

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23994

研究課題名（和文）糖尿病性腎臓病の新規マーカーと治療法の臨床応用

研究課題名（英文）The clinical application of a novel biomarker and therapeutic strategy in diabetic kidney disease

研究代表者

菊地 晃一（KIKUCHI, Koichi）

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：10845259

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病性腎臓病（DKD）は末期腎不全に至る最多原疾患であり、その発症や増悪の予防は喫緊の課題である。我々は腸内細菌によって産生されるフェニル硫酸（phenyl PS）とDKDとの関係に着目し、PSがDKD発症や増悪に関与するメカニズムと臨床応用の可能性を明らかにした。まず糖尿病では腸内細菌叢が変化し体内のPS産生が亢進していることを明らかにし、腸内細菌がDKDの治療ターゲットとなることを見出した。更に血中PS濃度の低減はアルブミン尿減少効果を持つことを明らかにしており、より強力なPS低減効果を有する化合物の薬理的スクリーニングによる同定を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎臓病は末期腎不全に至る最多原疾患であり、腎不全に至ると透析治療を余儀なくされる。末期腎不全は患者のQOLを著しく低下させるだけでなく、透析治療には患者一人あたり年間約500万円の医療費がかかっており医療経済的にも末期腎不全患者数を減らすことは極めて重要である。本研究は腸内細菌叢に着目し糖尿病性腎臓病の新たな発症予測マーカーや治療法の可能性を示したものであり、学術的・社会的意義は大である。

研究成果の概要（英文）：Diabetic kidney disease (DKD) is one of the major causes of end-stage renal diseases (ESRD) in Japan, and it is very important to prevent from onset or progression of DKD. In previous study (Kikuchi et al Nat. Med. 2019), we identified phenyl sulfate (PS) as a novel biomarker of DKD. PS is a metabolite of phenol which produced from tyrosine by tyrosine-phenol lyase (TPL). PS administration in several types of diabetic nephropathy model significantly induced albuminuria and podocyte damage, suggesting that PS may be one of the causes of albuminuria in db/db mice. In this study, we clarify that a production of PS is increased in diabetic condition according to change gut microbiota. This implied microbiota may be a therapeutic target in DKD. Next, we identified compounds which decreasing plasma PS concentration by pharmacological screening because we clarify the reduction of PS have reno-protective effect.

研究分野：腎臓内科

キーワード：糖尿病性腎臓病 腸内細菌叢 フェニル硫酸 チロシンフェノールリアーゼ 末期腎不全 バイオマーカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

DKD は慢性透析患者の約 4 割を占める最多原疾患であり DKD への積極的介入により ESKD を防ぐことは喫緊の課題である。申請者は糖尿病患者の血液中の代謝物を網羅的に解析し、血中のフェニル硫酸 (PS) が高い患者ではアルブミン尿を呈し予後が悪いこと、糖尿病モデルマウスで血中 PS 濃度を低下させるとアルブミン尿が低下し腎機能が改善することを明らかにした (Kikuchi K. et al. *Nat. Commun.* 2019)。

我々はヒト腎臓特異的なそれらの排泄トランスポーター (SLCO4C1) を強制発現させたトランスジェニックラット (Mikkaichi T. et al. *PNAS*2004, Toyohara T. et al. *JASN*2009) を作製して糖尿病下での網羅的代謝物解析を行い、DKD のマーカーかつ原因候補物質としてフェニル硫酸 (PS) を同定した。糖尿病モデルマウスを用いた実験で腎機能が正常でも血中 PS 濃度が高いと糸球体のポドサイト障害を惹起しアルブミン尿を増加させることを明らかにした。また糖尿病患者を対象としたコホート (U-CARE n=362) の血中 PS 濃度と臨床データの解析から、PS はアルブミン尿と有意に相関し、微量アルブミン尿期の患者では 2 年後のアルブミン尿の増加と相関していた。PS は 100%腸内細菌由来の代謝物で TPL を薬理的に阻害するアミノ酸誘導体「2-AZA-tyrosine」をマウスに投与すると血中 PS 濃度が下がると同時に蛋白尿が減少した。

以上のように報告者らの研究は食事中の蛋白質 (アミノ酸) 成分が DKD の進展予防に重要な要素である可能性、食事由来のアミノ酸を基に腸内細菌によって作られる PS が DKD におけるポドサイト障害と密接に関係していること、さらには腸内細菌・腸内環境が DKD 治療介入のターゲットとなる可能性を示した、これまでの概念にはなかった研究である。

2. 研究の目的

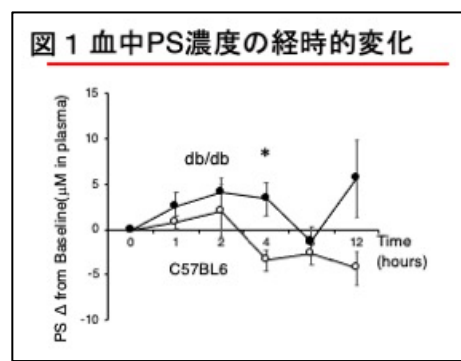
- (1) 糖尿病では体内での PS 産生が亢進しているか否か、また亢進しているとすれば、そのメカニズムを明らかにする
- (2) チロシン-フェノールリアーゼ (TPL) をターゲットとする DKD の新規治療薬の探索
- (3) DKD の進行予測マーカーとしての PS の有用性を確立する

3. 研究の方法

- (1) 糖尿病モデルマウスと通常マウスを一晩絶食し空腹の状態にし、それぞれに PS の原料となるチロシンを経口投与し、その後の経時的な血中フェニル硫酸濃度を測定する。また腸内細菌のメタゲノム解析を行い PS 産生菌の同定を図る。
- (2) 96 穴プレートを用いた micro volume での TPL 活性阻害効果の評価系を用いて化合物ライブラリーを用いて 2-Aza-DL tyrosine 以上に TPL 阻害効果の強い化合物の一次スクリーニングを行う。次に二次スクリーニングを行い DKD の新規治療薬候補の選定を行う。
- (3) 血中 PS 濃度とアルブミン尿の相関を確認している糖尿病コホート (U-CARE) で LC-MS/MS を用いて尿サンプル中の PS 濃度を測定し臨床データとの新規解析を行い尿中 PS 濃度が DKD の進展予測マーカーになり得るかを明らかにする。

4. 研究成果

- (1) 空腹下の糖尿病モデルマウスである db/db マウスと C57BL6 マウスのそれぞれに 50mg/kg のチロシンを経口投与し、尾静脈から経時的に採血した血漿中の PS 濃度を測定したところ db/db マウスほうが C57BL6 に比べて有意に血中 PS 濃度の上昇率が大きいことを明らかにした (図 1)。さらにこれら 2 種のマウスの糞便を用いた腸内細菌叢のメタゲノム解析結果の比較により糖尿病状態における特徴的腸内細菌叢変化と PS 産生菌の同定を進めている。



- (2) 17 種の PS 誘導体を用いた TPL 阻害効果のスクリーニングにより、2-AZA tyrosine よりも阻害効果の強い化合物として 11 種類を同定した。次に 2 次スクリーニングとして TPL 遺伝子を組み込み安定的に TPL が産生する大腸菌の培地に PS の原料となるチロシンと、これら 11 種類の化合物を添加し PS の前駆体であるフェノールの産生が抑制されるかの検証を進めている。
- (3) 本研究期間中は共同研究機関である岡山大学と共同で UCARE コホートの尿サンプルの整理、分注を行った。さらに本研究で整理した尿検体 (全 675 検体) 中の PS 濃度を LCMS/MS を用いて測定し、血中 PS 濃度と尿中 PS 濃度が相関することを明らか

にした。さらに臨床データと尿中 PS 濃度との関係解析を進めており、血液に比べより非侵襲的に採取可能な尿検体の PS 濃度が DKD の発症や進展を予測し得るかの検証を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 菊地晃一
2. 発表標題 Gut microbiome-derived phenyl sulfate contributes to albuminuria in diabetic kidney disease (Part 1, Basic)
3. 学会等名 第52回米国腎臓学会議（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地晃一
2. 発表標題 腸内細菌酵素由来のフェニル硫酸は糖尿病性腎臓病のアルブミン尿増悪の原因物質かつ進展予測マーカーである
3. 学会等名 第31回糖尿病性腎症研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地晃一
2. 発表標題 糖尿病性腎症の新規発症・進展予測マーカーとしてのフェニル硫酸の有用性の臨床検討
3. 学会等名 第10回腎不全研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地晃一
2. 発表標題 The clinical importance of gut microbiome-derived phenyl sulfate as a predictive marker of albuminuria in diabetic kidney disease
3. 学会等名 9th CKD frontier meeting（国際学会）
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
---------	---------