

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590898

研究課題名（和文）メタボリックシンドロームにおける腎臓脂肪連関の解明

研究課題名（英文）Pathophysiological relevance of visceral fat and kidneys in obesity-induced renal injury

研究代表者

徳山 博文 (TOKUYAMA HIROBUMI)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50276250

研究成果の概要（和文）：肥満の腎臓組織内において、ミネラルコルチコイド受容体/Rho/Rhoキナーゼ経路が活性化し、炎症性ケモカイン・活性酸素の誘導がなされ腎臓組織学的障害を引き起こすこと、また、貯留腹部脂肪内において誘導された炎症性ケモカイン・活性酸素の全身循環が上皮細胞障害（podocytopathy）に関与することが明らかになり、さらに、糖尿病発症前の肥満・インスリン抵抗性を呈するごく初期にすでに、腎臓組織学的変化・腎臓組織内の活性酸素、炎症性サイトカインの誘導がみられることがあきらかになった。

研究成果の概要（英文）： Excess fat intake causes obesity and renal injury in C57BL/6J mice, and these changes are mediated by an enhanced mineralocorticoid receptor /Rho/Rho-kinase pathway and inflammatory process. Moreover, the removal of visceral fat pads resulted in marked decreases in the systemically circulation of inflammatory cytokines and oxidative stress, leading to the improvement of albuminuria, suggesting that visceral fat in obesity is a potent modulator of the pathogenesis of obesity-related renal injuries.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	400,000	120,000	520,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：Rhoキナーゼ、アルドステロン、肥満、メタボリックシンドローム、脂肪組織

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性腎症、高血圧性腎硬化症など、メタ

ボリックシンドローム発症後に腎臓組織学

所見の変化がみられることは多くの研究で

確認され、様々な治療法が試されてきた。しかし、それら治療法は十分ではなく、末期腎不全に進行する例も多い。従って、糖尿病発症前の早期から治療介入することが有効であり、前段階である肥満形成の段階での腎症の病態生理を明らかにすることは極めて重要である。また、腹部脂肪組織貯留は、肥満におけるインスリン抵抗性に関与することが報告されているが、しかし、この腹部脂肪組織貯留と肥満関連腎症の連関については不明である。

2. 研究の目的

我々は、肥満における腎症、脂肪組織蓄積において、血中アルドステロンが上昇していないにも関わらず、腎組織、脂肪組織アルドステロンが極めて高値であることをつきとめた。腎臓および脂肪組織アルドステロンが高値である機序として、CYP11A1、B1 は全く変化がみられなかったが、 3β HSD のみ著しい上昇がみられた。腎臓および脂肪組織において副腎とは独立したアルドステロン合成系が存在することを初めて明らかにした。さらに、脂肪組織におけるアルドステロン濃度が腹部周囲、腎臓周囲白色脂肪、褐色脂肪組織など部位ごとに大きく異なった。アルドステロン/Rho/Rho キナーゼ経路が腎臓組織、脂肪組織において組織独自の経路として機能を果たし、炎症性ケモカインを誘導し、組織学的変化を起こしていると考え、メタボリックシンドロームにおける臓器特異的アルドステロン/Rho/Rho キナーゼ経路活性化の機序を解明する。また、脂肪組織アルドステロンが腎臓組織に組織外から影響を及ぼしていないか、脂肪腎臓連関症候群としてその病態生理を解明する。

3. 研究の方法

(1) メタボリックシンドロームモデルである高脂肪食飼育下 C57BL/6J マウスを用い、高脂肪食飼育下、アルドステロン/Rho/Rho キナーゼ経路の活性化機序、およびミネラルコルチコイド受容体拮抗薬・Rho キナーゼ阻害薬の効果を検討した。

(2) また、肥満関連腎症において脂肪腎臓連関が病態生理に関わっているか、腹部脂肪組織、腎周囲脂肪組織を直接除去することにより、腎臓組織内血行動態、アルドステロン/Rho/Rho キナーゼ経路の動態および組織学的変化がみられるか検討した。

(3) さらに、脂肪組織特異的 Rho キナーゼ Dominant negative マウスを用い、高脂肪食飼育下における腎臓組織学的変化、およびアルブミン尿の改善がみられるかを検討した。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食群では低脂肪食群に比し著しい肥満を認め、エプレレノン (Ep) 投与群では肥満の抑制が見られた。尿蛋白量は高脂肪食群で有意に増加し、Ep 群で抑制された。腎臓組織では高脂肪食群において糸球体肥大、炎症細胞の浸潤がみられ、Rho キナーゼの活性化を認め、Ep 群ではこれらを抑制した。さらに、高脂肪食群では血中 Ald 濃度は上昇せずミネラルコルチコイド受容体 (MR) の核内移行および SGK-1 の誘導がみられ、Ep 群ではそれらの抑制がみられた。この時、腎臓組織 Ald は高脂肪食群で著明に増加し、腎臓組織 Ald 合成酵素の誘導および腎周囲脂肪組織 Ald の著明な増加がみられた。

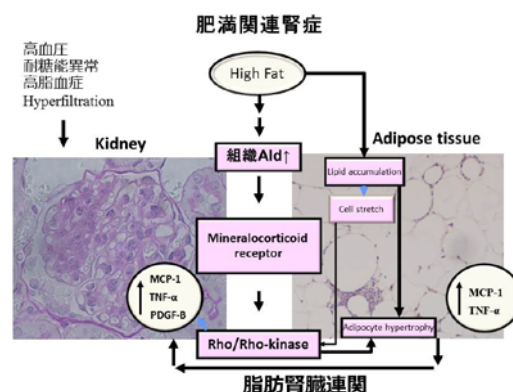
(2) In vitro では、メサンギウム細胞において、アルドステロンによる MR の刺激は用量依存的に Rho キナーゼを活性化し、この作用はエプレレノンの前投与により抑制された。

(3) 脂肪組織特異的 Rho キナーゼ dominant

negative マウスを用い、Wild type 群 (W 群)、dominant negative マウス (DN 群) の 2 群に対しそれぞれ高脂肪食を与え 12 週間飼育した。W 群で認められた糸球体肥大、炎症細胞の浸潤、上皮細胞障害 (podocytopathy) など組織学的変化、尿蛋白量増加、炎症性ケモカイン (TNF- α 、MCP-1、PDGF-B) の誘導は、DN 群では著明に改善、抑制された。

(4) 脂肪組織特異的 Rho キナーゼ dominant negative マウスを用いた検討だけでは、DN 群において体重増加がみられず、全身状態の改善が腎症の改善につながったとも考えられる。そこで、さらに貯留腹部脂肪組織を直接除去することで、腎症に与える影響を考察した。6 週齢の C57BL/6J マウスを 3 群に分け、2 群に高脂肪食 (60kcal% 脂肪食)、1 群に低脂肪食 (10kcal% 脂肪食) を与え 12 週間飼育した。高脂肪食群の 1 群には 10 週目で腹部脂肪組織除去 (R 群) を行った。高脂肪食群では低脂肪食群に比し著しい肥満を認め、糸球体肥大、炎症細胞の浸潤、上皮細胞障害 (podocytopathy) など組織学的変化がみられ、尿蛋白量は有意に増加した。さらに、腎組織 Rho キナーゼの活性化、炎症性ケモカイン (TNF- α 、MCP-1、PDGF-B) の誘導を認めた。R 群では除去脂肪組織において炎症性ケモカインの著明な誘導がみられ、これを除去することにより、全身循環炎症性ケモカイン・酸化ストレスマーカーが減少し、腎組織変化としては、糸球体肥大、炎症細胞の浸潤、尿細管細胞肥大、尿細管細胞内脂肪沈着は有意には改善せず、上皮細胞障害が改善した。以上、まとめると、肥満関連腎症において、血中 Ald 非依存性、組織 Ald 依存性に腎 MR が活性化し、腎臓組織ミネラルコルチコイド受容体/Rho/Rho キナーゼ経路が活性化し、炎症性ケモカイン・活性酸素の誘導がなされ腎臓組織学的障害を引き起こすこと、また、貯

留腹部脂肪内において誘導された炎症性ケモカイン・活性酸素の全身循環が腎症発症、特に上皮細胞障害 (podocytopathy) に関与することがあきらかになった。さらに、糖尿病発症前の肥満・インスリン抵抗性を呈するごく初期にすでに、腎臓組織学的変化・腎臓組織内の活性酸素、炎症性サイトカインの誘導がみられることが明らかになった。従来肥満関連腎症の組織型は、糸球体肥大・巣状糸球体硬化症であったが、それにとどまらず、糸球体・尿細管細胞内脂肪沈着、尿細管細胞肥大、尿細管細胞空砲化がみられた (まとめの図)。この結果は、ヒトでの検討においても、肥満患者 (BMI>25) は非肥満患者に比較し、糸球体肥大・尿細管細胞肥大を認めた。これらの知見は全く新しい知見であり、メタボリックシンドローム発症の前段階から、早期に治療介入する必要性を示唆する結果となった。



まとめの図

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Hasegawa K, Wakino S, Kimoto M, Minakuchi H, Fujimura K, Hosoya K, Komatsu M, Kaneko Y, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. The hydrolase DDAH2 enhances pancreatic insulin secretion by transcriptional regulation of secretagogin through a

Sirt1-dependent mechanism in mice.

FASEB J. Epub ahead of print. 査読あり。2013

- ② Tokuyama H, Wakino S, Hara Y, Washida N, Fujimura K, Hosoya K, Yoshioka K, Hasegawa K, Minakuchi H, Homma K, Hayashi K, Itoh H. Role of Mineralocorticoid receptor/Rho/Rho-kinase pathway in Obesity-Related Renal Injury. *Int J Obes (Lond)*. 査読あり、36(8)、2012、1062-71.
- ③ Washida N, Wakino S, Tonozuka Y, Homma K, Tokuyama H, Hara Y, Hasegawa K, Minakuchi H, Fujimura K, Hosoya K, Hayashi K, Itoh H. Rho-kinase inhibition ameliorates peritoneal fibrosis and angiogenesis in a rat model of peritoneal sclerosis. *Nephrol Dial Transplant*. 査読あり、26(9)、2011、2770-2779.
- ④ Hara Y, Wakino S, Tanabe Y, Saito M, Tokuyama H, Washida N, Tatematsu S, Yoshioka K, Homma K, Hasegawa K, Minakuchi H, Fujimura K, Hosoya K, Hayashi K, Nakayama K, Itoh H. Rho and Rho-Kinase Activity in Adipocytes Contributes to a Vicious Cycle in Obesity That May Involve Mechanical Stretch. *Sci Signal*、査読あり、25:4(157)、2011、ra3.

[学会発表] (計9件)

- ① 徳山博文、脇野修、二木功治、神田武志、鷺田直輝、鷺田直輝、長谷川一宏、水口斉、

藤村慶子、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症の病態生理の解明—組織学的変化の新たな知見。第56回日本腎臓学会、2013年5月11日、東京。

② 徳山博文、脇野修、神田武志、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、藤村慶子、本間康一郎、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症における脂肪腎臓連関の病態生理の解明。第16回日本心血管内分泌代謝学会、2012年11月23日、東京。

③ 徳山博文、脇野修、神田武志、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、藤村慶子、本間康一郎、小松素明、金子友香、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症における脂肪腎臓連関の病態生理の解明。第35回日本高血圧学会、2012年9月21日、名古屋。

④ 徳山博文、脇野修、神田武志、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、二木功治、本間康一郎、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症の病態生理における脂肪腎臓連関の重要性。第55回日本腎臓学会学術総会、2012年6月2日、横浜。

⑤ 徳山博文、脇野修、神田武志、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、藤村慶子、本間康一郎、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症における脂肪腎臓連関の病態生理の解明。第15回日本心血管内分泌代謝学会、2011年11月25日、大阪。

⑥ 徳山博文、脇野修、神田武志、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、藤村慶子、本間康一郎、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症における脂肪腎臓連関の病態生理の解明。第34回日本高血圧学会、2011年10月21日、宇都宮。

⑦ 徳山博文、脇野修、神田武志、原義和、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、藤村慶子、本間康一郎、林晃一、伊藤裕。肥満関連腎症における腹部脂肪組織除去の有用性。第54回日本腎臓学会、2011年6月15日、横浜。

⑧ 徳山博文、脇野修、原義和、鷺田直樹、

長谷川一宏、水口斉、藤村慶子、本間康一郎、林晃一、伊藤裕. アルドステロン/Rho/Rho キナーゼ経路の肥満関連腎症における役割. 第33回日本高血圧学会、2010年10月16日、福岡.

⑨ 徳山博文、脇野修、原義和、鷺田直樹、長谷川一宏、水口斉、本間康一郎、林晃一、伊藤裕. アルドステロン(Ald)/Rho/Rho キナーゼ経路の肥満関連腎症における意義. 第53回日本腎臓学会学術総会、2010年6月17日、神戸.

[図書] (計1件)

① 徳山博文、伊藤裕. 丹水社. 「肥満と糖尿病」肥満関連腎症の機序は？(肥満すると腎臓が悪くなりますか?). 2010年、44-46.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.keio-emn.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

徳山 博文 (TOKUYAMA HIROBUMI)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50276250

(2) 研究分担者

林 晃一 (HAYASHI KOICHI)

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：80164937

脇野 修 (WAKINO SHU)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50265823

(3) 連携研究者

なし

