

胚操作と生後の食事により2型糖尿病、糖尿病性腎症、脂肪肝炎を呈するマウスモデル

山梨大学大学院総合研究部
生命環境学域(生命環境学部)
地域食物科学科

教授 望月 和樹

2022年2月18日

2型糖尿病発症機構

消化されやすい糖質の摂取

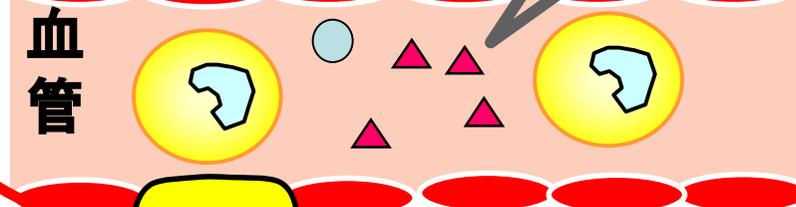
食後の高血糖の繰り返し

活性酸素種の産生・酸化傷害の惹起

インスリンの過剰分泌による脂肪の蓄積

炎症性サイトカイン

インスリン抵抗性

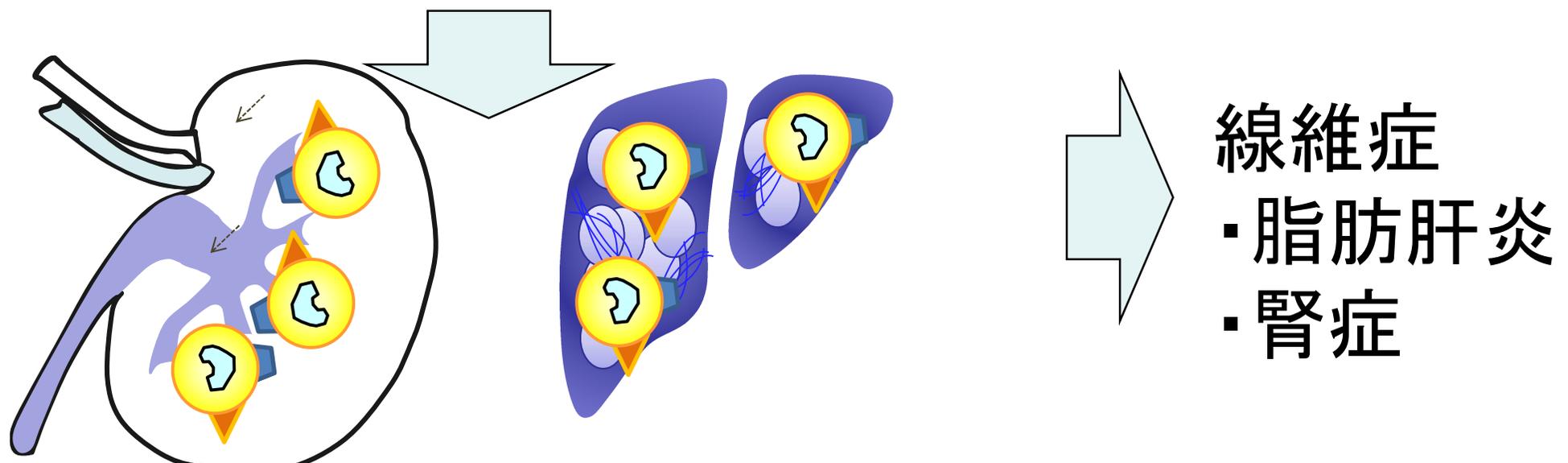
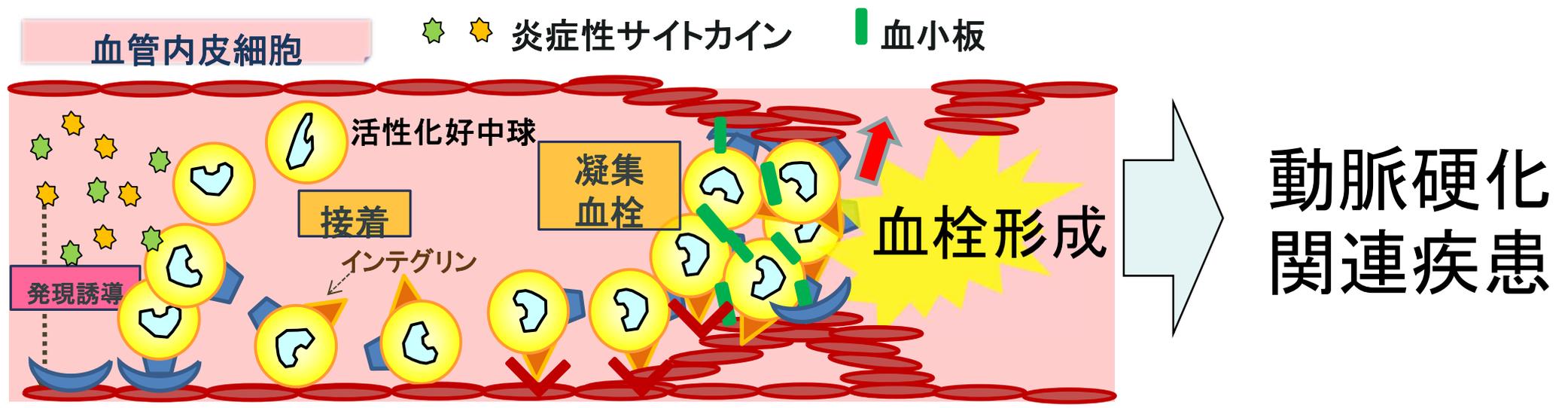
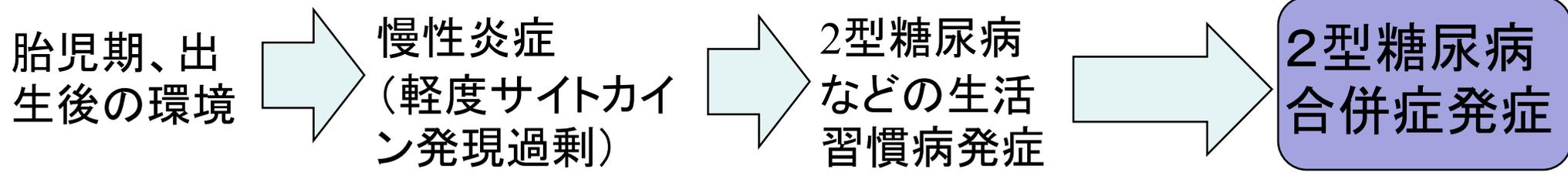


白血球の活性化
動脈硬化の進行

インスリン分泌低下
(膵β細胞のアポトーシス)

2型糖尿病の発症

合併症の発症・進展(腎機能障害・心血管障害など)



肝臓や腎臓に活性化白血球(好中球、マクロファージ等)が浸潤

従来技術とその問題点

1. 糖尿病合併症の治療薬・食品はほとんど開発されていない。
2. 生活習慣により2型糖尿病・合併症を発症するモデル動物は開発されていない。

実用化されている2型糖尿病マウス(ラット)には、db/dbマウス、ob/obマウス、OLETFラット、SHRcpラット、GKラットなどがあり、以下のような問題点がある。

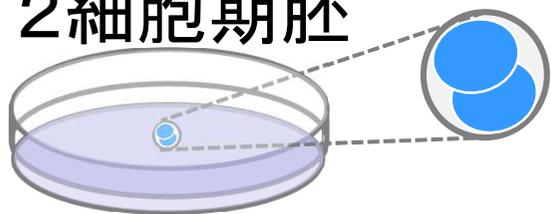
1. **生活習慣ではなく、遺伝変異(レプチン受容体、CCK受容体異常等)で発症。**
2. ヒトとは異なり、**極度の肥満を呈するモデル**である。
3. 1,2から、ヒトと同様の2型糖尿病および合併症発症過程をたどらない。
4. 既存の動物モデルでは、2型糖尿病や合併症の**食餌や薬剤による改善が見られにくい。**

本技術:

胚操作と生後の食事により2型糖尿病を呈するマウスモデル

MEMマウス

2細胞期胚



生後

高脂肪食

2型糖尿病発症

世界で唯一の環境因子のみで
2型糖尿病を発症するモデル

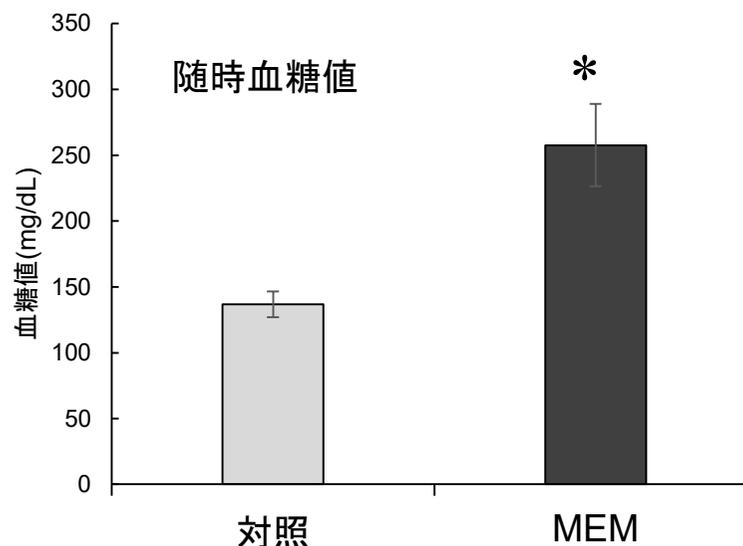
α MEM培地

(対照:KSOM(標準)培地)



MEMマウス
♂(81g)

対照マウス
♂(62g)



平均値±標準誤差 * $P<0.05$ Student's t -test

MEMマウスは軽度肥満で2型糖尿病を示す

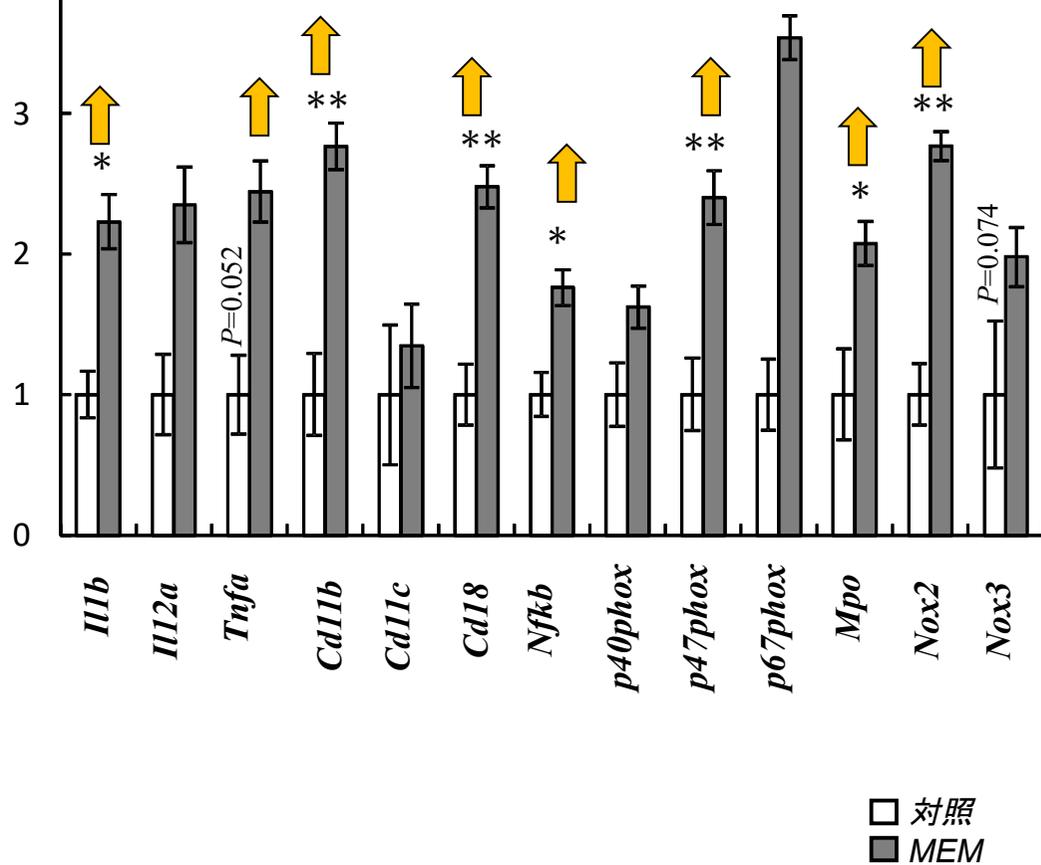
本技術:

胚操作と生後の食事により高炎症性サイトカインを呈するモデル

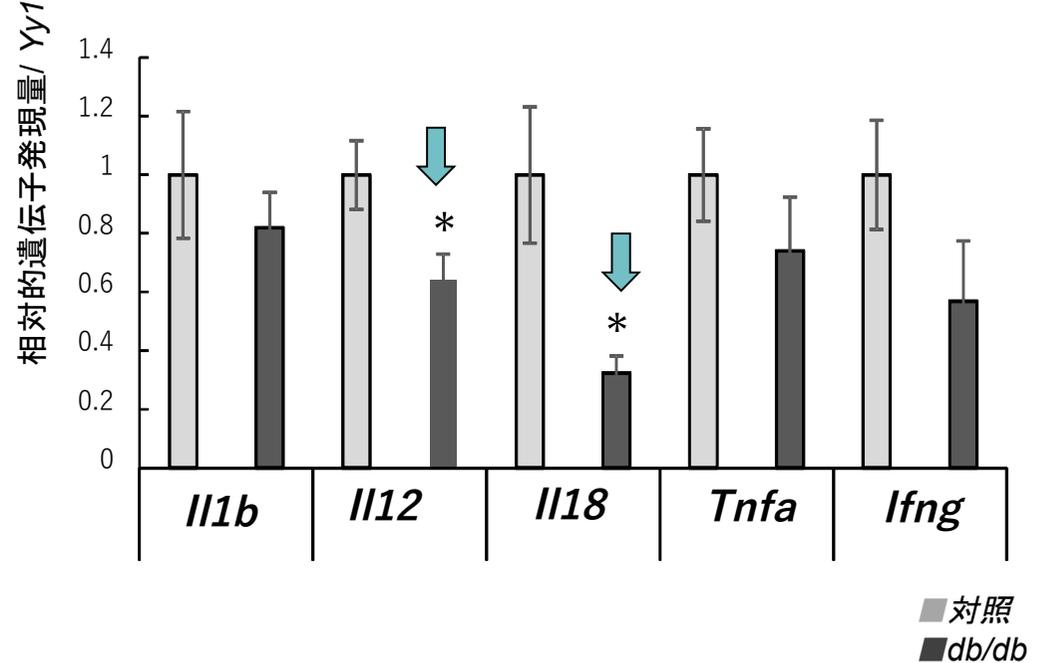
本技術 MEM糖尿病マウス

従来技術 *db/db*糖尿病マウス

末梢血炎症性サイトカインと炎症遺伝子mRNA発現

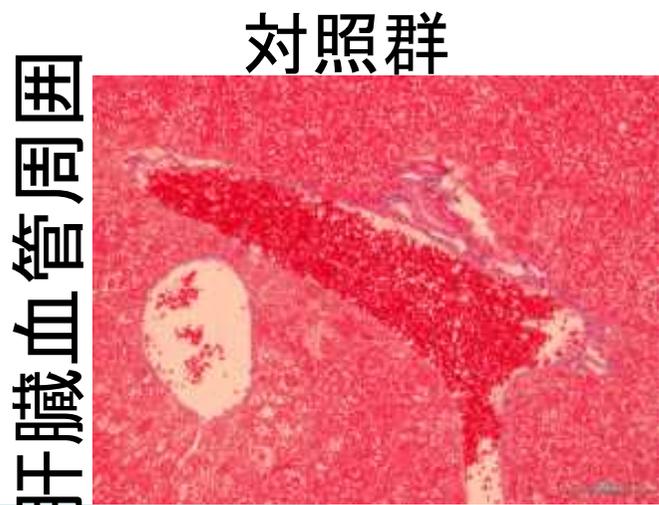


末梢血炎症性サイトカイン遺伝子mRNA発現



MEM糖尿病マウスは末梢血白血球において高炎症性サイトカイン発現を示すが、従来技術(*db/db*マウス)は示さない(OLETF、SHRcp、GKラット等も示さない)。

胚操作と生後の食事により脂肪肝炎を呈するマウスモデル



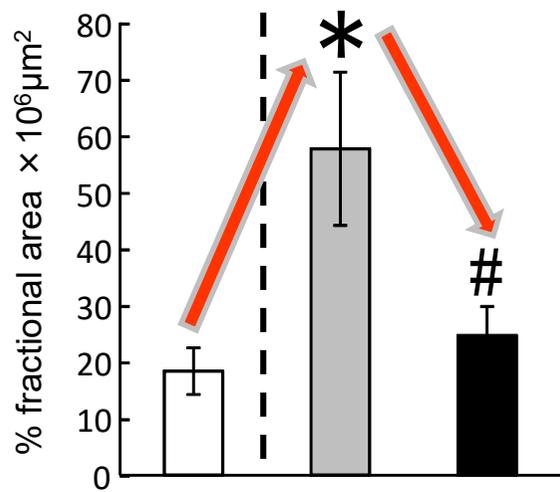
ASAN染色 100μm

※青色によって
コラーゲン繊維が
染色される

□ 対照群
■ 米粉食群
■ 大麦食群

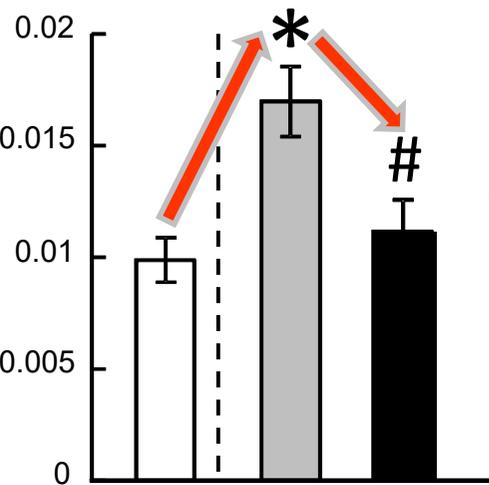
平均値±標準誤差

肝線維化面積



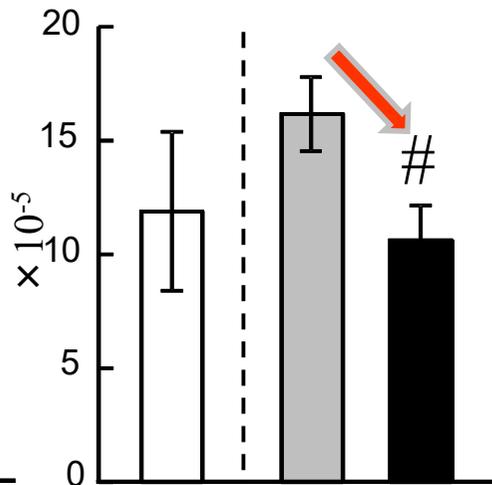
線維化マーカー
Tgfb1

Relative mRNA levels/Cyc1



線維化

炎症性サイトカイン
Il18



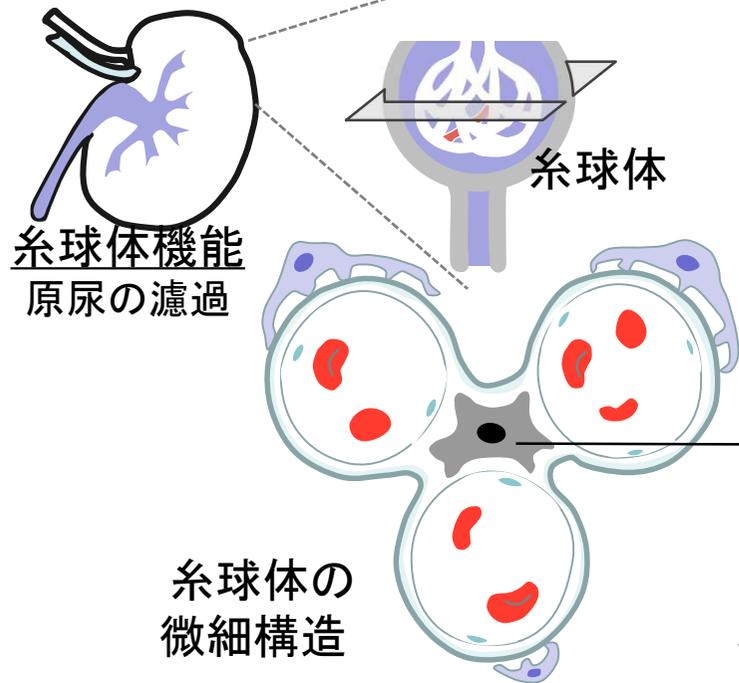
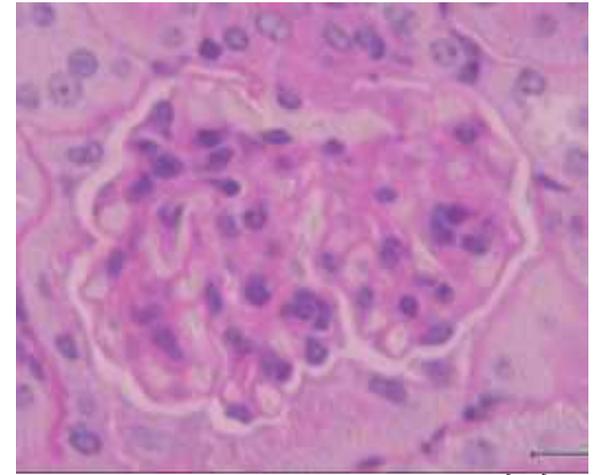
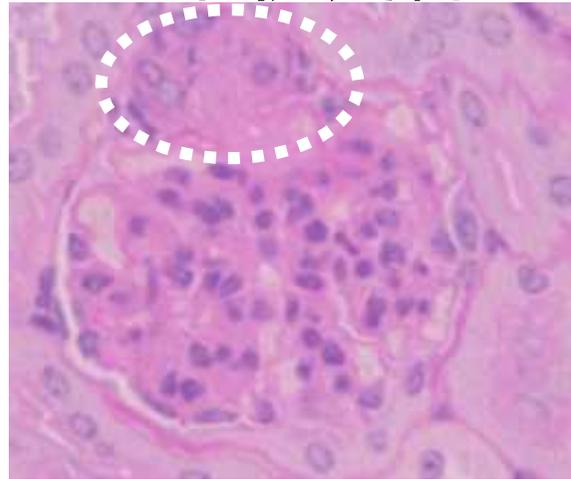
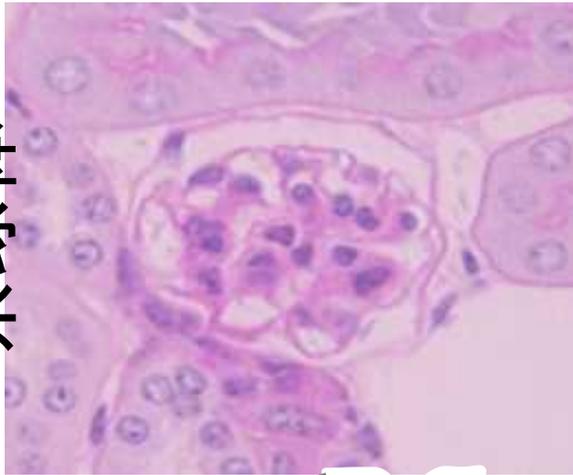
* < 0.05, vs 対照群 # < 0.05, vs 米粉食群

本技術マウスは、脂肪肝炎を呈し、脂肪肝炎は食餌(大麦)により改善

本技術:

胚操作と生後の食事により糖尿病性腎症を呈するマウスモデル
 対照群 米粉食群 大麦食群

糸球体



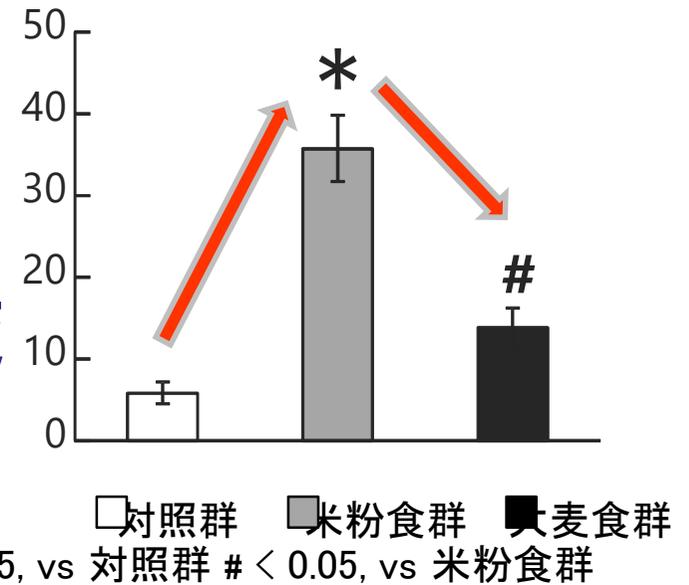
メサンギウム領域の増大
糸球体の収縮機能

糸球体線維化

結節性病変

尿排出の低下
老廃物・糖が血
中に戻る

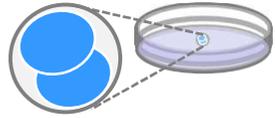
PAS染色
結節性病変率 (%)



本技術マウスは、糖尿病性腎症を呈し、腎症は食餌(大麦)により改善

MEMマウスは、食餌による改善効果が評価できる高サイトカイン糖尿病モデルである

胚発生期栄養不良



高脂肪食



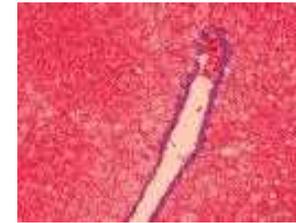
糖尿病MEMマウス

大麦
(βグルカン)

脂肪肝
線維化↑
TGFβ↑



脂肪肝
線維化↓
TGFβ↓

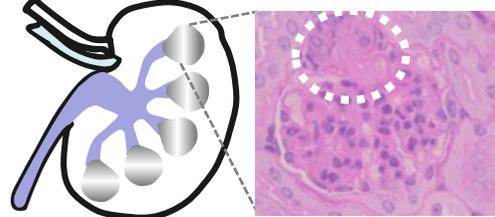


改善

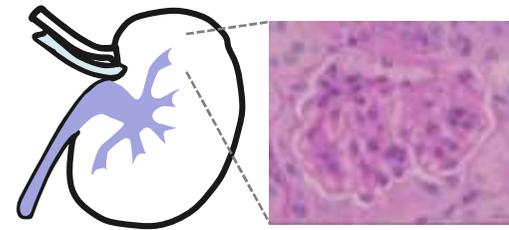
肝
線維化

腎症

糸球体硬化↑
TGFβ↑



糸球体硬化↓
TGFβ↓



新技術の特徴・従来技術との比較

従来技術との比較	db/dbマウス	MEMマウス
体重	++ (通常マウスの1.5-2倍)	+ (通常マウスの1.1-1.4倍)
随時血糖値 (通常食)	++ (500-600 mg/dL)	- (100-200 mg/dL)
欧米化食	++++ (600-1000 mg/dL)	+ (200-400 mg/dL)
炎症マーカー(IL1B, TNF α, S100s) (Western diet)	減少	増加
臓器障害		
通常食	腎障害	-
欧米化食	腎障害	肝炎、腎障害
医薬品・食品の改善効果	症状が重度のため改善されにくい	食品 (大麦) による顕著な改善効果が観察される

想定される用途

- ヒトの2型糖尿病発症過程の解明
- 2型糖尿病の発症を抑制しうる薬剤・食品の探索
- 糖尿病性脂肪肝炎の発症を抑制しうる薬剤・食品の探索
- 糖尿病性腎症の発症を抑制しうる薬剤・食品の探索
- 糖尿病発症時の感染症重症化を抑制しうる薬剤・食品の探索

実用化に向けた課題

- 胚発生初期一生後に**2型糖尿病発症する比率の増大**(現在60-100%)
- 現在の糖尿病脂肪肝炎、腎症の発症を観察したポイントは、生後6-8ヶ月程度において、1ポイントのみであり、**発症前から脂肪肝炎、腎臓の発症・進行過程**を丹念に見ていく必要がある。

企業への期待

- 製薬企業の担当者の方：本新規動物モデルを使用していただき、糖尿病性**脂肪肝炎・腎臓病**の**改善薬**の探索・開発をしていただきたい。
- 食品企業の担当者の方：本新規動物モデルを使用していただき、糖尿病性**脂肪肝炎・腎臓病**の**機能性食品成分**の探索・開発をしていただきたい。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 糖尿病モデル動物の作出方法及び糖尿病モデル動物
- 出願番号 : 特願2018-159174
- 出願人 : 国立大学法人山梨大学発
明者 : 岸上哲士、望月和樹、
若山照彦

お問い合わせ先

山梨大学

研究推進・社会連携機構センター

講師 奥脇 勝也

TEL 055-220-8762

FAX 055-220-8756

e-mail kokuwaki@yamanashi.ac.jp