

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16204

研究課題名(和文)肥満関連腎臓病の発症基盤となる炎症応答におけるオートファジーの役割の解明

研究課題名(英文)Elucidating the role of autophagy in the inflammatory response that underlies the development of obesity-related kidney disease

研究代表者

乙田 敏城 (OTODA, Toshiki)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任准教授

研究者番号：60719946

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、肥満2型糖尿病に起因する組織障害の誘導に深く関わる事が知られている非感染性の炎症である“自然炎症”に着目した。本来は我々を守るために存在している自然免疫機構が自然炎症を介して我々自身を誤って攻撃する機序や、細胞内クリアランス機構であるオートファジーが自然炎症を抑制して疾患発症を妨げる機序に関する解析を通じて、肥満2型糖尿病に起因する自然炎症が引き起こす腎臓病の誘導機序を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病の有効な治療法はいまだに無く、現状では血圧コントロールや血糖コントロール、食事療法などの保存的な治療に頼らざるを得ない。本研究では、自然炎症とオートファジーに着目し、脂肪酸が自然炎症を惹起する機序において、骨髄系細胞内のオートファジーがどのような役割を演じるのか、オートファジーによる新たな自然炎症の制御メカニズムを明らかにし、当該機構を標的とする新たな腎臓病治療の開発に資する基盤的研究を推進する。

研究成果の概要(英文): In this study, we focused on sterile inflammation, which is a pathogen-free inflammation that is known to be deeply involved in the induction of tissue damage caused by obesity and type 2 diabetes. The innate immune system, which originally exists to protect us, mistakenly attacks ourselves through sterile inflammation. Autophagy, the intracellular clearance mechanism, suppresses sterile inflammation and prevents the onset of disease. Through analysis of these mechanism, we elucidated the mechanism of induction of renal damage caused by innate inflammation associated with obesity and type 2 diabetes.

研究分野：内分泌・代謝内科学

キーワード：オートファジー 自然免疫 炎症 肥満 2型糖尿病 腎臓病 脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

(1) 蛋白尿に伴う脂肪酸尿細管毒性

尿蛋白が、尿細管間質障害の進行に関与する機序として、尿蛋白そのものよりは、尿蛋白と結合した脂肪酸が重要な働きをしている (Kamijo *et al.*, *Kidney Int.* 2002)。尿細管細胞での脂肪酸の再吸収が増加することで、炎症性細胞 (主にマクロファージ) の間質浸潤が増加し、尿細管間質障害が生じる可能性が示唆されているが、脂肪酸が腎障害を惹起する機序については、不明な点が多く残されている。

(2) 自然炎症と組織障害

自然免疫機構は、病原体成分を感知してサイトカインやインターフェロンなどの炎症性因子の産生を誘導することにより、病原体を排除する役割を担っている。一方で、自然免疫機構には、過度に活性化し、我々の体を傷つける負の側面もある。

(3) オートファジーと自然炎症

オートファジーは、細胞内クリアランス機構としてオルガネラターンオーバーの亢進や損傷オルガネラの除去を行うことにより、マクロファージをはじめとした自然免疫担当細胞の恒常性維持に深く関わっている。マクロファージにおけるオートファジーの機能不全は、NLRP3 インフラマソームの活性化を促進し、炎症性サイトカイン Interleukin (IL)-1 β と IL-18 の過剰産生を惹起することが明らかになっている (Saitoh *et al.*, *Nature* 2008)

しかしながら、マクロファージなどの骨髄系細胞内のオートファジーの破綻が、①代謝疾患を発症・進展させるメカニズム、②NLRP3 インフラマソームに依存しない炎症応答を増悪させるメカニズムについては十分に解明されていない。

2. 研究の目的

自然炎症とオートファジーの観点から、(1)脂肪酸が自然炎症を惹起する機序において、骨髄系細胞内のオートファジーがどのような役割を演じるのか、(2)オートファジーによる新たな自然炎症の制御メカニズムを明らかにし、当該機構を標的とする新たな腎臓病治療の開発に資する基盤的研究を推進する。

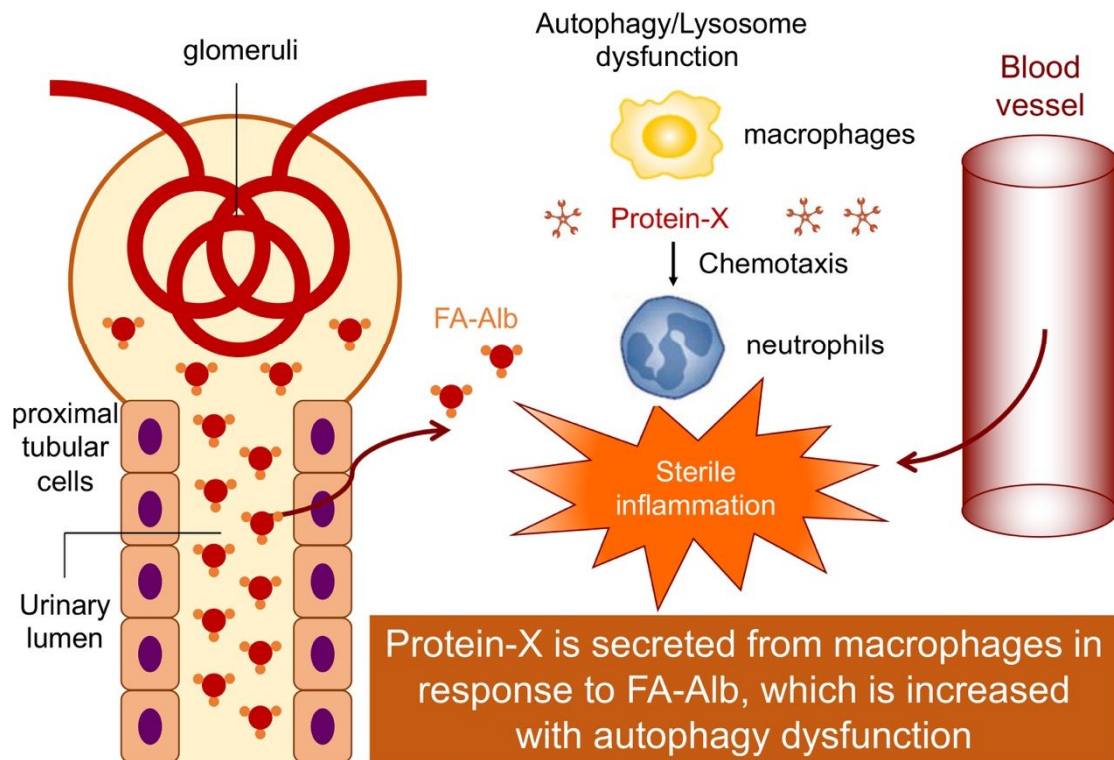
3. 研究の方法

マクロファージなどのミエロイド系自然免疫担当細胞において、オートファジーに必須の遺伝子 *Atg7* や *Atg14* を欠損するマウス (cKO マウス) を解析に用いた。当該マウスの腹腔に脂肪酸結合ウシ血清アルブミン (FA-BSA) を投与して腎障害を引き起こす疾患モデルや、当該マウスから単離したマクロファージを FA-BSA で刺激するモデルで解析した。

4. 研究成果

- (1) 食餌誘発性肥満マウスでは脂質異常症を合併し、尿中への脂肪酸結合アルブミン排泄が増加する。
- (2) マウスに FA-BSA を腹腔内投与するとアルブミン尿が誘導され、尿細管での FA-BSA の再吸収により、マクロファージなどのミエロイド系細胞が尿細管間質へ浸潤した。また、腎臓での IL-1 β 、IL-6 や TNF などの炎症メディエーターの遺伝子発現が上昇した。
- (3) BALB/c マウスから単離したマクロファージや好中球に、FA-BSA を処置すると、オートファジー活性が抑制された。
- (4) cKO マウスでは、FA-BSA 負荷に伴う尿細管障害の程度が顕著に増悪した。
- (5) cKO マウスの腹腔に FA-BSA を投与して腎障害を引き起こし、腎組織・尿について比較定量プロテオミクスを行った。その結果、cKO マウスで複数の障害マーカーや自然免疫担当細胞が放出することが報告されている組織障害誘導因子の上昇を確認した。その中でも、Protein-X が顕著に増加していた。
- (6) Protein-X の阻害剤を腹腔内前投与すると、cKO マウスの腎臓への好中球の集積が減少し、FA-BSA 誘導腎障害が改善した。
- (7) Protein-X のリコンビナントタンパク質を腹腔内前投与すると、BALB/c マウスの腎臓への好中球の集積が増加し、FA-BSA 誘導腎障害が増悪した。
- (8) マウスから単離したマクロファージを FA-BSA で刺激するとオートファジー活性が低下し、Protein-X の放出が亢進した。cKO マウスからのマクロファージでは、さらに亢進していた。
- (9) 上記結果から、「脂肪酸によりオートファジーの機能不全に至ったマクロファージからは、Protein-X が過剰に分泌される。過剰分泌された Protein-X は、自然炎症を持続させ、脂肪酸による組織障害に関与する」という可能性が考えられる (図 1)。

図 1 : FA-Alb → Macrophage → Protein-X (cKOで増加) → neutrophil → 組織損傷



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hara T, Uemoto R, Sekine A, Mitsui Y, Masuda S, Kurahashi K, Yoshida S, Otoda T, Yuasa T, Kuroda A, Ikeda Y, Endo I, Honda S, Yoshimoto K, Kondo A, Tamaki T, Matsumoto T, Matsuhisa M, Abe M, Aihara KI.	4. 巻 -
2. 論文標題 Plasma Heparin Cofactor II Activity Is Inversely Associated with Albuminuria and Its Annual Deterioration in Patients with Diabetes.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13602	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 乙田 敏城	4. 巻 35
2. 論文標題 炎症応答におけるオートファジーの役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 1164-1170
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toshiki Otoda, Tomoyuki Yuasa, and Ken-ichi Aihara	4. 巻 2
2. 論文標題 Evaluating the Ubiquitin-proteasome System as a Therapeutic Target in Diabetic Kidney Disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Clinical and Translational Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 乙田 敏城	4. 巻 33
2. 論文標題 生活習慣病におけるオートファジーの役割	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 680-686
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 乙田 敏城, 上元 良子, 関根 明子, 湯浅 智之, 粟飯原 賢一
2. 発表標題 血清suPAR値の糖尿病性腎臓病進展予測マーカーとしての有用性
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 乙田 敏城, 田蒔 基行, 高士 祐一, 森本 佳奈, 湯浅 智之, 松久 宗英, 東 博之, 粟飯原 賢一
2. 発表標題 SGLT2阻害薬の糖代謝および各種代謝指標への短期的効果に関する検討
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
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
研究協力者	齊藤 達哉 (SAITOH Tatsuya) (60456936)	大阪大学・薬学研究科・教授 (14401)	

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