

令和 3 年 8 月 23 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K01462

研究課題名(和文) 糖尿病における急性腎障害と続発性慢性腎臓病に対する運動療法の有効性の機序解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of effectiveness of exercise therapy for acute kidney injury and secondary chronic kidney disease in diabetes

研究代表者

室谷 嘉一 (Muroya, Yoshikazu)

東北医科薬科大学・医学部・准教授

研究者番号：70754943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：急性腎障害(AKI)に対する糖尿病腎症の感受性亢進の機序は不明である。さらに、AKI後の慢性腎臓病(CKD)増悪も知られているがその機序も明らかでない。本研究では正常ラット(SD)と自然発症糖尿病ラット(T2DN)を用い、虚血性AKIおよび続発性CKDの検討を行った。T2DNにおいて腎髄質血流(MBF)の二次的な低下が観察され、その腎内の炎症程度が障害程度に相関していることを見出した。慢性実験においてT2DNは、SDと同様にAKI後にCr値は一時改善するが、再びCr値は上昇し高血圧症が重症化していた。腎内アンジオテンシン代謝の検討では、Ang II値は基準値に比し約5倍に増加していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性腎障害(AKI)の致死率は非常に高く、近年その発生数と死亡数が増加している。しかしAKIの障害進展メカニズムは解明されておらず、現在までにAKIに対する確立した治療法はない。したがって、AKI発症後の透析導入数と死亡数の上昇が近年深刻化している。また、ヒトおよび実験動物において糖尿病によりAKIへの感受性が高まることが確認されているが、その機序は未だ明らかになっていない。さらに、AKI発症後にCKDが進行し末期腎不全になることも知られているが、その進展機序も不明である。以上のことより、AKIおよびCKDへの障害進展機序解明ならびに予防法の確立は国民の健康と財産を守るうえで非常に重要である。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of hypersensitivity of diabetic nephropathy to acute kidney injury (AKI) is unknown. Furthermore, the mechanism of the exacerbation of chronic kidney disease (CKD) after AKI is not clear. In this study, ischemic AKI and secondary CKD were investigated using normal rats (SD) and spontaneously diabetic rats (T2DN). A secondary decrease in renal medulla blood flow (MBF) was observed in T2DN, and it was found that the degree of inflammation in the kidney was correlated with the degree of injury. In a chronic experiment, T2DN temporarily improved the Cr level after AKI, similar to SD, but the Cr level increased again and hypertension became more severe. In the examination of renal angiotensin metabolism, the Ang II value increased about 5 times compared to the standard value.

研究分野：腎臓リハビリテーション

キーワード：急性腎障害 慢性腎臓病 糖尿腎症

## 1. 研究開始当初の背景

急性腎障害(AKI)の致死率は非常に高く、近年その発生数と死亡数が年々増加している。しかし AKI の障害進展メカニズムは解明されておらず、現在までに AKI に対する確立した治療法はない。したがって、AKI 発症後の透析導入数と死亡数の上昇が近年深刻化している。また近年、糖尿病は末期腎不全だけでなく、AKI の重大なリスクファクターとして注目を集めている(Am J Kidney Dis 53: S1-374, 2009)。ヒトおよび実験動物において 糖尿病により AKI への感受性が高まることが確認されているが、その機序は未だ明らかになっていない。さらに、AKI 発症後に急速に CKD が進行し末期腎不全になることも知られているが、その進展機序も不明である。以上のことより、AKI および CKD への障害進展機序解明ならびに予防法の確立は国民の健康と財産を守るうえで非常に重要である。

運動療法は高血圧や耐糖能、脂質代謝異常を改善するだけでなく、抗炎症作用、自律神経系の調整や血管内皮機能の改善など多面的な効果を有し、尿蛋白減少効果、糸球体障害や酸化ストレスの軽減効果も有し腎疾患治療の一部として注目を集めている。特に、AKI に対する運動療法の効果に関する知見が求められている。

近年、研究代表者は腎臓における主要なアラキドン酸代謝産物であるチトクローム P450(CYP)依存性エイコサノイドの研究を行っている(Clin Exp Nephrol 2016、J Am Soc Nephrol 2015、Am J Physiol Renal Physiol 2012)。主な代謝産物である 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE)および epoxyeicosatrienoic acids (EETs)は、血管収縮作用や拡張作用、利尿作用、細胞増殖作用、抗炎症作用など多彩な生理活性を有し、腎機能・血圧/血流調整に関与している(Hypertension 33: 419-423, 1999)。また、これらのアラキドン酸代謝産物は血管平滑筋、内皮細胞、尿細管細胞においてアンジオテンシン、エンドセリン、ブラディキニン、nitric oxide (NO)等の細胞内メディエーターとして働くことが明らかになっている(Am J Physiol 280: R822-830, 2001、Hypertens Res 24: 551-557, 2001)。さらに、研究代表者は虚血性 AKI の障害進展メカニズムに関して、再還流後の二次性の腎髄質血流の低下が腎障害進展の主原因であることを示し、20-HETE が虚血性 AKI に対して保護的に作用すること、更にそのメカニズムとして虚血再還流後の腎髄質血流の維持に 20-HETE が大きな役割を果たしていることを報告した(J Am Soc Nephrol 2015)。

## 2. 研究の目的

糖尿病が虚血性 AKI に対する疾患感受性を増悪させることが示唆されているが、直接的なメカニズムに関する報告は少なく、糖尿病マウスを用いた研究で虚血再灌流後の腎内血流の回復時間が正常マウスに比べて延長していることが報告されているのみである(Am J Physiol Renal Physiol 293: F512-F517, 2007)。さらに、AKI 発症後に急速に CKD が進行し末期腎不全になることも知られているが、その障害進展メカニズムも明らかでない。ラットを用いた研究にて、虚血再灌流後に食塩感受性が亢進し血圧上昇をきたし、上昇した血圧が腎障害を惹起すると示唆されているが(Am J Physiol Renal Physiol 293: F269-F278, 2007)、その他の因子に関する報告はない。また、運動療法によるプレコンディショニングが虚血性 AKI を軽減させることは複数報告されているが(J Am Sci 10: 154-161, 2014、Histol Histopathol 28:1223-33, 2013)、そのメカニズムは未解明であり、虚血再灌流後の運動療法の有効性に関する報告は全く無い。長期的運動により腎 CYP 含有量が増加するとの報告があり(Drug Metab Dispos 21: 474-479, 1993)、また本研究グループで運動療法が 20-HETE 産生酵素 CYP4A の発現量を増加させるというプレリミナリーデータを有していることより、運動療法により増加した 20-HETE が腎髄質血流を維持し、虚血再灌流前後の運動療法が虚血性 AKI や続発性 CKD に対して腎保護的に作用する可能性が考えられる。以上より、申請者は (1)糖尿病により腎髄質血流調整能が低下した結果 AKI 疾患感受性が亢進し、(2)持続する腎髄質血流の低下が AKI 発症後の CKD 進展に関わり、(3)運動療法は 20-HETE の作用を介して腎髄質血流を維持し虚血性 AKI および CKD 進展に対して腎保護的に働くと仮説を立てた。また、運動療法の腎保護効果が 20-HETE に起因していることを検証するため、20-HETE 特異的産生阻害剤(HET0016)を用い、薬理的検証によりその因果関係を明らかにすることも目的とした。

## 3. 研究の方法

4 年間の研究期間内で、平成 29 年度：糖尿病の虚血性 AKI に対する高い疾患感受性の実証とそのメカニズムの解明、平成 30 年度：虚血性 AKI 後に増悪する CKD の実証、平成 31 年度：CKD 増悪メカニズムの解明、平成 32 年度：運動療法の腎保護効果の検討を予定した。正常コントロールラット(SD ラット)および自然発症 2 型糖尿病モデルラット(T2DN ラット)を用い、虚血性 AKI モデル作成後の急性期と慢性期の研究を行う。ラッ

トへの運動療法には 10 レーンのラット専用トレッドミルを用いる。研究の評価項目としては、血圧、血漿クレアチニン、尿中ナトリウム排泄、腎機能、腎組織学的評価、腎障害バイオマーカー、酸化ストレス、腎内血流、組織低酸素症、腎 20-HETE 産生量、血漿・腎内の各種アンジオテンシン発現量等である。

#### 4. 研究成果

実験は、コントロール SD ラットおよび T2DN ラットで行った。T2DN ラットは、2 型糖尿病性腎症の遺伝的モデルである。SD および T2DN ラットの血漿クレアチニン値は、それぞれ  $0.5 \pm 0.1$  および  $1.0 \pm 0.1 \text{mg/dl}$  であった。T2DN ラットは、組織低酸素症を伴う重度の糖尿病腎症を呈していた。血漿クレアチニン値は、T2DN ラットにおいて 30 分の両側腎虚血の 24 時間後に  $3.4 \pm 0.1 \text{mg/dl}$  に上昇し、SD ラット ( $1.8 \pm 0.1 \text{mg/dl}$ ) で観察されたレベルよりも有意に高かった。T2DN ラットが AKI への疾患感受性が高いことを確認し、その感受性亢進の要因に再灌流後の腎髄質血流の二次的な低下 (Fig.1) と腎内の炎症 (Fig.2) が関与していることを見出した (Am J Physiol, 2018)。また、T2DN ラットが AKI 後に CKD へ移行することを確認し慢性実験を開始した。T2DN ラットは、コントロールラットと同様に AKI 後に Cr 値は一時改善するが、再び Cr 値は上昇し、Na 排泄障害を伴う高血圧症が重症化していた。液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC/MS/MS) を用いた腎内アンジオテンシン代謝の検討では、AKI 後 4 週後に Ang 値は基準値に比して約 5 倍に Ang1-7 値は約 4 倍に増加していた。DM 腎症において虚血性 AKI は、既往後の血圧上昇だけではなく、腎内炎症の持続やアンジオテンシン代謝などの変化により CKD の増悪を加速させることが示唆された。我々のグループにおいても運動療法により虚血性 AKI に伴う腎障害の程度が軽減していることを観察し、現在その保護効果と 20-HETE の関係性を検討中である。

#### 腎内血流の変化

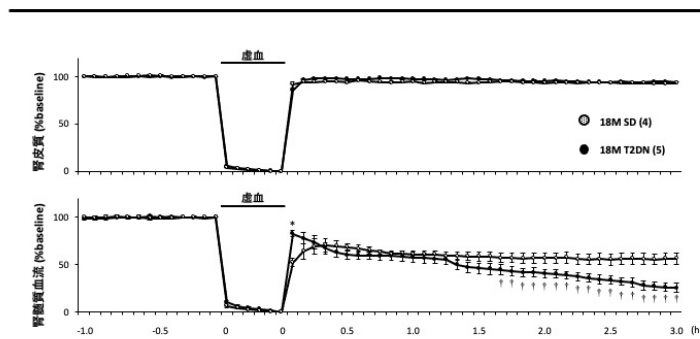


Fig.1

#### 腎内浸潤白血球の種類と数

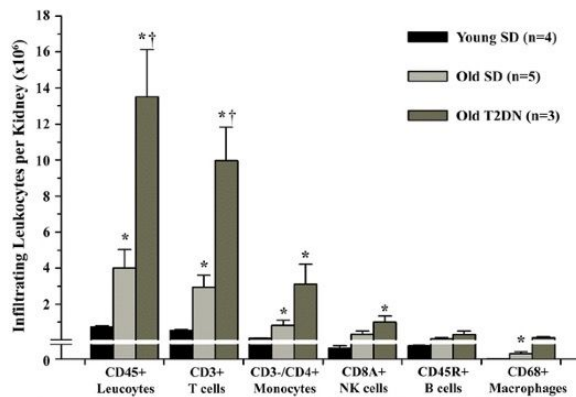


Fig.2

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ogawa Yoshiko, Takahashi Junta, Sakuyama Akihiro, Xu Lusi, Miura Takahiro, Muroya Yoshikazu, Ito Daisuke, Kohzuki Masahiro, Ito Osamu	4. 巻 38
2. 論文標題 Exercise training delays renal disorders with decreasing oxidative stress and increasing production of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in Dahl salt-sensitive rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 1~1
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/HJH.0000000000002409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fan Fan, Geurts Aron M., Pabbidi Mallikarjuna R., Ge Ying, Zhang Chao, Wang Shaoxun, Liu Yedan, Gao Wenjun, Guo Ya, Li Longyang, He Xiaochen, Lv Wenshan, Muroya Yoshikazu, Hirata Takashi, Prokop Jeremy, Booz George W., Jacob Howard J., Roman Richard J.	4. 巻 31
2. 論文標題 A Mutation in -Adducin Impairs Autoregulation of Renal Blood Flow and Promotes the Development of Kidney Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 687~700
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1681/ASN.2019080784	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Muroya Yoshikazu, He Xiaochen, Fan Letao, Wang Shaoxun, Xu Rui, Fan Fan, Roman Richard J.	4. 巻 315
2. 論文標題 Enhanced renal ischemia-reperfusion injury in aging and diabetes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Renal Physiology	6. 最初と最後の頁 F1843~F1854
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajprenal.00184.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 室谷嘉, 一中村はな, 衣笠哲史, 谷 淳一, 森 建文.
2. 発表標題 急性腎障害における 20-ヒドロキシエイコサテトラエン酸の腎保護作用
3. 学会等名 日本内分泌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 室谷嘉一, 太田耕平, 中山晋吾, 廣瀬卓男, 衣笠哲史, 森建文.
2. 発表標題 自然発症2型糖尿病ラットにおける急性腎障害による炎症進展の検討
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 室谷嘉一, 矢花郁子, 佐藤真一, 中村はな, 衣笠哲史, 伊藤修, 森建文
2. 発表標題 自然発症2型糖尿病腎症ラットを用いた急性腎障害後慢性腎臓病発症メカニズムの検討
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 室谷嘉一、伊藤修
2. 発表標題 糖尿病腎症における虚血性急性腎障害の感受性の検討
3. 学会等名 日本リハビリテーション学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshikazu Muroya, Xiachen He, Fan Fan, Takefumi Mori, Osamu Ito, and Richard J. Roman
2. 発表標題 Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Aging and Diabetes
3. 学会等名 American Heart Association Council on Hypertension (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 室谷嘉一、伊藤修、森建文
2. 発表標題 自然発症2型糖尿病ラットにおける腎内炎症の特徴
3. 学会等名 日本腎臓リハビリテーション学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 室谷嘉一、Richard J Roman、矢花郁子、衣笠哲史、森 建文、伊藤 修
2. 発表標題 Diabetic Kidney is more Susceptible to Ischemia-Reperfusion Injury
3. 学会等名 腎臓学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 室谷嘉一、三浦裕、高橋麻子、内海由也、森建文、伊藤修
2. 発表標題 急性腎障害に対する包括的腎臓リハビリテーションの検討～急性腎障害後慢性腎臓病発症ラットモデルの作成～
3. 学会等名 日本腎臓リハビリテーション学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
研究 分担者	伊藤 修  (Ito Osamu)  (00361072)	東北医科薬科大学・医学部・教授   (31305)	

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
---------	---------