

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K20194

研究課題名（和文）SGAモデルマウスを用いた生活習慣病発症予測マーカーの開発

研究課題名（英文）Insulin-like growth factor-1 and lipoprotein profile in small for gestational age mouse model

研究代表者

長野 伸彦（NAGANO, Nobuhiko）

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：90794701

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）：低出生体重児は在胎期の体質変化が原因となり生活習慣病を発症するリスクが高いが、低出生体重-糖尿病発症の病態は適切な動物モデルがなく十分に解明されていないのが現状であった。そこで、子宮内虚血マウスが非肥満及び肥満型高血糖発症モデルとなり得るかの検証を行った。その結果、子宮内虚血によって低出生体重仔が生まれ、離乳後普通食で成獣期（8週齢）に低体重にも関わらず高血糖を発症し、高脂肪食では肥満と著明な高血糖を発症する低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルの開発に成功した（特願2020-116354）。本モデルの病態が解明できれば、非肥満型糖尿病発症のリスクが高い低出生体重児の予測も可能となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本では総出生数は減少しているが低出生体重児は増加している。我が国では、その低出生体重児の将来の健康障害を減らすことが医療的・経済的・社会的に求められている。低出生体重児は、成人期の非肥満型糖尿病の発症リスクが高いが、低出生体重-糖尿病発症の病態は適切な動物モデルがなく十分に解明されていない。それゆえ、そのアニマルモデルの開発が喫緊の課題であった。今回開発した低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルの高血糖発症機序を解明し、新たな栄養法の開発ができれば、低出生体重児の成人期の非肥満型糖尿病を激減させることができる。その結果、低出生体重児の健康増進に大きく貢献できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Low birth weight infants are at high risk of developing metabolic diseases due to changes in their constitution during gestational age. The pathophysiology of low birth weight-diabetes onset is not well understood without a suitable animal model. Therefore, we examined whether intrauterine ischemic mice could be a model for the development of non-obese and obese hyperglycemia. As a result, low birth weight pups were born due to intrauterine ischemia, and hyperglycemia developed in the adult stage (8 weeks of age) despite low weight on a normal diet after weaning. In addition, a high-fat diet developed obesity and marked hyperglycemia. We have succeeded in developing a mouse model with low birth weight and non-obese hyperglycemia (Japanese Patent Application No. 2020-116354). If the pathophysiology of this model can be elucidated, it will be possible to predict low birth weight infants at high risk of developing non-obese diabetes.

研究分野：新生児学

キーワード：DOHaD 非肥満 マウスモデル 子宮内虚血 SGA 高血糖 インスリン抵抗性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本では総出生数は減少しているが低出生体重児は増加しており、その低出生体重児の将来の健康障害を減らすことが医療的・経済的・社会的に求められている。子宮内で低栄養に曝露された胎児は体重が減少するのみならず、その環境に適合するための体質変化が生じる。発達過程(胎児期や生後早期)と出生後の環境との不適合が、成人期のメタボリック症候群や糖尿病の発症に関与するという DOHaD の概念が現在定着している。しかしながら、この DOHaD のメカニズムに関しては未だ十分に解明されていない。我々は、子宮内虚血操作により低出生体重の産仔マウスが出生し、離乳後普通食で、成獣期に低体重にも関わらず高血糖を発症し、高脂肪食では肥満と著明な高血糖となる動物モデルを初めて開発に成功した(特願 2020-116354)(図 1)。

2. 研究の目的

動物実験委員会の承認のもと、子宮内虚血を用いた低出生体重-非肥満型及び肥満型高血糖発症マウスモデルの病態を明らかにする。

3. 研究の方法

妊娠 16.5 日のマウスで両側子宮動脈を 15 分間血流遮断した虚血 (I) 群 (n=12) と、開閉腹のみ行ったコントロール (C) 群 (n=14) に分類した。出生した新生仔マウスを 4 週齢で離乳し普通食 (I 群 n=7、C 群 n=9) と高脂肪食 (I 群 n=5、C 群 n=5) にさらに分け飼育した。7 週齢時に尿中 $\beta 2$ マイクログロブリン ($\beta 2$ MG)、尿中アルブミン (A1b)、尿中クレアチニン (Cr) の測定を行った。体重推移と 8 週齢時の体組成、脂肪重量、除脂肪重量、血糖値、インスリン (IRI)、HOMA-R、コレステロール (Cho) 濃度 (Total-Cho、VLDL-Cho、LDL-Cho、HDL-Cho)、トリグリセライド (TG) 濃度 (Total-TG、VLDL-TG、LDL-TG、HDL-TG) を比較した。体組成の測定は、実験動物用体組成計 (ImpediVET®) を用いて、生体電気インピーダンス法で測定した。Cho と TG 濃度は、HPLC 法で測定した (図 2)。

4. 研究成果

出生体重の平均値は I 群 5.0g、C 群 6.7g と I 群で有意に低かった ($p < 0.01$)。成獣期(雌)の体重、血糖値、脂肪重量、除脂肪重量は、普通食では I 群が平均 35.0 g、166 mg/dl、17.8 g、17.2 g、C 群が 40.0 g、79 mg/dl、18.2g、22.3 g であり、I 群は C 群と比較して除脂肪重量が軽く、血糖値が有意に高かった ($p < 0.01$)。高脂肪食では I 群が平均 52.5 g、213 mg/dl、35.4 g、16.9 g、C 群が平均 42.8 g、141 mg/dl、29.6 g、15.7 g であり、I 群は C 群と比べ体重が重く、血糖値が有意に高かった ($p < 0.05$) (図 3、4)。7 週齢で尿中 $\beta 2$ MG は、普通食では I 群で C 群よりも高かった。尿中 A1b は、普通食及び高脂肪食のいずれも、I 群で C 群より高かった。尿中 Cr は、普通食では I 群で C 群より高かった (図 5)。I 群と C 群の普通食の比較では、8 週齢で IRI は有意差を認めなかったが、HOMA-R は I 群で C 群よりも高い傾向であった ($p = 0.06$)。I 群の 7 頭中 3 頭で HOMA-R が正常値の 1.6 より高く、C 群は全例で HOMA-R は 1.6 未満であった。8 週齢で Cho の 4 分画に有意差は認めず (図 6)、TG は体重が少ないにも関わらず、I 群の方が高く、特に LDL-TG が高い傾向を認めた ($p = 0.05$) (図 7)。子宮内虚血による低出生体重-非肥満型高血糖発症モデルマウスは、ヒトの実臨床に近い動物モデルである。この低出生体重-非肥満型高血糖発症モデルマウスを用いて、成獣期までの体重の変化や成獣期の体組成や血糖の解析を行うことで、子宮内で低栄養に曝露されその環境に適合するための体質変化とその後の糖尿病の発症を基礎実験で解析することが可能となる (表 1)。本発明の動物モデルを用いれば、低出生体重児-非肥満型糖尿病の病態メカニズムを明らかにできる可能性がある。

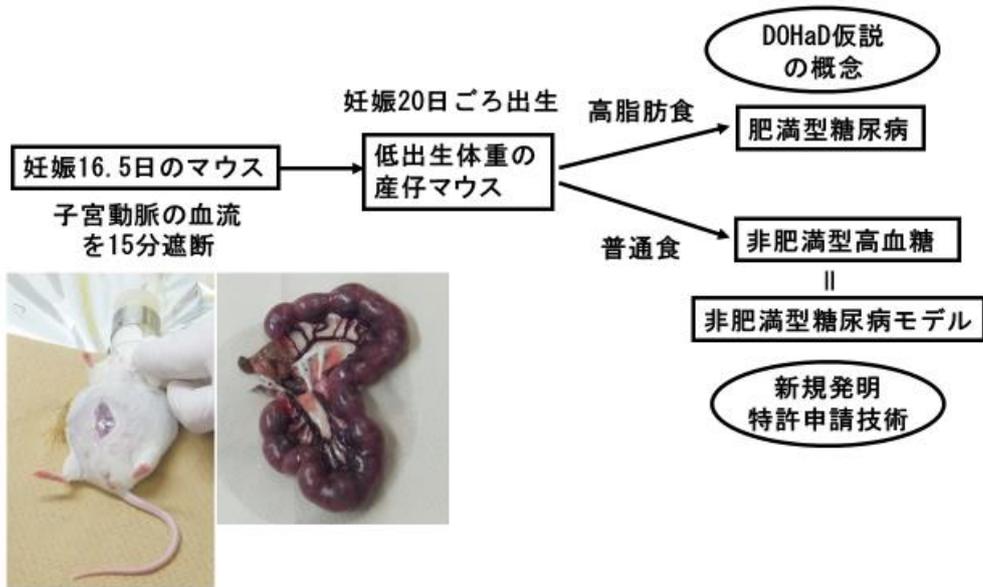


図1: 低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデル

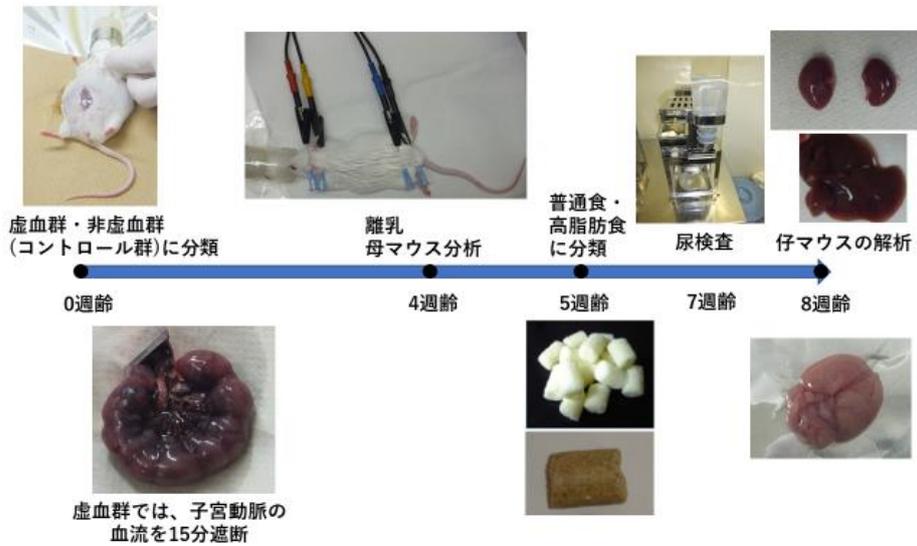
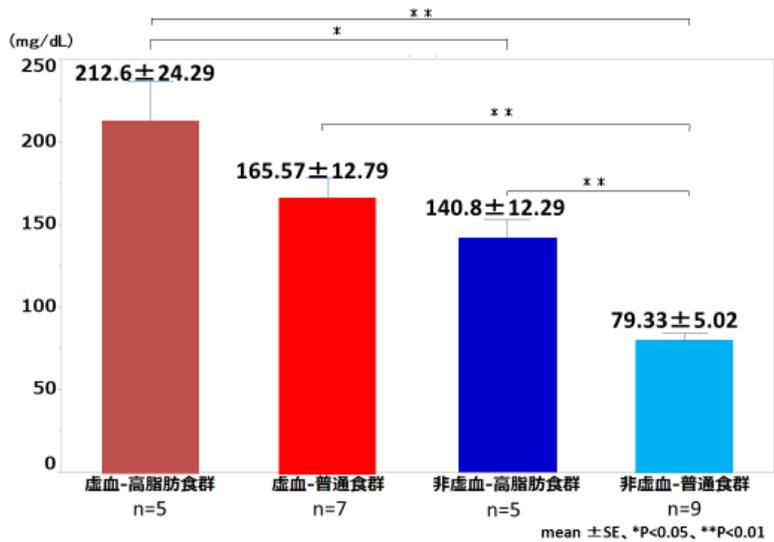
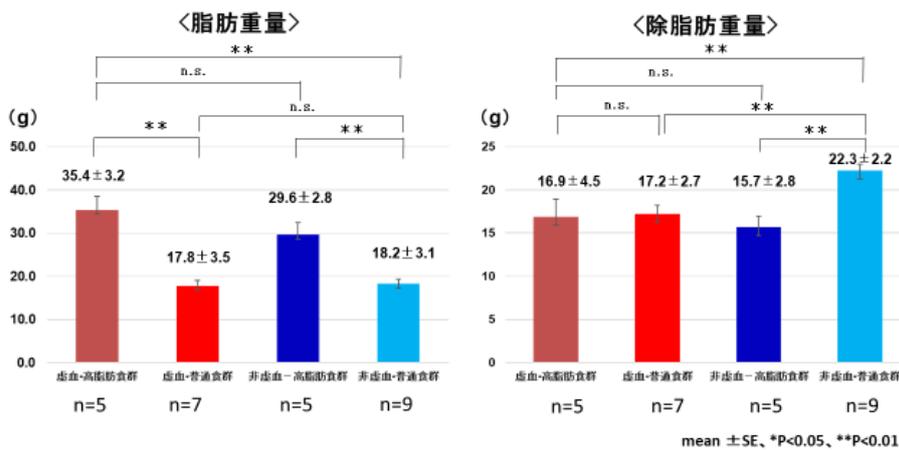


図2: 方法



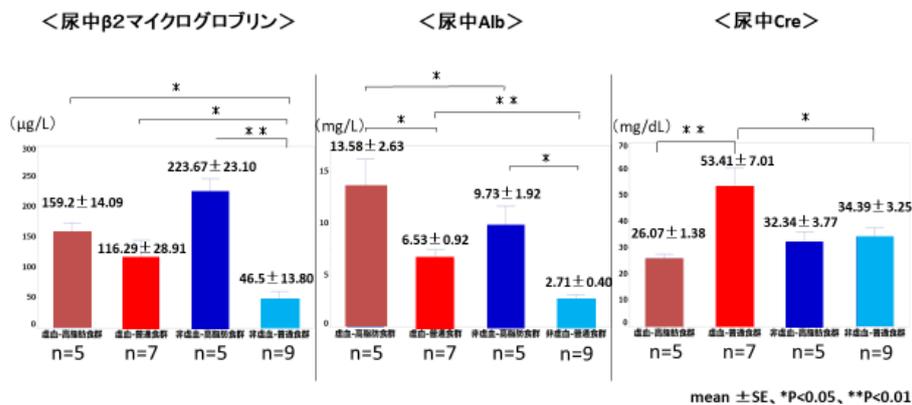
・虚血-普通食群は低出生体重で出生後、成獣期に痩せ型で高血糖を呈する。
 ・虚血-高脂肪食群は低出生体重で出生後、成獣期に肥満を伴う高血糖を呈する。

図3: 血糖値 (8週齢、空腹時)



高脂肪食群は普通食群と比較して、脂肪重量が多かった。
 8週齢でコントロール群が有意に除脂肪重量が多かった。

図4: 脂肪重量、除脂肪重量 (8週齢)



7週齢で尿中β2マイクログロブリンは、普通食では虚血群で非虚血群よりも高かった。尿中微量アルブミン(Alb)は、普通食及び高脂肪食のいずれも、虚血群で非虚血群より高かった。尿中クレアチン(Cr)は、普通食では虚血群で非虚血群より高かった。

図5: 尿検査 (7週齢)

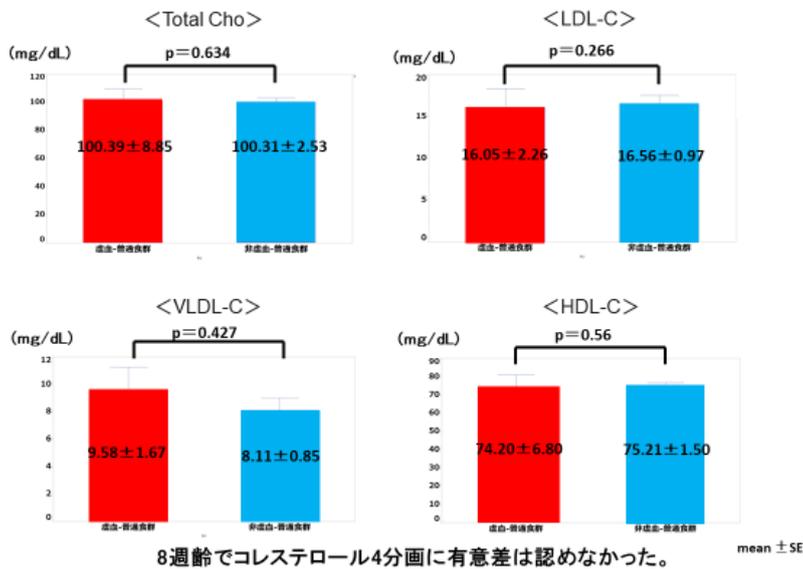


図6: コレステロール4分画(8週齢)

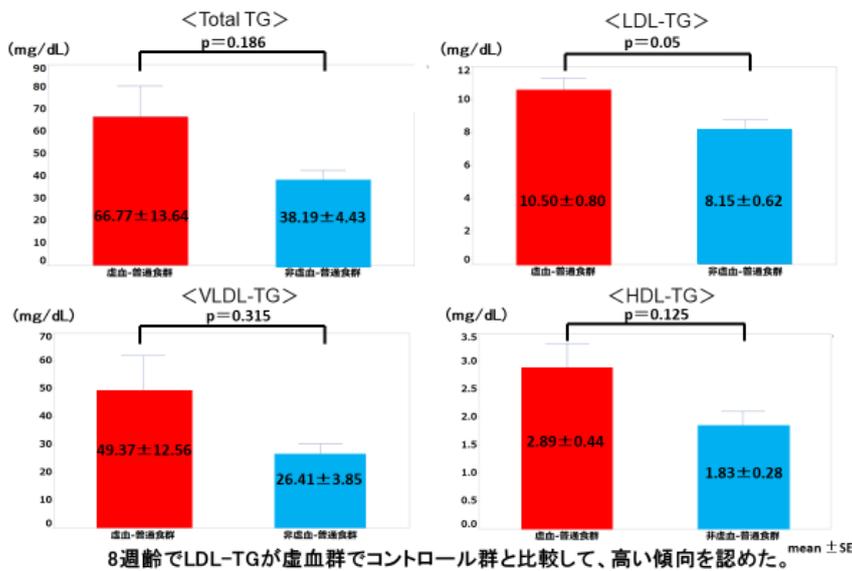


図7: トリグリセリド4分画(8週齢)

表1: 低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルのまとめ

	出生体重 (g)	栄養	成獣期体重 (g)	血糖値 (mg/dl)
虚血 n=12	5.0	普通食 n=7	35.0	166
		高脂肪食 n=5	52.5	213
コントロール n=14	6.7	普通食 n=9	40.0	79
		高脂肪食 n=5	42.8	141

子宮内虚血操作を行うと出生体重は小さく出生する。その後、普通食で飼育すると成獣期の体重は小さいが、高血糖を呈する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片山大地、長野伸彦、中崎公隆、清水翔一、浦上達彦、岡田知雄、森岡一朗
2. 発表標題 子宮内虚血を用いた低出生体重-非肥満及び肥満型高血糖発症マウスモデルの開発
3. 学会等名 第124回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長野伸彦、森岡一朗
2. 発表標題 低出生体重 - 糖尿病発症（D0HaD）の解明に向けての基礎研究
3. 学会等名 第124回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長野伸彦
2. 発表標題 早産SGA児はD0HaD仮説にあてはまるのか？ - 低出生体重-やせ型2型糖尿病の病態解明に向けて -
3. 学会等名 第41回日本肥満学会・第38回日本肥満症治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長野伸彦
2. 発表標題 子宮内虚血を用いた低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルの病態解析
3. 学会等名 第20回新生児栄養フォーラム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 非肥満型高血糖発症非ヒト哺乳動物の作製方法	発明者 長野伸彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020 - 116354	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------