

令和 3 年 4 月 23 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08241

研究課題名(和文) ケトン体代謝に着目した糖尿病性腎症の病態解明ならびに新規治療戦略の探索

研究課題名(英文) Role of Ketone body metabolism in diabetic kidney disease

研究代表者

久米 真司 (Kume, Shinji)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：00452235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ケトン体は、糖尿病で生じる重篤な急性合併症の一つケトアシドーシスの原因となることから、健康に対するネガティブな印象が持たれてきましたが、本研究により、ケトン体が糖尿病により障害される腎臓での組織修復もたらす健康に有益な効果があることが証明されました。昨今の臨床試験から、糖尿病治療薬 SGLT2阻害薬による強力な臓器保護効果が示されており、そのメカニズムの解明が待たれていました。本研究では、ケトン体はそのメカニズムの一端を担っていることをも証明しました。今後、より有効かつ安全なケトン体供給方法の探索により、ケトン体代謝を標的とした糖尿病性腎臓病治療法の開発が進むことが期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎臓病は我が国の透析導入原疾患一位の疾患であり、新たな治療法の開発が望まれている。本研究により、これまで、糖尿病急性合併症ケトアシドーシスの原因物質としてネガティブなイメージが根付いていたケトン体に、糖尿病による臓器障害を予防しうる秘めたる力が存在するという、糖尿病におけるケトン体の位置づけにパラダイムシフトを起こす結果が導き出された。そしてその効果が、近年類を見ない腎予後改善効果を発揮している新規糖尿病治療薬 SGLT2阻害薬の腎臓保護効果の一端を担っていることも明らかとなった。今回明らかとされたケトン体の持つ臓器保護効果に、今後の糖尿病性腎臓病克服への期待がもたれる。

研究成果の概要(英文)：SGLT2 inhibitors, an important class of anti-diabetes drugs, have been found to offer potent protection from kidney disease, a critical comorbidity of diabetes. But how they offer such protection has not been clear. The present study showed that SGLT2 inhibitors promote the elevation of ketone bodies by enhancing ketogenesis. The ketone bodies, in turn, were shown to act on kidney cells where they inhibit the excess activation of an important energy-sensing intracellular pathway, allowing better function of the organ. Such an effect could be replicated by exogenous supplementation with ketone bodies, even in non-diabetic mouse models of kidney disease. Thus, these findings have broad implications for the potential treatment of kidney pathologies.

研究分野：糖尿病性腎臓病

キーワード：糖尿病性腎臓病 ケトン体 mTORC1

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎症(腎症)は我が国の透析導入原疾患第1位であり、腎症予後の改善は急務な研究課題である。腎症はアルブミン尿の出現に始まり、その後の尿細管障害の進展と共に腎機能が低下する進行性の疾患とされてきた。しかし、近年の臨床研究で、厳格な血糖・血圧管理により、一部の症例では、アルブミン尿が改善・寛解することが報告されている。このような治療の有効性が示される一方で、治療の強化にも関わらず、①高度のアルブミン尿を呈し、急速に腎不全に至る症例(Rapid decliner)②正常あるいは早期アルブミン尿期から腎機能が低下する症例(Early decliner)が存在することが明らかにされるなど、腎症の病態の多様化という新たな課題が生じており、これら難治性腎症に対する病態の解明、治療法の開発が強く望まれている。

近年、尿中ブドウ糖排泄を増加させる SGLT2 阻害薬が新規糖尿病薬として臨床応用されるようになり、アルブミン尿の有無や排泄量の程度に関わらず、本薬剤投与により腎症患者の腎機能低下速度が改善すること、その効果は他の血糖降下治療に比し極めて優れていることが報告された。この結果は、SGLT2 阻害薬が Rapid decliner や Early decliner といった前述の難治性腎症に対しても有効であり、他の薬剤にはない独自の腎保護作用を有する可能性を示唆しており、今後の腎症治療に大きな期待が寄せられている。しかし本薬剤には、脱水、尿路感染、下肢切断などの副作用も報告されている。そこで、SGLT2 阻害薬の腎保護機構を探り、その有効性だけを残した新規治療法の開発を行うことが、今後のより良い腎症治療につながると考えられる。

全ての哺乳類細胞は、ブドウ糖、脂肪酸、ケトン体のいずれかを源に ATP を産生し、その生命活動を維持している。その利用度は、摂食状態や臓器種に依存し、巧妙に制御されているが、これら3つの栄養素の血中濃度は、共通して、血中インスリンの増加により急速に減少する。よって、糖尿病患者における強化療法中の過度なインスリン作用は、3栄養素全ての血中濃度を著しく低下させ、重症低血糖の増加、生命予後の悪化をもたらす。興味深い事に、SGLT2 阻害薬はインスリン治療とは逆に、軽度のケトン体濃度上昇をもたらすとされ、これまでの糖尿病治療薬にはないエネルギー代謝への影響があり、この血糖降下に加えたケトン体上昇が臓器保護につながったとも推察されている。これまでに、脳や心臓においては、ケトン体利用の亢進が、てんかん治療や心不全治療となる可能性が示されているが、腎臓におけるケトン体利用の亢進による細胞内エネルギー代謝の改善が、腎症治療に繋がるかは未だ不明であり、その解明はより有効な難治性腎症治療の開発につながることが期待される。

## 2. 研究の目的

本研究では、組織特異的な遺伝子改変マウスの使用を含む動物実験を用い、腎臓におけるケトン体利用促進によるエネルギー代謝の改善が、難治性腎症の新規腎症治療標的となり得るかを検証する。本研究では具体的に以下のことを検討した。

- ①血中ケトン体の維持が腎症モデルマウスの腎障害に及ぼす影響。
- ②SGLT2 阻害薬の腎保護効果におけるケトン体濃度上昇の役割の解明。
- ③ケトン体による腎保護効果の分子機構。

## 3. 研究の方法

①血中ケトン体の維持が腎症モデルマウスの腎障害に及ぼす影響。

1,3ブタンジオールはマウスに経口投与可能であり、吸収後に肝臓でインスリン非制御下にケトン体( $\beta$ -OHB)に変換される。マウスに対する1,3ブタンジオール含有食により、ケトアシドーシスにならない程度(1.5mmol/L前後)の血中ケトン体濃度の維持が可能である。1,3ブタンジオール食による持続的なケトン体濃度の上昇が腎症改善効果を示すかを検証した。

②SGLT2 阻害薬の腎保護効果におけるケトン体濃度上昇の役割の解明。

HMGCS2-Mutant マウスを用い、ケトン体産生低下が腎症に及ぼす影響を検討した。腎症モデルマウスに対する SGLT2 阻害薬の腎保護効果を確認したのち、その効果が HMGCS2-Mutant マウスで消失するか否かを確認した。

③ケトン体による腎保護効果の分子機構。

ケトン体による腎保護効果を細胞内栄養シグナルに着目し検討を行なった。特に mTORC1 シグナルとの関連を検討した。

#### 4. 研究成果

##### 1) 糖尿病性腎臓病の腎臓は ATP 産生にケトン体を必要としている。

腎臓を構成する細胞の一つ近位尿細管細胞は、元来、ATP 産生に脂肪酸を利用するとされてきましたが、今回の研究で、糖尿病性腎臓病モデルマウスの近位尿細管細胞では脂肪酸由来の ATP 産生が障害される一方で、ケトン体由来の ATP 産生が増強するという結果が得られ、障害された腎臓では ATP 産生が脂肪酸依存からケトン体依存に変化することが明らかとなった (図 1)。

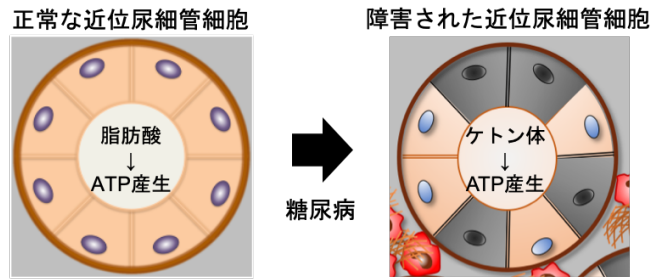


図1. 正常の腎近位尿細管細胞でのATP産生は脂肪酸代謝に依存しているが、糖尿病で障害された腎臓ではケトン体代謝に依存するようになり、エネルギー代謝シフトが生じる。

##### 2) 1,3-ブタンジオールはマウス糖尿病性腎臓病を改善させる。

糖尿病性腎臓病モデルマウスにケトン体前駆物質である 1,3-ブタンジオールを投与することで、腎内 ATP 産生の回復、腎障害の改善が確認された (図 2)。これらの結果から、ATP 産生源としてケトン体を要求する障害腎に対し、ケトン体を供給することが、まさに腎臓病の改善につながる可能性が示された。

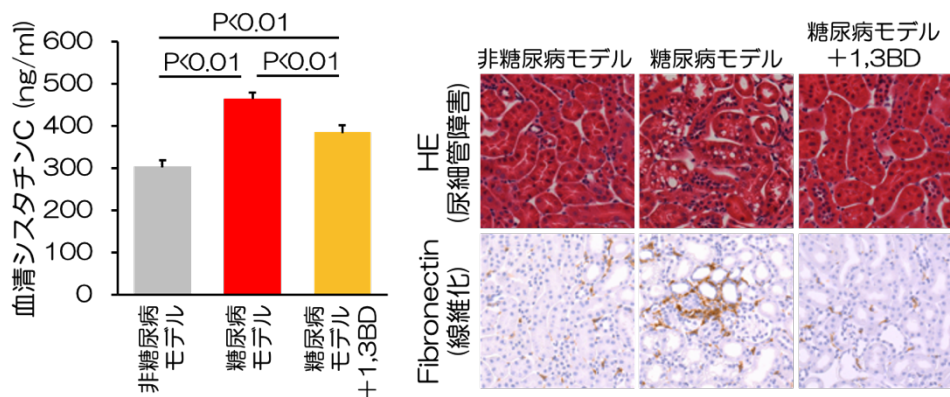


図2. 糖尿病モデルで上昇した腎機能低下を示す血清シスタチンCの上昇 (左) や組織障害 (右) はケトン体前駆物質 (1,3ブタンジオール: 1,3-BD) の投与により改善する。

##### 3) ケトン体の産生障害により SGLT2 阻害薬による腎臓保護効果は打ち消される。

SGLT2 阻害薬の腎臓保護作用にケトン体が関与するか否かを検証するために、内因性ケトン産生に必要な酵素 Hmgcs2 を欠損させた糖尿病性腎臓病モデルマウスを作製し、SGLT2 阻害薬 (エンパグリフロジン) の効果を検証したところ、同マウスにおいては、SGLT2 阻害薬の腎臓保護効果が消失した (図 3)。これにより、SGLT2 阻害薬の腎臓保護効果に内因性のケトン体産生が不可欠であることが証明された。

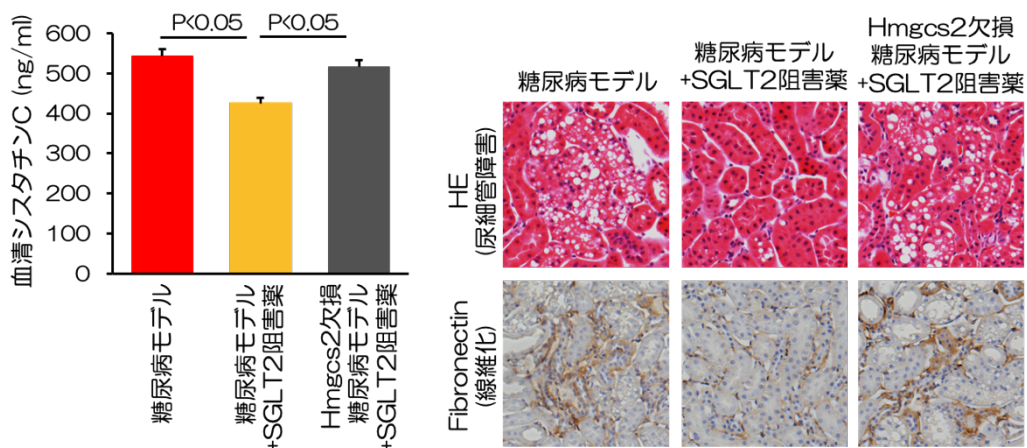


図3. 糖尿病モデルで上昇した腎機能低下を示す血清シスタチンCの上昇 (左) や組織障害 (右) はSGLT2阻害薬により改善するが、その効果はケトン産生ができなくなったHmgcs2欠損マウスにおいて消失する。

4) 栄養感知シグナル mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1)の抑制がケトン体による腎臓保護機構の標的である。

細胞には細胞外の栄養状況の変化を感知し、細胞の機能変化をもたらすシステムが備わっており、過栄養、低栄養に応じて細胞生命活動を維持できるようになっています。その栄養感知シグナルの一つにmTORC1という過栄養を感知するシグナルが存在している。このmTORC1が糖尿病性腎臓病の腎臓においては異常活性化しており、この異常活性化が、尿細管細胞障害、糸球体障害を引き起こしていることがわかっている。今回の研究では、腎臓特異的にmTORC1シグナルが過剰亢進するマウスモデルに対し、1,3-ブタンジオールを投与することで同モデルマウスの腎障害が有意に改善する結果が得られた。この結果から、ケトン体は絶食シグナルとしてmTORC1シグナルを抑制し、糖尿病性腎臓病に対する腎臓保護をもたらすことが明らかとなった。(図4)。

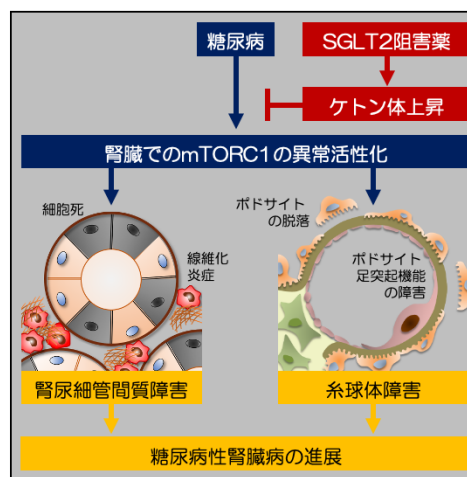


図4 糖尿病状態では腎臓の栄養シグナルmTORC1の異常活性化が生じ、腎尿細管間質障害、糸球体障害が惹起される。SGLT2阻害薬によるケトン体上昇により、腎臓でのmTORC1異常活性化が抑制され、糖尿病性腎臓病の進展が抑制される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasuda-Yamahara M, Kume S, Maegawa H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Roles of mTOR in Diabetic Kidney Disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Antioxidants (Basel).	6. 最初と最後の頁 321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antiox10020321.	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 Tomita I, Kume S, Sugahara S, Osawa N, Yamahara K, Yasuda-Yamahara M, Takeda N, Chin-Kanasaki M, Kaneko T, Mayoux E, Mark M, Yanagita M, Ogita H, Araki SI, Maegawa H.	4. 巻 32
2. 論文標題 SGLT2 Inhibition Mediates Protection from Diabetic Kidney Disease by Promoting Ketone Body-Induced mTORC1 Inhibition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Metabolism	6. 最初と最後の頁 404-419
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cmet.2020.06.020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kume S, Maegawa H.	4. 巻 15
2. 論文標題 Lipotoxicity, Nutrient-Sensing Signals, and Autophagy in Diabetic Nephropathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JMA Journal	6. 最初と最後の頁 87-94
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.31662/jmaj.2020-0005.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 10件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shinji Kume
2. 発表標題 Renal Energy Metabolism, an Emerging Therapeutic Target to Combat Diabetic Kidney Disease
3. 学会等名 The 18th Asian Pacific Congress of Nephrology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 肥満と腎臓病 病態へのアプローチ
3. 学会等名 第41回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 ケトン体代謝から見たSGLT2阻害薬の臓器保護効果
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 腎臓が制御する健康寿命のメカニズム
3. 学会等名 第54回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 糖尿病性腎臓病と栄養応答シグナル変異
3. 学会等名 第35回日本糖尿病合併症学（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 Ketone body metabolism in DKD and SGLT2 inhibitor-mediated organ protection
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 Potential mechanisms behind SGLT2 inhibitor-mediated renoprotection
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 糖尿病性腎臓病(DKD)発症機構における細胞内栄養シグナルの役割
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 SGLT2阻害薬による腎保護機構
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会西部学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久米真司
2. 発表標題 カロリー制限と抗老化作用ーケトン体の役割も含めてー
3. 学会等名 第34回日本糖尿病・肥満動物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富田 一聖, 久米 真司, 武田 尚子, 大澤 紀之, 金崎 雅美, Eric Mayoux, 金子 達朗, 荒木 信一, 前川 聡
2. 発表標題 SGLT2阻害薬の腎保護効果におけるケトン体代謝の役割 高脂肪食負荷ApoE欠損マウスを用いた検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富田 一聖, 久米 真司, 菅原 翔, 山原 康佑, 山原 真子, 武田 尚子, 大澤 紀之, 金崎 雅美, Pieper Michael, 金子 達朗, 柳田 素子, 荒木 信一, 前川 聡
2. 発表標題 SGLT2阻害薬の腎保護効果におけるケトン体の役割の解明 高脂肪食負荷ApoE欠損マウスを用いた検討
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Issei Tomita, Shinji Kume, Kosuke Yamahara, Mako Yasuda-Yamahara, Naoko Takeda, Norihisa Osawa, Masami Chin-Kanasaki, Tatsuroh Kaneko, Michael Pieper, Shin-ichi Araki, Hiroshi Maegawa
2. 発表標題 Role of ketone body metabolism in SGLT2 inhibitor-mediated renoprotection in high fat diet-fed ApoE-knockout mice
3. 学会等名 56th ERA-EDTA Congress
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Shinji Kume, Issei Tomita, Kosuke Yamahara, Mako Yasuda-Yamahara, Naoko Takeda, Norihisa Osawa, Masami Chin-Kanasaki, Tatsuroh Kaneko, Michael Pieper, Shin-ichi Araki, Hiroshi Maegawa
2. 発表標題 Potential role for ketone body metabolism in an SGLT2 inhibitor-mediated anti-albuminuric effect in type 2 diabetic db/db mice
3. 学会等名 56th ERA-EDTA Congress
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富田 一聖, 久米 真司, 武田 尚子, 大澤 紀之, 金崎 雅美, Eric Mayoux, 金子 達朗, 荒木 信一, 前川 聡
2. 発表標題 経口ケトン体前駆物質投与は高脂肪食負荷肥満ApoE欠損マウスの腎障害を改善する
3. 学会等名 経口ケトン体前駆物質投与は高脂肪食負荷肥満ApoE欠損マウスの腎障害を改善する
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomita I, Kume S, Osawa N, Yamahara K, Yamahara M, Takeda N, Kanasaki M, Mayoux E, Kaneko T, Araki S, Maegawa H.
2. 発表標題 Possible Role of Ketone Body Metabolism in SGLT2 Inhibitor-Mediated Renoprotection in High Fat Diet-Fed ApoE-Knockout Mice
3. 学会等名 Kidney Week 2018 (American Society of Nephrology) (国際学会)
4. 発表年 2018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
---------	---------