

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08256

研究課題名（和文）細菌由来新規アポトーシス誘導ペプチドによる糖尿病性腎臓病の進展機序の解明

研究課題名（英文）Mechanism of progression in diabetic kidney disease by a novel bacterial-derived apoptosis-inducing peptide

研究代表者

矢野 裕（Yano, Yutaka）

三重大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：10263021

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）：糖尿病性腎臓病における線維化の進展機序を解析し以下の結果が認められた。腎特異的TGF- β 1過剰発現マウスに対するストレプトゾトシンによる血糖上昇により腎臓の線維化の進展、腎機能の低下の促進を明らかにした。また、その進展にインスリン抵抗性が関与する可能性をみいだした。更にアポトーシスと線維化を促進する細菌由来ペプチドCorisinが、この病態に関与する可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎臓病による末期腎不全患者の生命予後は悪く、従来の治療では進展抑制に限界があり、進展機序を解析し新規治療法の開発が必要である。本研究は、腎不全に進展する重要な機序である線維化に着目し、高血糖による腎の線維化にインスリン抵抗性と、細菌由来のペプチドが関与する可能性を見出した。その機序としてTGF- β 1による作用が影響を及ぼしていることが推測された。本結果は、糖尿病性腎臓病の進展における重要な機序であり、更なる解析により治療の開発に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The following results obtained by analyzing the mechanism of fibrosis development in diabetic kidney disease. Using mice overexpressing renal-specific TGF- β 1, we showed that elevated blood glucose induced by Streptozotocin accelerate the progression of renal fibrosis and the decline in renal function. We also found that insulin resistance may be involved in the development of fibrosis. Furthermore, we showed that Corisin, a bacterial peptide that promotes apoptosis and fibrosis, may be involved in this pathogenesis.

研究分野：糖尿病、内分泌

キーワード：糖尿病性腎臓病 アポトーシス 線維化 細菌由来ペプチド 高血糖 インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

世界規模で糖尿病は増加しており、糖尿病性腎臓病 (DKD) による末期腎不全患者数も増加している。末期腎不全患者の生命予後は悪く、QOL も著しく低下する。現在の降圧、血糖制御による治療は一定の効果を認めるが進展抑制には限界があるため、更に進展機序を解明し新規治療法を開発する必要がある。

2. 研究目的

糖尿病性腎臓病の重要な進展機序として線維化があるが、我々は糸球体に特異的にヒト TGF- β 1 を過剰発現させ線維化が進行するマウス (腎特異的 TGF- β 1 過剰発現マウス) を作成し、腎線維化の機序にアポトーシスが重要な要因である事を示した (Kidney International, 2020)。更に、培養細胞を用いたロンボモジュリンによる線維化抑制作用とその作用経路を報告した。また、ロンボモジュリンが糖尿病モデルマウスにおいて抗アポトーシス作用に加え、免疫系の細胞へも作用し、細胞の保護効果が認められることを報告した (Cells, 2021)。

我々が発見、命名した新規ペプチドの Corisin (分子量 1940) が、Staphylococcus nepalensis から放出され細胞のアポトーシスを誘導し組織の線維化を促進することを明らかにした (Nat. Communications, 2020)。Corisin あるいは類似の構造である Corisin 様ペプチドが、作用を保持し、多くの細菌に保存され全身の臓器へ影響する可能性が推測された。Corisin はアポトーシスと線維化を促進する作用を有し、糖尿病性腎臓病の進展に関与している可能性を考えた。細菌と糖尿病性腎臓病の関係について、詳細は不明であるが、近年、細菌と動脈硬化、糖尿病の関係が報告されており、慢性疾患における細菌と臓器障害の関係が注目されている。糖尿病性腎臓病について線維化の病態と Corisin の関与について解析し、更にインスリン抵抗性の関与についても検討し、糖尿病性腎臓病の進展機序を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) Corisin の作用を詳細に検討するのにモノクローナル抗体の作成が必要である。急性肺障害モデル、培養細胞を用いて Corisin によりアポトーシス、線維化を誘導し、モノクローナル抗体による影響を検討する。Corisin により誘導される病態に対する効果の検討を行う。

(2) 腎特異的 TGF- β 1 過剰発現マウスをストレプトゾトシン (STZ) で糖尿病とし、腎組織について、糸球体の硬化と線維化、腎機能について検討を行う。更に Corisin との関係を検討する。

(3) (2) の検討の際にインスリン抵抗性についても検討を行う。

4. 研究成果

(1) 肺特異的 TGF- β 1 過剰発現マウスに対して Corisin を投与したマウスは、CT での線維化のスコア、BALF で採取された細胞数、線維化のマーカーがいずれもコントロール群より上昇し、我々が作成した Corisin に対するモノクローナル抗体によりこれらの指標の改善が認められた。急性肺障害モデルとしてのプレオマイシンで肺障害を誘導したマウスでは、抗 Corisin モノク

ローナル抗体によりアポトーシスの抑制、肺の線維化の抑制が、CT での線維化の抑制、肺の組織学的検討での線維化の抑制が認められた。以上より本抗体が、Corisin により誘導された病態と疾患モデルマウスでの病態を抑制することが確認された (Nat.Communications,2022)。

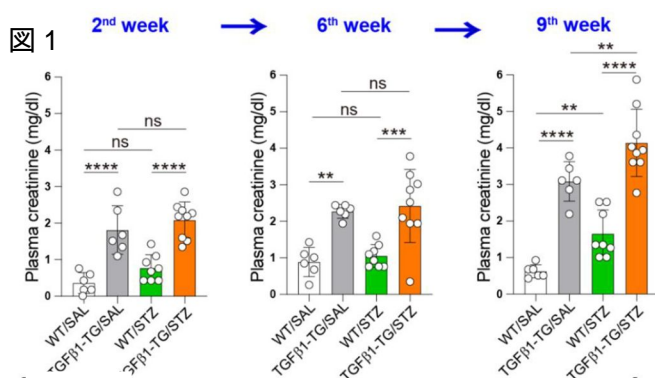


図 1

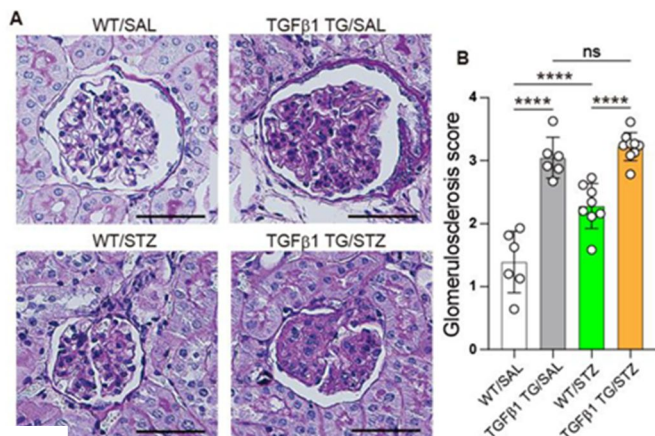


図 2

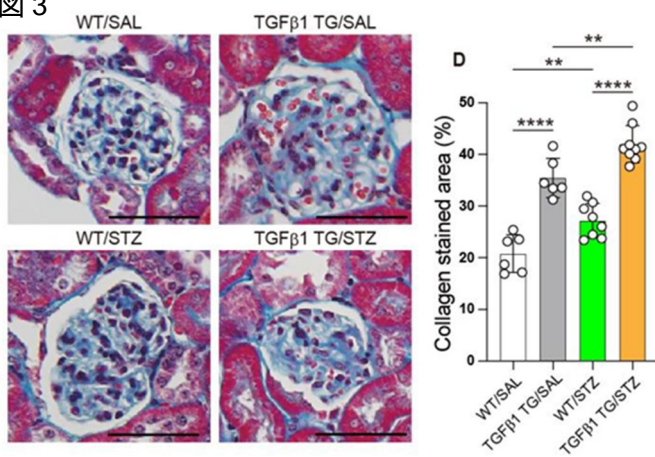


図 3

(2) 腎特異的 TGF 1 過剰発現マウスをストレプトゾトシン(STZ)で糖尿病とし、線維化との関係、Corisin との関係を検討した。血中の TGF 1 濃度は、腎特異的 TGF 1 過剰発現マウスを STZ で処置した群(TGF 1TG/STZ 群)において、生食群(TGF 1TG/SAL 群)に比較して有意に高値であった。また血中のクレアチンは、

TGF 1TG/STZ 群が STZ 処置 9 週後に他の群と比較して最も上昇していた

(図 1)。組織学的検討では、PAS 染色による糸球体硬化スコアは、

TGF 1TG/STZ 群と TGF 1TG/SAL 群は野生型の群よりは高値あったが、

TGF 1TG 群の間では、有意差を認めなかった(図 2)。更に線維化に関して

も TGF 1TG/STZ 群において、TGF 1TG/SAL 群と比較して有意に高値であった(図 3)。

また SMAD3 のリン酸化は、TGF 1TG/STZ 群と TGF 1TG/SAL 群では有意差はなく、

これ以外の経路による作用の可能性が推測された。腎特異的 TGF 1 過剰発現マウスにおける尿中 Corisin は

野生型マウスに比較し有意に上昇しており病態への関与が推測された。

本マウスでの Corisin の投与による腎障害の悪化と抗体による抑制を認め、

現在詳細な検討を行っている。

更にインスリン抵抗性との関係では、STZ 注射後の血糖上昇が TGF 1TG/STZ 群が、野生型マウスの STZ 処置群 (WT/STZ 群) に比較して有意に高値であったので、腹腔内ブドウ糖負荷を行ったところ、TGF 1TG/STZ 群は、WT/STZ 群とインスリン分泌は有意差なくインスリン抵抗性の

上昇の可能性が示唆された。その原因として培養細胞の結果からは、肝臓、筋肉におけるインスリン作用を TGF- β 1 が抑制している可能性が示唆された。

以上より、腎特異的 TGF- β 1 過剰発現マウスを STZ で糖尿病状態にした場合、STZ で処置しない場合に比較して腎臓の線維化は進展し、腎機能も低下する。従って、本マウスにおいて高血糖が腎臓の線維化の促進作用があることが明らかになった。更に、本マウスでの Corisin の病態への関与が推測された。また、TGF- β 1TG/STZ は、WT/STZ 群に比較してインスリン抵抗性が存在し、標的細胞での TGF- β 1 によるインスリン作用の抑制の関与が示唆された。

< 引用文献 >

- (1) Inhibition of lung microbiota-derived proapoptotic peptides ameliorates acute exacerbation of pulmonary fibrosis. D'Alessandro-Gabazza CN, Yasuma T, Kobayashi T, Toda M, Abdel-Hamid AM, Fujimoto H, Hataji O, Nakahara H, Takeshita A, Nishihama K, Okano T, Saiki H, Okano Y, Tomaru A, Fridman D'Alessandro V, Shiraishi M, Mizoguchi A, Ono R, Ohtsuka J, Fukumura M, Nosaka T, Mi X, Shukla D, Kataoka K, Kondoh Y, Hirose M, Arai T, Inoue Y, Yano Y, Mackie RI, Cann I, Gabazza EC. *Nat Commun.* 2022 ,13(1):1558
- (2) Transforming Growth Factor β 1 Overexpression Is Associated with Insulin Resistance and Rapidly Progressive Kidney Fibrosis under Diabetic Conditions. D'Alessandro VF, Takeshita A, Yasuma T, Toda M, D'Alessandro-Gabazza CN, Okano Y, Tharavecharak S, Inoue C, Nishihama K, Fujimoto H, Kobayashi T, Yano Y, Gabazza EC. *Int J Mol Sci.* 2022,23(22):14265.
- (3) Protective Role of Recombinant Human Thrombomodulin in Diabetes Mellitus. Okano Y, Takeshita A, Yasuma T, Toda M, Nishihama K, Fridman D'Alessandro V, Inoue C, D'Alessandro-Gabazza CN, Kobayashi T, Yano Y, Gabazza EC. *Cells.* 2021,10(9):2237.
- (4) A Staphylococcus pro-apoptotic peptide induces acute exacerbation of pulmonary fibrosis. D'Alessandro-Gabazza CN, Kobayashi T, Yasuma T, Toda M, Kim H, Fujimoto H, Hataji O, Takeshita A, Nishihama K, Okano T, Okano Y, Nishii Y, Tomaru A, Fujiwara K, D'Alessandro VF, Abdel-Hamid AM, Ren Y, Pereira GV, Wright CL, Hernandez A, Fields CJ, Yau PM, Wang S, Mizoguchi A, Fukumura M, Ohtsuka J, Nosaka T, Kataoka K, Kondoh Y, Wu J, Kawagishi H, Yano Y, Mackie RI, Cann I, Gabazza EC. *Nat Commun.* 2020,11(1):153

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 D'Alessandro VF, Takeshita A, Yasuma T, Toda M, D'Alessandro-Gabazza CN, Okano Y, Tharavecharak S, Inoue C, Nishihama K, Fujimoto H, Kobayashi T, Yano Y, Gabazza EC.	4. 巻 23
2. 論文標題 Transforming Growth Factor 1 Overexpression Is Associated with Insulin Resistance and Rapidly Progressive Kidney Fibrosis under Diabetic Conditions.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 14625 1-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms232214265.	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 D'Alessandro-Gabazza CN, Yasuma T, Kobayashi T, Toda M, Abdel-Hamid AM, Fujimoto H, Hataji O, Nakahara H, Takeshita A, Nishihama K, Okano T, Saiki H, Okano Y, Tomaru A, Fridman D'Alessandro V, Shiraishi M, Mizoguchi A, Ono R, Ohtsuka J, Fukumura M, Nosaka T, Yano Y, Mackie RI, Cann I, Gabazza EC, et al	4. 巻 13
2. 論文標題 Inhibition of lung microbiota-derived proapoptotic peptides ameliorates acute exacerbation of pulmonary fibrosis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1~27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-29064-3	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 該当する

1. 著者名 Okano Y, Takeshita A, Yasuma T, Toda M, Nishihama K, Fridman D'Alessandro V, Inoue C, D'Alessandro-Gabazza CN, Kobayashi T, Yano Y, Gabazza EC.	4. 巻 10
2. 論文標題 Protective Role of Recombinant Human Thrombomodulin in Diabetes Mellitus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1~13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells10092237	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 該当する

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 安間太郎, 井上知紗, 岡野優子, 竹下敦郎, 西濱康太, 上村明, 鈴木俊成, ガバザ コリナ, 戸田雅昭, ガバザ エステバン, 矢野裕
2. 発表標題 遺伝子改変慢性腎不全マウスを用いた細菌由来ペプチドcorisinの腎に対する影響の検討
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀨康太, 竹下敦郎, 安間太郎, 岡野優子, 井上知紗, フリドマン バレリア, ガバザ コリナ, 戸田雅昭, ガバザ エステバン, 矢野裕
2. 発表標題 糖尿病性腎症にマトリックスメタロプロテインナーゼ2が与える影響についての検討
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡野優子, 井上知紗, バレリア フリドマン, 竹下敦郎, 西瀨康太, 上村明, 安間太郎, 鈴木俊成, ガバザ コリナ, 戸田雅昭, 矢野裕, ガバザ エステバン
2. 発表標題 Min6細胞のストレプトゾトシン誘発アポトーシスに対するトロンボモジュリンの効果の検討
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹下敦郎, 岡野優子, 井上知紗, 西瀨康太, 安間太郎, Valeria Fridman, 戸田雅昭, Corina N.D'Alessandro-Gabazza, Esteban Gabazza, 矢野裕
2. 発表標題 ヒト組換えトロンボモジュリンの抗糖尿病作用
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuko Okano, Chisa Inoue, Valeria Fridman, Atsuro Takeshita, Kota Nishihama, Taro Yasuma, Masaaki Toda, Corina Gabazza, Yutaka Yano, Esteban Gabazza
2. 発表標題 Protective effect of Recombinant Human Thrombomodulin on Streptozotocin-induced diabetes.
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡野優子, 井上知紗, 竹下敦郎, 西濱康太, 安間太郎, パレリア フリードマン, ガバザ コリーナ, 戸田雅昭, 上村明, 鈴木俊成, 矢野裕, ガバザ エステバン
2. 発表標題 細菌由来ペプチドcorisinがポドサイトのアポトーシスを誘導する
3. 学会等名 第37回糖尿病合併症学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田明宏、竹下敦郎、岡野優子、西濱康太、安間太郎、ガバザコリーナ、戸田雅昭、矢野 裕、ガバザエステバン
2. 発表標題 腎線維症に対するトロンボモジュリンの抗炎症作用の検討
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹下敦郎、内田明宏、岡野優子、西濱康太、安間太郎、ガバザコリーナ、戸田雅昭、矢野 裕、ガバザエステバン
2. 発表標題 トロンボモジュリンによる腎細胞保護効果の検証
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡野優子、内田明宏、竹下敦郎、西濱康太、安間太郎、ガバザコリーナ、戸田雅昭、矢野 裕、ガバザエステバン
2. 発表標題 トロンボモジュリンのストレプトゾトシン誘発糖尿病に対する効果の検討
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹下敦郎, 安間太郎, 井上知紗, 内田明宏, 岡野優子, 西濱康太, フリードマンパレリア, 戸田雅昭, ガバザコロナ, ガバザエステバン, 矢野裕
2. 発表標題 ヒト組換えトロンボモジュリンの腎ポドサイトに対する保護作用
3. 学会等名 第36回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡野優子, 井上知紗, パレリア・フリードマン, 竹下敦郎, 西濱康太, 安間太郎, ガバザ・コロナ, 戸田雅昭, ガバザ・エステバン, 矢野裕
2. 発表標題 細菌由来ペプチドcorisinがポドサイト, 尿細管上皮および血管内皮細胞の細胞死を誘導する
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井上知紗, 安間太郎, 竹下敦郎, 岡野優子, 西濱康太, ガバザコロナ, 戸田雅昭, 上村明, 鈴木俊成, 矢野裕, ガバザエステバン
2. 発表標題 TGF- β 1過剰発現マウスは糖尿病誘発により腎線維化が急速に進行する
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安間太郎, 井上知紗, 岡野優子, ガバザ・コロナ, 竹下敦郎, 西濱康太, フリドマン・パレリア, 上村明, 鈴木俊成, 戸田雅昭, 矢野裕, ガバザ・エステバン
2. 発表標題 TGF- β 1過剰発現糖尿病マウスにおけるインスリン抵抗性の検討
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹下敦郎, 井上知紗, 岡野優子, 西濱康太, 上村明, 安間太郎, 鈴木俊成, Fridman Valeria, 戸田雅昭, D'Allesandro-Gabazza Corina, 向山博幸, 高木則夫, 清水勝己, Gabazza Esteban, 矢野 裕
2. 発表標題 ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスにおける天然資源リモナイトの腸内細菌叢及び膵 細胞に対する影響の検討
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西濱康太, 安間太郎, 竹下敦郎, 岡野優子, 井上知紗, フリドマンバレリア, 戸田雅昭, ガバザコリナ, 向山博幸, 高木則夫, 矢野裕
2. 発表標題 天然資源リモナイトが高脂肪食誘発肥満マウスの腸内細菌と耐糖能に及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuko Okano, Chisa Inoue, Valeria Fridman, Asturo Takeshita, Kota Nishihama, Taro Yasuma, Corina N D'Allessandro Gabazza, Masaaki Toda, Yutaka Yano, Esteban C Gabazza
2. 発表標題 Protective effect of Recombinant Human Thrombomodulin on Streptozotocin-induced diabetes
3. 学会等名 IDF-WPR Congress 2023/15th Scientific Meeting of AASD ((国際学会))
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井上知紗, 安間太郎, 岡野優子, ガバザコリナ, 竹下敦郎, 西濱康太, フリドマンバレリア, 上村明, 鈴木俊成, 戸田雅昭, 矢野裕, ガバザエステバン
2. 発表標題 プロテインSが高脂肪食誘発性脂肪肝に及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第38回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2023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 分担 者	G a b a z z a E s t e b a n (Gabazza Esteban) (00293770)	三重大学・医学系研究科・教授 (14101)	

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		
米国	University of Illinois		