

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08718

研究課題名(和文) 糖尿病腎症Fast Decliner:胎内栄養環境説

研究課題名(英文) Fetal overnutrition induced fast progression of diabetic kidney disease

研究代表者

滝山 由美 (TAKIYAMA, YUMI)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00396350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：母体の過栄養は、胎生期マウス腎臓体積の有意な増大を呈した。一方、母体通常食群(CD)と母体高脂肪食群(HFD)の胎仔マウス腎臓脈径に有意差を認めなかった。Murrayの法則より、臓器血流は動脈径に比例することから、HFD群の胎仔マウス腎臓は血流量が減少していることが示唆された。低酸素指標であるHIF-1 $\alpha$ の免疫組織化学的染色法により、HFD群胎仔マウス腎臓におけるHIF-1 $\alpha$ 発現増強を認めた。仔マウスの15週齢時の尿中アルブミン排泄量は、両群間で有意差を認めなかったが、4週齢時HFD群仔マウス腎尿細管細胞内には空胞形成を認め、また、15週齢時、腎系球体硬化、系球体細動脈の動脈硬化を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、胎内栄養環境による成人期の2型糖尿病合併症である糖尿病腎症の発症・進展への影響を明らかにし、妊婦の栄養管理に関する注意喚起と積極的介入の必要性について明確化することで、世界的に肥満率の高まる現代、次世代を担う子供の健やかな成長と、成人期の生活習慣病とその合併症の発症・進展抑制につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Maternal overnutrition induced a significant increase in renal volume in the fetuses. On the other hand, there was no significant difference in the diameter of the renal artery in the fetuses between the control diet (CD)-fed dams and high-fat diet (HFD)-fed dams. Murray's law indicates that organ blood flow is proportional to arterial diameter (Murray CD. Proc Natl Acad Sci USA 1926), suggesting that fetal kidneys in the HFD group have reduced blood flow because of concomitant renal hypertrophy. Immunohistochemical staining of HIF-1 $\alpha$ , which is an index of hypoxia, showed enhanced expression of HIF-1 $\alpha$  in the fetal kidneys in the HFD group. There was no significant difference in urinary albumin excretion between the two groups at 15 weeks of age in the offspring, but vacuolar formation was observed in the renal tubular cells of the HFD group at 4 weeks of age. In addition, at 15 weeks of age, renal glomerular sclerosis and arteriosclerosis of the glomerular arteries were observed.

研究分野：糖尿病・内分泌

キーワード：糖尿病腎症 胎内環境

1. 研究開始当初の背景

糖尿病腎症では、1型糖尿病患者を対象とした The JoslinESRD Cohort で認められた進行性の腎機能低下”Fast decliner”が存在する (Krolewski AS, *et al. Kidney Int* 2017)。その病態は、腎病変の主体が糸球体か尿細管であるのかも含め、依然不明である。

最近、申請者らは、放射光を用いた micro CT imaging と解析法を確立し、肥満2型糖尿病マウス *db/db* の腎糸球体数と平均糸球体容積、さらに腎臓内における糸球体分布の定量的評価に成功した (Takiyama Y, *et al. EBioMedicine* 2018)。高血糖と肥満を呈するが正常血圧である *db/db* マウスでは、ヒト2型糖尿病で合併の多い高血圧の影響が無い。*db/db* マウスでは糸球体肥大を認めたが、糸球体数は対照群 *db/m* と有意差は無く、また、ヒトにおける報告 (Puelles VG, *et al Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011) と同様に大きな個体差を呈した。また、アルブミン尿を呈しているも、Cystatin C は対照群と比較して有意差は認められなかった。モデル動物の事象ではあるが、高血糖と肥満の条件では、糸球体数減少と腎機能低下は起こらなかった。

一方、糸球体数減少の原因として、最もよく知られている原因が「オランダ飢餓の冬」で知られる母体低栄養である。不良な胎内栄養環境は、子の成人期における生活習慣病の発症リスクを増大し (Painter RC, *et al. Reprod Toxicol.* 2005)、胎児発育不全により低出生体重児が呈するネフロン数減少 (Manalich R, *et al. Kidney Int* 2000) は、高血圧 (Kellar G, *et al. N Engl J Med* 2003)、腎不全 (Vikse BE, *et al. J Am Soc Nephrol* 2008) のリスクとなる。

しかしながら、現代は、生殖年齢期女性の50%が肥満を呈し (Stephenson J, *et al. Lancet* 2018)、生産児7人に1人が妊娠糖尿病の影響を受けている (IDF Diabetes Atlas 2017, 8th edn)。母体過栄養による子のネフロン数に対する影響については不明である。

2. 研究の目的

申請者らは、飽食の現代では、母体過栄養に起因する糸球体数減少を伴った子が、成人期に糖尿病発症とともに発生する糸球体過剰濾過による糸球体高血圧、そして糸球体硬化を引き起こす結果、進行性に腎機能低下を示す「胎内栄養環境による Fast decliner 説」を仮説として提唱し、この仮説を検証し証明することを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

母体過栄養の仔腎臓への影響を検討するため、妊娠 C57BL/6J 雌マウスを、高脂肪食 (High fat diet; HFD) と通常食飼育 (Control Diet; CD) の2群に分け、離乳後の両群の雄仔マウスを通常食で飼育した。本モデルマウスを用い、播磨科学公園都市にある大規模放射光施設 SPring-8 の医学用ビームライン BL20B2 にて、放射光 CT imaging により、マウスの腎糸球体とともに、心血管リスク増大の基盤となる血管リモデリングについて明らかとする。

4. 研究成果

- 1) HFD 群では CD 群と比較し、胎生期には両側腎臓体積の有意な増加を認めた (mean  $\pm$  SD,  $0.91 \pm 0.09$  vs.  $1.31 \pm 0.10$  mm<sup>3</sup>, CD vs. HFD,  $p=0.0002$ )。
- 2) 両群間で腎動脈直径に有意差を認めなかった (mean  $\pm$  SD,  $125.9 \pm 60.49$  vs.  $178.4 \pm 97.38$  nm, CD vs. HFD,  $p=0.52$ )。

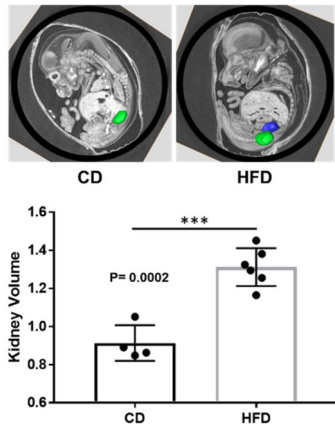


図1. 胎生期過栄養は胎仔腎臓を肥大化する。

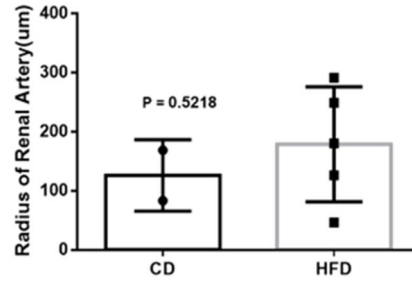


図2. 胎生期過栄養による腎血流量変化は認めない。

3) 胎生 14.5 日腎組織では、HFD 群において HIF-1 $\alpha$  の発現が増強していた。

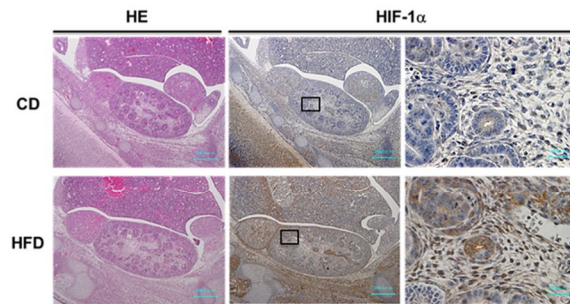


図3. 胎生期HFD群仔マウス腎臓におけるHIF-1 $\alpha$ 発現増強

4) 15 週齢マウスにおいて、両群間でアルブミン尿に有意差を認めなかったが (2.74  $\pm$  2.24 vs. 3.11  $\pm$  1.48  $\mu$ g/day, CD vs. HFD  $p=0.42$ )、血清クレアチニンは HFD 群で低下していた(0.13  $\pm$  0.01 vs. 0.09  $\pm$  0.02 mg/dL,  $p=0.0002$ )。

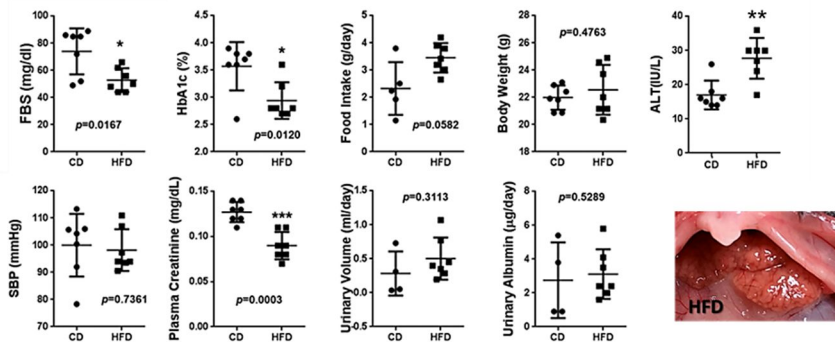


図4. 胎生期過栄養は、15週齢時仔マウスにおいて代謝異常を引き起こす。

5) HFD 群では、4 週齢時、尿細管細胞内空胞形成、15 週齢時、腎糸球体硬化、腎内動脈硬化病変を認めた。

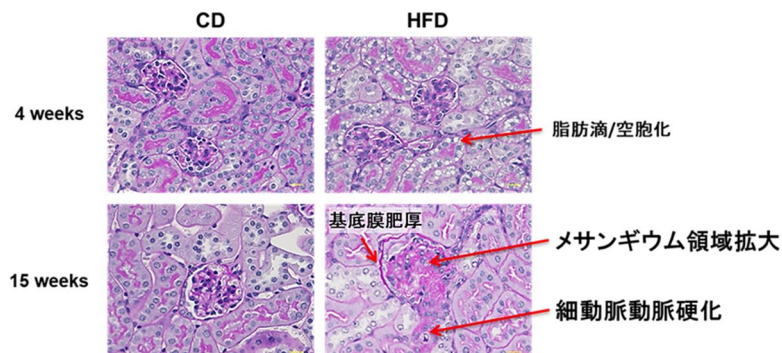


図5. 胎生期過栄養群仔マウスは糖尿病腎症様所見を呈する。

胎生期過栄養は、胎生期腎臓における相対的低酸素状態を惹起し、その病態は成体期まで継続し、腎病変形成に至る。母親マウスの高脂肪食負荷が、仔マウスにおける streptozotocin 誘発糖尿病による腎障害を増悪することが報告されている(Glastras SJ, *et al. Sci Rep* 2016)。成体期に糖尿病発症時、高血糖とそれによりもたらされる過剰濾過は、基盤病変として既に糖尿病腎症様病変を有する HFD 群においては、腎症増悪が予想され、糖尿病腎症における Fast decliner の非遺伝的家族内集積の説明機序として、「胎内栄養環境によるエピジェネティックス」が示唆される。今後、仔マウスにおいて糖尿病誘発による糸球体数の変動、腎機能、尿中アルブミン排泄量における影響について検討を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tomoe Abe, Yasutaka Takeda, Takao Takiyama, Ayaka Sasaki, Ryoichi Bessho, Mao Sato, Hiroya Kitsunai, Hidemitsu Sakagami, Atsuko Aiko, Koji Imai, Sayaka Yuzawa, Mishie Tanino, Yumi Takiyama.	4. 巻 9
2. 論文標題 A case of insulinoma diagnosed postpartum with hypoglycemia symptoms that were masked during pregnancy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Case Rep	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ccr3.3924.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ryoichi Bessho, Yumi Takiyama, Takao Takiyama, Hiroya Kitsunai, Yasutaka Takeda, Hidemitsu Sakagami, Tsuguhito Ota	4. 巻 9
2. 論文標題 Hypoxia-inducible factor-1 is the therapeutic target of the SGLT2 inhibitor for diabetic nephropathy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-51343-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasutaka Takeda, Yukihiro Fujita, Ryoichi Bessho, Mao Sato, Tomoe Abe, Tsuyoshi Yanagimachi, Hidemitsu Sakagami, Atsuko Abiko, Yumi Takiyama, Tsuguhito Ota and Masakazu Haneda	4. 巻 19
2. 論文標題 Increment of plasma glucose by exogenous glucagon is associated with present and future renal function in type 2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Endocr Disord	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12902-019-0428-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 5件/うち国際学会 7件）

1. 発表者名 滝山 貴央、世良 俊博、星野 真人、上杉 健太郎、中村 匡徳、滝山 侑里、別所 瞭一、Suratsawadee Promsuwan、佐々木 彩華、佐藤 茉欧、澤本 一樹、橘内 博哉、竹田 安孝、滝山 由美.
2. 発表標題 胎生期過栄養による腎低酸素応答について.
3. 学会等名 第65回日本糖尿病年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 滝山 由美、別所 瞭一、滝山 侑里、滝山 貴央、Suratsawadee Promsuwa、佐々木 彩華、佐藤 茉欧、澤本 一樹、橘内 博哉、竹田 安孝
2. 発表標題 . 2型糖尿病モデルdb/dbマウスに対するGlucoraphaninの腎作用
3. 学会等名 第65回日本糖尿病年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 別所 瞭一、滝山 貴央、Suratsawadee Promsuwan、滝山 侑里、澤本 一樹、橘内 博哉、竹田 安孝、滝山 由美.
2. 発表標題 Nrf2活性化剤スルフォラファンは近位尿細管細胞のTFAMを活性化しSTINGを抑制する.
3. 学会等名 第36回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroya Kitsunai, Yumi Takiyama, Naoki Nakagawa, Naoyuki Hasebe, Atsutaka Okizaki, Masakazu Haneda
2. 発表標題 Apparent diffusion coefficient on diffusion-weighted magnetic resonance imaging predicts the progression of renal damage in diabetic nephropathy.
3. 学会等名 American Diabetes Association 81st Scientific Sessions. (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryoichi Bessho, Takao Takiyama, Suratsawadee Promsuwan, Hiroya Kitsunai, Kazuki Sawamoto, Yasutaka Takeda, Yumi Takiyama.
2. 発表標題 The Nrf2 Activator Increases TFAM and Suppresses STING in Human Renal Proximal Tubular Cells.
3. 学会等名 American Diabetes Association 81st Scientific Sessions.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Ryoichi Bessho, Yumi Takiyama, Takao Takiyama, Hiroya Kitsunai, Yasutaka Takeda, Hidemitsu Sakagami, Tsuguhito Ota.
2. 発表標題	Hypoxia-Inducible Factor-1 is the Therapeutic Target of the SGLT2 Inhibitor for Diabetic Nephropathy.
3. 学会等名	3rd Asia Pacific Cardio Metabolic Syndrome Congress. (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Takao Takiyama, Ryoichi Bessho, Kazuki Sawamoto, Yumi Takiyama.
2. 発表標題	Maternal Overnutrition Causes DNA Alkylation in Fetal Liver, Suppresses FasL and Upregulates HIF-1 Signaling Pathway in Neonatal Liver in Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)/Hepatocellular Carcinoma in Offspring.
3. 学会等名	80 th American Diabetes Association Scientific Sessions. (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	橘内 博哉、滝山 由美、中川 直樹、長谷部 直幸、沖崎 貴琢、竹内 文也、羽田 勝計.
2. 発表標題	糖尿病腎症特異的診断法 ~MRI拡散強調画像法ADC0-700値は糖尿病腎症診断指標となる~.
3. 学会等名	第63回日本糖尿病学会年次学術集会.
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	滝山貴央、滝山由美、別所瞭一、橘内博哉、竹田安孝、坂上英充、西川祐司、竹内文也、世良俊博、中村匡徳.
2. 発表標題	胎生期高脂肪食誘発脂肪肝炎-肝癌モデルマウスの確立.
3. 学会等名	第63回日本糖尿病学会年次学術集会.
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 滝山由美、世良俊博、中村匡徳、羽田勝計.
2. 発表標題 糸球体可視化によるSGLT2阻害薬の効果.
3. 学会等名 第50回日本腎臓学会西部学術大会.(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 滝山由美.
2. 発表標題 糖尿病腎症 Up-to-Date.
3. 学会等名 第54回日本糖尿病学会北海道地方会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋内 博哉、滝山 由美、中川 直樹、長谷部 直幸、沖崎 貴琢、羽田 勝計.
2. 発表標題 糖尿病腎症特異的診断法としてのMRI拡散強調画像法の可能性.
3. 学会等名 第35回日本糖尿病合併症学会総会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 滝山貴央、世良俊博、中村匡徳、堀家慎一、西川祐司、滝山由美.
2. 発表標題 胎生期過栄養誘発脂肪肝/肝癌:HIF-1シグナル系の役割.
3. 学会等名 第35回日本糖尿病合併症学会総会.
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 滝山由美、世良俊博、中村匡徳、上杉健太郎、星野正人、滝山貴央、別所瞭一、橘内博哉、竹田安孝、八木直人、羽田勝計.
2. 発表標題 放射光CTイメージングによる1型糖尿病モデルマウス系球体評価.
3. 学会等名 第35回日本糖尿病合併症学会総会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryoichi Bessho, Yumi Takiyama, Tsuguhito Ota.
2. 発表標題 Luseogliflozin, an SGLT2 Inhibitor, Ameliorates Diabetic Nephropathy by Inhibiting HIF-1 in vivo and in vitro.
3. 学会等名 2nd Asia-Pacific CardioMetabolic Syndrome (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasutaka Takeda, Yukihiro Fujita, Hidemitsu Sakagami, Tsuyoshi Yanagimachi, Ryoichi Bessho, Tomoe Abe, Tomonobu Nakamura, Atsuko Abiko, Yumi Takiyama, Masakazu Haneda, Tsuguhito Ota.
2. 発表標題 Relationship between renal function and glucagon-derived glucose increment: its clinical significance in type 2 diabetes.
3. 学会等名 2nd Asia-Pacific CardioMetabolic Syndrome (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryoichi Bessho, Yumi Takiyama, Takao Takiyama, Tsuguhito Ota.
2. 発表標題 A Novel Renoprotective Target of SGLT2 Inhibitor: HIF-1 Inhibition and AMPK Activation in Renal Proximal Tubular Epithelial Cells.
3. 学会等名 79th American Diabetes Association Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yumi Takiyama, Toshihiro Sera, Masanori Nakamura, Ryoichi Bessho, Takao Takiyama, Tsuguhito Ota, Masakazu Haneda.
2. 発表標題 Synchrotron Radiation Micro-CT Reveals Glomerular Loss without Glomerular or Renal Hypertrophy in Streptozotocin-induced Type 1 Diabetic Mice.
3. 学会等名 79th American Diabetes Association Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋内博哉、滝山 由美、中川 直樹、長谷部 直幸、佐々木 智章、沖崎 貴琢、竹内 文也、羽田 勝計、太田 嗣人
2. 発表標題 MRI拡散強調画像解析を用いた糖尿病腎症診断法の開発
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 別所瞭一、滝山由美、太田嗣人.
2. 発表標題 SGLT2 阻害薬の新規腎保護作用機構: ミトコンドリア酸素消費抑制を介したHIF-1 蛋白発現抑制とAMPK活性化
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 滝山 由美
2. 発表標題 Metformin: multi-target drug in type 2 diabetes
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 滝山 由美、世良 俊博、中村 匡徳
2. 発表標題 放射光を用いた腎系球体可視化法の開発
3. 学会等名 第19回日本NO学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 滝山 由美
2. 発表標題 放射光系球多イメージング法：SGLT2阻害薬による腎系球体への効果
3. 学会等名 第95回臨床内分泌代謝Update（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 滝山 由美
2. 発表標題 放射光イメージングによる系球体可視化
3. 学会等名 第31回日本糖尿病性腎症研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 匡徳  (Nakamura Masanori)  (20448046)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授    (13903)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	世良 俊博  (Sera Toshihiro)  (40373526)	九州大学・工学研究院・准教授    (17102)	
研究分担者	西川 祐司  (Nishikawa Yuji)  (90208166)	旭川医科大学・医学部・教授    (10107)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関