

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08245

研究課題名(和文)細胞内脂質に着目した新たな糖尿病性腎症治療法の開発

研究課題名(英文)Development of novel therapy for diabetic nephropathy using lipid metabolism

研究代表者

豊原 敬文 (Toyohara, Takafumi)

東北大学・大学病院・准教授

研究者番号：60594182

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)：本研究ではArylamide Deacetylase (AADAC)の脂質毒性抑制作用の検討や糖尿病性腎症における腎臓構成細胞の役割検討を行なった。In vivoにおいてはAadacノックアウトマウスはインスリン反応性が異なる一方でGlucose Tolerance Test (GTT)では差を認めず、AADACはインスリン感受性に関与する可能性が示唆された。また、糖尿病性腎症に罹患しやすい患者と罹患しにくい患者のiPS細胞より分化誘導した内皮細胞を比較したところ、糖尿病性腎症に罹患しやすい患者由来の内皮細胞ではアポトーシスや炎症反応、活性酸素に関わる遺伝子群が上昇していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病性腎症は透析導入原因疾患の第一位であるが、血圧と血糖のコントロールのみの治療では不十分であり病態解明や有効な治療法の開発が急務である。糖尿病や肥満においては全身臓器の細胞内に脂肪が蓄積し、いわゆる「脂肪毒性」を引き起こす。糖尿病性腎症においても腎臓の構成細胞(内皮細胞、糸球体足細胞、近位尿管)が脂質を始めとした変化を示し病態に関与することが知られている。本研究ではAADACという小胞体リパーゼの糖尿病における働きを解析し、糖尿病性腎臓病における腎臓構成細胞の役割の一端を解明した。今後の糖尿病性腎臓病に対する治療の重要な基礎になると考えられる。

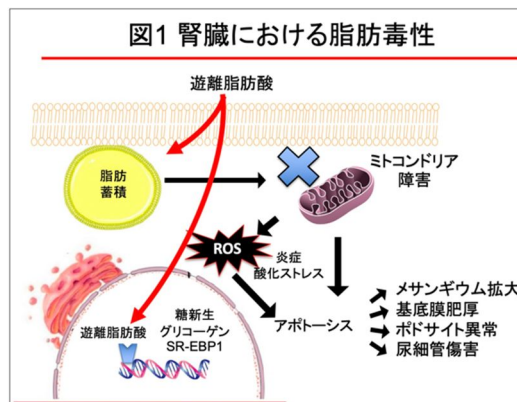
研究成果の概要(英文)：We investigated the role of Arylamide Deacetylase (AADAC) in lipid toxicity and the function of each kidney constituent cell in diabetic nephropathy. As for in vivo studies, while Aadac knockout mice exhibited different insulin responsiveness, no differences were observed in the Glucose Tolerance Test (GTT), suggesting that AADAC may be involved in insulin sensitivity. Additionally, a comparison of endothelial cells differentiated from iPS cells of patients susceptible and not susceptible to diabetic nephropathy revealed that endothelial cells derived from patients susceptible to diabetic nephropathy showed increased expression of genes related to apoptosis, inflammatory responses, and reactive oxygen species.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：糖尿病性腎臓病

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎症は透析導入原因疾患の第一位であるが、血压と血糖のコントロールのみの治療では不十分であり病態解明や有効な治療法の開発が急務である。これまでに抗炎症や抗線維化を標的とした薬剤の開発が行われているが未だ有効な治療法は確立していない。糖尿病腎症の進展抑制における血糖・血压管理の有用性については豊富なエビデンスがあるが、脂質管理についてはあまり解明されていなかった。糖尿病や肥満においては全身臓器の細胞内に脂肪が蓄積し、いわゆる‘脂肪毒性’を引き起こす。糖尿病性腎症においても腎臓の構成細胞（内皮細胞、糸球体足細胞、近位尿細管）の脂肪蓄積が脂肪毒性を引き起こすことが知られている（図1）。



申請者は最近心血管疾患に‘罹患しにくい’糖尿病患者と

‘罹患しやすい’糖尿病患者から iPS 細胞を7株ずつ作製し血管細胞（血管平滑筋、内皮細胞）に分化誘導して、脂肪毒性を是正する新規動脈硬化抑制因子を発見した（Toyoyara, *Cell Stem Cell* 2020）。この研究は、

- 1) 心血管疾患に“罹患しにくい”糖尿病患者の血管平滑筋では小胞体内リパーゼである Arylacetamide Deacetylase (AADAC) の発現が上昇している
- 2) AADAC は血管平滑筋細胞に蓄積する Triacylglycerol (TAG) などを Kennedy 経路を介してリン脂質へ変換して動脈硬化を抑制すること（図2）
- 3) 血管平滑筋特異的に AADAC を強制発現した動脈硬化マウスでは動脈硬化の著明な改善を認め、AADAC をコントロールすることが新たな動脈硬化抑制のメカニズムになる（図3）
- 4) AADAC は近位尿細管等にも豊富に存在する
- 5) さらにこの手法は臨床的に特徴のある患者由来の iPS 細胞は病態のメカニズムを解明する上で有用であり臨床と基礎の架け橋になる可能性を提示した。

図2 AADACによる脂質代謝変化

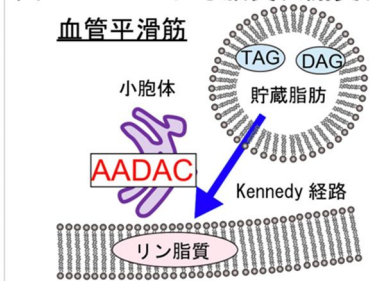
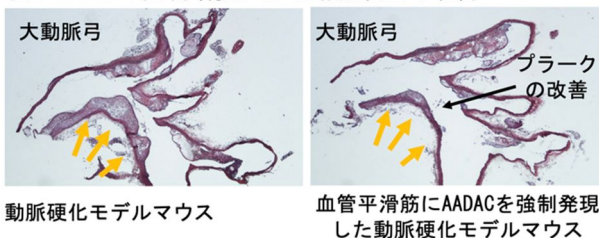


図3 AADACの発現増強による動脈硬化の改善



2. 研究の目的

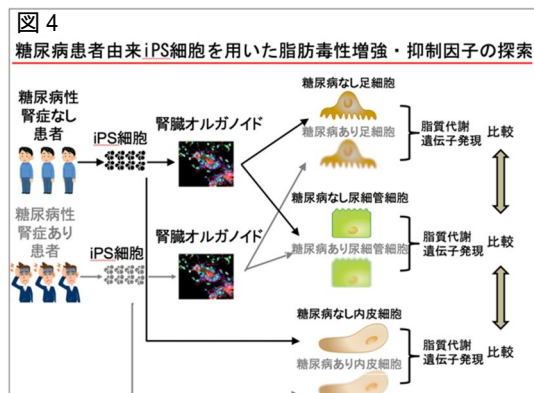
本研究では糖尿病や糖尿病性腎症における保護・増悪因子の解明を患者由来 iPS 細胞を用いて明らかにするとともに、AADAC を中心とした腎脂肪毒性の解明を目的とした。

3. 研究の方法

本研究ではマウス（計画1）と患者由来 iPS 細胞（計画2）を用いて AADAC の糖尿病や糖尿病性腎症に対する効果及び糖尿病性腎症に関連する各腎構成細胞の遺伝子変化や脂質代謝変化を検討した。

計画1においてはすでに作製している Cre 依存性 AADAC 強制発現マウスとノックアウトマウスを ROSA-CreERT2 マウスや近位尿細管特異的 Cre マウス (Sgt2-Cre マウス) と交配して全身および近位尿細管特異的 AADAC 強制発現/ノックアウトマウスを作製して、腎機能、蛋白尿などの生理的データ、腎臓病理所見を観察し糖尿病/AADAC マウスのフェノタイプを確認し、腎臓各構成細胞の変化を検討する予定であった。

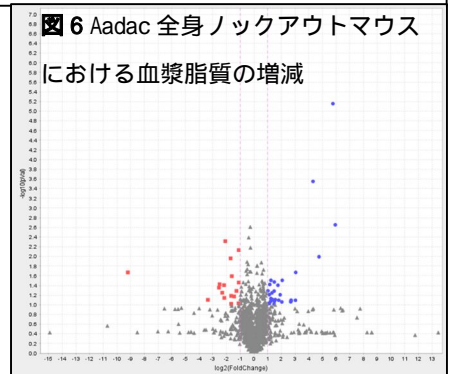
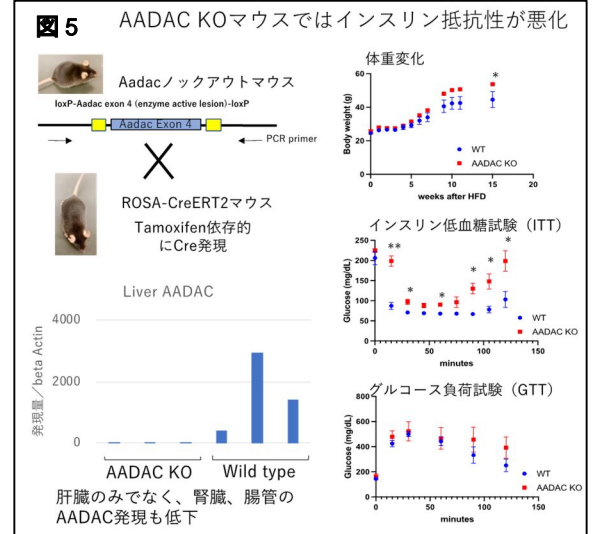
計画2においては長期の糖尿病罹患にも関わらず糖尿病性腎症に罹患しにくい患者と糖尿病性腎症に罹患しやすい患者由来の iPS 細胞より内皮細胞や腎臓オルガノイドを作製して、RNA-seq や脂質測定などの解析を行う予定であった（図4）。



4. 研究成果

Sgt2-Cre マウスと Cre 依存的 Aadac 強制発現およびノックアウトマウスを交配したが、遺伝子改変は確認したものの、腎臓特異的な Aadac の発現増強を確認することができなかった。また、原因が明らかではないが、全身 Aadac 強制発現マウスについても強制発現の確認が困難であった。一方で全身 Aadac ノックアウトに関しては Aadac 遺伝子発現が全身の臓器において低下していることが確認できたため、フェノタイプの解析を行った。特に同マウスは負荷を加えなければ正常に発育し、血中脂質や血糖値も正常マウスと大きな違いは認めていなかったが、高脂肪食負荷を行うと Aadac ノックアウトマウスでは insuline tolerance test (ITT) によるインスリン反応性が改善する可能性を認めた。一方で Glucose Tolerance Test (GTT) では差を認めず、AADAC はインスリン感受性に関与している可能性も示唆された(図5)。またこのマウスの血漿の脂質変化を LC/MS および LipidSearch にて網羅的に行なったところ、いくつかの脂質において有意に増減が認められた(図6)。これは全身細胞内の Aadac のノックアウトによって血漿内の脂質にも変化が出ていることを示唆する所見である。インスリン抵抗性の結果からは Aadac は基本的にはインスリン抵抗性を改善する方向に働く遺伝子であると推測されるが、その機序については血漿や組織中の脂質の解析を進める必要があり、現在追加での解析を行っている。

また、腎臓はネフロンを構成する糸球体足細胞や尿細管細胞、内皮細胞、間質細胞など様々な細胞種で構成されるため、それぞれの細胞種の糖尿病性腎症における役割解析を計画した。その中でも糖尿病性腎症に罹患しやすい患者と罹患しにくい患者の iPS 細胞より分化誘導した内皮細胞を比較したところ、糖尿病性腎症に罹患しやすい患者由来の内皮細胞ではアポトーシスや炎症反応、活性酸素に関わる遺伝子群が上昇が確認していることを確認した。この結果は糖尿病性腎症の発症における内皮の役割を反映している可能性があり、興味深い結果と考えられた。腎臓オルガノイド についても現在検討中である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Ito Nono, Shirai Tsuyoshi, Toyohara Takafumi, Hashimoto Hideaki, Sato Hiroko, Fujii Hiroshi, Ishii Tomonori, Harigae Hideo	4. 巻 Ahead of print
2. 論文標題 “Coexistence of IgA nephropathy and renal artery stenosis in Takayasu arteritis: case report and literature review”	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Rheumatology International	6. 最初と最後の頁 Ahead of print
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00296-021-05066-0	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 Oribe Shuntaro, Toyohara Takafumi, Mishima Eikan, Suzuki Takehiro, Kikuchi Koichi, Watanabe Shun, Morita Yoshiaki, Ota Hideki, Seiji Kazumasa, Miyazaki Mariko, Takase Kei, Abe Takaaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Fibromuscular dysplasia with recurrence after “long-term” following percutaneous transcatheter renal angioplasty: two case reports with a review of 26 patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Nephrology	6. 最初と最後の頁 187
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12882-021-02342-w	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 Akiyama Yasutoshi, Kikuchi Koichi, Toyohara Takafumi, Mishima Eikan, Suzuki Chitose, Suzuki Takehiro, Nakayama Masaaki, Tomioka Yoshihisa, Soga Tomoyoshi, Abe Takaaki	4. 巻 13
2. 論文標題 CE-MS-Based Identification of Uremic Solutes Specific to Hemodialysis Patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 324 ~ 324
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/toxins13050324	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 Oshita Toma, Watanabe Shun, Toyohara Takafumi, Kujirai Ryota, Kikuchi Koichi, Suzuki Takehiro, Suzuki Chitose, Matsumoto Yotaro, Wada Jun, Tomioka Yoshihisa, Tanaka Tetsuhiro, Abe Takaaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Urinary growth differentiation factor 15 predicts renal function decline in diabetic kidney disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12508
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-39657-7	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 豊原敬文
2. 発表標題 動脈硬化における小胞体リパーゼと ミトコンドリアの働きについて
3. 学会等名 第43回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉峯諒、豊原敬文、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、鯨井涼太、富岡佳久、田中哲洋、阿部高明
2. 発表標題 腎不全患者の尿毒症物質生成に関する腸内細菌の解析
3. 学会等名 第44 回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 頓宮慶泰、菊地晃一、鈴木健新、三瀬広記、和田淳、秋山泰利、那谷耕司、鯨井涼太、松本洋太郎、富岡佳久、渡邊駿、豊原敬文、鈴木健弘、田中哲洋、阿部高明
2. 発表標題 尿毒素フェニル硫酸は糖尿病性腎症における インスリン分泌促進とインスリン抵抗性に関する
3. 学会等名 第44 回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯田怜央、豊原敬文、岩間憲之、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、宮崎真理子、齋藤昌利、阿部高明
2. 発表標題 妊娠高血圧症候群における急性憎悪および症状遷延化因子の検討
3. 学会等名 第119回 日本内科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takafumi Toyohara, Shun Watanabe, Koichi Kikuchi, Takehiro Suzuki, Chad A. Cowan, Takaaki Abe.
2. 発表標題 atient derived-iPS cells identify a novel protective factor against atherosclerosis.
3. 学会等名 International Symposium on Atherosclerosis Annual Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 豊原敬文、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、阿部高明
2. 発表標題 患者由来iPS細胞を用いた新規動脈硬化抑制因子の発見
3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大下冬馬、豊原敬文、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、鯨井涼太、宮崎真理子、富岡佳久、阿部高明
2. 発表標題 尿中GDF15の糖尿病性腎症と腎内環境の予測因子としての有用性の臨床検討
3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 豊原敬文
2. 発表標題 患者由来iPS細胞を用いた新規動脈硬化抑制因子の発見と腎疾患への応用
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上原啓誠、豊原敬文、三島英換、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、伊東伸朗、宮崎真理子、阿部高明
2. 発表標題 CaSR刺激型自己抗体による副甲状腺機能低下症の合併が疑われた腎血管性高血圧の1例
3. 学会等名 第51回日本腎臓学会東部学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大下冬馬、豊原敬文、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、宮崎真理子、富岡佳久、阿部高明
2. 発表標題 血中・尿中GDF15の糖尿病性腎症及び腎内環境予測因子としての有用性の臨床検討
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会総会
4. 発表年 2021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
---------	---------