

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09285

研究課題名(和文)腎組織レニン・アンジオテンシン系と腎糖新生の制御による糖尿病治療

研究課題名(英文)Regulation of renal renin-angiotensin system and renal gluconeogenesis as a diabetic therapy

研究代表者

藤乗 嗣泰 (Tojo, Akihiro)

獨協医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50292917

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：腎臓は肝臓とともに糖新生を行える臓器であり、絶食時には糖新生の40%を担う。H<sup>+</sup>-ATPaseは細胞内小胞を酸性にして、酵素の活性化やチャネルのmembrane recyclingに重要な役割を果たしている。腎糖新生の基質のグルタミンはミトコンドリアでケトグルタル酸に変換される時に2分子のアンモニアを産生し、ケトグルタル酸は糖新生に使われる。腎H<sup>+</sup>-ATPaseをバフィロマイシンで抑制するとアンモニア産生酵素、腎糖新生の蛋白発現が抑制され、血糖が正常レベルに改善した。H<sup>+</sup>-ATPase阻害薬による腎糖新生の調節は糖尿病の新たな治療戦略になり得る。

研究成果の概要(英文)：The kidney plays an important role in gluconeogenesis, and in the starvation condition, amount of renal gluconeogenesis increases as same as that in the liver. H<sup>+</sup>-ATPase has important roles in the activation of cytoplasmic enzymes, endocytosis and membrane recycling of channels and receptors by acidification of vesicles. In renal gluconeogenesis, glutamine converted to alpha-ketoglutarate with 2 molecules of ammonium in mitochondria, then alpha-ketoglutarate was used for gluconeogenesis. Proteins related to ammoniagenesis and gluconeogenesis were increased in the kidney of diabetes, and bafilomycin treatment inhibited renal gluconeogenesis and lowered plasma glucose to the control levels. The regulation of renal gluconeogenesis by H<sup>+</sup>-ATPase inhibitor could be a new therapeutic target of diabetes mellitus.

研究分野：腎臓内科学・高血圧・腎病理学

キーワード：糖尿病 腎糖新生 尿細管 アンジオテンシノーゲン エンドサイトーシス プロトンポンプ アンモニア産生

## 1. 研究開始当初の背景

腎臓は肝臓とともに糖新生を行うことのできる臓器である。特に、絶食時には糖新生の40%を腎臓が担うので、腎臓の糖新生を調節することは糖尿病の新たな治療戦略になり得る。私の研究室では腎臓組織レニン・アンジオテンシン系(RAS)が糖尿病ではアンジオテンシノーゲン、プロレニンの腎臓エンドサイトーシスの亢進により活性化されることを示し、エンドサイトーシスに重要な役割を果たすH<sup>+</sup>ATPaseの制御やRASの阻害により腎糖新生が抑制されることを検討している。

## 2. 研究の目的

腎臓のH<sup>+</sup>ATPaseの抑制により腎糖新生が抑制され、血糖降下を来すか検討し、その機序を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

1型及び2型糖尿病ラットにRAS阻害薬やendocytosis, 輸送体のmembrane recyclingに関するH<sup>+</sup>ATPaseの阻害薬を投与して腎糖新生の律速段階酵素PEPCK, glucose-6-phosphatase (G-6-Pase)や近位尿細管内にグルコースを取り込むsodium glucose co-transporter (SGLT)2の発現を調べた。腎細胞質のグルコースや前駆体のglucose-6-phosphateを測定し、血糖、インスリン、HbA1c、経静脈的糖負荷試験によるインスリン抵抗性を調べた。

## 4. 研究成果

1型糖尿病モデルではRAS阻害薬のテルミサルタンにより腎臓の糖新生が抑制され、絶食下での血糖が有意に低下した。近位尿細管のエンドサイトーシスを抑制するためにH<sup>+</sup>ATPaseの阻害薬(バフィロマイシン BFM)を投与すると糖尿病では増加している腎臓の糖新生酵素ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼPEPCKとグルコース-6-ホスファターゼ(G6Pase)が、有

意に抑制された。H<sup>+</sup>ATPaseは近位尿細管の小胞のmembrane recyclingにも関連しており、ナトリウム・グルコース共輸送体SGLT2の発現もBFMで抑制された。

さらに2型糖尿病ラットモデルにおいてインスリン糖負荷試験によりインスリン抵抗性が改善することを確認した。2型糖尿病ラットの腎臓の蛋白発現を質量分析で解析するとミトコンドリアのアンモニア産生と糖新生が連動して働いており、BFMはよりミトコンドリアで作用していることが分かり今後の検討を予定している。予想に反し、腎臓内のレニン及びアンジオテンシノーゲンの量はBFM治療で変化が少なかった。H<sup>+</sup>ATPaseの阻害は有意に血糖を低下させる新たな治療標的になり得る。しかし、全身への影響もあり、今後はより腎臓特異的に阻害した場合の検討を要する。

## 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10件)

Murayama Y, Uchida M, Tojo A, Ishimitsu T. Electron microscopy of urinary sediments in Fabry disease. *Kidney Int* 査読有2018 (in press)

Tojo A, Hatakeyama S, Nangaku M, Ishimitsu T. H<sup>+</sup>ATPase blockade reduced renal gluconeogenesis and plasma glucose in a diabetic rat model. *Med Mol Morphol*. 査読有2018.

DOI 10.1007/s00795-017-0175-6

Ohira T, Ishimitsu T, Yabe A, Furuichi M, Ueno Y, Onoda S, Nagasa A, Murayama Y, Satonaka H, Tojo A. Comparisons of increasing calcium channel blocker dose and adding thiazide diuretic in hypertensive patients given medium-dose angiotensin II

receptor blocker and amlodipine. Dokkyo Journal of Medical Sciences 査読有 2017; 44(3):209-216.

Tojo A, Hatakeyama S, Kinugasa S, Fukuda S, Sakai T. Enhanced podocyte vesicle transport in the nephrotic rat. Med Mol Morphol. 査読有 2017; 50(2):86-93. doi: 10.1007/s00795-016-0151-6.

Sugawara Y, Honda K, Katagiri D, Nakamura M, Kawakami T, Nasu R, Shintani Y, Tojo A, Kurokawa M, Fukayama M, Nangaku M. Umbilical cord blood transplantation associated nephrotic syndrome successfully treated by low-density lipoprotein apheresis. Intern Med 査読有 2016; 55(19):2831-2836. DOI:10.2169/internalmedicine.55.7017

Oki R, Kono M, Kubo K, Tojo A, Yamamoto K. Urinary phagocytic macrophages in hemophagocytic lymphohistiocytosis. Kidney Int 査読有 2016; 90:908. doi: 10.1016/j.kint.2016.07.023.

Tojo A, Kinugasa S, Fujita T, Wilcox CS. A local renal renin-angiotensin system activation via renal uptake of prorenin and angiotensinogen in diabetic rats. Diabetes Metab Syndr Obes. 査読有 2016;18;9:1-10. doi: 10.2147/DMSO.S91245.

Tojo A, Asaba K, Kinugasa S, Ikeda Y, Shintani Y, Fukayama M, Nangaku M. The reduced expression of proximal tubular transporters in acquired Fanconi syndrome with  $\kappa$  light chain deposition. Med Mol Morphol 査読有 2016; 49(1):48-52. doi: 10.1007/s00795-015-0114-3.

Saito H, Hamasaki Y, Tojo A, Shintani Y, Shimizu A, Nangaku M. Phospholipase A2 receptor positive membranous nephropathy long after living donor kidney

transplantation between identical twins. Nephrology 査読有 2015;20(suppl. 2):101-104.

doi: 10.1111/nep.12458.0

Tojo A, Hatakeyama S, Kinugasa S, Nangaku M. Angiotensin receptor blocker telmisartan suppresses renal gluconeogenesis during starvation. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy 査読有 2015;8:103-113.

doi:10.2147/DMSO.S78771.

#### [学会発表](計8件)

Furuichi M, Tojo A, Uchida M, Hirao J, Nagase A, Onoda S, Ohira T, Murayama Y, Satonaka H, Ishimitsu T. H<sup>+</sup>-ATPase blockade reduced renal gluconeogenesis and plasma glucose in a diabetic rat model. P-130, ISN Frontiers Meetings. Kidney Disease & Cardiovascular Disease. Feb. 22-25, 2018 (Tokyo, Japan)

Hamasaki Y, Yoshida T, Matsuura R, Tojo A, Noiri E, Masaomi Nangaku. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is a Possible Indicator of Tubulointerstitial Fibrosis and Glomerular Sclerosis in the Patients Undergoing Renal Biopsy. FR-PO470. Oct31-Nov.5, 2017, The American Society of Nephrology Kidney Week 2017, (New Orleans, LA, USA)

**藤乗嗣泰、畠山沙亜耶、里中弘志、石光俊彦、パフィロマイシン B1 は糖尿病のアンモニア産生・腎糖新生を抑制し血糖を改善する、第 49 回日本臨床分子形態学会総会 平成 29 年 9 月 15 日～16 日(岐阜)**

藤乗嗣泰、畠山沙亜耶、浅羽研介、南学正臣、糖尿病ラットにおける H<sup>+</sup>-ATPase

阻害薬の腎糖新生抑制と血糖改善作用、  
第60回日本腎臓学会学術総会 2017  
年5月26日～28日 仙台国際センター  
藤乗嗣泰、畠山沙亜耶、衣笠哲史、浅羽  
研介、南学正臣、糖尿病における腎  
H<sup>+</sup>-ATPase の役割の検討、第39回日本高  
血压学会総会 2016年9月30日～10  
月2日 仙台国際センター

藤乗嗣泰、畠山沙亜耶、衣笠哲史、福田  
覚、酒井俊男、糸球体足細胞の小胞輸送  
とアルブミン尿、**第48回日本臨床分子形  
態学会総会 平成28年9月23日～24日  
(くまもと県民交流館バレア)**

藤乗嗣泰、畠山沙亜耶、衣笠哲史、浅羽  
研介、福田覚、南学正臣、微小変化型ネ  
フローゼの足細胞の小胞輸送の3次元  
観察、第59回日本腎臓学会学術総会  
2016年6月17日～19日 パシフィコ横  
浜

藤乗嗣泰、畠山沙亜耶、衣笠哲史、浅羽  
研介、南学正臣、H<sup>+</sup>-ATPase 阻害薬の腎  
糖新生抑制による新たな糖尿病の治療、  
第38回日本高血圧学会総会 2015年10  
月9日～11日 松山

〔図書〕(計2件)

藤乗嗣泰:代謝性尿細管障害. 腎生検病  
理アトラス. 改訂版(東京医学社、日本  
腎病理協会/日本腎臓学会 編集)2018,  
311-320.

John E. Hall (総監訳:石川義弘、岡村  
康司、尾仲達史、河野憲二、監訳:金子  
猛、北村義浩、藤乗嗣泰、松嶋成志):  
ガイトン生理学原著第13版. エルセビ  
ア・ジャパン. 2018年

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等:

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤乗 嗣泰 (Tojo Akihiro)  
獨協医科大学・医学部・准教授  
研究者番号:50292917

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし