

令和 6 年 4 月 17 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16187

研究課題名（和文）LPL欠損マウスを用いた慢性腎臓病における脂質代謝異常の役割の解明

研究課題名（英文）Role of renal LPL metabolism in chronic kidney disease

研究代表者

佐々木 裕紀（Sasaki, Yuki）

滋賀医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：10897466

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：リポ蛋白リパーゼ（LPL）は、血中トリグリセライドから細胞内への脂肪酸輸送を促進する酵素で、脂質代謝において重要な役割を果たす酵素であり、その活性低下は高トリグリセライド血症を引き起こす。本研究では、全身または腎特異的なLPL欠損マウスを用いて、全身ならびに腎臓局所のトリグリセライド代謝異常と慢性腎臓病の関連を解析した。結果、全身的なLPL欠損は高トリグリセライド血症を引き起こすものの、腎臓の生理的作用、腎臓病には影響しなかった。さらに、腎臓特異的なLPL欠損マウスも全身のLDL欠損マウス同様の結果であった。これらの結果より、LPL活性低下による脂質異常は慢性腎臓病に直接寄与しない可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂質代謝異常の中には高LDL血症と高トリグリセライド血症がある。前者は動脈硬化の強いリスクであるとともに、その上昇が各種慢性腎臓病のリスクとなることも知られており、スタチン等を用いた脂質管理の重要性は腎臓病診療において確立した概念となっている。一方で、高トリグリセライド血症の意義は未だ不明であった。今回の我々の検討から得られた、インスリン抵抗性で生じるリポ蛋白リパーゼ（LPL）活性低下が腎臓の機能ならびに慢性腎臓病の発症進展には寄与しないという結果は、臨床的に高トリグリセライド血症の是正が慢性腎臓病の予後改善に繋がらないというこれまでの臨床的知見の裏付けとなる。

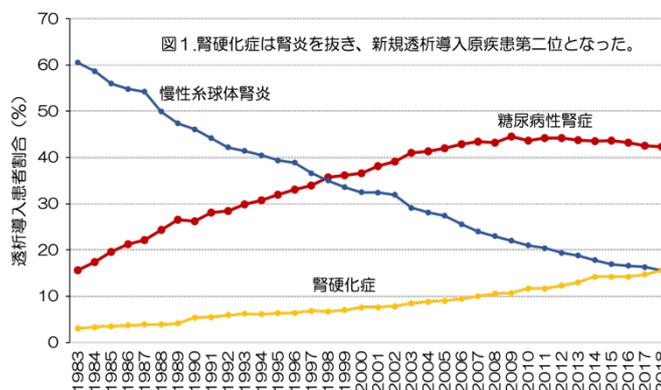
研究成果の概要（英文）：Lipoprotein lipase (LPL) is an enzyme crucial for lipid metabolism, facilitating the transport of fatty acids into cells, and its decreased activity leads to hypertriglyceridemia. In this study, we analyzed the association between systemic or renal-specific LPL deficiency and abnormalities in systemic and renal triglyceride metabolism, and chronic kidney disease (CKD) using mouse models. The results showed that systemic LPL deficiency induced hypertriglyceridemia but did not affect renal physiological functions or kidney disease. Additionally, mice with renal-specific LPL deficiency exhibited similar outcomes to systemic LPL-deficient mice. These findings suggest that lipid abnormalities due to decreased LPL activity may not directly contribute to the development of CKD.

研究分野：腎臓内科

キーワード：慢性腎臓病 中性脂肪 脂質異常症

1. 研究開始当初の背景

我が国の透析患者数は約 34 万人以上であり、患者の QOL、医療経済上の大きな問題となっている。右図に示すように、治療法の開発や、治療戦略の確立により、慢性腎炎からの透析導入は大きく減少し、過去大きな問題となっていた糖尿病性腎症からの透析導入も減少に転じ始めている。一方で、肥満患者の増加や高齢化を背景に、腎硬化症による透析導入は増加傾向となり、慢性腎炎を抜き 2 位となった。この増加は今後も続くと予想され、腎硬化症の病態解明、治療標的の探索が不可欠となる。



しかしながら、動脈硬化に起因するとされる腎硬化症の病態は未だ不明であり、腎硬化症と診断される腎不全患者の臨床背景には一定の見解がなく、病態に関わる因子は複雑である。そこで、動脈硬化に関わる種々の因子の一つ一つがどのように腎臓病に関わり得るかを検証し、どの因子の改善が治療標的となり得るかを明らかとしていくことが重要である。

本研究では、腎硬化症のリスク因子となる肥満やインスリン抵抗性による代謝異常の一つ、「脂質異常と腎臓病との関わり」に着目し検証する。インスリン抵抗性に伴う脂質異常には、脂肪細胞でのインスリン抵抗性の結果生じる高脂肪酸血症と、血管内皮に係留する Lipoprotein Lipase (LPL) 活性の低下に伴う高 TG 血症の 2 種類がある。これまでに、申請者は前者の高脂肪酸血症が腎障害に寄与するという知見を、動物実験を用い証明してきた。一方、高 TG 血症を呈する患者の背景には肥満や耐糖能異常など多因子リスクも併存しており、高 TG 血症が真に腎障害に影響するかは明らかとなっていない。

血中の TG は血管内皮に係留する LPL により加水分解され、脂肪酸として細胞に取りこまる。LPL はインスリンにより活性化されることから、インスリン抵抗性状態では、その活性低下が起こり、TG の加水分解が障害され、高 TG 血症が生じる。よって、高 TG 血症と腎障害の関連を示す一つの方法として、インスリン抵抗性動物モデルで検証が有用となるが、肥満や耐糖能異常など、その他の因子を排除することが困難であるという問題を抱えている。そこで、LPL 欠損マウスが純粋なインスリン抵抗性を模する高 TG 血症モデルとなるが、全身 LPL 欠損マウスは生後間もなく死亡することから、これまで、高 TG 血症と臓器障害を結論づける基礎研究成果は報告されてこなかった。

2. 研究の目的

そこで我々は、LPL-flox マウスとタモキシフェン誘導性 Cre マウスを用い、成体での LPL 欠損マウスを作製した。結果、LPL 欠損マウスは死亡することなく、血中 TG の顕著な増加を認める真の高 TG 血症モデルの作製に世界で初めて成功した。また、腎臓における細胞特異的 LPL 欠損マウスも作製可能となり、全身 LPL 欠損による高 TG の腎障害への影響に加え、腎局所の LPL 活性の低下が腎障害に及ぼす影響も検証することも可能となった。そこで本研究では、これらの新たに作製に成功した動物モデルを利用し、全身 LPL 活性の低下に伴う高 TG 血症、ならびに、腎局所 LPL 活性低下に伴う腎内脂肪代謝異常が腎臓病に与える影響を解明することとした。

3. 研究の方法

実験① 全身 LPL 欠損マウスを用いた検証

LPL-flox マウスとタモキシフェン誘導性全身性 Cre (R26-CreERT2) マウスとの交配を行い、タモキシフェン投与を行い、LPL 欠損マウスを作製し、高 TG 血症モデルとした。以下の条件での、野生型と LPL 欠損マウスの大動脈、腎表現系を検証した。

- 1) 通常飼育条件での腎障害の発症の有無を検討した。
- 2) 慢性腎臓病 5/6 腎臓摘出モデルにおける腎障害への LPL 欠損の影響を検証した。

実験② 近位尿細管細胞特異的 LPL 欠損マウスを用いた検証

LPL-flox マウスとタモキシフェン誘導性近位尿細管 Cre (NDRG1-CreERT2) マウスとの交配を行い、タモキシフェン投与を行い、近位尿細管特異的 LPL 欠損マウスを作製した。近位尿細管細胞は常時脂肪酸を利用し ATP 産生を行うとされている。近位尿細管細胞における LPL を介した脂肪酸流入が近位尿細管細胞での生理的 ATP 産生にどのように寄与するかは不明であり、同マウスを用い、LPL 欠損の腎機能への影響を検証した。

実験③ 新規腎硬化症モデルの作製

5/6 腎臓摘出以外の腎臓病モデルとして、マイクロコイルによる腎硬化症モデルの作製を行い、血圧上昇を伴う腎組織障害を確立した。

4. 研究成果

実験① 全身 LPL 欠損マウスを用いた検討

1) 通常飼育条件での腎障害の発症の有無の検討において、全身 LPL 欠損マウスは LPL^{f/f} マウスと比較して血清中の中性脂肪濃度、総コレステロール濃度、遊離脂肪酸濃度が有意に高値であったが (Figure 1A-I)、心機能 (Figure 2A-E)、ならびに、腎障害に関わる指標に有意な差は認められなかった (Figure 3A-D)。

2) 5/6 腎臓摘出モデルを用いた検討において、全身 LPL 欠損マウスと LPL^{f/f} マウスは偽手術群と比較して尿量・血漿シスタチン C 濃度の有意な上昇を認めたが、全身 LPL 欠損マウスと LPL^{f/f} マウスの間には差を認めなかった。また、腎ならびに大動脈の組織学的な評価においても両群間に差を認めなかった (Figure 3E-I)。

実験② 近位尿細管細胞特異的 LPL 欠損マウスを用いた検討

1) 通常飼育条件での腎障害の発症の有無の検討近位尿細管特異的 LPL 欠損マウスは LPL^{f/f} マウスと比較して、全身の糖・脂質代謝のみならず、腎機能を含め、有意な差を認めなかった。(Figure 4A-J)。

Figure 1

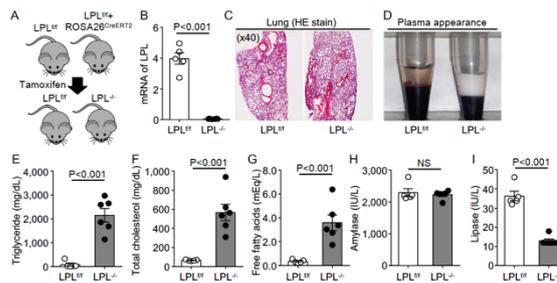


Figure 2

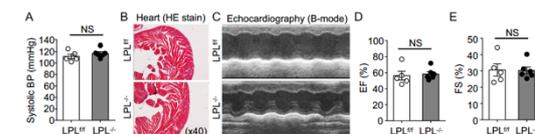


Figure 3

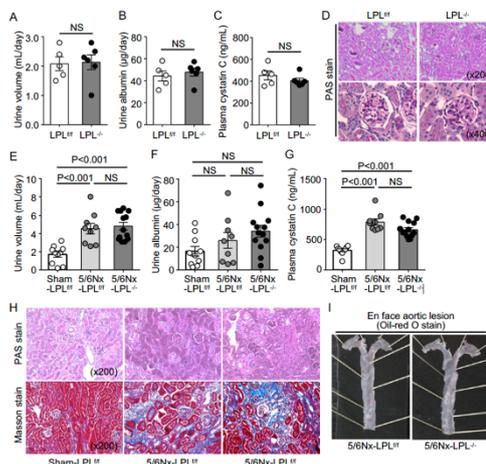
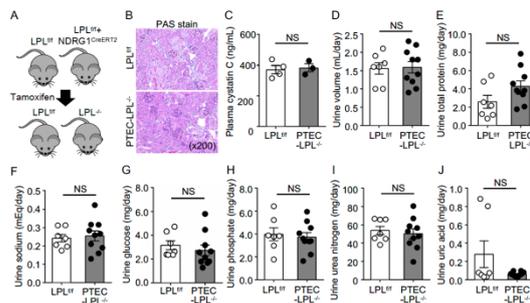


Figure 4



実験③ 新規腎硬化症モデルの作製

マウスの片側腎動脈にコイルリングを施行した。コイルリング側の腎臓は萎縮し、腎血流の低下を認めた (Figure 5A-F)。さらに、コイルリング術を受けたマウスでは、術後 12 週で、血中シスタチン C、クレアチニン (Cr)、尿素窒素 (UN) の上昇を認め、腎機能の低下が確認された (Figure 6A-C)。以上、腎動脈コイルリングによる新規腎硬化症モデルが確立された。

Figure 5

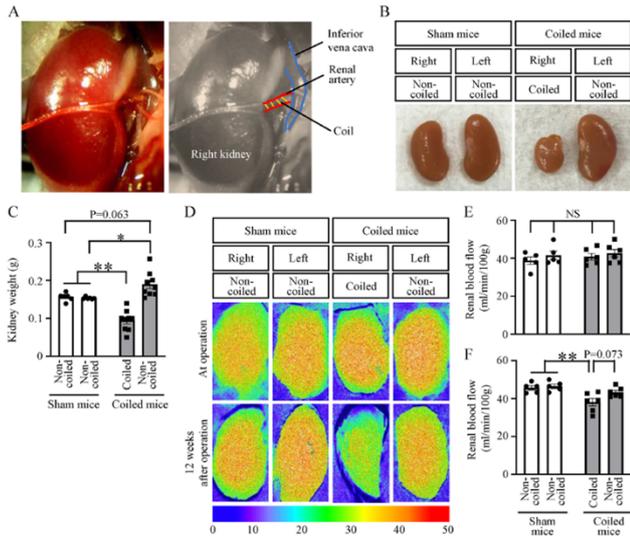
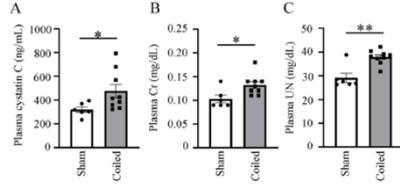


Figure 6



一方、研究期間内に同モデルを用いた LPL 欠損の役割の検討を実施することができなかったため、LPL の本モデルにおける役割は明らかでない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 0件）

1. 著者名 Fujino Yoshihiko, Yasuda-Yamahara Mako, Tanaka-Sasaki Yuki, Kuwagata Shogo, Yamahara Kosuke, Tagawa Atsuko, Chin-Kanasaki Masami, Yanagita Motoko, Maegawa Hiroshi, Kume Shinji	4. 巻 620
2. 論文標題 Limited effects of systemic or renal lipoprotein lipase deficiency on renal physiology and diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 15 ~ 20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2022.06.067	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 Imamura-Uehara Yoshimi, Yasuda-Yamahara Mako, Kuwagata Shogo, Yamahara Kosuke, Yoshibayashi Mamoru, Tanaka-Sasaki Yuki, Shimizu Akio, Ogita Hisakazu, Chin-Kanasaki Masami, Kume Shinji	4. 巻 37
2. 論文標題 Establishment of a novel mouse model of renal artery coiling-based chronic hypoperfusion-related kidney injury	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 101607 ~ 101607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2023.101607	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------