

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16919

研究課題名（和文）胎生期の低栄養はミトコンドリア機能を介した慢性腎臓病の進行に関連するか

研究課題名（英文）Association between embryonic undernutrition and progression of chronic kidney disease via mitochondrial function.

研究代表者

後藤 美和 (Goto, Miwa)

山梨大学・大学院総合研究部・特任助教

研究者番号：70327576

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）：本研究は、腎組織における酸化ストレスやミトコンドリアの機能異常が早産・低出生体重児の慢性腎臓病に関与するか検討することを目的とした。酸化ストレスにより組織で産生されるGrowth Differentiation Factor 15 (GDF15)を測定した結果、血中GDF15は低出生児群において有意に高値で、低出生体重児の一部で尿中GDF15の異常高値が確認された。また、低出生体重児では、尿中のGDF15の上昇と相関して血中GDF15が上昇していた。この結果は、低出生体重児の一部の症例では腎臓組織内で酸化ストレスが存在し、その結果血清GDF15の上昇をきたしていることを示唆するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早産・低出生体重児は、成長に伴う臓器機能不全のリスクが高いことが報告されている。慢性腎不全もそのひとつであるが、長期予後マーカーがないことや治療方法が確立されていないなどの解決すべき問題がある。GDF15は近年、成人で腎予後マーカーとして注目され、慢性腎臓病の治療ターゲットとなる可能性が指摘されている。本研究では、学童期以降の早産・低出生体重児で血清GDF15の上昇があること、尿中GDF15が著しく高値となる症例が存在することを明らかにした。本研究の成果は、早産・低出生体重児の慢性腎臓病の新たな腎予後マーカーの確立や新規治療法の開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to determine whether renal tissue oxidative stress and mitochondrial dysfunction are involved in chronic kidney disease in preterm and low birth weight infants. Growth differentiation factor 15 (GDF15), which is produced in tissues by oxidative stress, was measured. Results showed that serum GDF15 was significantly higher in the low birth weight group, and very high levels of urinary GDF15 were observed in some low birth weight infants. Furthermore, serum GDF15 was elevated in low-birthweight infants in correlation with urinary GDF15. These results suggest that in some cases of low birth weight infants, oxidative stress is present in the renal tissue, resulting in elevated serum GDF15.

研究分野：腎臓内科

キーワード：慢性腎臓病 低出生体重児

## 1. 研究開始当初の背景

過去 30 年間における周産期医療と新生児医療の進歩により、早産児や低出生体重児の生存率は向上している。その一方で、早産児や低出生体重児は成長に伴う臓器機能不全のリスクが高いことも報告されており、成人期までの長期予後に関してはいまだ解決すべき問題が残されている。慢性腎臓病(CKD)もその一つであり、その治療法は確立されていない。早産児、低出生体重児における CKD の発症については、出生時のネフロン数が少ないこと、そこから生じる糸球体の過剰濾過が後に糸球体濾過量(eGFR)の低下を引き起こすためと推定されている。近年、子宮内発育遅延をきたした低出生体重児で、脾臓、肝臓、骨格筋などの主要な臓器における酸化ストレスの増加とミトコンドリアの機能異常が観察され、それらが低出生体重児の成長後の臓器障害の発症に関与することが報告されている。腎臓に関しても、CKD を発症した早産・低出生体重児の腎病理組織では、ミトコンドリア病の患者と一致する腎病理所見が観察されたり、ミトコンドリアの ATP 産生にかかわる電子伝達系構成体のシトクロム C オキシダーゼのサブユニット IV の発現低下が観察されたりしている。これらの知見は、早産・低出生体重児の CKD 発症においても酸化ストレスやミトコンドリア機能の異常が関与している可能性を示しているが、この点についての十分な検討はなされていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、早産・低出生体重児における CKD の進展に、腎臓における酸化ストレスやミトコンドリアの機能異常が関与する可能性があるかについて検討することを目的とした。本研究では腎臓での酸化ストレスやミトコンドリア機能異常の指標として血中および尿中の Growth Differentiation Factor-15(GDF15)を測定した。GDF15 は複数の組織に発現するストレス応答性サイトカインで、低酸素や酸化ストレスにより組織で産生され循環中へ放出され全身の生理機能を調節する働きがある。腎臓では主に尿細管に発現している。GDF15 は正常細胞に比してミトコンドリア病細胞から多く分泌されることから、ミトコンドリア病のバイオマーカーとしても利用されている。近年、成人では血清と尿中の GDF15 がそれぞれ独立した CKD 進行のマーカーであることが報告されている。CKD では血清 GDF15 と腎臓内の GDF15 の発現は相関しており、腎臓内の GDF15 の発現と尿中 GDF15 は相関することが報告されている。

## 3. 研究の方法

学童期以降の在胎週数 37 週未満でかつ出生時体重 2500g 未満の低出生体重児 (L 群) 96 名と正期産でかつ出生体重が 2500g 以上の対照群 (C 群) 16 名において血中および尿中の GDF15 を測定し、腎機能、各種体格指数、血圧、尿検査とともに評価した。尿中および血中の GDF15 (uGDF15 と sGDF15) は、酵素結合免疫吸着測定キットを用いて測定し (Quantikine Human GDF-15 ELISA Kit, R&D Systems, Inc.) uGDF15 は尿クレアチニン (uCre) で調整した (uGDF15/uCr 比)。腎機能は、両群において血清クレアチニン (sCre) を測定し、加えて L 群では血清シスタチン C (sCysC) も測定した。sCre と sCysC をそれぞれ用いて eGFR を算出した。sCre による eGFR (eGFRsCre) は、日本小児腎臓病学会から提唱されている 5 次式を用いて計算した。sCysC による eGFR (eGFRsCysC) は以下の式に基づいて計算した。 $eGFRsCysC(\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2) = (104.1/\text{sCysC}) - 7.80$ 。体格指数として肥満度 (%)、Body Mass Index (BMI)、BMI%、体重 SDS、身長 SDS を日本小児内分泌学会から提唱されている日本人小児の体格評価基準を用いて評価した。染色体異常、既知の腎機能障害、先天性腎尿路奇形、降圧薬投与中のものは対象から除外した。

## 4. 研究成果

eGFRsCre が  $90\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  未満の CKD stage2 の対象者は、C 群では 16 名中 2 名、L 群では 96 名中 26 名であった。在胎週数、出生時体重、身長 SDS、体重 SDS、BMI、BMI% tile、eGFRsCre は、L 群において有意に低値であった (表 1)。

sGDF15 は、C 群に比して L 群で有意に高値であった (表 2、図 1)。また、L 群において sGDF15 は eGFRsCre および eGFRsCysC と有意な負の相関を認めた (血清  $\text{GDF15} = 491.0 - 1.94 \times \text{eGFRsCr}$   $p < 0.05$   $R = 0.30$ 、血清  $\text{GDF15} = 545.3 - 1.98 \times \text{eGFRsCysC}$   $p < 0.05$   $R = 0.36$ )。C 群では sGDF15 と eGFR に同様の相関はなかった (図 2)。

uGDF15/uCre 比に関しては、C 群と L 群の間で有意差は認めなかったが、L 群の 96 名中 5 名が uGDF15/uCre 比が  $15000\text{pg}/\text{mg} \cdot \text{Cr}$  を越えて著しい高値を呈していた (表 3、図 3)。同様に尿中 GDF15/Cre 比が高い値を示す対象は C 群には存在しなかった。また、L 群のみで

sGDF15 と uGDF15/uCre 比に有意な正の相関を認めた(図 4)。C 群では sGDF15 と uGDF15/uCre 比に有意な相関は認めなかった。L 群で eGFR に影響する因子として、在胎週数、出生時体重、身長 SDS、BMI、sGDF15、uGDF15/尿 Cre 比について検討した結果、eGFRsCre では sGDF15 と身長 SDS が、eGFRsCysC では sGDF15 と出生時体重が関連する因子として示された。

本研究で L 群において有意な sGDF15 の上昇がみられたことは、学童期に達した早産・低出生体重児の一部において GDF15 の上昇をきたす酸化ストレス等のストレスが存在することを示唆している。また、sGDF15 と uGDF15/uCre 比に正の相関があったことは、早産・低出生体重児で sGDF15 上昇をきたしている一因に、腎組織内での GDF15 の発現増加がある可能性を示すものである。特に、uGDF15/uCre 比が異常高値であった症例はいずれも sGDF15 が高値であり、これらの対象では腎組織において持続的な酸化ストレスが存在していることが推定される。成人では、uGDF15/uCre 比が 13830pg/mg・Cr を超えると死亡率が上昇することが報告されており、これらの対象を長期にフォローすることにより uGDF15/uCre 比と早産・低出生体重児の CKD の長期腎予後との関連を明らかにする必要がある。また、腎組織内の GDF15 の発現と腎組織のミトコンドリア機能異常の関連を明らかにするためには、腎組織を用いた今後のさらなる検討が必要である。成人において GDF15 は病初期から検出可能な腎予後マーカーとして活用されており、今後の治療ターゲットとしても期待されている。これらのことから、本研究の結果は、早産・低出生体重児の CKD の早期発見や予後予測のマーカーの確立や新規治療法の開発につながることを期待される。

表 1

	C群	L群	
症例数	16	96	
男：女	9:7	41:55	
CKDstage2/3	2/0	26/0	
在胎週数(週)	39 (38-41)	29(26-31)	P<0.05
出生時体重 (g)	2868(2668-3274)	976(681-1345)	P<0.05
年齢 (歳)	9(6-13)	9(8-9)	
体重 (kg)	32.5 (21.7-51.5)	25.2(21.2-29.2)	
身長 (cm)	133.0(115.1-157.5)	126.7(121.1-131.3)	
身長SDS	0.15(-0.74-0.84)	-0.83(-1.66--0.09)	P<0.05
体重SDS	0.72(-0.88-1.03)	-0.62(-1.74-0.09)	P<0.05
肥満度 (%)	5.89(-1.86-13.89)	-1.10(-8.50-10.53)	
BMI	19.02(15.81-20.75)	15.80(14.45-17.41)	P<0.05
BMI%tile	75.24(51.51-87.05)	40.64(13.52-59.78)	P<0.05
収縮期血圧	101 (94 107.5)	108(99-115)	
eGFRCr	105.2(99.1-115.8)	98.3(86.3-106.0)	P<0.05
eGFRcysC	*	119.2(106.0-130.1)	

表 2

	C群(n=16)	L群(n=96)	
血中GDF15(pg/ml)	233.2(177.4-254.6)	285.8(226.0-341.8)	P<0.05

図 1

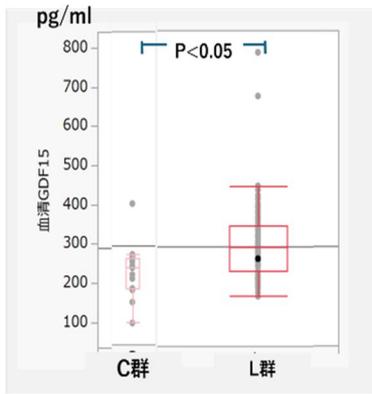


図 2

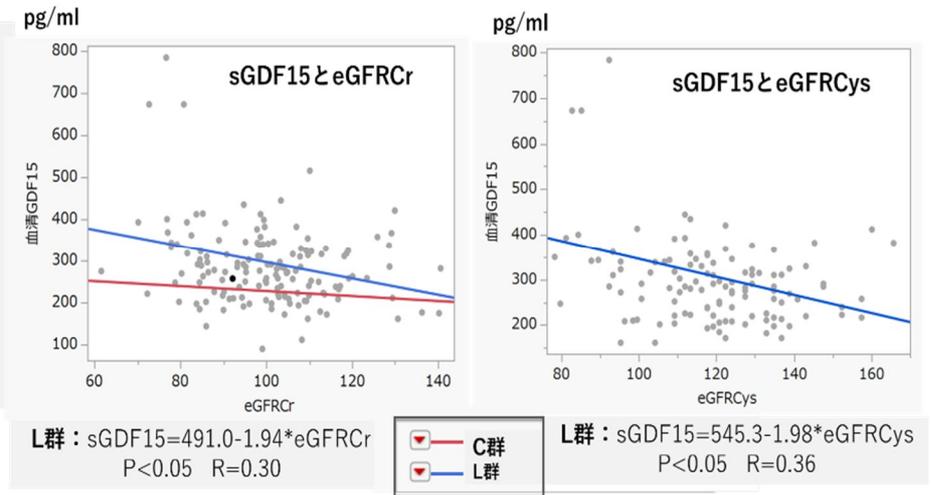


表 3

	C群(n=16)	L群(n=96)
uGDF15/uCre(pg/mgCr)	2404.6(1618.1-4077.0)	2496.0(1722.1-4080.6)

図 3

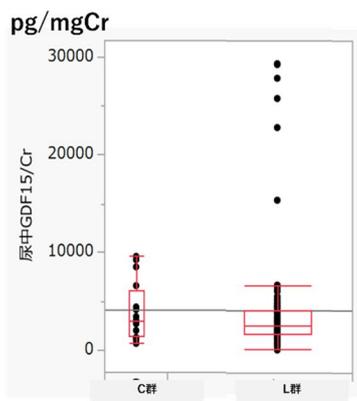
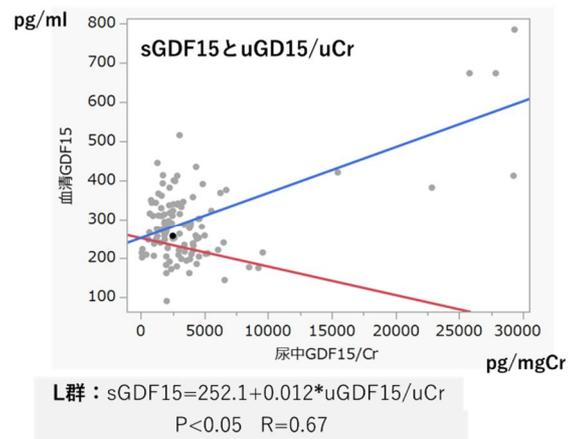


図 4



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 後藤美和
2. 発表標題 低出生体重児の9歳検診における腎機能スクリーニング検査の検討
3. 学会等名 日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤美和
2. 発表標題 低出生体重児における慢性腎臓病と成長分化因子 - 15 (GDF15)
3. 学会等名 日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------