

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18015

研究課題名(和文) 新たな2型糖尿病腎線維化モデルの開発および解析から迫る糖尿病腎症病態

研究課題名(英文) Development and analysis of a novel type 2 diabetic mouse model with kidney fibrosis can pursue pathology of diabetic nephropathy

研究代表者

井上 有威子(水沼有威子)(Inoue, Yuiko)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：80784008

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): 新たな2型糖尿病腎線維化モデル動物となり得るCD-1db/dbマウスは、腎臓以外に心臓や肝臓においても線維化を呈すること、さらに脾島の委縮や脾細胞量低下を示すことも明らかとなった。本研究では、CD-1db/dbマウスを2型糖尿病研究に汎用されるBKSdb/dbマウスと比較し解析すること、CD-1db/dbマウスを用いた実験治療を実施し責任分子機構の解析を行うことで、2型糖尿病による腎症に対する治療標的の創出を目的とした。14世代目CD-1db/mマウス同士での交配により14世代目CD-1db/dbマウスの十分な個体数が得られ、本学においてもCD-1db/dbマウスが確立できたことを報告する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2022年時点の透析導入症例における原疾患のうち、糖尿病性腎症は38%を占めており、糖尿病性腎症の発症・進行を防ぐことの重要性は以前から強調されている。2型糖尿病に伴う腎障害の病理学的特徴として、糸球体病変を呈するもの、尿管間質病変が顕著なもの、血管病変が進展した腎硬化症の特徴を有するものなど1型糖尿病に比し多岐にわたることが報告されている。2型糖尿病かつ腎線維化を呈するモデル動物は存在しなかったが、CD-1db/dbマウスがその役目を果たせると考えられ、CD-1db/dbマウスの詳細な解析や実験治療を行うことで、特異的治療法の存在しない腎症に対する新たな治療戦略の創出につながると考える。

研究成果の概要(英文): I've found that a novel type 2 diabetic mouse model (CD-1db/db) with progressive kidney fibrosis revealed fibrosis in heart and liver. Also, CD-1db/db mice showed atrophy of pancreatic islets and decreased levels of pancreatic beta cells. In this study, I aimed to establish the therapeutic target in type 2 diabetic nephropathy with analyzing the phenotype of CD-1db/db mice by comparing with diabetic db/db mice with a BKS background (BKSdb/db), commonly used as a type 2 diabetic mouse model, and analyzing the molecular mechanisms of type 2 diabetic nephropathy with experimental treatments to CD-1db/db mice. BKSdb/m mice were backcrossed into CD-1 mice for 14 generations. By crossing 14th backcrossed CD-1db/m mice each other, I obtained enough 14th CD-1db/db mice. I can report that CD-1db/db mice have been established in my university finally.

研究分野：糖尿病

キーワード：2型糖尿病 線維化 CD-1db/dbマウス AcSDKP 糖尿病腎症 戻し交配

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病腎症の克服は重要な社会的問題であるが、その克服に向けた治療戦略の創出には優れた実験動物モデル作成が不可欠である。腎臓線維化は、糖尿病を含めた全ての進行性腎疾患の終末像である。腎臓線維化過程の中で腎臓線維芽細胞は重要な役割を演じていると考えられているが、由来も多様と考えられている。その中で、内皮細胞間葉細胞分化(EndMT)は糖尿病腎症を含む腎疾患、心臓線維化、癌間質などの線維芽細胞の由来・供給源として注目されている。

N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline(AcSDKP)は ACE により分解される内因性ペプチドであり、様々な実験モデルにおいて抗線維化効果を示すことが報告されている。我々のグループは、AcSDKP が臓器線維化に中心的役割を演じる transforming growth factor(TGF)- β とその特異的細胞内刺激伝達経路である smad pathway 抑制効果を持つことを報告した(Kanasaki et al JASN2003)。先行研究で、我々は多系統のマウスを解析し、糖尿病誘導により腎臓線維化が顕著である CD-1 マウスでは Streptozotocin(STZ)誘導糖尿病モデルで尿中 AcSDKP 濃度が有意に低下し、腎における EndMT も増加するが、線維化がほとんど生じない SV129 マウスではコントロールと STZ 誘導糖尿病モデルの尿中 AcSDKP 濃度は変わらないことを報告した(Srivastava et al Scientific Reports 2017)。AcSDKP の抗線維化作用機序において、抗線維化 microRNA (miR)である miR29 と抗線維化 miR let-7 間の両方向的制御が抗線維化/抗 EndMT プログラムに重要な役割を果たしていることを報告し、miR29 により抑制される IFN γ と IFN γ により抑制される FGFR1 が重要な役割を演じることを証明した(Swayam et al Scientific Reports 2017)。

2. 研究の目的

高度の腎臓線維化を呈する 2 型糖尿病モデルマウスの作成および表現型の解析、ならびにそれを用いた実験的治療を行うことで腎症に対する新たな治療戦略の創出を検討することを目的とした。

db 遺伝子の自然突然変異により CD-1 マウスは肥満・糖尿病が発症し、かつ早死にであるという報告があるが、臓器障害などの解析は行われていない。我々は既に、レプチン受容体不全 *db* 遺伝子の CD-1 系統への戻し交配を 12 世代行った。2 型糖尿病モデルマウスとして汎用される C57BLKS^{*db/db*} マウスは糸球体硬化を生じるが、尿細管間質線維化は軽度である。レプチン受容体不全 *db* 遺伝子の CD-1 系統への戻し交配の 8 世代以降で解析を行い、16 週齢で CD-1^{*db/db*} は、CD-1^{*db/m*} および BKS^{*db/db*} に比して、有意に血糖値が高く、体重は重い傾向であったがその後低下、飲水量と摂食量は顕著に多かった。体重当たりの腎重量について、CD-1^{*db/db*} は、CD-1^{*db/m*} および BKS^{*db/db*} に比して有意に大きく、心重量は BKS^{*db/db*} に比して有意に大きかった。組織学的解析により、CD-1^{*db/db*} では尿細管の萎縮・間質線維化、心臓にて perivascular fibrosis を強く認め、24 週齢でこれらの変化はさらに増強していたことを確認している。

3. 研究の方法

前任の金沢医科大学で作成した CD-1^{*db/db*} マウスを本学でも確立するために、交配に必要な CD-1^{*db/m*} マウスを金沢医科大学から移送いただいたこと、本学に搬入されてから SPF 化を経て新たに CD-1 マウスと掛け合わせて 14 世代目 CD-1^{*db/m*} マウスを作成したことなどの手順が必要であり、それらの操作に時間を要したため、検討していた実験は施行できなかった。

4. 研究成果

上記の通り、本研究の成果としては、CD-1^{*db/db*} マウスを本学でも確立できたことであった。CD-1^{*db/db*} マウスがすぐに得られなかったため、その間は金沢医科大学で採取していたサンプルの解析を進めた。その結果、CD-1^{*db/db*} マウスは、脾臓が委縮する傾向を示し、脾臓細胞量が BKS^{*db/db*} に比べて有意に低下し(図 1)、腎臓・心臓以外に、肝臓においても、CD-1^{*db/db*} マウスは BKS^{*db/db*} に比し、有意に顕著な線維化を認めた(図 2)。

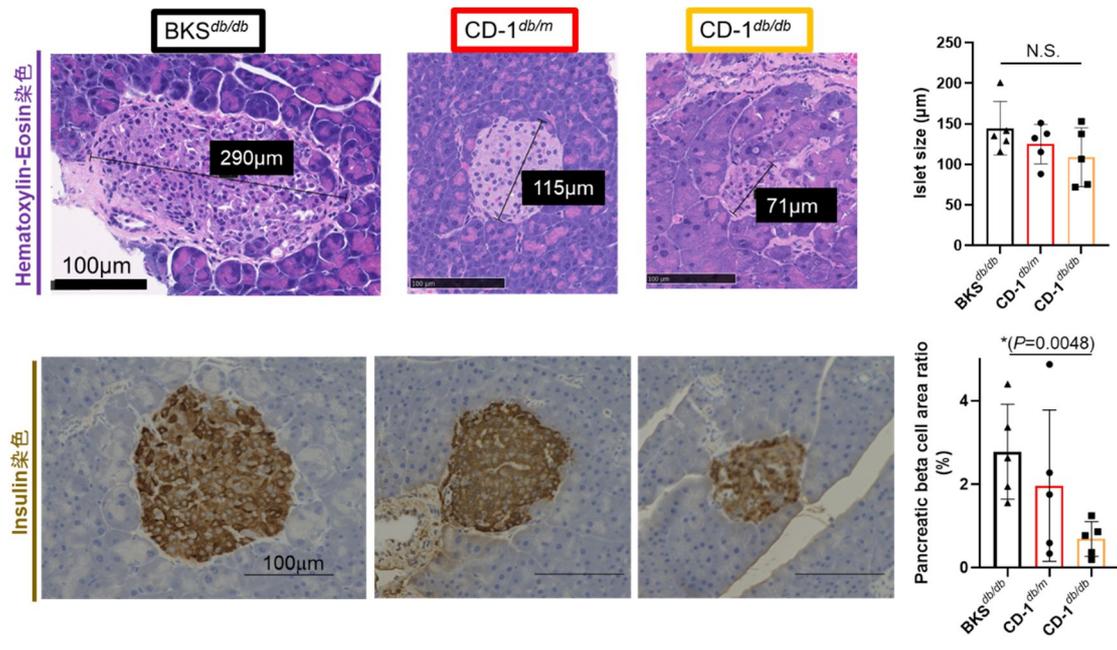


図 1

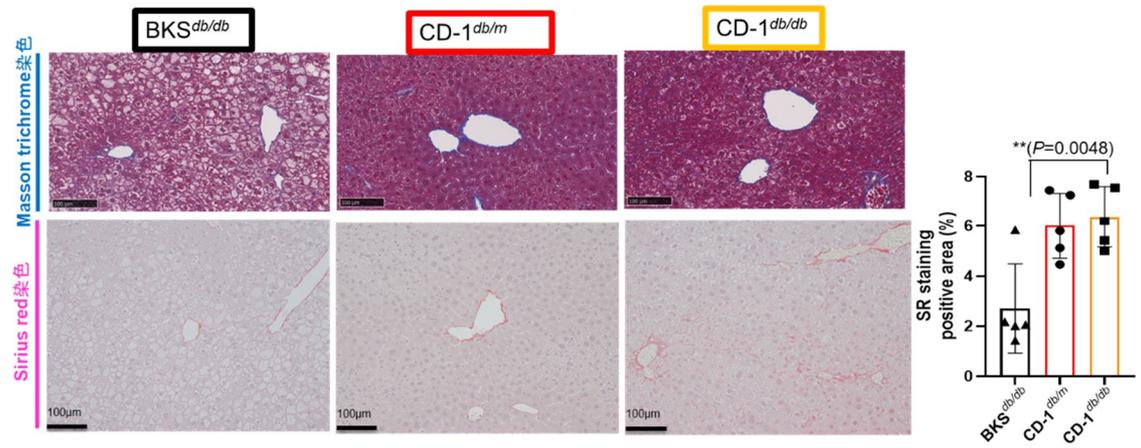


図 2

当初計画していた実験には着手できなかったが、CD-1 *db/db* マウスの十分な個体数を確保するために多大な費用と時間を要し、支援いただいたことに心から感謝の意を表す。本学では、本研究以外にも CD-1 *db/db* マウスを用いた研究を計画している。糖尿病性心筋障害に対する糖尿病治療薬の影響に関する研究(研究課題/領域番号 20K07809)も進行中である。引き続き、腎症を初めとする糖尿病合併症に対する新たな治療戦略の創出に貢献していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mizunuma Yuiko, Kanasaki Keizo, Nitta Kyoko, Nakamura Yuka, Ishigaki Yasuhito, Takagaki Yuta, Kitada Munehiro, Li Shaolan, Liu Haijie, Li Jinpeng, Usui Isao, Aso Yoshimasa, Koya Daisuke	4. 巻 11
2. 論文標題 CD 1db/db mice: A novel type 2 diabetic mouse model with progressive kidney fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1470 ~ 1481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13311	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 Mizunuma Yuiko, Kanasaki Keizo, Nitta Kyoko, Nakamura Yuka, Ishigaki Yasuhito, Takagaki Yuta, Kitada Munehiro, Li Shaolan, Liu Haijie, Li Jinpeng, Usui Isao, Aso Yoshimasa, Koya Daisuke	4. 巻 10.1111/jdi.13311
2. 論文標題 CD 1db/db mice: a novel type 2 diabetic mouse model with progressive kidney fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13311	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 水沼 有威子
2. 発表標題 CD-1系統db/dbマウスは臓器線維化を呈する新たな2型糖尿病モデルとなり得る
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水沼 有威子
2. 発表標題 CD-1系統db/dbマウス：新たな2型糖尿病腎線維化モデル
3. 学会等名 第56回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水沼 有威子
2. 発表標題 CD-1系統db/dbマウス：新たな2型糖尿病腎線維化モデル
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 水沼 有威子
2. 発表標題 Backcross db gene into CD-1 background results in novel type 2 diabetic mouse model with progressive kidney fibrosis
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水沼 有威子
2. 発表標題 CD-1系統db/dbマウスは新たな2型糖尿病腎線維化モデルとなり得る
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水沼 有威子
2. 発表標題 CD-1系統db/db：新たな2型糖尿病腎線維化モデル
3. 学会等名 第6回北関東糖尿病研究会
4. 発表年 2020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
---------	---------