

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08715

研究課題名(和文) 糖尿病性腎症の代謝変容の解明とその改善を基軸とした発症・進展予防

研究課題名(英文) Elucidation of the role of tryptophan metabolism in diabetic nephropathy:  
Towards a development of novel treatment of diabetic nephropathy targeting  
tryptophan metabolism

研究代表者

湯澤 由紀夫 (Yuzawa, Yukio)

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：00191479

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、糖尿病性腎症の臓器連関を全体として捉えるアプローチとして網羅的メタボローム解析を行い、多臓器連関を持つトリプトファン(TRP)代謝経路が糖尿病性腎症の発症進展に関わることを見出し、2型糖尿病におけるTRP代謝変容の腎症における役割の解明とTRP代謝物のバイオマーカー応用、新規治療法の開発を試みた。2型糖尿病モデル動物(SDT fatty rat)を用いた検討により、代謝物のキノリン酸によるNMDA受容体を介した尿細管障害が糖尿病性腎症の悪化に関連することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により初めてトリプトファン代謝物が腎症悪化に関連することが示唆され、新規治療標的となることが明らかとなった。キノリン酸はNMDA受容体を介した神経細胞毒性が知られているが、尿細管細胞にはキノリン酸単独の障害性は低いことがわかった。またNMDA受容体拮抗薬による進行腎症に対する抑制効果は認めなかった。今後キノリン酸による尿細管障害への影響の解明や上皮細胞への影響を検討することにより、糖尿病性腎症の新規治療の開発が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We have recently demonstrated that the tryptophan (TRP) metabolites were involved in the development of diabetic nephropathy based on metabolome analysis. Thus, we aimed to elucidate the role of TRP metabolism in diabetic nephropathy, to apply TRP metabolites as biomarkers, and to develop novel target of treatment of diabetic nephropathy through animal model. We found that NMDA receptor-mediated tubular damage caused by the metabolite quinolinic acid is associated with worsening of diabetic nephropathy.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：糖尿病性腎症 糖尿病性腎臓病 トリプトファン代謝物 メタボローム解析

## 1. 研究開始当初の背景

我が国の血液透析患者数は32万人を超え、透析に至った原因疾患は糖尿病が43.7%(平成27年度)と最多である。透析医療の年間医療費は約1.8兆円にのぼり、糖尿病性腎症の早期診断、予防、治療戦略の構築は喫緊の課題である。糖尿病性腎症の病理学的変化は糖尿病初期から認められ、この初期変化の抑制が腎症の進展予防につながるため、食事・生活習慣の継続した改善が重要であるが、糖尿病性腎症の予防にむけた食事や運動の質を評価する指標はない。すなわち、漠然としたカロリー制限や運動ではなく何をターゲットにして糖尿病性腎症を予防するか。この問いを科学的に明らかとすることで、効率的な腎症予防と患者QOLの上昇、ひいては透析患者の減少につながる。

近年、2型糖尿病では体内のエネルギー代謝に関する臓器間ネットワークの異常が生じており、その合併症は、代謝変容、臓器由来の液性因子の増加、慢性炎症の継続により進展することが明らかとなってきた。我々は、糖尿病性腎症の臓器連関を全体として捉えるアプローチとして網羅的メタボローム解析を行い、多臓器連関を持つトリプトファン(TRP)代謝経路が糖尿病性腎症の発症進展に関わることを見出した。

必須アミノ酸の一つであるTRPは腸から吸収され、腸内細菌叢の影響を受ける。TRP代謝物は体内の重要な生理活性物質であり、生理反応や様々な病態により局所のTRP代謝酵素が誘導され、その代謝物が他臓器に影響する臓器連関をおこす。そのため精神疾患や糖尿病をはじめ多くの疾患と関連し、治療ターゲットとして近年注目されている。しかし、糖尿病性腎症発症・進展への役割は未だ明らかでない。TRPは主にキヌレニン(KYN)経路で代謝され、律速酵素であるIndoleamine 2,3-Dioxygenase 1(IDO1)は炎症性サイトカインやストレス、ホルモンにより誘導される。疾患によりこのTRP・KYN代謝物バランスが変容し、その代謝物の測定により病態予測が可能となり、病態解明さらには新しい治療ターゲットの同定につながると考えた。

## 2. 研究の目的

我々は、少数例ではあるが組織診断された糖尿病性腎症(n=23)の血中TRP代謝物プロファイリングを行い、代謝物群の変容(TRPは減少しKYN代謝物の増加)をすでに確認した。また、一部の代謝物の変動は蛋白尿、腎病理所見の間質細胞浸潤、全節性硬化と相関した。

本研究の目的は、メタボローム解析から同定された腎症関連代謝経路であるTRP・KYN経路から腎症発症・進展に関する臓器連関を解明し、新たな診断法の開発、治療法の確立につなげることである。

## 3. 研究の方法

### 【研究項目1: 腎症関連代謝経路と臓器連関を解明するモデル動物の作成】

肥満2型糖尿病ラットモデル(SDT Fatty rat)による糖尿病性腎症の作成  
TRP代謝酵素の発現、TRP代謝物の組織分布(イメージング質量分析)、既存マーカーとの関連を検討した。

### 【研究項目2: TRP代謝物の細胞障害性の評価】

研究項目1の結果から腎症発症・進展に関与が疑われた代謝物の細胞への直接の障害性を評価した。

### 【研究項目3: NMDA受容体拮抗薬による糖尿病性腎症治療】

研究項目1の結果から腎症発症・進展に関与が疑われた代謝物はNMDA受容体を介し腎障害を惹起すると考えられた。研究項目1の動物モデルを用いてNMDA受容体拮抗薬による糖尿病性腎症治療効果について検討した。

#### 4. 研究成果

SDT Fatty rat に片腎摘 + 食塩負荷による腎症の経時的進展として、15 週齢で糸球体肥大、20 週齢で一部糸球体硬化・結節性病変、尿細管間質細胞浸潤、25 週齢で糸球体硬化、広範な尿細管間質細胞浸潤、萎縮、線維化を認めること確認した。このモデル動物を用いて、腎症進行に伴う血液・尿・腎組織中の TRP 代謝物の変化を観察したところ、ヒト同様に TRP 代謝変容を認めた。さらに一部代謝物は腎症進展に従い増加を認めた。さらにイメージング質量分析にて、腎症の進展したラットでは腎皮質にキノリン酸の集積を認めることが明らかとなった。

キノリン酸は神経毒性の知られたトリプトファン代謝物であり、神経細胞では NMDA 受容体を介した細胞障害を生じる。NMDA 受容体拮抗薬は既に神経疾患において臨床応用されており、糖尿病性腎症における治療効果を確認することとした。上記の糖尿病性腎症モデル動物に対して NMDA 受容体拮抗薬を用いて薬物投与実験を行ったが、SDT fatty rat に片腎摘 + 塩分負荷を行った糖尿病性腎臓病モデルでは腎障害が高度に進み、陽性コントロールとして使用した SGLT2 阻害薬にても腎障害を抑えることはできなかった。また、NMDA 受容体の尿細管毒性を 3 次元培養尿細管細胞を用いて評価したが、多量のキノリン酸添加にても明らかな尿細管障害は生じず、尿細管には NMDA 受容体を介した尿細管毒性に対して抵抗する機構が存在することが示唆された。

本研究により初めてトリプトファン代謝物が腎症悪化に関連することが示唆され、新規治療標的となることが明らかとなった。キノリン酸は NMDA 受容体を介した神経細胞毒性が知られているが、尿細管細胞にはキノリン酸単独の障害性は低いことがわかった。また NMDA 受容体拮抗薬による進行腎症に対する抑制効果は認めなかった。今後キノリン酸による尿細管障害への影響の解明や上皮細胞への影響を検討することにより、糖尿病性腎症の新規治療の開発が期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Yamanouchi Masayuki, Furuichi Kengo, Shimizu Miho, Yuzawa Yukio, Makino Hirofumi, Matsuo Seiichi, Ubara Yoshifumi, Wada Takashi, et al	4. 巻 37
2. 論文標題 Serum hemoglobin concentration and risk of renal function decline in early stages of diabetic kidney disease: a nationwide, biopsy-based cohort study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nephrology Dialysis Transplantation	6. 最初と最後の頁 489 ~ 497
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ndt/gfab185	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 Kidoguchi Satoshi, Kitada Kento, Nakajima Kazuki, Nakano Daisuke, Ohsaki Hiroyuki, Kittikusuth Wararat, Kobara Hideki, Masaki Tsutomu, Yokoo Takashi, Takahashi Kazuo, Titze Jens, Nishiyama Akira	4. 巻 289
2. 論文標題 Hepatocellular carcinoma induces body mass loss in parallel with osmolyte and water retention in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 120192 ~ 120192
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2021.120192	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 Ohyama Yukako, Renfrow Matthew B., Novak Jan, Takahashi Kazuo	4. 巻 10
2. 論文標題 Aberrantly Glycosylated IgA1 in IgA Nephropathy: What We Know and What We Don't Know	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3467 ~ 3467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm10163467	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 Furuichi Kengo, Shimizu Miho, Yamanouchi Masayuki, Yuzawa Yukio, Kitamura Hiroshi, Suzuki Yoshiki, Sato Hiroshi, Uesugi Noriko, Ueda Yoshihiko, Makino Hirofumi, Matsuo Seiichi, Ubara Yoshifumi, Yokoyama Hitoshi, Wada Takashi, et al	4. 巻 8
2. 論文標題 Clinicopathological features of fast eGFR decliners among patients with diabetic nephropathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Research & Care	6. 最初と最後の頁 e001157 ~ e001157
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjdr-2019-001157	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 Ohyama Yukako, Yamaguchi Hisateru, Nakajima Kazuki, Mizuno Tomohiro, Fukamachi Yukihiro, Yokoi Yasuto, Tsuboi Naotake, Inaguma Daijo, Hasegawa Midori, Renfrow Matthew B., Novak Jan, Yuzawa Yukio, Takahashi Kazuo	4. 巻 10
2. 論文標題 Analysis of O-glycoforms of the IgA1 hinge region by sequential deglycosylation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-57510-z	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4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 梅田良祐、小出滋久、林 宏樹、高橋和男、長谷川みどり、湯澤由紀夫、坪井直毅
2. 発表標題 抗体型糸球体腎炎の発症・進展におけるトリプトファン代謝酵素の役割
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shoko Matsushita, Kazuo Takahashi, Ryosuke Umeda, Naotake Tsuboi, Kazuki Nakajima, 1 Aya Yoshimura, 1 Kanako Kumamoto, 1 Masanori Kugita, 1 Hidetsugu Fujigaki, 1 Akihiro Mouri, 1 Yasuko Yamamoto, 1 Toshitaka Nabeshima, Mitsutoshi Setou, Shizuko Nagao, Kuniaki Saito, Yukio Yuzawa
2. 発表標題 Alteration of Tryptophan-Kynurenine Metabolites in the Serum and Kidney in Diabetic Nephropathy
3. 学会等名 Kidney Week 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋和男、坪井直毅、長尾静子、齋藤邦明、湯澤由紀夫
2. 発表標題 糖尿病性腎症における代謝変容の役割の解明
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会西部学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松下祥子、高橋和男、吉村文、熊本海生航、伊藤辰将、坪井直毅、毛利彰宏3、山本 康子4、藤垣 英嗣4、中嶋和紀、釘田雅則、國澤和生、鍋島俊隆、齋藤邦明、瀬藤光利、長尾静子、湯澤由紀夫
2. 発表標題 2型糖尿病性腎症モデルラットにおける腎組織中キノリン酸の分布解析
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 編集 和田隆志・湯澤由紀夫・乳原善文・古市賢吾	4. 発行年 2019年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 72
3. 書名 糖尿病性腎症病期分類に基づいた腎病理診断の手引き	

〔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	長尾 静子  (Nagao Shizuko)  (20183527)	藤田医科大学・疾患モデル教育研究サポートセンター・教授   (33916)	
研究分担者	倉橋 浩樹  (Hiroki Kurahashi)  (30243215)	藤田医科大学・総合医科学研究所・教授   (33916)	
研究分担者	坪井 直毅  (Tsuboi Naotake)  (50566958)	藤田医科大学・医学部・教授   (33916)	

6. 研究組織（つづき）

	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	鍋島 俊隆  (Nabeshima Toshitaka)  (70076751)	藤田医科大学・保健学研究科・客員教授    (33916)	
研究分担者	齋藤 邦明  (Saito Kuniaki)  (80262765)	藤田医科大学・保健学研究科・教授    (33916)	
研究分担者	高橋 和男  (Takahashi Kazuo)  (90631391)	藤田医科大学・医学部・教授    (33916)	

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