

令和 4 年 9 月 1 日現在

機関番号：14202

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22921

研究課題名(和文) Carboxylesterase 1を標的とした新規腎脂質代謝改善薬の探索

研究課題名(英文) Investigation of Novel Renal Lipid Metabolic Drug Targeting Carboxylesterase 1

研究代表者

菅原 翔 (Sugahara, Sho)

滋賀医科大学・医学部・客員助教

研究者番号：80880682

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)：我々は脂肪酸エステラーゼの一つ、Carboxylesterase1(CES1)の腎臓における脂質代謝促進作用に着目して、慢性腎臓病(CKD)治療薬としての可能性を検討した。高脂肪食負荷モデルマウスにおいて、腎臓におけるCES1の発現が上昇していることを明らかにした。またCES1の転写因子の一つ、FXRの活性維持により、脂肪負荷時の尿細管障害が軽減することを明らかにした。ヒト腎近位尿細管細胞株にCES1を過剰発現させパルミチン酸、オレイン酸との共培養を行い、脂肪酸負荷時の細胞障害性を観察した。しかし、CES1過剰発現細胞において脂肪酸負荷による細胞障害性の改善は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎臓の近位尿細管においてCES1がFXRの調節を受け、脂肪負荷時における脂質代謝能の維持に寄与していることが明らかとなり、これらを標的とした薬剤が脂質代謝異常に伴う腎障害の改善薬となりうる可能性を示した。培養尿細管においてCES1過剰発現時の代謝障害改善作用は未だ示されていないが、これには培養細胞における代謝変化(近位尿細管は主として脂質をエネルギー源とするが、培養細胞の場合、エネルギー需要が糖質に傾いていることがある)が起因する可能性が考えられた。これに関しても今後、近位尿細管の脱分化、線維化に伴う代謝変化にも着目して検討を続けていく予定である。

研究成果の概要(英文)：We focused on the lipid-metabolizing activity of Carboxylesterase 1 (CES1) in the kidney to investigate its potential as a therapeutic target for chronic kidney disease (CKD). We found that CES1 expression in the kidney is upregulated in a high-fat diet(HFD) mouse model. We also found that maintenance of FXR activity, one of the transcription factors of CES1, reduced tubular damage during HFD feeding. We overexpressed CES1 in human renal proximal tubular cell lines and co-cultured it with palmitic acid and oleic acid, and observed the cytotoxic effect of fatty acid loading. However, no improvement in cytotoxicity was observed in CES1-overexpressing cells upon fatty acid loading.

研究分野：腎臓内科

キーワード：近位尿細管 脂質代謝 Carboxylesterase 1

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (CKD) は日本の成人人口の約 13%が罹患しており、死因の 7 番目に位置する。CKD は心血管疾患のリスクをおよそ 10~20 倍に上昇させ、我が国では毎年およそ 4 万人の末期腎不全 (ESRD) 患者が、腎移植や腎代替療法を必要とする。

慢性腎臓病 (CKD) は我が国の成人人口の約 13%が罹患しており、死因の 7 番目に位置する。CKD はそれ自体が末期腎不全につながり、血液透析や腎移植が必要となる他、心血管疾患のリスクをおよそ 10~20 倍に上昇させ脳卒中や心筋梗塞などの心血管合併症の強力な危険因子となり、その克服は喫緊の課題となっている。

近年の研究において、CKD の腎臓では脂質代謝経路に大きな異常が生じていることが報告され⁽¹⁾、腎脂質代謝の改善が CKD 克服に重要であることが明らかになった。PPAR 活性化薬など、一部の脂質代謝改善薬に腎保護効果があることが報告され、実際に臨床現場で使用されているが、副作用の問題などで腎保護効果を発揮する用量を使用しづらいといった問題点もあるため、新たな薬剤の創出が望まれている。

2. 研究の目的

申請者らはこれまでに、脂肪酸エステラーゼの一つ、Carboxylesterase1 (CES1) が腎脂質代謝に重要な働きを持っていることを明らかにしている⁽²⁾。CES1 はこれまで、生体内での薬品や化学物質の解毒や代謝活性化に関与する、エステラーゼとしての側面がよく知られていたが、生体内の長鎖アシル化合物の代謝にも関与するため、脂質代謝にも重要な働きを持つ。

CES1 の腎臓における機能はこれまで十分には解明されていなかったが、腎近位尿細管における脂質代謝を促進し、エネルギー産生を向上させることにより、腎障害を軽減する機能を持つことが明らかになった。本研究では CES1 の詳細な検討を通じて、腎脂質代謝改善薬の開発につながることを目的とする。

3. 研究の方法

病態モデルマウス腎における CES1 の発現確認。

腎障害をきたす種々の病態モデルを作成する。具体的には、非代謝性腎障害モデルとして虚血再灌流モデル、片側尿管閉塞 (UUO) モデルを作製し、代謝性腎障害モデルとして高脂肪食 (HFD) 負荷モデル、Streptozotocin (STZ) 投与による 1 型糖尿病モデルを作製し、それぞれの腎における CES1 の発現を確認する。

CES1 過剰発現培養近位尿細管細胞の作製と脂肪酸共培養

ヒト腎近位尿細管細胞株にプラスミド DNA トランスフェクションにより CES1 を過剰発現させる。申請者らのグループは飽和脂肪酸が尿細管細胞に対して強い毒性を発揮することを細胞実験で報告している。得られた CES1 過剰発現近位尿細管細胞を用いてパルミチン酸、オレイン酸との共培養を行い、脂肪酸負荷時の細胞障害性を観察する。

CES1 ノックアウトマウスの作製とその表現型の検討

近位尿細管特異的 CES1 ノックアウトマウスを作製し、その表現型を検討する。薬剤誘導性近位尿細管特異的 Cre 発現マウス (SLC34a1 CreERT2 マウス) と CES1 flox マウスを掛け合わせ、得ら

れたマウスにタモキシフェンを投与することにより、近位尿細管特異的な CES1 のノックアウトを誘導する。これらのマウスを通常食で飼育し、自然経過を観察する。また、得られたノックアウトマウスを で検討した虚血再灌流モデル、UUO モデル、HFD 負荷モデル、STZ 投与モデルにし、腎障害に対する応答を確認する。

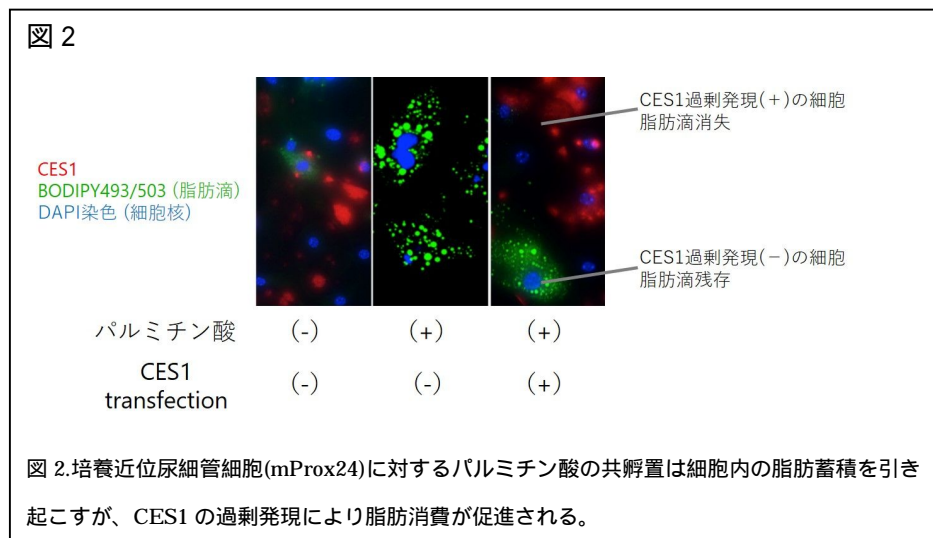
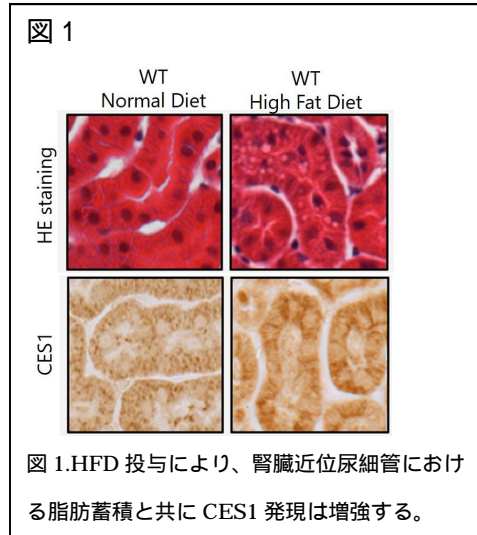
4 . 研究成果

高脂肪食(High Fat Diet; HFD)負荷モデルマウスにおいて、腎臓における CES1 の発現が上昇していることを明らかにした(図 1)。また、培養細胞における検討で、CES1 の過剰発現により、脂肪負荷時の尿細管細胞への脂肪蓄積が軽減することを明らかにした(図 2)。

ヒト腎近位尿細管細胞株に CES1 を過剰発現させパルミチン酸、オレイン酸との共培養を行い、脂肪酸負荷時の細胞障害性を観察した。しかし、CES1 過剰発現細胞において脂肪酸負荷による細胞障害性の改善は認められなかった。

【参考文献】

1. H. M. Kang *et al.*, Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. *Nat Med* **21**, 37-46 (2015).
2. S. Sugahara *et al.*, Protein O-GlcNAcylation Is Essential for the Maintenance of Renal Energy Homeostasis and Function. *J Am Soc Nephrol* **30**, 962-978 (2019).



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------