

令和元年6月18日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19198

研究課題名(和文) 糖尿病性腎症における尿中ポドサイトmRNAの早期診断マーカーとしての有用性の検討

研究課題名(英文) Urinary podocyte mRNA is an early diagnostic biomarker in diabetic nephropathy

研究代表者

福田 顕弘 (Fukuda, Akihiro)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：30628889

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病性腎症モデルラットでは微量アルブミン尿よりも早期に、また血糖上昇以前に尿中ポドサイトmRNA排泄量が増加した。さらに早期の時点でGrowth factorやmTORC1活性化による糸球体肥大がポドサイト障害を引き起こし、アルブミン尿の出現、ポドサイトの脱落、糸球体硬化に繋がり腎症が進展し、カロリー制限により進展を抑制できることを明らかとし論文投稿中である。

臨床症例でも尿中ポドサイトmRNA排泄量は糖尿病性腎症の早期診断マーカーとして、また糖尿病性腎症進展のリスク予測因子であることを明らかとした。同内容については現在論文投稿準備中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎症において尿中ポドサイトmRNA排泄量が微量アルブミン尿よりも精度の高い早期の診断マーカーとなる可能性が示唆される。また、尿中ポドサイトmRNA排泄量が糖尿病性腎症の進行を予測できる有用なバイオマーカーとしても使用できる可能性もある。

尿中ポドサイトmRNA排泄量は、患者の尿から回収した細胞のRNAを抽出し、すでに開発している定量的PCR(RT-PCR)を用いて測定できることから、患者への侵襲性がほとんどなく、迅速かつ簡便に早期糖尿病腎症の診断や病勢の経過を判断する上で、優れたバイオマーカーとなることが期待される。

研究成果の概要(英文)： In a leptin-deficient hyperphagic rat model that develops obesity and type 2 diabetes-associated nephropathy accelerated glomerular growth and podocyte hypertrophic stress precede onset of either overt hyperglycemia or albuminuria. Progression risk can be identified and monitored non-invasively by urinary podocyte mRNA markers prior to onset of hyperglycemia or proteinuria. The progression process can be “frozen in place” by reducing food intake while hyperglycemia persists.

Urinary excretion of podocyte mRNA begins to increase much faster than albuminuria in diabetes patients, and could be an early diagnostic and risk prediction biomarker for progression of diabetic nephropathy.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：ポドサイト 糖尿病性腎症 尿中バイオマーカー

## 1. 研究開始当初の背景

新規血液透析導入患者の数は増え続けており、患者の生活の質（QOL）維持や医療経済上も深刻な問題となっている。糖尿病性腎症は、新規透析導入患者のみならず、累積血液透析患者数でも第1位となり、糖尿病性腎症をコントロールすることは透析導入患者を減らす上で喫緊の課題である。そのためにも、糖尿病性腎症を早期発見することは極めて重要である。現在、糖尿病性腎症の早期診断法として日常診療で用いられている微量アルブミン尿の測定は、結果が陰性であっても、糸球体傷害が進行している症例が存在する一方で、微量アルブミン尿が陽性であっても組織は正常と変わらない症例が多数存在することが知られており、微量アルブミン尿より精度の高い早期診断法の開発が求められている。

糖尿病性腎症を含む多くの糸球体疾患は、糸球体硬化の進行の結果として末期腎不全に至ると考えられているが、近年では、様々な原因によって引き起こされるポドサイト傷害の持続に伴うポドサイトの脱落が糸球体硬化の主因と考えられてきている（Podocyte depletion 仮説）。申請者らは、これまでポドサイトを特異的に傷害できる遺伝子改変ラットを用いて、この仮説が成立することを報告してきた（Fukuda A et al. *Kidney Int* 2012）。また、ポドサイトは糸球体の基底膜の上皮側に存在し、ポドサイトが傷害され脱落すると尿中に検出されるため、ポドサイト関連分子の尿中バイオマーカーとしての有用性が示唆される。申請者らは上記ラットモデルにおいて、ポドサイト特異的 mRNA の尿沈渣中排泄量が糸球体疾患のバイオマーカーとして有用であることも同時に報告した。また、ヒト IgA 腎症症例においても尿中ポドサイト mRNA 排泄量が ongoing な病勢を反映することを報告した（Fukuda A et al. *Nephrol Dial Transplant* 2015）。糖尿病性腎症では糸球体肥大が認められるが、アルブミン尿を伴わないことも多く、必ずしも微量アルブミン尿が糖尿病性腎症の早期診断に有用であるとはいえない。申請者らの行った予備実験では、糖尿病性腎症モデルにおいて糸球体肥大はアルブミン尿出現前より存在し、尿中ポドサイト mRNA 排泄量はその時期にすでに増加し始めていることを確認した。このことから尿中ポドサイト mRNA 排泄量がアルブミン尿より早期の診断マーカーとして有用となる可能性が示唆される。本研究により、尿中ポドサイト mRNA 排泄量が、動物モデルのみならず糖尿病性腎症患者において早期診断マーカーとしても有用となることが証明できれば、糖尿病患者の QOL の維持や医療費削減に大きく貢献すると期待される。

## 2. 研究の目的

糖尿病性腎症モデルラットおよび、病期分類ごとの糖尿病臨床症例を用いて、尿中ポドサイト mRNA 排泄量が微量アルブミン尿より精度の高い糖尿病性腎症の早期診断マーカーとして有用であることを検証し、臨床応用を目指す。

## 3. 研究の方法

糖尿病性腎症において微量アルブミン尿より精度が高く早期診断可能な新たな尿中バイオマーカーとして、尿中ポドサイト mRNA 排泄量が有用であること、さらに病勢をも反映するバイオマーカーとしての有用性をも明らかにするため以下の計画に従い研究を行う。

- A. 糖尿病性腎症モデルラット（Zucker diabetic fatty(Lep<sup>rfa</sup>/Lep<sup>rfa</sup>)ラット）を使用し、早期診断マーカーとしての有用性を、微量アルブミン尿定量値との比較を行い検討する。また、疾患群・治療群・コントロール群の3群に分け、病理組織学的ポドサイト傷害の程度と尿中ポドサイト mRNA 排泄量の相関性を検討し、病勢を反映するバイオマーカーとしての有用性についても検討する。
- B. 各病期ごとの糖尿病臨床症例を使用し、早期診断マーカーとしての有用性を微量ア

ルブミン尿定量値との比較を行い検討する。また経時的評価により病勢を反映するバイオマーカーとしての有用性についても検討する。

#### 4. 研究成果

糖尿病性腎症モデルラットでは微量アルブミン尿よりも早期に、また血糖上昇以前に尿中ポドサイト mRNA 排泄量が増加した。さらに早期の時点で Growth factor や mTORC1 活性化による糸球体肥大がポドサイト障害を引き起こし、アルブミン尿の出現、ポドサイトの脱落、糸球体硬化に繋がり腎症が進展し、カロリー制限により進展を抑制できることを明らかとし論文投稿中である。

また、臨床症例でも尿中ポドサイト mRNA 排泄量は糖尿病性腎症の早期診断マーカーとして、また糖尿病性腎症進展のリスク予測因子であることを明らかとした。同内容については現在論文投稿準備中である。

#### 5. 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 第 59 回日本腎臓学会学術総会 (in Yokohama) 2016 年

福田 顕弘、佐藤 祐二、北村 和雄、藤元 昭一

糖尿病性腎症は糸球体とポドサイトの容積ミスマッチにより進展する

2. The American Society of Nephrology 49th Annual Meeting, (in Chicago, USA) 2016年

Akihiro Fukuda, Akihiro Minakawa, Yuji Sato, Kazuo Kitamura, Shouichi Fujimoto

Urinary excretion of podocyte mRNA is an early diagnostic biomarker in diabetic nephropathy

3. 第 60 回日本腎臓学会学術総会 (in Sendai) 2017 年

福田 顕弘、皆川 明大、佐藤 祐二、北村 和雄、藤元 昭一

糖尿病性腎症の早期診断マーカーとしての尿中ポドサイト mRNA 排泄量の検討

4. The American Society of Nephrology 50th Annual Meeting, (in New Orleans, USA) 2017年

Akihiro Minakawa, Akihiro Fukuda, Masao Kikuchi, Yuji Sato, Shouichi Fujimoto

Calorie Intake Reduction May Prevent Progression of Diabetic Nephropathy by Suppressing Podocyte Hypertrophic Injury via mTORC1 Pathway Activation

5. 第 61 回日本腎臓学会学術総会 (in Nigata) 2018 年

皆川 明大、福田 顕弘、菊池 正雄、佐藤 祐二、藤元 昭一

カロリー制限による糖尿病性腎症改善機序 -糸球体・ポドサイト容積ミスマッチ、mTORC1抑制を介して-

6. The American Society of Nephrology 51th Annual Meeting, (in San Diego, USA) 2018年

Akihiro Fukuda, Yuji Sato, Akihiro Minakawa, Masao Kikuchi, Shouichi Fujimoto

Urinary excretion of podocyte mRNA as a risk prediction biomarker for progression of diabetic nephropathy: 2-year follow-up study

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

○取得状況（計 0件）

## 6. 研究組織

### (1) 研究協力者

藤元 昭一（FUJIMOTO, Shouchi）

宮崎大学医学部 血液血管先端医療学講座・教授

研究者番号：80173467

佐藤 祐二（SATO, Yuji）

宮崎大学附属病院 血液浄化療法部・准教授

研究者番号：90381061