

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20914

研究課題名（和文）ROCK1/AMPK axisによる糖尿病系球体のミトコンドリアダイナミクス制御

研究課題名（英文）Mitochondrial dynamics regulation in diabetic glomeruli via ROCK1/AMPK axis

研究代表者

永井 洋介（Nagai, Yosuke）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：90912634

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病性腎臓病は我が国における透析導入原疾患の第一位であり、その原因究明と新たな治療戦略の構築が喫緊の課題となっている。我々は本研究において、低分子量GタンパクRhoのエフェクターであるROCK1が糖尿病環境下の腎系球体の脂肪酸代謝異常に関与しており、糖尿病性腎臓病の発症・進展に重要な役割を担っていることを明らかにした。今後、ROCK1を標的とした新たな治療戦略の構築が望まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者の末期腎不全への進展抑制は患者の生命予後改善のみならず、医療経済的にも重要な課題である。糖尿病性腎臓病の治療薬として降圧薬であるRAS阻害薬や、血糖降下薬であるSGLT2阻害薬の有効性が報告されているが、それらを併用しても進展を完全に止めることは出来ず、新たな治療法の開発が求められている。本研究ではROCK1が糖尿病系球体における脂肪酸代謝異常およびミトコンドリア障害の原因となっており、その阻害により糖尿病性腎臓病の発症・進展が抑制されることを明らかにした。これらの結果は糖尿病性腎臓病治療薬としてのROCK阻害薬の臨床応用や、ROCK1阻害薬の開発に繋がるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Diabetic kidney disease is the leading cause of dialysis induction in Japan. The urgent task is to identify its cause and develop new therapeutic strategies. In this study, we found that ROCK1, an effector of the small GTPase Rho, is involved in abnormal fatty acid metabolism in renal glomeruli under diabetic conditions and plays an important role in the pathogenesis and progression of diabetic kidney disease. In the future, it is hoped that new therapeutic strategies targeting ROCK1 will be developed.

研究分野：糖尿病

キーワード：糖尿病性腎臓病 Rho-kinase ROCK1 脂肪酸代謝 ミトコンドリア障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎臓病は本邦の透析導入原疾患の第一位であり、その治療法の開発が患者の生命予後や医療経済的側面からも喫緊の課題である。Rho-kinase (ROCK) は糖尿病の腎臓で活性化されており、糖尿病の病態に関わることが明らかとなっている。ROCKには ROCK1、ROCK2 の二つのアイソフォームがあるが、糖尿病性腎臓病の病態においてそれらがどのような希望分担を持つかは明らかでなかった。これまでの予備的検討で、糖尿病の糸球体における脂肪酸代謝異常に ROCK1 が関与することが明らかとなっている。

2. 研究の目的

本研究では、ROCK1 欠損マウスを用いて糖尿病モデルマウスを作成し、糖尿病性腎臓病の発症・進展過程での ROCK1 の役割を明らかにする。糖尿病性腎臓病形成における未解明の分子メカニズムを同定することで、腎不全への進展を抑制するための新たな治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

糖尿病糸球体における ROCK1 特異的な役割を、分子生物学的手法を用いて明らかにする。申請者らが保有する ROCK1 欠損マウスを用いて糖尿病モデルを作成し、組織学的解析や遺伝子発現等を評価する。また ROCK1 欠損マウスから単離した初代培養メサンギウム細胞を用いて、脂肪酸代謝関連遺伝子の解析や、ミトコンドリア呼吸の測定、RNA-seq による網羅的解析を行う。

4. 研究成果

(1) ROCK1 欠損メサンギウム細胞を用いたミトコンドリア機能解析

細胞外フラックスアナライザーを用いて、野生型および ROCK1 欠損メサンギウム細胞のミトコンドリア呼吸を解析した。野生型細胞では TGF- β 投与によりミトコンドリア呼吸が減少したが、ROCK1 欠損細胞ではその変化が抑制された。培養細胞を用いた検討により、ROCK1 欠損によるミトコンドリア機能の回復は、脂肪酸代謝関連遺伝子の発現回復を介して行われることが明らかとなった。

(2) 糖尿病モデルマウスの解析

野生型および ROCK1 欠損マウスに高脂肪食を与え、糖尿病モデルマウスを作成した。ROCK1 欠損マウスでは、野生型と比較して尿中アルブミン排泄量の減少、糸球体メサンギウム領域拡大の抑制、メサンギウム細胞におけるミトコンドリア断片化の抑制、糸球体の脂肪酸代謝関連遺伝子発現の回復が観察された。以上の結果より、生体でも ROCK1 による脂肪酸代謝異常を介したミトコンドリア機能障害が糖尿病性腎臓病を悪化させることが確認された。

(3) RNA-seq による網羅的解析

野生型および ROCK1 欠損マウスより単離したメサンギウム細胞を用いて、RNA-seq による網羅的解析を行った。ROCK1 の欠損により多くの遺伝子発現が変化したが、最も統計的に有意に変化したのはエネルギー代謝に関わる遺伝子群であり、エネルギー代謝制御はメサンギウム細胞における ROCK1 の主要な機能である可能性が示唆された。

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 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matoba Keiichiro, Takeda Yusuke, Nagai Yosuke, Sekiguchi Kensuke, Ukichi Rikako, Takahashi Hiroshi, Aizawa Daisuke, Ikegami Masahiro, Tachibana Toshiaki, Kawanami Daiji, Kanazawa Yasushi, Yokota Tamotsu, Utsunomiya Kazunori, Nishimura Rimei	4. 巻 5
2. 論文標題 ROCK2-induced metabolic rewiring in diabetic podocytopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 341
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-022-03300-4	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 Nagai Yosuke, Matoba Keiichiro, Takeda Yusuke, Yako Hideji, Akamine Tomoyo, Sekiguchi Kensuke, Kanazawa Yasushi, Yokota Tamotsu, Sango Kazunori, Kawanami Daiji, Utsunomiya Kazunori, Nishimura Rimei	4. 巻 102
2. 論文標題 Rho-associated, coiled-coil?containing protein kinase 1 regulates development of diabetic kidney disease via modulation of fatty acid metabolism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 536 ~ 545
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2022.04.021	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 Nagai Yosuke, Matoba Keiichiro, Yako Hideji, Ohashi Shinji, Sekiguchi Kensuke, Mitsuyoshi Etsuko, Sango Kazunori, Kawanami Daiji, Utsunomiya Kazunori, Nishimura Rimei	4. 巻 649
2. 論文標題 Rho-kinase inhibitor restores glomerular fatty acid metabolism in diabetic kidney disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 32 ~ 38
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.01.088	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8件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 永井 洋介、的場 圭一郎、竹田 裕介、八子 英司、関口 賢介、赤嶺 友代、横田 太持、三五 一憲、川浪 大治、宇都宮 一典、西村 理明
2. 発表標題 ROCK1/AMPK axisによる脂肪酸の利用障害を介した糖尿病腎症進展機構
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 Yosuke Nagai, Keiichiro Matoba, Kensuke Sekiguchi, Rikako Ukichi, Yusuke Takeda, Tomoyo Akamine, Yasushi Kanzawa, Kazunori Utsunomiya, Rimei Nishimura
2. 発表標題 ROCK1/AMPK axis regulates the development of diabetic kidney disease via modulation of fatty acid metabolism
3. 学会等名 81st Scientific Sessions, American Diabetes Association (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永井 洋介、的場 圭一郎、関口 賢介、浮地 里佳子、竹田 裕介、赤嶺 友代、金澤 康、横田 太持、川浪 大治、宇都宮 一典、西村 理明
2. 発表標題 ROCK1/AMPK axisを介した脂肪酸の利用障害による糖尿病性腎臓病進展機構
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 竹田 裕介、的場 圭一郎、浮地 里佳子、関口 賢介、永井 洋介、赤嶺 友代、金澤 康、横田 太持、宇都宮 一典、西村 理明
2. 発表標題 血管内皮ROCK2は白色脂肪細胞の褐色化抑制を介して糖・脂質代謝を制御する
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 永井 洋介、的場 圭一郎、八子 英司、関口 賢介、浮地 里佳子、竹田 裕介、赤嶺 友代、金澤 康、横田 太持、三五 一憲、川浪 大治、宇都宮 一典、西村 理明
2. 発表標題 ROCK1による腎系球体脂質エネルギー代謝機構
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 Yosuke Nagai, Keiichiro Matoba, Kensuke Sekiguchi, Rikako Ukichi, Yusuke Takeda, Tomoyo Akamine, Yasushi Kanzawa, Kazunori Utsunomiya, Rimei Nishimura
2. 発表標題 ROCK1 regulation of AMPK in the development of diabetic nephropathy
3. 学会等名 82nd Scientific Sessions, American Diabetes Association (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永井 洋介, 的場 圭一郎, 関口 賢介, 竹田 裕介, 赤嶺 友代, 金澤 康, 横田 太持, 八子 英司, 三五 一憲, 川浪 大治, 宇都宮 一典, 西村 理明
2. 発表標題 ROCK1の遺伝的欠損および薬理的阻害は腎系球体の脂質エネルギー代謝機構を改善させる
3. 学会等名 第37回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 関口 賢介, 的場 圭一郎, 大橋 慎史, 光吉 悦子, 浮地 里佳子, 永井 洋介, 竹田 裕介, 赤嶺 友代, 金澤 康, 横田 太持, 宇都宮 一典, 西村 理明
2. 発表標題 腎尿管ROCK2の慢性腎臓病進展における病態的意義
3. 学会等名 第37回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2022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
---------	---------