

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19502

研究課題名(和文) 父親の過栄養が仔の腎機能に及ぼす影響やその機序について検討

研究課題名(英文) The relationship of paternal overnutrition to renal dysfunction in offspring.

研究代表者

山田 奈々 (Yamada, Nana)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：70770022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：父親の肥満は子供の疾病発症リスクに寄与することが注目されており、父親の過栄養による子孫の腎障害を検討した。高脂肪・高フルクトースを負荷した父SDラットの仔ラットで食欲増進・体重を認め、8週齢よりアルブミン尿が増加、16週令で耐糖能異常および脂質異常、血圧上昇、アディポネクチン低下を認めた。父親の過栄養が仔の将来の耐糖能異常・腎障害を惹起する可能性があり、メカニズム解明のためアディポネクチンに注目し研究をし進めている。今後、免疫染色による局所でのアディポネクチン発現を含め組織学的に糸球体障害を評価し、エピジェネティクス解析を追加する予定である。

研究成果の概要(英文)：We examined renal injury of offspring due to paternal overnutrition. Male Sprague-Dawley rats were fed either a standard (N) or a high-fat and high-fructose (HFF)-diet for 6 weeks before mating, and kept each diet during the gestation and lactation period. After 4 weeks postpartum, all the offspring were fed N diet, and followed by 12 weeks. In HFF-offspring, appetite stimulation was recognized, the weight and albuminuria increased from about 8 weeks of age. HFF-offspring developed hyperlipidemia, hyperglycemia, and hypertension. Adiponectin decrease were observed at 16 weeks old in HFF-offspring. Paternal overnutrition may cause impaired glucose tolerance and renal impairment of the offspring in future. To elucidate the mechanism, we focus on adiponectin and investigate. We will evaluate histological glomerular disorders including local adiponectin expression by immunostaining, and add epigenetics analysis.

研究分野：腎臓内科学

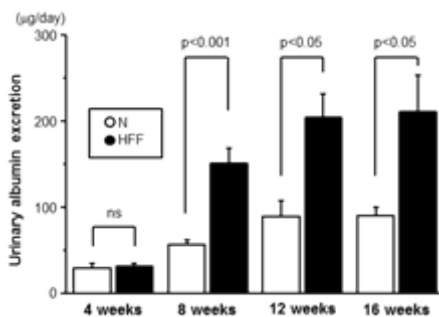
キーワード：腎障害 父親の過栄養

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦における透析患者は30万人を超え、いまだ増加傾向であり、医療経済を圧迫する一因となっている。よって、透析患者導入数減少のために、その主な原因である慢性腎臓病(CKD)の発症進展抑制は急務となっている。また、肥満症も世界的な健康問題となっており、メタボリック症候群は、中心性肥満・インスリン抵抗性・高血圧症・アディポサイトカイン分泌障害・糸球体過剰濾過のような様々な機序を介して、慢性腎臓病の発症進展を引き起こす。

(2) 肥満症増加の要因として、妊娠中の母親の体重増加と子供の肥満の関連性も報告されている。また、肝臓や平滑筋、脂肪組織といったインスリン感受性臓器だけでなく、母体への過栄養が子供の将来の様々な臓器障害を引き起こす可能性が示唆されている。そこで我々は、母体肥満がCKD患者増加の要因を担っていると考え、母体の過栄養が仔の腎障害に関与することを動物実験で検証した。母ラットに6週間高脂肪食・高フルクトースを負荷された仔(HFF)は通常食負荷の母ラットの仔(N)に比較して、8週令より尿中アルブミン排泄が増加し始め(図1)、16週令で腎機能低下(クレアチニンクリアランス:Ccr 9.64 ± 0.93 vs. 4.79 ± 1.35 l/min/g, $p < 0.05$)を呈した。

図1.



さらに、アディポネクチンは出生直後よりNに比較してHFFで低下しており(図2)、16週令では尿中アルブミン排泄と逆相関がみられた(図3)。このように、母体環境が仔のアディポネクチンを低下させ腎機能に影響することが報告してきた。

図2.

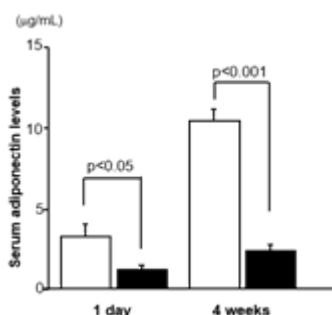
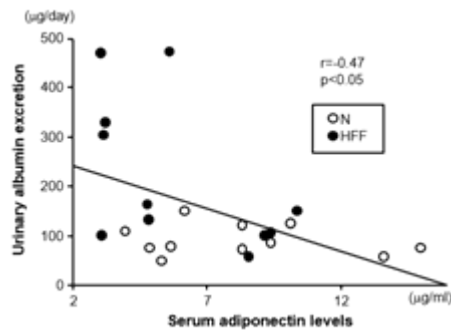


図3.



(3) 近年では、父親の肥満も子供の疾病発症リスクに寄与することが注目されている。Ngらは、父親に高脂肪食を投与すると、娘ラットは正常脂肪であるにもかかわらず早期にインスリン分泌と耐糖能が障害されることを報告した。DNA塩基配列の変化を伴わないDNAメチル化やヒストンメチル化・アセチル化といったエピジェネティクス変化は、細胞分裂後も子孫に引き継がれる変化として注目されている。成長した娘ラットでは642個の腭島遺伝子発現に変化を認めたと、その中でも著名に発現増加していたIla13ra2 geneはメチル化が低下していた。(S. F. Ng, et al. Nature, 2010; 467(7318): 963-66.)

現在まで、父親の過栄養と仔の腎障害についての検討はほとんど報告されていない。また、母親と父親が仔にもたらす影響とそのメカニズムの違いが予想される。以上のことから、メタボリック症候群を引き起こすことが知られている高脂肪食・高フルクトース負荷SDラット雄を用いて仔の腎機能への影響を検討するとともに、今までの報告と比較しながら、父母でのメカニズムの違いについても検討したいと考えた。また、アディポネクチン低下は腎障害を呈することも明らかであり、父母環境の変化がその仔の遺伝子にエピジェネティクス変化をもたらすかも検討したい。

2. 研究の目的

本研究の目的は、父親の過栄養が仔の腎障害に関与することを証明し、そのメカニズムを解明することである。我々は、ラットを用いて母親の過栄養が仔のアディポネクチン低下と腎障害を惹起することを明らかにしてきた。また、動物実験において父親の肥満が仔の膵細胞を障害することが報告されているが、その機序は不明であり腎機能についての報告はない。父親の過栄養によって仔の腎機能に影響しうるかを検討し、そのメカニズムとして、アディポネクチンシグナル関連遺伝子のエピジェネティクス変化(DNAメチル化、ヒストンメチル化・アセチル化)が関与しているかどうかを検討する。親の栄養状態が仔の腎機能に影響するメカニズムの解明は、今後増加する慢性腎臓病患者の抑止につながる可能性があり、重要な研究と考える。

3. 研究の方法

(1) 2週令のSDラット雄を2群(コントロール飼料と高脂肪飼料+高フルクトース)に分け、6週間飼育し評価した後、コントロール食のSDラット雌と交配させ出産させる。出産後のラットをコントロール食とし、母親あたりの仔の個体数・性別に差がないように管理し、継時的(出生後、4週令、8週令、12週令・16週令)に、血液・尿検査・組織学的検査による糖代謝・脂質・腎機能の評価を行う。

モデル作成と検体採取、血圧測定、成長・食欲の評価、耐糖能異常・インスリン抵抗性の評価を行う。生化学検査・内分泌検査を外部委託やELISAにて適宜測定する。

高脂肪飼料+高フルクトース負荷の父ラットを持つ仔ラットが機能的・組織学的に腎障害を呈するかを確認した後、アディポネクチン低下やインスリン抵抗性と関与しているかを含めた腎障害のメカニズムについて検討していく。また、父親の表現型が仔に継代されるメカニズムとして、エピジェネティクス変化(DNAメチル化・ヒストン修飾変化)を観察する。

(2) プレパレート作成と組織学的評価、PCR・ウエスタンブロット・エピジェネティクス(DNAメチル化・ヒストン修飾変化)解析によるメカニズム解明のための検討を中心に行う。その後、介入試験への移行を検討する。

4. 研究成果

(1) 初年度は、父親の過栄養が仔の腎障害に関与することを証明しそのメカニズムを解明するためのラットモデル作成を主として行った。高フルクトース及び高脂肪飼料を投与した雄ラットで高体重・高血糖となったが、腎機能に変化を認めないことを確認した。その後、コントロール食ラット雌と交配した。高フルクトース及び高脂肪飼料を投与した雄ラットを父としてもつ個体をHFF群、対してコントロールをNF群とした。出産後は継時的(出生後、4週令、8週令、12週令、16週令)にsacrificeし検体を収集したが、交配が円滑に進行しないこともあり、十分な個体数が一度には得られず時間を要した。

(2) 雄雌ともに、HFF群で食欲増進を認め体重が増加し、8週齢頃よりアルブミン尿が増加した。また、16週令で耐糖能異常および脂質異常、血圧上昇、アディポネクチン低下を認めた。父親に対する高フルクトース及び高脂肪飼料負荷が仔の将来の耐糖能異常・腎障害を惹起する可能性があり、現在、免疫染色による局所でのアディポネクチン発現を含め、組織学的に糸球体障害、尿細管障害の有無を確認・解析中である。

(3) メカニズム解明のため、アディポネクチンに注目しエピジェネティクス解析を追加すべく、免疫沈降法の確実性を高めるため実験系統の条件を検討している。当研究室に

て終末糖化産物(AGEs)やジメチルアルギニン(ADMA)と腎障害についての関連をこれまでに多数報告しており、当モデルでも関連性を検討する予定である。

交配・出産までに時間がかかり、比較検討するための検体が揃わずに実験は遅れているが、HFF群でアルブミン尿増加が見られることから、父親の過栄養が仔の腎障害を惹起する可能性があると考え。今後も実験を継続し、随時発表していく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Taguchi K, Yamagishi SI, Yokoro M, Ito S, Kodama G, Kaida Y, Nakayama Y, Ando R, Yamada-Obara N, Asanuma K, Matsui T, Higashimoto Y, Brooks CR, Ueda S, Okuda S, Fukami K. Scientific reports.

査読有, Online published:08 February 2018

DOI: 10.1038/s41598-018-21176-5

Yamada-Obara, Sho-ichi Yamagishi, Kensei Taguchi, Yusuke Kaida, Miyuki Yokoro, Yosuke Nakayama, Ryotaro Ando, Katsuhiko Asanuma, Takanori Matsui, Seiji Ueda, Seiya Okuda, and Kei Fukami. Clinical and Experimental Nephrology.

査読有, 20 巻, 2016, 853 - 861

DOI: 10.1007/s10157-016-1265-9

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 1 件)

山田 奈々、深水 圭、大道学館、臨牀と研究 93 巻 4 号、2016、4 (565-568)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 奈々 (YAMADA, Nana)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号：70770022

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()