

## 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24年5月30日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790782

研究課題名（和文）肥満糖尿病性腎症における Rac1・MR の役割と新規治療薬開発の試み

研究課題名（英文）Elucidation of the role of Rac1 and MR in obese diabetic nephropathy and attempt at a novel therapeutic agent

研究代表者

吉田 成孝（YOSHIDA SHIGETAKA）

東京大学医学部附属病院特任助教

研究者番号：30559430

研究成果の概要（和文）：我々は本研究において肥満糖尿病性腎症において腎局所における Rac1 活性化と MR 活性化を示し、これらの抑制が同様に腎障害を改善することを示した。細胞株を用いた実験によりグルコース負荷が Rac1 活性化を通じて Ald 非依存的に MR を活性化すること、各種方法により Rac1 を抑制するとグルコースによる MR 活性化が生じないことを示した。これらは Rac1 を介した MR 活性化が肥満糖尿病性腎症において重要な役割を果たすことが示しており、これまでの降圧薬・抗糖尿病薬等の著明な発達にも関わらず十分にその増加・進行を防ぎえていなかった糖尿病性腎症の新たな治療戦略として Rac1 の抑制の可能性を示すものとして意義のある結果を得たものとする。

研究成果の概要（英文）： We showed renal Rac1 and MR activation in obese diabetic mice, and oral administration of low dose MR blockade and Rac1 inhibitor respectively ameliorated nephropathy. Experiment of cultured renal cells revealed that glucose aldosterone-independently activates MR via Rac1 activation, and suppression of Rac1 activity diminished MR activation by glucose stimulation. These result showed the important role of Rac1/MR axis in obese diabetic kidney, and suggests the possible efficacy of Rac1 suppression in the treatment strategy of diabetic nephropathy, of which incidence and progression have not been sufficiently prevented despite striking progression of antihypertensive and antidiabetic therapy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：慢性腎疾患・高血圧・糖尿病・アルドステロン

## 1. 研究開始当初の背景

末期腎不全による透析導入は多額の医療費を要し多くの合併症で患者の予後・QOLを著しく損なう。その前段階である慢性腎臓病 (CKD) の基礎疾患の中でも糖尿病性腎症は近年著しく増加しており、その発症・進展の抑制が極めて重要である。

アルドステロン (Ald) は近年、炎症・線維化・酸化ストレスなど多彩な作用で臓器障害を進展させることが明らかになってきた。また高食塩摂取下での不適切な Ald 分泌が臓器障害に特に重要であることが確立しつつあり、食塩摂取量が多い日本人には Ald/MR 系の臓器障害における重要性が特に高い可能性がある。

我々は Ald が腎障害に重要な役割を果し、MR 阻害薬が腎保護的に働くことを世界に先駆けて報告してきた。なかでも特記すべきこととして低分子量 G 蛋白 Rac1 を介したリガンド非依存的な鈣質コルチコイド受容体 (MR) の活性化機構を見出した。さらに高血圧性糸球体障害やメタボリックシンドロームモデルラットで Rac1 による MR 活性化や Rac1 阻害薬の有効性を示すデータが得られており、Rac1 による MR 局所活性化が広範な腎障害で重要な役割を果たしていることが示唆されていた。

## 2. 研究の目的

我々は Ald 非依存的な MR 活性化の腎障害での重要性を、さらに臨床的な重要性の高い肥満糖尿病における腎障害で明らかにする為、以下を目的に本研究を企画した。

(1) 肥満糖尿病動物の腎における Rac1 による MR 活性化の存在と、その抑制による腎障害改善の有無を検討する

(2) in vitro の系を用いて高血糖状態の Rac1 の活性化を通じた MR 活性化とその分子機序について探索する

(3) 肥満糖尿病でグルコース以外の Rac1 活

性制御因子、Rac1 以外のリガンド非依存的な MR 活性制御因子を探索する

## 3. 研究の方法

(1) in vivo 研究：遺伝的肥満糖尿病モデルマウス KK-Ay マウスを用いた研究

①腎における Rac1 活性の検討、MR 関連シグナルの検討

②腎障害に対する Rac1 抑制薬の効果、及びその際の MR 関連シグナルの検討

③Rac1 以外の MR 活性制御因子の探索とその抑制による腎障害改善効果の検討

(2) in vitro 研究：腎由来細胞株を用いた研究

①グルコース添加の Rac1/MR 活性に与える効果の検討

②グルコース添加の MR 活性化における Rac1 阻害による効果の検討

③グルコース添加時の Rac1 活性化・MR 活性化に関連する分子の同定

④グルコース以外の糖尿病・メタボリックシンドローム関連因子の Rac1/MR 活性に与える効果とその抑制効果の検討

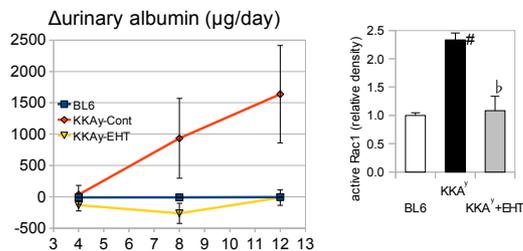
## 4. 研究成果

(1) in vivo 研究：遺伝的肥満糖尿病モデル動物 KK-Ay における腎障害、特に糸球体障害における『Rac1 による MR 活性化』の関与の検討

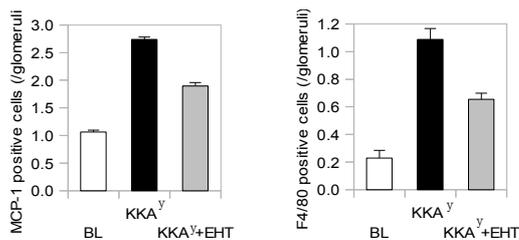
①同モデルの腎において、早期から持続して Rac1 の活性化を認めた。

②同様に腎臓における MR 活性化を認め、MR 阻害薬 EPL の血圧への影響がないとされる用量の投与を行い、体重・血圧・血糖に影響することなく、同様の著明な腎障害改善効果を認め、MR 活性化の腎障害への関与を証明した。

③ Rac1阻害薬 EHT1864 の強制給餌投与により、腎 Rac1活性の著明な低下を認め、同時に体重・血糖への影響なく著明な腎障害改善効果を確認した。



④糸球体における MCP-1・TNF- $\alpha$ ・TGF- $\beta$ 等の炎症・糖尿病性腎症関連因子発現の著明な上昇と炎症性細胞マクロファージの著明な浸潤を認め、EHT・EPLによるこれらの著明な改善を確認した。

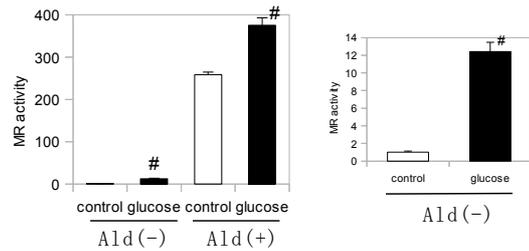


⑤ Rac1以外の MR活性制御因子の探索は十分な成果を得ることができず、今後の課題として残った。

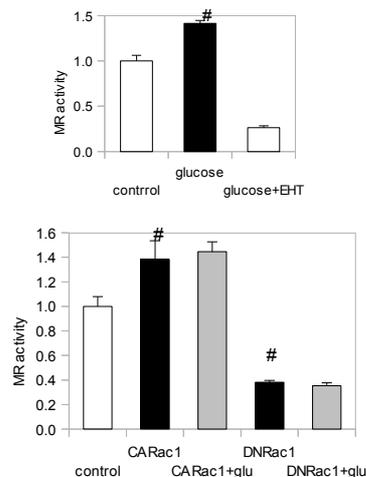
(2) in vitro 研究：腎由来細胞株を用いた研究

①メサンギウム細胞株においてグルコース負荷による著明な Rac1活性上昇を認めた Rac1活性化は Rac1阻害薬 EHT1864 や優性阻害型 (Dominant Negative) Rac1の遺伝子導入により著明に阻害された。

②上記メサンギウム細胞株におけるレポーター遺伝子アッセイにより、グルコース負荷によるリガンド非依存的な MR活性化を認めた。恒常活性型 (Constitutive Active) Rac1の遺伝子導入により、同様にリガンド非依存的な MR活性化を認めた。



③グルコース添加時の MR活性化は Rac1阻害薬や優性阻害型 Rac1の遺伝子導入により著明に阻害された。



④過去に他の系における Rac1活性化の上流として報告されている因子のうち、上記メサンギウム細胞株のグルコース負荷時に活性化しているものとして、AMPK・PKC等を確認したが、これら抑制による Rac1活性抑制や、MR活性抑制の検討は今回の研究では十分に進めることができず、今後の課題として残った。

今回の研究で Rac1を介した MR活性化が肥満糖尿病性腎症においてその進行に重要な役割を果たすことが示された。これまでの降圧薬・抗糖尿病等の著明な発達にも関わらず十分にその増加・進行を防ぎえていなかった糖尿病性腎症の新たな治療戦略として Rac1の抑制の可能性を示すものとして意義のある結果を得たものとする。

これまでの結果は後述のように国内外のいくつかの学会等で発表しており、先行研究に続く興味深い Rac1/MR 系の重要性を示す研究として特に国内外の Ald/MR系の研究者から好意的な反応を得ており、Rac1以外のMR活性化因子の探索や Rac1の活性化機構は今後の課題として、現在得られている結果をまとめて Rac1/MR 系に的をしぼった論文として発表する予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

現在投稿準備中

〔学会発表〕 (計 4 件)

### ① 吉田成孝

腎系球体メサンギウム細胞における高血糖による低分子G蛋白R a c 1の活性化とミネラルコルチコイド受容体活性化  
第15回日本心血管内分泌代謝学会総会  
2011年11月26日  
大阪

### ② Shigetaka YOSHIDA

“Local, ligand-independent mineralocorticoid receptor activation by high glucose stimulation via Rac1.”  
The 23rd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension  
2010年9月28日  
Vancouver, Canada

### ③ Shigetaka YOSHIDA

“Local, ligand-independent mineralocorticoid receptor activation by high glucose stimulation via Rac1.”  
36th Annual Meeting of the International Aldosterone Conference  
2010年6月18日  
San Diego, USA

### ④ Shigetaka YOSHIDA

“Local, ligand-independent mineralocorticoid receptor activation by high glucose stimulation via Rac1.”  
International Society of Nephrology NEXUS Symposium 2010  
2010年4月16日  
京都

〔図書〕 (計 0 件)

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉田 成孝 ( YOSHIDA SHIGETAKA )  
東京大学医学部附属病院特任助教  
研究者番号： 30559430

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし