

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03675

研究課題名(和文) 糖尿病性腎症における糖鎖異常とその病態的意義

研究課題名(英文) Significance of glycan abnormalities in diabetic nephropathy

研究代表者

和田 淳 (Wada, Jun)

岡山大学・医歯薬学域・教授

研究者番号：30294408

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：特異性の異なる45種類のレクチンを用いた尿レクチンアレイ解析に成功した。さらに2型糖尿病患者680例の4年間のコホート研究でベースラインのSNA, ABA, Jacalin, ACA, RCA120への結合シグナル高値が4年後のeGFR 30%低下の危険因子であることを報告した。レクチン組織化学による検討によりこれらのレクチンが認識するT-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3など、糖尿病性腎症で尿中に排泄が増加するO-グリコシル化の初期段階の異常糖鎖が近位尿細管に発現することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎症において近位尿細管細胞に発現するTn-antigenやsialyl-Tnと、マクロファージ上に存在しそれらの糖鎖構造を認識するC型レクチン受容体の相互作用が進展に関与している可能性を示した。今後の糖尿病性腎症の診断や治療の開発への研究の展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：Urinary lectin array analysis was successfully developed by using 45 lectins with different glycan binding specificity. In the cohort of patients with type 2 diabetes (n=680), higher glycan binding signals to SNA, ABA, Jacalin, ACA, and RCA120 predicted the 30% eGFR decline after 4 years follow-up. The lectin histochemistry demonstrated that T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, and Core 3 recognized by these lectins were localized proximal tubular cells and secreted to the urine.

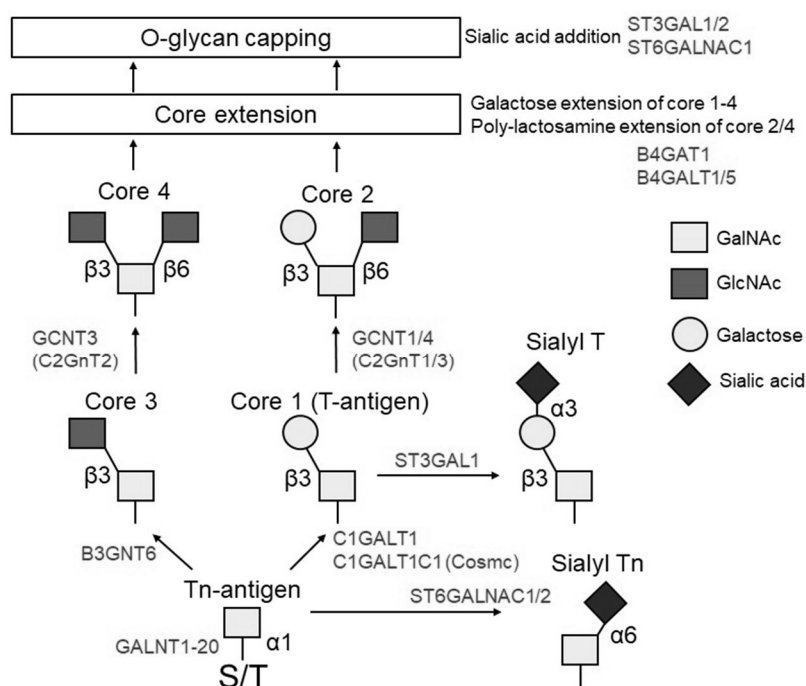
研究分野：腎臓病学、糖尿病学

キーワード：糖尿病性腎症 尿レクチンアレイ 網羅的糖鎖プロファイル C型レクチン受容体

1. 研究開始当初の背景

難治性疾患等実用化研究事業（腎疾患実用化研究事業）「糖尿病性腎症の糖鎖プロファイリングによる新規バイオマーカーの同定」（平成 24-26 年度厚生労働省科学研究費）において特異性の異なる 45 種類のレクチンを用いた尿レクチンアレイ解析に成功した (PLoS ONE 8(10), e77118, 2013)。さらに平成 24 年度より 2 型糖尿病患者 680 例の 4 年間のコホート研究でベースラインの 2-6 シアル酸関連レクチン (SNA)、Gal 1-3GalNAc (T-antigen) 関連レクチン (ABA, Jacalin, ACA)、RCA120 への結合シグナル高値が 4 年後の eGFR 30% 低下の危険因子であることを報告した (Diabetes Care. 41(8), 1765-1775, 2018)。

T-antigen (Core 1), Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3 などの糖鎖抗原は O-グリコシル化の初期段階で生成されるが、ガラクトースやポリラクトサミンの伸長反応が不十分ないわゆる糖鎖不全によって出現する。ムチンは O-グリカンに富み（分子中の糖含量は 50% を超える）、本来上皮細胞のアピカル側に発現して消化管や気道粘膜を保護しているが、癌組織においては糖鎖の質的变化（糖鎖不全）と上皮細胞の極性の消失に伴って、T-antigen, Tn-antigen が癌組織全体や血液中に検出されるようになり癌関連糖鎖として知られている。



2. 研究の目的

糖尿病モデルである db/db、Akita、それぞれの正常血糖コントロールである db/m、C57BL/6 マウスを用いて、腎組織における T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3 の系球体あるいは尿細管間質での局在を検討する。さらに O-グリカン関連酵素遺伝子群の発現変化の変化を検討して、糖尿病性腎症における糖鎖異常の発症メカニズムを検討する。

3. 研究の方法

(1) 腎組織における T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3 の系球体あるいは尿細管間質での局在については、SNA, ABA, Jacalin, ACA, RCA120 を用いたレクチン組織化学によって検討する。

(2) 糖尿病患者尿中に T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3 が増加していることから GCNT1/3/4 の発現低下を予測される。これらの O-グリカン関連酵素の

発現変化を定量 PCR によって検討する。さらに O-グリカンの合成に関与する B3GNT6, B4GAT1, B4GALT1/5, C1GALT1, C1GALT1C1, GALNT1-20, ST3GAL1/2, ST6GALNAC1/2 の発現についても同時に検討する。また腎組織の発現部位についても免疫組織化学や培養細胞を用いて検討する。

(3) 糖尿病性腎症の糖鎖異常の局在とその合成酵素の発現変化から、糖鎖異常の原因を同定してそのノックアウトマウスを作出する。

4 . 研究成果

(1) レクチン組織化学による検討により T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3 など、糖尿病性腎症で尿中に排泄が増加する O-グリコシル化の初期段階の異常糖鎖が近位尿細管に強く発現することが判明した。

(2) O-グリカン関連酵素の発現変化を定量 PCR によって検討したが、GCNT1/3/4, B3GNT6, B4GAT1, B4GALT1/5, C1GALT1, C1GALT1C1, GALNT1-20, ST3GAL1/2, ST6GALNAC1/2 の発現は糖尿病動物モデルの近位尿細管において一定の変化を捉えることが出来なかった。

(3) そこでこれらの糖鎖を認識する C 型レクチン受容体の探索に方針を転換した。C 型レクチン受容体は 1000 以上が知られており、糖鎖認識にそれぞれ特異性があり、多くが免疫反応に関与している。T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T, sialyl-Tn, Core 3 (DKD 糖鎖抗原) は、ヒト腎生検組織や糖尿病マウス腎組織を用いた ACA や ABA を用いたレクチン組織化学により、近位尿細管細胞に存在することを明らかにしたが、さらに Tn-antigen や sialyl-Tn を認識する C 型レクチン受容体である C-type lectin domain containing 10A (CLEC10A, Clec10a) ならびに macrophage galactose N-acetyl-galactosamine specific lectin 2 (Mgl2) が腎組織のマクロファージに発現することを見出した。

DKD 糖鎖抗原はその受容体であるマクロファージ上に発現する膜タンパク質である CLEC10A, MGL2 (C 型レクチン受容体) にリガンドとして作用し、細胞内シグナルを介して炎症を惹起し、DKD の尿細管間質病変を進展させるとの仮説を提唱し、さらに研究を展開させたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Nojima I, Eikawa S, Tomonobu N, Hada Y, Kajitani N, Teshigawara S, Miyamoto S, Tone A, Uchida HA, Nakatsuka A, Eguchi J, Shikata K, Udonon H, Wada J.	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 Dysfunction of CD8+ PD-1+ T cells in type 2 diabetes caused by the impairment of metabolism-immune axis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-71946-3	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 Hiramatsu-Asano S, Sunahori-Watanabe K, Zeggar S, Katsuyama E, Mukai T, Morita Y, Wada J.	4. 巻 11
2. 論文標題 Deletion of Mir223 Exacerbates Lupus Nephritis by Targeting S1pr1 in Faslpr/lpr Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 616141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.616141	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 Kawakita C, Mise K, Onishi Y, Sugiyama H, Yoshida M, Yamada M, Wada J.	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 Novel urinary glycan profiling by lectin array serves as the biomarkers for predicting renal prognosis in patients with IgA nephropathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-77736-1	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 Nunoue T, Yamaguchi S, Teshigawara S, Katayama A, Nakatsuka A, Eguchi J, Niki T, Wada J.	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 Lgals9 deficiency ameliorates obesity by modulating redox state of PRDX2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5991
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-85080-1	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 Nakatsuka A, Yamaguchi S, Eguchi J, Kakuta S, Iwakura Y, Sugiyama H, Wada J	4. 巻 4(1)
2. 論文標題 A Vaspin-HSPA1L complex protects proximal tubular cells from organelle stress in diabetic kidney disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01902-y	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 Kikuchi K, Wada J, Tomioka Y, Abe T.	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 Gut microbiome-derived phenyl sulfate contributes to albuminuria in diabetic kidney disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 1835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09735-4.	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 該当する

1. 著者名 Mise K, Imamura M, Yamaguchi S, Watanabe M, Higuchi C, Katayama A, Miyamoto S, Uchida HA, Nakatsuka A, Eguchi J, Hida K, Nakato T, Tone A, Teshigawara S, Matsuoka T, Kamei S, Murakami K, Shimizu I, Miyashita K, Ando S, Nunoue T, Yoshida M, Yamada M, Shikata K, Wada J.	4. 巻 8
2. 論文標題 Novel Urinary Glycan Biomarkers Predict Cardiovascular Events in Patients With Type 2 Diabetes: A Multicenter Prospective Study With 5-Year Follow Up (U-CARE Study 2).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Cardiovasc Med.	6. 最初と最後の頁 668059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2021.668059	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 Zhang D, Yamaguchi S, Zhang X, Yang B, Kurooka N, Sugawara R, Albuayjan HHH, Nakatsuka A, Eguchi J, Hiyama TY, Kamiya A, Wada J.	4. 巻 12
2. 論文標題 Upregulation of Mir342 in Diet-Induced Obesity Mouse and the Hypothalamic Appetite Control.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Endocrinol (Lausanne).	6. 最初と最後の頁 727915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2021.727915	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 Yamaguchi S, Zhang D, Katayama A, Kurooka N, Sugawara R, Albuayjan HHH, Nakatsuka A, Eguchi J, Wada J.	4. 巻 12
2. 論文標題 Adipocyte-Specific Inhibition of Mir221/222 Ameliorates Diet-Induced Obesity Through Targeting Ddit4.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Endocrinol (Lausanne).	6. 最初と最後の頁 750261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2021.750261	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 Kurooka N, Eguchi J, Murakami K, Kamei S, Kikutsuji T, Sasaki S, Seki A, Yamaguchi S, Nojima I, Watanabe M, Higuchi C, Katayama A, Uchida HA, Nakatsuka A, Shikata K, Wada J.	4. 巻 22
2. 論文標題 Circulating GPIHBP1 levels and microvascular complications in patients with type 2 diabetes: A cross-sectional study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Lipidol.	6. 最初と最後の頁 21-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacl.2022.01.006	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1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Wada J
2. 発表標題 We're good! We fang it! Debate about SGLT2 inhibitors in DKD. Con (less aggressive/less universal use).
3. 学会等名 WCN 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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