF が Control の約 50% 以下まで減少していた (それぞれ  $P=0.036$ 、 $0.024$ )。Gata2b の組織重量当たりの mRNA 発現量は ZD と PF が Control に比べ約 40% まで減少していた (それぞれ  $P=0.021$ 、 $0.021$ )。HIF1a の組織重量当たりの mRNA 発現量は ZD と PF が Control に比べ約 40% まで減少していた (それぞれ  $P=0.008$ 、 $0.005$ )。

HIF1an の組織重量当たりの mRNA 発現量は ZD と PF が Control に比べ 35~40% まで減少していた (それぞれ  $P=0.019$ 、 $0.012$ )。GATA2、GATA3、GATA5 および GATA6 の組織重量当たりの mRNA 発現量は ZD と PF が Control に比べ減少する傾向にあった。

腎臓皮質における組織重量当たりの mRNA 発現量はすべての遺伝子について有意な差はみられなかった。

これまでの研究の結果、中等度亜鉛欠乏と食餌量制限によって血中エリスロポエチン量は有意に減少していた。しかし、腎臓髄質中のエリスロポエチン mRNA 発現量は食餌制限により 50% の減少、中等度亜鉛欠乏により 75% の減少と違いがあることを報告している (対照群と ZD 群間で  $P<0.0001$ 、PF 群と ZD 群間で  $P=0.002$ )。今回、測定した 12 の遺伝子については対照群と ZD 群、PF 群の間に有意な差がみられても、ZD 群と PF 群の 2 群間には差がみられたものはなかった。2 つの要因で生じる造血障害について Gata1、Gata2a、Gata2b、HIF1a、HIF1an が影響していると推定されるが、亜鉛欠乏と食餌制限の 2 要因で見られた差異に影響している可能性は低いことが示唆された。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 件)

〔学会発表〕(計 12 件)

Aki Konomi, Katsuhiko Yokoi

Changes of expression of hematopoiesis-related gene by zinc deficiency in rats. XIth Conference of the ISTERH

Dubrovnik, Croatia. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 32, S22. 2015.10

許斐 亜紀, 横井 克彦

亜鉛欠乏が腎臓を介して造血機能に与える影響の検討. 第 70 回 日本栄養食糧学会 (於 神戸ポートピアホテル・武庫川女子大学 要旨集 214 頁. 2016.5

許斐 亜紀, 横井 克彦

亜鉛欠乏および食餌量低下が腎臓での GATA1, GATA4 および GATA5 遺伝子発現に及ぼす影響. 第 33 回 日本微量栄養素学会 (於 京都リサーチパーク)

講演要旨集 17 頁. 2016.6

許斐 亜紀, 横井 克彦

腎臓中での GATA ファミリー遺伝子発現に対する食餌環境の影響. 第 27 回 日本微量元素学会 (於 京都大学 芝蘭会館). 講演要旨集 113 頁. 2016.7

Aki Konomi, Katsuhiko Yokoi

The effect of zinc deficiency and diet restriction for erythropoietin production in rats. XVII<sup>th</sup> International Congress of Dietetics. Granada, Spain. Revista Española de Nutrición Humana y Dietética. 20S1: 643-644. 2016.9

Aki Konomi, Katsuhiko Yokoi

The effect of zinc deficiency and diet restriction on GATA family gene expression in rat's kidney. Experimental Biology, USA. Chicago, McCormick center. The FASEB JOURNAL 31 (1 Supplement): 802.8. 2017.4

許斐 亜紀, 横井 克彦

亜鉛欠乏および食餌量制限時の腎臓での GATA 関連遺伝子発現量. 第 34 回 日本微量栄養素学会 (於 関西大学)

講演要旨集 19 頁.

許斐 亜紀, 横井 克彦

食餌環境が腎臓中での造血関連遺伝子の発現に与える影響. 第 64 回 日本栄養改善学会学術総会 (於 アステイ徳島). 講演要旨集 224 頁. 2017.9

Aki Konomi, Katsuhiko Yokoi

The effect of zinc deficiency and diet restriction on gene expression of hypoxia-inducible factors in rat's kidney. Experimental Biology, USA.

San Diego, Convention Center. The FASEB JOURNAL. 32: 767.1. 2018.4

許斐 亜紀, 横井 克彦

亜鉛欠乏が腎臓での低酸素誘導因子(HIF)遺伝子発現に与える影響. 第 72 回 日本栄養・食糧学会 (於 岡山コンベンションセンター・岡山県立大学). 講演要旨集 264 頁. 2018.5

許斐 亜紀, 横井 克彦

亜鉛欠乏および食餌量制限が腎臓での HIF 遺伝子発現に与える影響. 第 35 回 日本微量栄養素学会 (於 ANA クラウンホテルプラザ京都). 講演要旨集 11 頁. 2018.6

許斐 亜紀, 横井 克彦

食餌環境の違いが腎臓中 HIF および CBP/p300 遺伝子発現に与える影響. 第 29 回 日本微量元素学会 (於 名古屋大学). 講演要旨集 81 頁. 2018.7

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：横井 克彦

ローマ字氏名：YOKOI KATSUHIKO

所属研究機関名：聖徳大学

部局名：人間栄養学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：10200883

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。