

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：35303

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16015

研究課題名(和文) 糖尿病性腎症進展における糸球体内皮上皮関連機序の解明

研究課題名(英文) Inflammasome activation in podocyte of diabetic kidney diseases

研究代表者

長洲 一 (Nagasu, Hajime)

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：40412176

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：「糸球体内皮細胞由来のNitric oxideが糸球体上皮細胞におけるInflammasome活性化を抑制的に制御している」と仮説を立て検証を行った。ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病モデル作成し検討した。WT及びeNOS欠損マウス(eNOSKO)を用いた。WT-STZで軽度のアルブミン尿増加を認めたとeNOSKO-STZではさらに増加していた。興味深いことにeNOS-STZでのみこれらのInflammasome遺伝子発現上昇と認めた。eNOS-ASC二重欠損マウスでは腎障害は軽減された。これらの結果から内皮機能障害はインフラマソーム活性化を介して糸球体硬化病変形成を促進させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義
内皮機能障害では糸球体硬化病変を加速させることが示された。これは臨床的に重要な知見でありその機序解明は病態解明の大きな課題であった。本研究では糸球体内の慢性炎症制御の破綻が重要であることが示された。現在の動脈硬化関連疾患に付随する腎疾患共通のメカニズムとして特にInflammasome活性化の制御が重要であり、今後はこれらをターゲットとした治療薬の開発が望まれる。また、既存薬剤による効果を検討し早期の臨床応用を目指す。特にNO下流のPDE阻害薬もしくはsGC活性化薬の有効性を検討していきたい。

研究成果の概要(英文)：Diabetic kidney disease (DKD) is one of the common vascular complications of diabetes mellitus. Nitric oxide (NO) produced in the endothelial cells by endothelial nitric oxide synthase (eNOS) is an important mediator for the maintenance of vascular homeostasis. While it is well known that inflammation is important pathways in the development of DKD. To determine the role of inflammasome on the development of glomerulopathy, we generated eNOS-ASC double knockout mice (eNOS-ASC-DKO). urinary albumin excretions were increased much more in eNOS/STZ than in WT/STZ, while the glomeruli were more damaged in eNOSKO/STZ than in WT/STZ. Urinary albumin excretion was lower in eNOS-ASC-DKO/STZ compared with eNOSKO/STZ. In eNOS-deficient mice, inflammasomes were activated, and glomerular injuries were exacerbated. However in eNOS-ASC-STZ mice, the glomerular damage were attenuated. Our data suggested that eNOS/NO signaling ameliorates podocytes via the regulation of inflammasome activation in DKD.

研究分野：慢性腎臓病

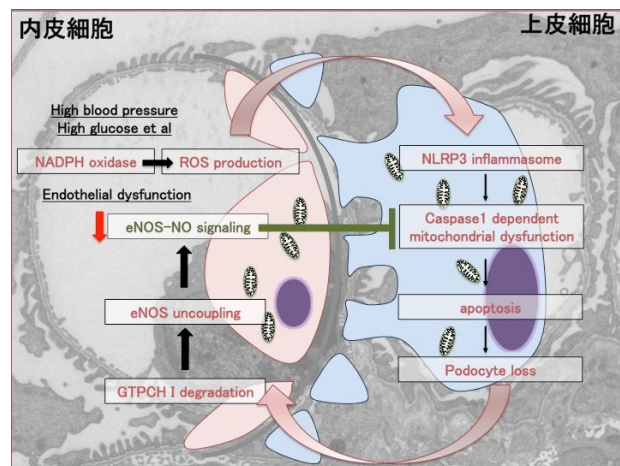
キーワード：糖尿病性腎臓病 インフラマソーム 上皮細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、糖尿病性腎症の治療開発のため多くの研究がなされている。しかし十分な成果が上がっているとは言えない現状である。多くの基礎研究から糸球体上皮細胞障害が腎不全に至る糸球体硬化病変の形成に重要であることが判明している。また糸球体上皮細胞におけるミトコンドリアストレス蓄積が糸球体上皮細胞の脱落、糸球体硬化が関与する。このため糸球体内皮細胞から上皮細胞へ何らかの関与が想定されるが、糸球体上皮細胞におけるミトコンドリアストレス蓄積の機序に及び内皮細胞の関与に関しては不明である。その一つの機序として Inflammasome に着目した。近年、自然免疫システムの一つである Inflammasome が腎障害進展に関与することが種々の動物モデルで解明されている。細胞内蛋白複合体により活性化するシステムである Inflammasome は炎症反応(自然炎症)形成に中心的役割を果たしている。感染性・非感染性シグナルパターン認識受容体 NOD-like receptor (NLRP)-3、アダプター分子 ASC (apoptosis associated speck-like protein containing CARD)、Caspase-1 等から構成される NLRP3 Inflammasome は活性化時には複合体を形成する。Inflammasome 活性化により procaspase-1 が caspase-1 に活性化され Caspase1 依存的細胞死である Pyroptosis を引き起こす。また Inflammasome 活性化により細胞内ミトコンドリア障害をきたすことが理解されている。糖尿病性腎症モデルにおいても糸球体上皮細胞内で NLRP3 Inflammasome が活性化することが報告されている。一方で内皮機能障害が想定される eNOS 欠損

マウスでは糸球体上皮細胞におけるミトコンドリア障害をきたすことが報告されており、何らかの機序で内皮機能障害が糸球体上皮細胞障害をきたすことがわかってきた。以上のことから内皮機能障害が糸球体上皮 NLRP3 Inflammasome 活性化に寄与し、結果としてミトコンドリア障害の蓄積を介し糸球体障害および硬化をきたすことが想定される。



2. 研究の目的

「糸球体内皮細胞由来の Nitric oxide が糸球体上皮細胞における Inflammasome 活性化を抑制的に制御している」と仮説を立て検証を行った。つまり正常に機能している時には NO により糸球体上皮細胞内の NLRP3 Inflammasome は抑制的に制御されているが内皮機能障害により糸球体内皮細胞より NADPH oxidase 由来活性酸素種が産生されると Inflammasome が活性化され糸球体上皮細胞障害が惹起される。この糸球体内皮細胞-上皮細胞連関機序の解明により micro-inflammation の実態を明らかにし、新たな治療介入のターゲットを創出する。

3. 研究の方法

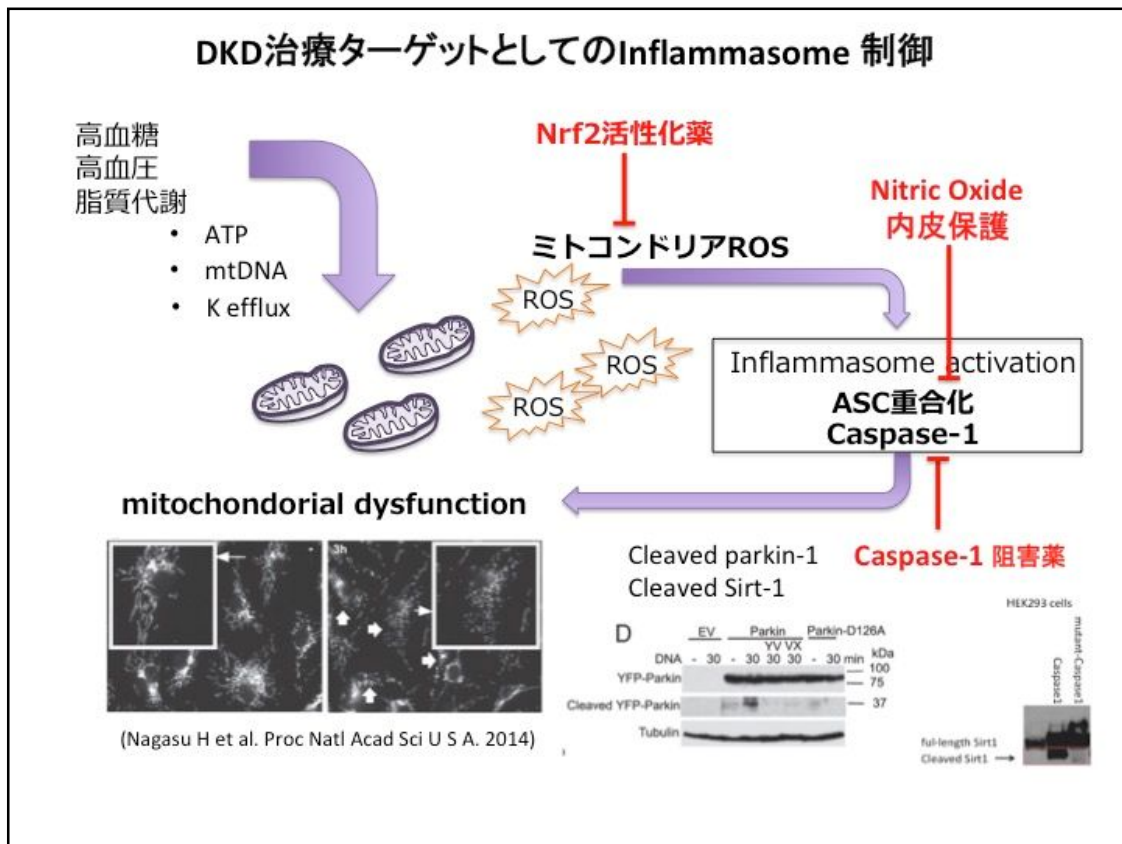
内皮機能障害として eNOS 経路の重要性を検討するため eNOS 欠損マウス (eNOSKO) を用いた。またさらに、eNOS-ASC 二重欠損マウスを作成し Inflammasome の意義を検討した。ASC

は上述したように Inflammasome 活性化に必須の key component である。糖尿病モデルとしてはストレプトゾトシン (STZ) 誘発糖尿病モデル作成し検討を行っている。

4. 研究成果

使用動物は C57BL/6 で WT 及び eNOSKO を用いた。両マウスに STZ を投与を行い、WT-Con, WT-STZ, eNOSKO-Con, eNOSKO-STZ の 4 群を作成。高血糖確認後、4 週では WT-STZ で軽度のアルブミン尿増加を認めたが eNOSKO-STZ ではさらに増加していた。また、PAS 染色で糸球体病変の観察を行ったところ eNOS-STZ でのみ 4 週の時点で硬化糸球体が散見された。Inflammasome の評価を行うため単離糸球体を行い NLRP3 関連遺伝子発現を検討した。興味深いことに eNOS-STZ でのみこれらの遺伝子発現上昇と認めた。さらに、eNOS-ASC 二重欠損マウスに STZ 投与糖尿病モデルを作成し腎障害の検討を行った。eNOSKO-STZ で認めた糸球体硬化病変は eNOS-ASC-DKO-STZ では軽減されていた。これらの結果から内皮機能障害はインフラマソーム活性化を介して糸球体硬化病変形成を促進させていた。以上のことから Inflammasome 活性化制御が腎障害進展を抑制しうることを示された。

5. まとめ



これらの結果より糖尿病性腎症の糸球体病変形成には Inflammasome 活性化が重要であり、内皮機能の維持はこの制御機構として治療のターゲットとなりうることを判明した。特に Nitric oxide の下流のシグナルである sGC 活性化をターゲットとした治療薬は既に市場に存在し、臨床で使用されている。これらの治療薬の drug repositioning により早期の治療薬創出も可能である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuji Sogawa, Hajime Nagasu, Atsushi Uchida, Seiji Itano, Kengo Kidokoro, Yoshisuke Haruna, Minoru Satoh, Tamaki Sasaki, Naoki Kashihara.
2. 発表標題 The eNOS/NO signaling attenuates glomerular injury in diabetic Mice via Suppression of Inflammasome activation.
3. 学会等名 ISN Frontiers Meetings 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長洲一、十川裕史、佐藤稔、佐々木環、柏原直樹
2. 発表標題 糖尿病性腎症進展における内皮機能障害と糸球体上皮内炎症の関連解明
3. 学会等名 日本腎臓学会誌60(3) : 332, 2018
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
--	---------------------------	-----------------------	----