

平成 29 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06591

研究課題名(和文) 子宮内における個体発生後期の血管新生メカニズムの解析

研究課題名(英文) Analyzing the mechanisms of perinatal angiogenesis and regulation of tissue oxygen levels

研究代表者

浅田 礼光 (Asada, Nariaki)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：20757439

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)：日本を含む先進国では早産低出生体重児が増加している。早産児では造血ホルモンであるエリスロポエチン(EPO)の不足した未熟児貧血を起こす。早産児でなぜEPOが欠乏するかは不明であった。また、早産児の貧血が成長後にどのようにして改善するかは知られていなかった。

本研究では、未熟児貧血の原因が腎尿細管機能の未熟性にあることを解明した。本研究により、尿細管機能を向上させるか、腎酸素濃度を低下させることで未熟児貧血が改善することが明らかになった。さらに、早産児が思春期に腎臓の低酸素によるEPO産生過剰性多血症を発症することも初めて報告した。

研究成果の概要(英文)：Preterm birth is increasing in the world. Preterm babies develop erythropoietin (EPO)-deficiency anemia of prematurity (AOP). The cause of AOP has been unknown. Furthermore, the course of anemia during development also remained unclear.

We found that the cause of AOP is elevated oxygen levels in the kidney due to poor oxygen consumption by immature tubules. Our findings will help develop therapeutic options for AOP. In addition, we reported EPO-induced polycythemia in adolescents born preterm with low birth weight. We considered that peritubular capillary rarefaction and progression of focal glomerulosclerosis were causes for the polycythemia.

研究分野：新生児学、腎臓学

キーワード：早産児 腎臓 低酸素 エリスロポエチン

## 1. 研究開始当初の背景

胎児期から新生児期は臓器が急激に発達する為、血管新生および赤血球による酸素供給が重要である。重度の貧血や血管新生障害は、臓器発達を妨げ機能や予備能の低下を招く。早産児はエリスロポエチン(EPO)欠乏性の貧血および血管新生障害を来す(Mikael Norman Acta Paediatr. 2008)。そのため、未熟児貧血や血管新生障害による未熟児網膜症、脳血管障害、脳血管の構築変化、ネフロン減少、高血圧、インスリン抵抗性など、生涯にわたり様々な影響を受ける。周産期環境が生活習慣病発症に関わる事は Developmental Origins of Health and Disease (DoHAD)仮説として知られており、周産期の重用性が注目されつつある。しかし、早産で未熟児貧血や血管新生が障害される機序は不明である。

腎臓は低酸素な臓器であり、組織酸素濃度変化を鋭敏に検出することでEPOを産生する。腎臓の低酸素環境は、血管密度、動静脈の対交流系、尿細管酸素消費によって制御されている。腎臓は低酸素が進行するとEPO産生を増やすことで多血に至るが、これまでに早産児や低出生体重児で多血を報告した論文は存在しない。

日本では生殖医療の進歩や高齢出産の増加に伴い、早産が全出産の約10%を占めており、今後更に増加する可能性がある。早産児における病態の解明は急務である。

## 2. 研究の目的

本研究は早産や子宮内環境不良が血管新生に与える影響の解明を通し、胎児期後期の血管新生のメカニズムの解明を目的とした。腎臓では血管新生が組織酸素濃度およびEPO産生量を制御しているため、早産児の生後急性期の未熟児貧血および成長後の多血症について検討した。

## 3. 研究の方法

マウスを用い、周産期環境が脳および腎臓の血管発生に与える影響を調べた。腎臓においては血管密度に加え、尿細管機能と腎酸素濃度の関係も検討した。

早産患者の臨床データおよび腎生検組織の解析により、早産児における生後間もない貧血(未熟児貧血)の相関因子、成長過程における多血症の相関因子を調べた。

## 4. 研究成果

超早産(在胎25週)、超低出生体重児として出生した思春期男性2名で、高血圧、蛋白尿、ヘモグロビン約19g/dLの多血症を認めた。腎生検組織の解析で巣状系球体硬化に加え、血管内皮マーカーであるCD31およびCD34の染色で毛細血管減少を認めた。血清EPOの上昇を認め、高EPO性の多血症と考えた。早産低出生体重により血管新生が障害され、さらに巣状系球体硬化の進行により腎組織が低酸素となったことでEPO産生が増加し多血症を発症したと考えた。

超低出生体重児における多血症の頻度および危険因子を調べるため、低出生体重児として出生した36人を後方視的に解析した。多血は33.3%で認められ、低出生体重、慢性肺疾患、腎機能障害と有意に関係した。この結果から、早産、早産に伴う酸素化、子宮内低酸素および低栄養、生後の低酸素が血管新生を障害する可能性があると考えられた。

マウスを用いて周産期環境が血管新生に与える影響を解析した。胎児期低酸素の影響を調べるため妊娠マウスを低酸素飼育したが、臓器の血管密度に変化は認められなかった。胎児低栄養の影響をしらべるため、妊娠マウス低栄養モデルを作成したところ、出生後の脳および腎臓で血管密度低下が観察された。出生後の高酸素負荷モデルを作成したところ、脳および腎臓の血管密度低下を認め

た。現在、血管密度が低下する詳細な分子メカニズムを検討中である。

以上より、胎児低栄養、生後の高濃度酸素暴露が血管新生を障害する要因と考えられた。

未熟児貧血の原因を調べるため、生理的に早産であるマウスの生後早期のタイミングを解析した。生後7日目と14日目と比較すると、同程度(ヘマトクリット30%程度)の貧血を呈したにも関わらず、エリスロポエチンは生後14日目でしか上昇していなかった。生後7日目の貧血かつEPOが十分に産生されていない状態を未熟児貧血モデルとして使用することにした。低酸素領域を可視化できるピモニダゾール染色を行ったところ、生後14日目に比べ生後7日目の方が酸素濃度が高いことが明らかになった。このため、未熟児貧血は貧血であるにも関わらず腎臓が低酸素にならないためEPO産生量が増加しないと考えられた。血管内皮染色およびCD31 RNA発現量解析により血管密度を評価したところ、生後7日目と14日目では同程度であり、血管新生の差による酸素濃度の違いではないと考えられた。腎臓は血管に加え、尿細管酸素消費によっても酸素濃度が制御されており、早産児では尿細管機能が特に未熟であることが知られている。生後14日目および7日目において尿細管再吸収を薬剤により抑制または亢進することで、EPO産生量がそれぞれ低下または増加することが判明し、尿細管機能の未熟性がEPO欠乏の原因と考えられた。早産児において貧血と関連する因子を調べたところ、出生体重、出生週数、腎機能とは関連せず、尿細管機能(FENa, 尿中クレアチニン、2ミクログロブリン比)と関連することを確認した。以上から、早産児のEPO欠乏性貧血は、尿細管の未熟性のため酸素消費がすくなく腎臓の生理的低酸素環境が成立しないことが原因であると考えた。

## 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1件)

Nariaki Asada, Takanori Tsukahara, Megumi Furuhata, Daisuke Matsuda, Shunsuke Noda, Kuniaki Naganuma, Akinori Hashiguchi, Midori Awazu. Polycythemia, capillary rarefaction, and focal glomerulosclerosis in two adolescents born extremely low birth weight and premature. *Pediatr Nephrol* 2017. Jul 32(7):1275-1278

査読あり

[学会発表](計9件)

第52回日本小児腎臓病学会学術集会

浅田礼光、松村和哉、松崎陽平、池田一成、粟津緑

Polycythemia in subjects born with a history of preterm birth and extremely low birth weight

平成29年6月2日、京王プラザホテル(東京都新宿区)

第52回日本小児腎臓病学会学術集会

浅田礼光

腎臓におけるEPO産生開始の機序解明およびEPO欠乏性未熟児貧血の治療法の検討

平成29年6月1日、京王プラザホテル(東京都新宿区)

第60回日本腎臓学会学術集会総会

浅田礼光

腎臓におけるEPO産生開始の機序解明およびEPO欠乏性未熟児貧血の治療法の検討

平成29年5月27日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

第120回日本小児科学会学術集会

浅田礼光

生後の酸素濃度変化が発生過程の脳および腎臓の血管新生に与える影響

平成 29 年 4 月 15 日、グランドプリンスホテル新高輪（東京都港区）

The 15<sup>th</sup> Japan-Korea-China Pediatric Nephrology Seminar 2017

Nariaki Asada, Kazuya Matsumura, Yohei Matsuzaki, Kazushige Ikeda, Midori Awazu  
Polycythemia in subjects born with a history of preterm birth and extremely low birth weight

平成 29 年 4 月 8 日、北とぴあ（東京都北区）

第 120 回日本小児科学会学術集会

浅田礼光、松村和哉、松崎陽平、池田一成、粟津緑

超低出生体重で出生した児における多血症の検討

平成 29 年 4 月 16 日、グランドプリンスホテル新高輪（東京都港区）

American Society of Nephrology Renal Week 2016

Nariaki Asada, Takanori Tsukahara, Megumi Furuhashi, Daisuke Matsuda, Shunsuke Noda, Kuniaki Naganuma, Akinori Hashiguchi, Midori Awazu. Polycythemia, capillary rarefaction, and focal glomerulosclerosis in two adolescents born extremely low birth weight and premature.

平成 28 年 11 月 19 日

Chicago, Illinois (USA)

第 51 回日本小児腎臓病学会学術集会

浅田礼光、塚原孝典、松岡大輔、降旗めぐみ、野田俊輔、長沼邦明、橋口明典、粟津緑  
尿細管周囲毛細血管の菲薄化により多血症を呈したと考えられる超早産の 2 青年例

平成 28 年 7 月 7 日、ウインク愛知（愛知県名古屋市）

第 59 回日本腎臓学会学術集会総会

浅田礼光

尿細管機能と塩分摂取量は腎臓の酸素濃度とエリスロポエチン発現量に関わる

平成 28 年 6 月 18 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

第 119 回 日本小児科学会学術集会

浅田礼光、塚原孝典、松岡大輔、降旗めぐみ、野田俊輔、長沼邦明、橋口明典、粟津緑  
尿細管周囲毛細血管の菲薄化により多血症を呈したと考えられる超早産の 2 青年例  
平成 28 年 5 月 13 日、ロイトン札幌（北海道・札幌市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ等（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅田 礼光 (Nariaki Asada)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：20757439

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし