

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 29 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461239

研究課題名(和文)母体環境が新生仔の腎障害に与える影響についての検討～AGEs-アブタマーの効果～

研究課題名(英文) Maternal exposure to high-fat and high-fructose diet evokes hypoadiponectinemia and kidney injury in rat offspring.

研究代表者

深水 圭 (Fukami, Kei)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：80309781

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：母体環境変化(過栄養)は後に子孫の臓器障害に関与する。アディポネクチン(APN)は肥満関連腎障害に保護的に作用する。母体過栄養による子孫の腎障害を検討した。NFと比較し、HFFラット出生直後及び4週令の子で有意に血清APNは低下し、血清MDAと負に相関した。HFF出生群では、8週令にはUAEが増加し始め16週令まで持続し、16週令ではAPNと正に相関した。HFFラット16週令の子において、高血糖、高血圧を伴い腎組織中TGF-beta発現亢進、ポドシン発現低下、糸球体硬化を認めた。以上より母体に対するHFF負荷はAPN低下に影響し、仔の将来の腎障害や代謝異常を惹起しうるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：Maternal exposure to overnutrition during fetal development contributes to renal damage in offspring. Female Sprague-Dawley rats were fed either a standard (N) or a high-fat and high-fructose (HFF)-diet for 6 weeks before mating. After 4 weeks postpartum, all the offspring were fed N diet, and followed by 12 weeks. Serum adiponectin levels of 1-day- and 4-week-old HFF-offspring were significantly lower. Urinary albumin excretion levels were higher than those of N-offspring at the same age, whose levels at 16-week old were inversely correlated with plasma adiponectin. HFF-offspring at 16-week old exhibited glomerulosclerosis, hyperglycemia, and high mean blood pressure associated with reduced podocin and increased transforming growth factor-beta1 expression in the kidneys. Exposure to maternal HFF-diet during fetal and early postnatal development induces hypoadiponectinemia in offspring, which might cause renal injury and metabolic derangements later in life.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：腎障害 アディポネクチン 母体環境 メタボリックシンドローム 高血圧 酸化ストレス アルブミン尿

1. 研究開始当初の背景

母体環境の変化によって生じる新生仔の腎症発症進展に、AGEs による制御が関与するか否か、そうであれば、我々が開発した新規分子標的治療薬である AGEs-アプタマーにより腎症が改善するかを検討することを目的とした。AGEs-RAGE 系は糖尿病性腎症の発症進展に重要な役割を担っている。しかしながら、妊娠中の母体環境が胎児に与える影響に、AGEs-RAGE 系を介した制御が関与するか否かは不明である。以上の背景から以下の目的を立て実験を行うこととした。

2. 研究の目的

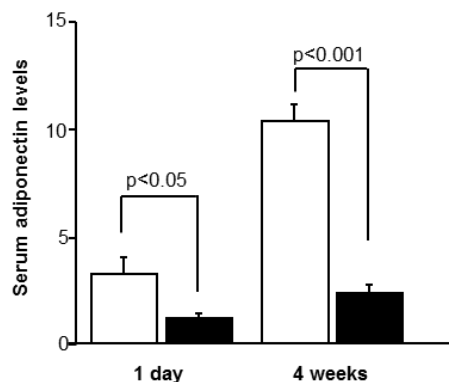
妊娠期、出産後の時期に高カロリー食、高フルクトースを負荷すると、後に腎障害が惹起されるか？そうであれば AGE-RAGE 系の関与はどの程度あるのかを明らかにする。もし関与があれば、AGEs-アプタマーが腎症を改善するか否かを検討する。

3. 研究の方法

雌ラットに High-Fat Diet とフルクトースを負荷する (HFD+F) メタボリック症候群モデルを作成し、母体環境が変化した雌ラットから出生した新生仔に生ずる腎障害の進展と、AGE-RAGE 系の関与を検討する。12 週令の雌 SD ラットに標準食 (NF)、高脂肪食・高フルクトース水 (HFF) を 6 週間投与し正常な NF 雄ラットと交配した。離乳まで両群の食事を継続し、仔の離乳時 (4 週令) に NF に切り替え雄仔 16 週令で屠殺した。その後、腎重量、尿中アルブミン排泄 (UAE)、血圧、脂質酸化ストレスであるマロンジアルデヒド (MDA) などを測定・評価した。さらに、アディポネクチンを血清レベルにて検討し、酸化ストレスとの相関を検討した。AGEs-RAGE 系については、血清中のペントシジン、CML を測定することで評価した。AGEs の上昇がみられれば、AGEs-アプタマーの投与を母に行い、仔の腎症が改善するか否かを検討する。

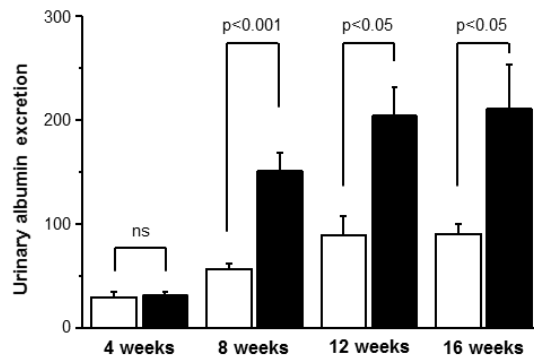
4. 研究成果

NF ラットの仔と比較し、HFF ラット出生直後及び 4 週令の仔で有意に血清 APN は低下し (図 1) 血清 MDA と負に相関した。 (図 1)



血清ペントシジン、CML を測定したが、予想に反し、母ラット、HFF 出生仔ともに明らかな変化は認めなかった。さらに、AGEs の腎組

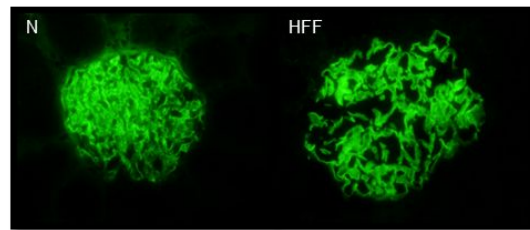
織への沈着も有意な上昇は見られなかった。HFF ラット出生直後の体重は低値であったが、その後増加に転じた。HFF 出生群では、8 週令には UAE が増加し始め 16 週令まで持続し、 (図 2) 16 週令では APN と正に相関した。 (図 2)



HFF ラット 16 週令の仔において、有意な高血糖、高血圧を認めた。その上昇とともに腎組織中 TGF 発現亢進、ポドシン発現低下 (図 3)、糸球体硬化を認めた。

(図 3)

Podocin expression



以上より母体に対する HFF 負荷は APN 低下に影響し、仔の将来の腎障害や代謝異常を惹起しうるかもしれない。今後は母体から腎障害進展を阻止するというコンセプトで研究を継続していく予定である。

今回、AGE-RAGE 系の関与については見出すことはできなかったため、AGE-アプタマーにて治療を考えていたが、断念することとなった。モデルの違い等も影響していた可能性があり、まずはヒトにおける妊婦の AGEs 測定等を行い、将来の子供の腎症発症との因果関係等の検討を行っていきたい。

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 19 件)

1. Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, Kaida Y, Yokoro M, Ueda S, Wada Y, Takeuchi T, Shimizu M, Yamazaki H, Okuda S: Oral L-carnitine supplementation increases trimethylamine-N-oxide, but reduces markers of vascular injury in hemodialysis patients. J CARDIOVASC PHARM 65:289-295, 2015 (査読有)
2. Fukami K, Shibata R, Nakayama H,

- Yamada K, Okuda S, Koga M: Serum albumin-adjusted glycated albumin is a better indicator of glycemic control in diabetic patients with endstage renal disease not on hemodialysis. ANN CLIN BIOCHEM 2015 in press (査読有)
3. Ishibashi Y, Matsui T, Fukami K, Ueda S, Seiya O, Yamagishi S: Rivaroxavan inhibits oxidative and inflammatory reactions in advanced glycation end products-exposed tubular cells by blocking thrombin/protease-activated receptor-2 system. THROMB RES 135:770-773,2015 (査読有)
  4. Matsui T, Nakashima S, Nishino Y, Ojima A, Nakamura N, Arima K, Fukami K, Seiya O, Yamagishi S: Dipeptidyl peptidase-4-deficiency protects against experimental diabetic nephropathy partly by blocking advanced glycation end products-their receptor RAGE axis. LAB INVEST 95:525-533,2015 (査読有)
  5. Nakayama Y, Ueda S, Yamagishi SI, Obara N, Taguchi K, Ando R, Kaida Y, Iwatani R, Kaifu K, Yokoro M, Toyonaga M, Kusumoto T, Fukami K, Okuda S: Asymmetric dimethylarginine accumulates in the kidney during ischemia/reperfusion injury. KIDNEY INT 85:570-578,2014 (査読有)
  6. Ishibashi Y, Matsui T, Ueda S, Fukami K, Yamagishi S: Advanced glycation end products potentiate citrated plasma-evoked oxidative and inflammatory reactions in endothelial cells by up-regulating protease-activated receptor-1 expression. CARDIOVASC DIABETOL 13:60,2014 (査読有)
  7. Koike K, Ueda S, Yamagishi SI, Yasukawa H, Kaida Y, Yokoro M, Fukami K, Yoshimura A, Okuda S: Protective role of JAK/STAT signaling against renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction. CLIN IMMUNOL 150:78-87,2014 (査読有)
  8. Fukami K, Yamagishi S, Iida S, Matsuoka H, Okuda S: Involvement of iron-evoked oxidative stress in smoking-related endothelial dysfunction in healthy young men. PLoS One 9:e89433,2014 (査読有)
  9. Ishibashi Y, Matsui M, Ueda S, Fukami K, Okuda S, Yamagishi S: Irbesartan inhibits advanced glycation end product-induced increase in asymmetric dimethylarginine level in mesangial cells through its anti-oxidative properties. INT J CARDIOL 176:1120-1122,2014 (査読有)
  10. Ashihara J, Yanagisawa K, Obara S, Wada N, Nishino Y, Ojima A, Matsui T, Fukami K, Yamagishi S: Vascular injury is improved by pre-meal glulisine-based bolus insulin therapy in type 2 diabetic patients. INT J CARDIOL 2014 in press (査読有)
  11. Kan H, Yamagishi S, Ojima A, Fukami K, Ueda S, Takeuchi T, Hyogo H, Aikata H, Chayama K: Elevation of serum levels of advanced glycation end products in patients with non-B or non-C hepatocellular carcinoma. J CLIN LAB ANAL 2014 in press (査読有)
  12. Hazama T, Fukami K, Yamagishi S, Kusumoto T, Sakai K, Adachi T, Sonoda K, Kasuga S, Ueda S, Okuda S: Dialysate VEGF is an independent determinant of serum albumin levels and predicts future withdrawal from peritoneal dialysis in uremic patients. THER APHER DIAL 18:391-397,2014 (査読有)
  13. Ojima A, Matsui T, Nakamura N, Higashimoto Y, Ueda S, Fukami K, Okuda S, Yamagishi S: DNA Aptamer Raised Against Advanced Glycation End Products (AGEs) Improves Glycemic Control and Decreases Adipocyte Size in Fructose-Fed Rats by Suppressing AGE-RAGE Axis. HORM METAB RES 2014 in press (査読有)
  14. Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, Kaida Y, Obayashi A, Nakayama Y, Ando R, Obara N, Ueda S, Wada Y, Okuda S: Carnitine deficiency is associated with late-onset hypogonadism and depression in uremic men with hemodialysis. AGING MALE 17:238-242,2014 (査読有)
  15. Ishibashi Y, Matsui T, Ueda S, Fukami K, Okuda S, Ohta H, Yamagishi S: Bazedoxifene blocks AGEs-RAGE-induced superoxide generation and MCP-1 level in endothelial cells. CLIMACTERIC 23:1-5,2014 (査読有)
  16. Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, Nasu M, Okuda S: Effects of switching from oral administration to intravenous injection of L-carnitine on lipid metabolism in hemodialysis patients. Clin Kidney J 7:470-474,2014 (査読有)
  17. Goto S, Nakai K, Ito J, Fujii H, Tasaki K, Suzuki T, Fukami K, Hara S, Nishi S: Marked elevation of serum hyaluronan levels in collagenofibrotic glomerulopathy. INTERNAL MED 53:1801-1804,2014 (査読有)

- 有)
18. Fukami K, Yamagishi S, Coughlan MT, Harcourt BE, Kantharidis P, Thallas-Bonke V, Okuda S, Cooper ME, Forbes JM: Ramipril inhibits AGE-RAGE-induced matrix metalloproteinase-2 activation in experimental diabetic nephropathy. Diabetol Metab Syndr 13:86, 2014 (査読有)
  19. Matsui T, Ojima A, Higashimoto Y, Fukami K, Yamagishi S: Pigment epithelium-derived factor inhibits caveolin-induced interleukin-8 gene expression and proliferation of human prostate cancer cells. ONCOL LETT 2014 in press (査読有)
- [学会発表](計7件)
1. 深水 圭: 「血液透析患者におけるカルニチン補充療法の新展開」. 第20回日本HDF研究会学術集会・総会, 神戸国際会議場, 神戸, 11/1, 2014 (セミナー)
  2. 深水 圭: 透析施設における医師と臨床工学士との連携の重要性について. 第9回九州臨床工学会, 第22回福岡県臨床工学会, 福岡国際会議場, 福岡サンパレス, 福岡, 10/5-6, 2014 (シンポジウム)
  3. 深水 圭: 慢性腎臓病(CKD)における高カリウム血症治療. 第44回日本腎臓学会西部学術大会, 神戸国際会議場, 神戸, 10/3-4, 2014 (セミナー)
  4. 深水 圭: 血液透析患者におけるカルニチン補充療法の意義～新たな可能性への期待～. 第83回大阪透析研究会, 大阪国際会議場, 大阪, 9/7, 2014 (セミナー)
  5. 深水 圭: CKD患者におけるファブリー病スクリーニングの意義. 第57回日本腎臓学会, パシフィコ横浜, 横浜, 7/4-7/6, 2014 (セミナー)
  6. 深水 圭, 酒井和子, 甲斐田裕介, 和田芳文, 奥田 誠也: 血液透析患者におけるカルニチン欠乏とLOH症候群との関連についての検討. 第59回日本透析医学会学術集会, 神戸国際会議場, 神戸, 6/12-15, 2014 (シンポジウム)
  7. 深水 圭: 血液透析患者におけるカルニチン補充療法の新展開. 第4回日本腎臓リハビリテーション学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 3/29-30, 2014 (セミナー)
- [図書](計4件)
1. 田口顕正, 深水 圭, 奥田誠也: 月刊糖尿病 糖尿病腎症における血糖コントロール(腎不全期～透析療法期). p29-36, 医学出版, 東京, 2014 (分担執筆)
  2. 深水 圭, 山岸昌一: アンチエイジングのための100の質問 可溶性RAGEについて, 教えてください. どのような機序で産生されますか. p120-121, メディカルレビュー社, 東京, 2014 (分担執筆)
  3. 深水 圭, 山岸昌一: アンチエイジング

- のための100の質問 透析患者において、LOH 症候群やうつ症状と AGEs は関連しますか. p180-181, メディカルレビュー社, 東京, 2014 (分担執筆)
4. 深水 圭, 山岸昌一: アンチエイジングのための100の質問 AGEsとエピジェネティクスとの関係について, 何かわかっていれば教えてください. p218-219, メディカルレビュー社, 東京, 2014 (分担執筆)
- [産業財産権]  
出願状況(計1件)

名称: RAGE アプタマーおよびその用途  
 発明者: 山岸昌一, 深水 圭, 松井孝憲, 東元祐一郎, 田口顕正  
 権利者: 学校法人 久留米大学  
 種類: 特願  
 番号: 2015-206555 (267)  
 出願年月日: 2015年10月21日  
 国内外の別: 国内・国外

取得状況(計1件)

名称: AGE 特異的アプタマーの腎疾患治療用途  
 発明者: 深水 圭, 山岸昌一, 奥田誠也, 東元祐一郎, 井上浩義  
 権利者: 学校法人 久留米大学  
 種類: 特許  
 番号: 5873027  
 取得年月日: 2016年1月22日  
 国内外の別: 国外

[その他]  
 ホームページ等  
 なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
深水 圭 (Fukami Kei)  
 久留米大学・医学部・教授  
 研究者番号: 80309781

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号:

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号: