

令和 4 年 4 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08980

研究課題名(和文) アディポネクチンによる腎保護作用機序の解明と血中T-カドヘリン測定の臨床的意義

研究課題名(英文) Renal protective role of adiponectin and clinical significance of circulating T-cadherin concentration

研究代表者

前田 法一 (MAEDA, Norikazu)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：30506308

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)：アディポネクチンおよびその結合タンパクであるT-カドヘリン欠損マウスを用いて、腎虚血再灌流モデルを作製し解析した。結果、アディポネクチン/T-カドヘリンシステムは毛細血管のバリア機能の保持、血管周皮細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。可溶性T-カドヘリンを測定できるELISAを確立し、血中には3種類の可溶性T-カドヘリン(130-kDa, 100-kDa, 30-kDa)が存在することを明らかにした。2型糖尿病や急性心筋梗塞患者で、可溶性T-カドヘリン濃度が臨床パラメーターと相関することを見出し、新たなバイオマーカーとなる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、アディポネクチン/T-カドヘリンシステムは腎保護作用を有しており、慢性腎臓病や糖尿病腎症の予防・治療に応用できる可能性を示した。また、可溶性T-カドヘリンを測定することで、糖尿病や心疾患の新たなバイオマーカーとしての応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We generated and analyzed a renal ischemia and reperfusion model in mice lacking adiponectin or T-cadherin. Our study clearly showed that adiponectin/T-cadherin system played a significant role in maintenance for vascular barrier function and homeostasis of vascular pericytes. Furthermore, we established ELISA system to measure soluble T-cadherin in bloodstream and demonstrated the existence of three forms of soluble T-cadherin (130-kDa, 100-kDa, and 30-kDa). Soluble T-cadherin concentrations were significantly correlated with various clinical parameters, suggesting that soluble T-cadherin is a novel biomarker.

研究分野：糖尿病・内分泌・代謝学

キーワード：アディポネクチン T-カドヘリン 慢性腎臓病 メタボリックシンドローム 糖尿病

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

当教室は、メタボリックシンドロームの病態基盤として、内臓脂肪蓄積を上流とするアディポサイトカイン分泌異常を介して、インスリン抵抗性・動脈硬化症など様々な病態が生じることを明らかとしてきた。アディポサイトカインの中でも、申請者はアディポネクチン (APN) に関する研究を連綿と行ってきた。APN は抗糖尿病作用 (Nat Med 2002 など) や心血管保護作用 (ATVB 2008/2011, Circulation 2011 など) を有することを示し、APN が GPI アンカー型膜蛋白である T-cadherin (T-cad) への結合を介して、心血管組織に集積していることを見出した (Endocrinology 2015)。さらに、T-cad 欠損により血管組織への APN の集積が消失し、動脈硬化が進展すること (FASEB J 2017) を明らかにし、その想定されるメカニズムとして APN が T-cad 依存的に血管内皮細胞のエクソソームの産生・分泌を増加させることで、セラミドや β -カテニンなど有害物質を細胞外へ放出し細胞保護作用を有すること (JCI Insight 2018) を明らかとしてきた。

心血管イベント発症の背景として、慢性腎臓病 (CKD) の存在が重要視されている。肥満や糖尿病に起因する CKD 患者は年々増加の一途をたどっており、腎症進展・末期腎不全への移行をいかに抑制するかは重大な課題である。しかし、CKD 進行に関わる分子メカニズムはいまだ十分に解明されているとはいえない。APN 欠損マウスは、5/6 腎摘出モデルで腎線維化が増悪すること (ATVB 2007)、Angiotensin 負荷による尿アルブミン量が著増することを見出しているが、その詳細な作用機序は明らかでなかった。一方、ヒト GWAS 解析では T-cad 遺伝子のプロモーター領域の SNP が、1 型糖尿病の腎症進展と関連することが報告されており (Nicolas et al. Nephrol Dial Transplant 2017)、APN の腎保護作用に関しても、その結合蛋白 T-cad が重要な役割を担っている可能性が想定される。

さらに、私達は生体内に存在するいくつかの酵素が T-cad を細胞膜近傍で切断することを見出しており、免疫沈降法や ELISA 法にて流血中に遊離した T-cad の存在は確認できている。しかしながら、血中に遊離した T-cad が APN と結合し複合体を形成するのか否か、血管組織で観察されたような APN/T-cad システムによる臓器保護作用を本複合体が有するのか否かは不明である。また、血中に遊離した T-cad が組織の T-cad 量を反映するのか否かも全く解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、APN/T-cad システムによる腎保護作用機序を明らかにすることを目的とする。Pericyte は毛細血管の支持細胞であり、脳や肺など全身に広く分布しているが、特に腎臓においては内皮細胞と協調した腎血流の調整や、血管内皮バリア機能の維持など、重要な生理学的役割を担っている。一方で、傷害時には pericyte は血管内皮細胞から遊走し、筋線維芽細胞に形質転換することで、腎線維化に関与することが近年注目されている。血管内皮細胞および pericyte における腎 APN/T-cad システムとして、傷害時における虚血時の血管新生の促進を介する組織血流の維持、内皮バリア機能の維持、エクソソーム産生亢進、pericyte の筋線維芽細胞への形質転換抑制などを介する組織再生・抗線維化作用を想定している。本研究により、腎臓における APN の作用メカニズムが明らかとなれば、治療法が確立していない CKD の進行抑制といった治療応用も期待される。

また、本研究では、血中 T-cad の意義をまずヒトにおいて明らかにすべく、糖尿病や虚血性心疾患などの症例を対象に血中 T-cad 濃度を測定し、血中 APN 濃度や頸動脈硬化指標をはじめとする各種臨床パラメーターとの相関を検討することで、糖尿病や虚血性心疾患における APN/T-cad システムの臨床的意義を明らかにしたい。

3. 研究の方法

(1) アディポネクチン/T-カドヘリンシステムによる腎保護作用

腎虚血再灌流後の急性期では、毛細血管のバリア機能が破綻し permeability が亢進することで、炎症や尿細管壊死、線維化が惹起されることが知られている。腎虚血再灌流モデルを、APN 欠損マウスおよび T-cad 欠損マウスに対して作製し、腎機能、尿細管壊死や腎線維化、炎症の重症度を野生型 (WT) マウスと比較する。エバンスブルー静脈投与後の腎臓サンプルを解析することで、特に虚血再灌流急性期において、APN 集積が腎血管透過性に及ぼす影響を定量的に評価する。さらに in vivo で得られた結果を、培養細胞でも確認していく。

(2) ヒトにおける血中 T-cad 濃度測定の意味

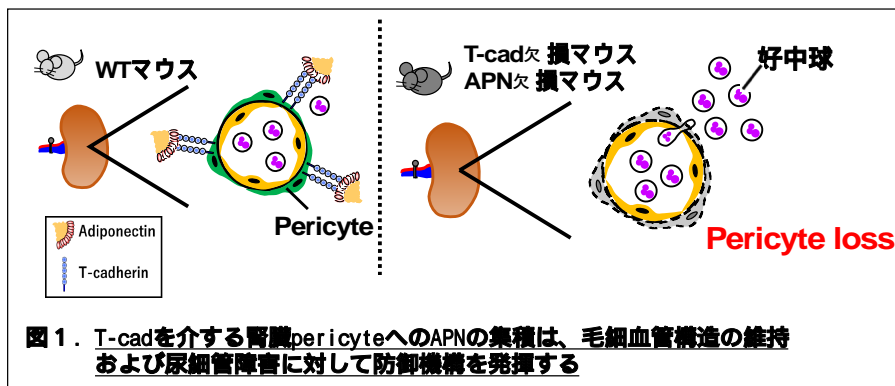
流血中には組織から遊離した T-cad が存在することを確認しており、preliminary なデータではあるが、APN と T-cad の血中濃度は強く相関する結果も得ている (未発表)。申請者は以前に APN が組織 T-cad 蛋白量を正に制御することを示しており (Endocrinology 2015)、血中 T-cad 濃度は組織での T-cad 量を反映している可能性も考えられるが、このような相関があらゆる病態でも当てはまるか否かは不明である。本研究では、糖尿病や虚血性心疾患などにおいて、申請者がこれまで蓄積してきた血液サンプルを用いて、血中 T-cad 濃度を ELISA にて測定することにより、血中 T-cad 濃度測定の意味を横断的に検討する。さらに、血中 T-cad 濃度と心

管イベントの有無を血中 APN 濃度と併せて検討する。

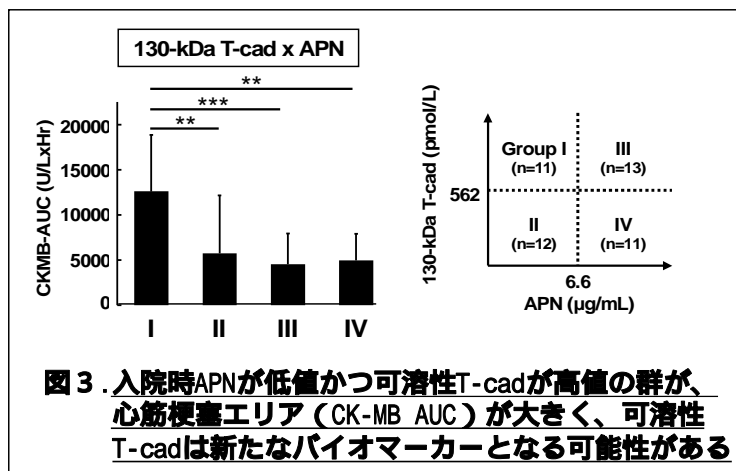
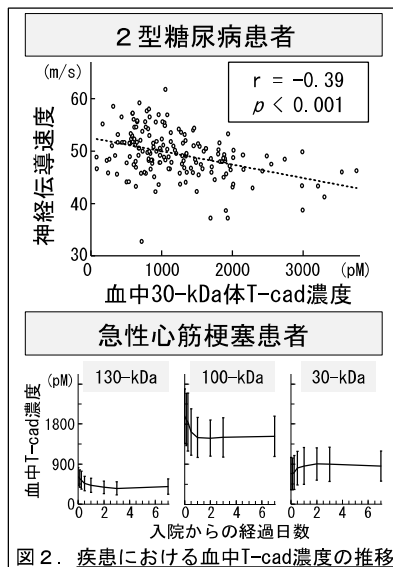
4. 研究成果

(1) アディポネクチン/T-カドヘリンシステムによる腎保護作用

WT マウス、APN 欠損マウスおよび T-cad 欠損マウスを用いて、腎虚血再灌流モデルを作製し解析した。結果、WT マウスに比して、APN 欠損マウスおよび T-cad 欠損マウスでは腎虚血再灌流後の血管透過性が有意に亢進しており、アディポネクチン/T-カドヘリンシステムは毛細血管のバリア機能の保持に重要な役割を果たしていることが示唆された。また、APN 欠損マウスおよび T-cad 欠損マウスでは近位尿管周囲への好中球浸潤が亢進しており、WT マウスに比して炎症状態が重篤化していた。また、既報の通り、WT マウスでは腎虚血再灌流後の血管周皮細胞 (PDGFR-beta 陽性細胞) が増加していたのに対して、APN 欠損マウスおよび T-cad 欠損マウスでは逆に低下しており、アディポネクチン/T-カドヘリンシステムが血管周皮細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした (図1、*Am J Physiol Endocrinol Metab* 2021)。さらに、培養血管周皮細胞において、アディポネクチンは T-カドヘリン依存的にエクソソーム産生を促進することを見出した。



(2) ヒトにおける血中T-カドヘリン濃度測定の意義
T-cad は、カドヘリン・ファミリーに共通した5つのカドヘリンリピート・ドメインを有し、GPI-アンカー蛋白にて細胞膜上に繫留されている。さらに、他のカドヘリンと異なり、T-cad はプロドメインを有する形で細胞膜上に存在している事が明らかになっている。今回、T-cad 抗体を複数作製し、ヒト・T-カドヘリン ELISA を新たに構築することができた。血中には3種類の可溶性 T-cad (130-kDa, 100-kDa, 30-kDa) が存在することを明らかにした (*JCEM* 2021)。183人の2型糖尿病患者での検討において、130-kDa は代謝パラメーターとの相関が強く、100-kDa は臨床パラメーターとの相関はほとんど見られなかった。また、30-kDa は HbA1c, ALT, UA, LDL-C, IMT 肥厚度, BNP などと相関し、特に神経伝導速度と強い負の相関を認めた (図2 上段)。次に、47人の急性心筋梗塞患者における血中 T-cad 濃度の経時的な推移を調べた。130-kDa と100-kDa は経時的に低下し入院72時間後に最低値となった一方で、30-kDa は経時的に上昇し入院48時間後に最高値となった (図2 下段)。また、入院時アディポネクチンが低値かつ可溶性 T-cad が高値の群が心筋梗塞エリア (CK-MB AUC) は大きいことが明らかになり、新たなバイオマーカーとなる可能性を示した (図3、*JAT in press*)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Fukuda Shiro, Kita Shunbun, Miyashita Kazuya, Iioka Masahito, Murai Jun, Nakamura Tadashi, Nishizawa Hitoshi, Fujishima Yuya, Morinaga Jun, Oike Yuichi, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 106
2. 論文標題 Identification and Clinical Associations of 3 Forms of Circulating T-cadherin in Human Serum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 1333 ~ 1344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/clinem/dgab066	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 Kawachi Yusuke, Fujishima Yuya, Nishizawa Hitoshi, Nagao Hirofumi, Nakamura Takashi, Akari Seigo, Murase Takayo, Taya Naohiro, Omori Kazuo, Miyake Akimitsu, Fukuda Shiro, Takahara Mitsuyoshi, Kita Shunbun, Katakami Naoto, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Plasma xanthine oxidoreductase activity in Japanese patients with type 2 diabetes across hospitalized treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1512 ~ 1520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13467	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 Kawachi Yusuke, Fujishima Yuya, Nishizawa Hitoshi, Nakamura Takashi, Akari Seigo, Murase Takayo, Saito Takuro, Miyazaki Yasuhiro, Nagao Hirofumi, Fukuda Shiro, Kita Shunbun, Katakami Naoto, Doki Yuichiro, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 6
2. 論文標題 Increased plasma XOR activity induced by NAFLD/NASH and its possible involvement in vascular neointimal proliferation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 144762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.144762	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 Sakaue Taka-aki, Fujishima Yuya, Fukushima Yoko, Tsugawa-Shimizu Yuri, Fukuda Shiro, Kita Shunbun, Nishizawa Hitoshi, Ranscht Barbara, Nishida Kohji, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Adiponectin accumulation in the retinal vascular endothelium and its possible role in preventing early diabetic microvascular damage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-08041-2	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 Nakamura Yuto, Kita Shunbun, Tanaka Yoshimitsu, Fukuda Shiro, Obata Yoshinari, Okita Tomonori, Nishida Hiroyuki, Takahashi Yuki, Kawachi Yusuke, Tsugawa-Shimizu Yuri, Fujishima Yuya, Nishizawa Hitoshi, Takakura Yoshinobu, Miyagawa Shigeru, Sawa Yoshiki, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 28
2. 論文標題 Adiponectin Stimulates Exosome Release to Enhance Mesenchymal Stem-Cell-Driven Therapy of Heart Failure in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 2203 ~ 2219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymthe.2020.06.026	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 Akamine Shoshin, Marutani Noriko, Kanayama Daisuke, Gotoh Shiho, Maruyama Riki, Yanagida Kanta, Sakagami Yukako, Mori Kohji, Adachi Hiroyoshi, Kozawa Junji, Maeda Norikazu, Otsuki Michio, Matsuoka Takaaki, Iwashashi Hiromi, Shimomura Iichiro, Ikeda Manabu, Kudo Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Renal function is associated with blood neurofilament light chain level in older adults	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76990-7	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 Tsugawa-Shimizu Yuri, Fujishima Yuya, Kita Shunbun, Minami Satoshi, Sakaue Taka-aki, Nakamura Yuto, Okita Tomonori, Kawachi Yusuke, Fukuda Shiro, Namba-Hamano Tomoko, Takabatake Yoshitsugu, Isaka Yoshitaka, Nishizawa Hitoshi, Ranscht Barbara, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 320
2. 論文標題 Increased vascular permeability and severe renal tubular damage after ischemia-reperfusion injury in mice lacking adiponectin or T-cadherin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E179 ~ E190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpendo.00393.2020	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 該当する

1. 著者名 Kita Shunbun, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 129
2. 論文標題 Interorgan communication by exosomes, adipose tissue, and adiponectin in metabolic syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 4041 ~ 4049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI129193	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 Kita Shunbun, Fukuda Shiro, Maeda Norikazu, Shimomura Iichiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Native adiponectin in serum binds to mammalian cells expressing T-cadherin, but not AdipoRs or calreticulin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e48675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.48675	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 Maeda Norikazu, Funahashi Tohru, Matsuzawa Yuji, Shimomura Iichiro	4. 巻 292
2. 論文標題 Adiponectin, a unique adipocyte-derived factor beyond hormones	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Atherosclerosis	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.021	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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中村勇斗、喜多俊文、小幡佳也、福田士郎、田中紀實、藤島裕也、西澤 均、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 幹細胞治療におけるアディポネクチン/T-カドヘリンの意義
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 アディポネクチンと臓器連関 Up to Date
3. 学会等名 第41回日本肥満学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村勇斗、喜多俊文、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 再生医療におけるアディポネクチン/T-カドヘリンの意義
3. 学会等名 第41回日本肥満学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水有理、藤島裕也、沖田朋憲、川知祐介、中村勇斗、田中紀實、増田重樹、小幡佳也、福田士郎、喜多俊文、西澤 均、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 腎臓におけるAdiponectin・T-cadherinの局在と機能解析
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 福田士郎、喜多俊文、宮下かずや、中村勇斗、川知祐介、沖田朋憲、清水有理、田中紀實、増田重樹、小幡佳也、藤島裕也、西澤 均、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 肥満・糖尿病病態における血中ならびに組織T-カドヘリンの関連
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 沖田朋憲、喜多俊文、中村勇斗、嶺尾良平、福田士郎、小幡佳也、川知祐介、田中紀實、増田重樹、清水有理、西澤 均、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 アディポネクチン/TカドヘリンシステムとERストレスに関する検討
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 中村勇斗、喜多俊文、福田士郎、小幡佳也、田中紀實、増田重樹、清水有理、沖田朋憲、川知祐介、西澤 均、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 慢性心不全モデルにおけるアディポネクチン/T-カドヘリンシステム
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 喜多俊文、福田士郎、沖田朋憲、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 Keeping homeostasis ; organ cross-talks by adiponectin, T-cadherin, and exosomes
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 喜多俊文、中村勇斗、前田法一、下村伊一郎
2. 発表標題 Exosome Secretion by Adiponectin Contributes to MSC Transplantation in Pressure Overload Heart Failure Models
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 Shunbun Kita, Shiro Fukuda, Yuto Nakamura, Yoshinari Obata, Yoshimitsu Tanaka, Tomonori Okita, Shigeki Masuda, Yuri Shimizu, Yusuke Kawachi, Emi Horitani, Takaaki Sakaue, Yuya Fujishima, Hitoshi Nishizawa, Norikazu Maeda, and Iichiro Shimomura
2. 発表標題 Native adiponectin in serum binds to cells expressing T-cadherin, but not AdipoRs or calreticulin
3. 学会等名 Keystone Symposia, Diabetes: Glucose Control and Beyond
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuto Nakamura, Shunbun Kita, Yoshinari Obata, Shiro Fukuda, Yoshimitsu Tanaka, Yuya Fujishima, Hitoshi Nishizawa, Norikazu Maeda, and Iichiro Shimomura
2. 発表標題 Action mechanism of high-molecular weight multimer adiponectin - possible role of stem cells, T-cadherin, and exosomes for organ protections
3. 学会等名 Keystone Symposia, Diabetes: Glucose Control and Beyond
4. 発表年 2020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	西澤 均 (NISHIZAWA Hitoshi) (20379259)	大阪大学・医学系研究科・講師 (14401)	
研究分担者	喜多 俊文 (KITA Shunbun) (10746572)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座講師 (14401)	
研究分担者	藤島 裕也 (FUJISHIMA Yuya) (10779789)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	

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	SBP Medical Discovery Institute			